

# INFLUENCE DE CHOCS THERMIQUES ET D'UN TRAITEMENT AU CHLORE SUR LA CROISSANCE D'ORGANISMES PHYTOPLANCTONIQUES MARINS

## 2. Le flagellé *Dunaliella tertiolecta* (BUTCHER)

par Patrick LASSUS et Pierre MAGGI <sup>(1)</sup>

Des cultures de *Dunaliella tertiolecta*, en début de phase exponentielle de multiplication et acclimatées à 12, 16, 20 et 24 °C, subissent des élévations thermiques brusques, ou une chloration de 0,5 mg/l ou encore une combinaison de ces deux traitements.

Il en résulte que le développement de ce flagellé n'est que peu affecté par les chocs thermiques subis puisque les conditions maximales testées (élévation thermique de 17 °C à partir d'une température initiale de 24 °C) n'engendrent qu'un léger retard de croissance.

En revanche, une chloration de 0,5 mg/l entraîne des retards importants dans le développement, l'inhibition étant totale lorsqu'un choc thermique se surajoute.

Nous poursuivons, dans la présente étude, la recherche des effets sur le phytoplancton marin du transit de l'eau de mer dans les condenseurs des centrales nucléaires. Cet aspect a déjà été abordé à propos d'une diatomée *Gyrosigma spencerii* (CLEVE) (MAGGI, LASSUS et ABARNOU, 1980).

### I. Méthodologie.

Nous ne reviendrons pas sur les descriptions du dispositif expérimental ni sur son utilisation qui ont été détaillées dans ce travail antérieur.

Des cultures de *Dunaliella tertiolecta* en début de multiplication cellulaire, acclimatées à 12, 16, 20 et 24° sont soumises à des échauffements brusques de 10, 12, 15 et 17°, et conservées pendant 5, 10, 15, 25 et 40 mn dans cet état avant un retour progressif à la température initiale.

D'autre part, une solution d'hypochlorite de sodium est injectée, en début de transit, de façon à obtenir 0,5 mg/l de chlore libre, dans des cultures subissant ou non le traitement thermique précédemment décrit.

Les paramètres mesurés au cours de ces expériences restent les mêmes, soit :

- l'évolution de la demande en chlore de l'eau de mer après l'injection ;
- les numérations cellulaires quotidiennes des cultures ;
- les distributions de tailles des cellules au cours du temps ;
- les concentrations en chlorophylle a des différentes cultures.

---

(1) Travail effectué sous contrat E.D.F. (Direction de l'Équipement de Paris).

Les cultures de *D. tertiolecta* utilisées contiennent environ 15 000 cellules par millilitre, en eau de mer préalablement filtrée sur membrane 0,22  $\mu$ . L'inoculum provient d'un culot de centrifugation d'une culture à forte densité cellulaire afin de réduire à une valeur insignifiante les concentrations des constituants du milieu de culture originel.

Après expérimentation les cultures sont enrichies avec du milieu E.S. de Provasoli.

## II. Résultats.

### 1° Les effets de chocs thermiques.

Aux températures initiales basses (12 et 16°), on ne note pas de différences significatives dans la croissance par rapport au témoin. Il en est de même aux températures élevées (20 et 24°) excepté aux paliers 25 et 40 mn, pour une température initiale de 24° et une élévation thermique de 17° (fig. 1). Dans ce dernier

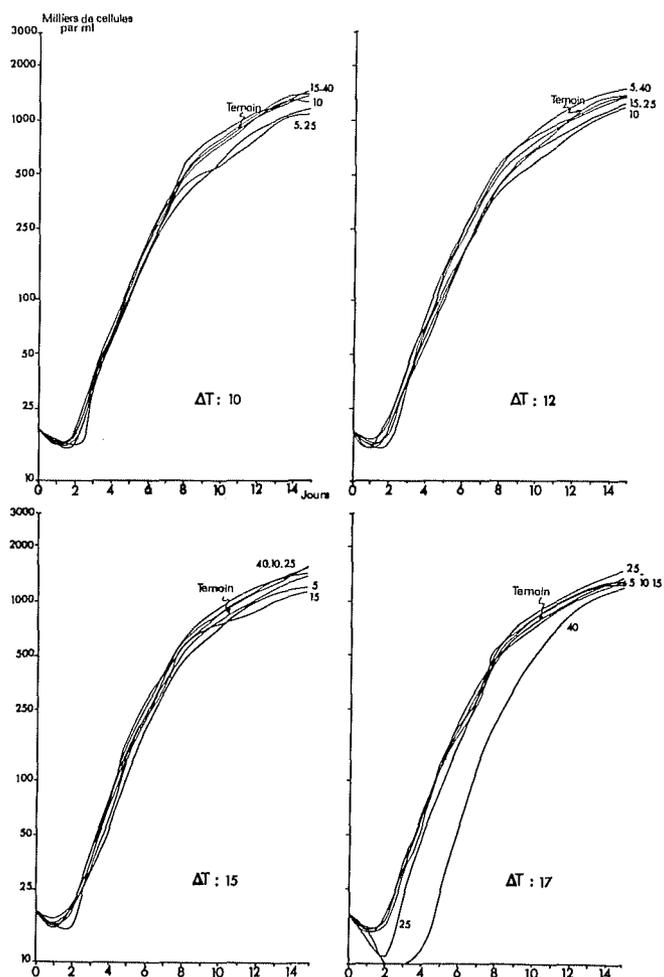


FIG. 1. — Influence d'élévations thermiques ( $\Delta T$ ) à partir de 24 °C sur la multiplication de *Dunaliella tertiolecta*.

cas, il faut noter que, même après une exposition de 40 mn à une température finale de 41°, la culture reprend son développement dès le 5<sup>e</sup> jour et que les concentrations cellulaires sont proches de celles du témoin dès le 12<sup>e</sup> jour.

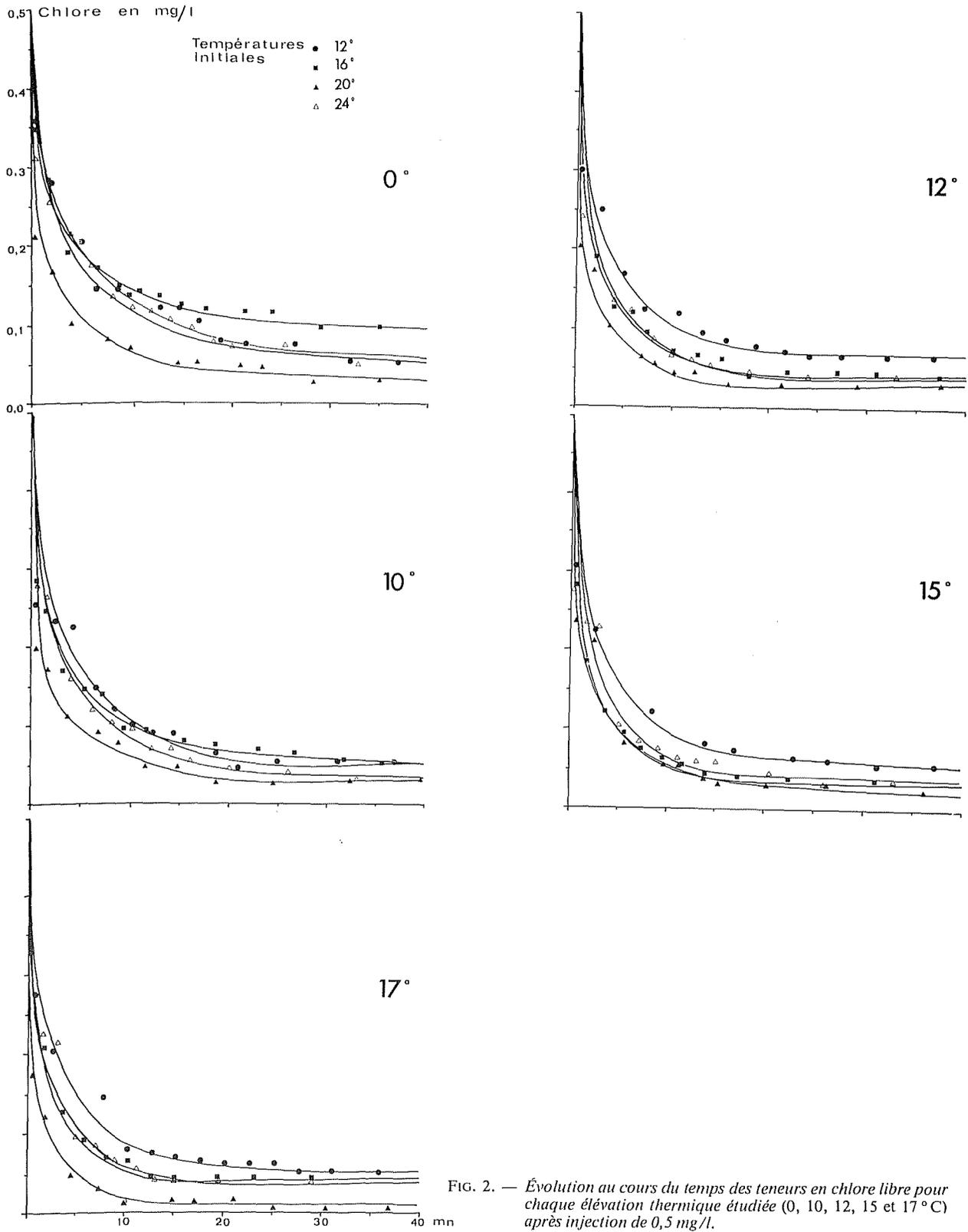


FIG. 2. — Évolution au cours du temps des teneurs en chlore libre pour chaque élévation thermique étudiée (0, 10, 12, 15 et 17°C) après injection de 0,5 mg/l.

2° Les effets du chlore.

Les cinétiques de disparition du chlore injecté sont représentées dans la figure 2. Il faut noter que le chlore résiduel comprend l'ensemble des éléments oxydants réagissant lors du dosage. Pour une injection de

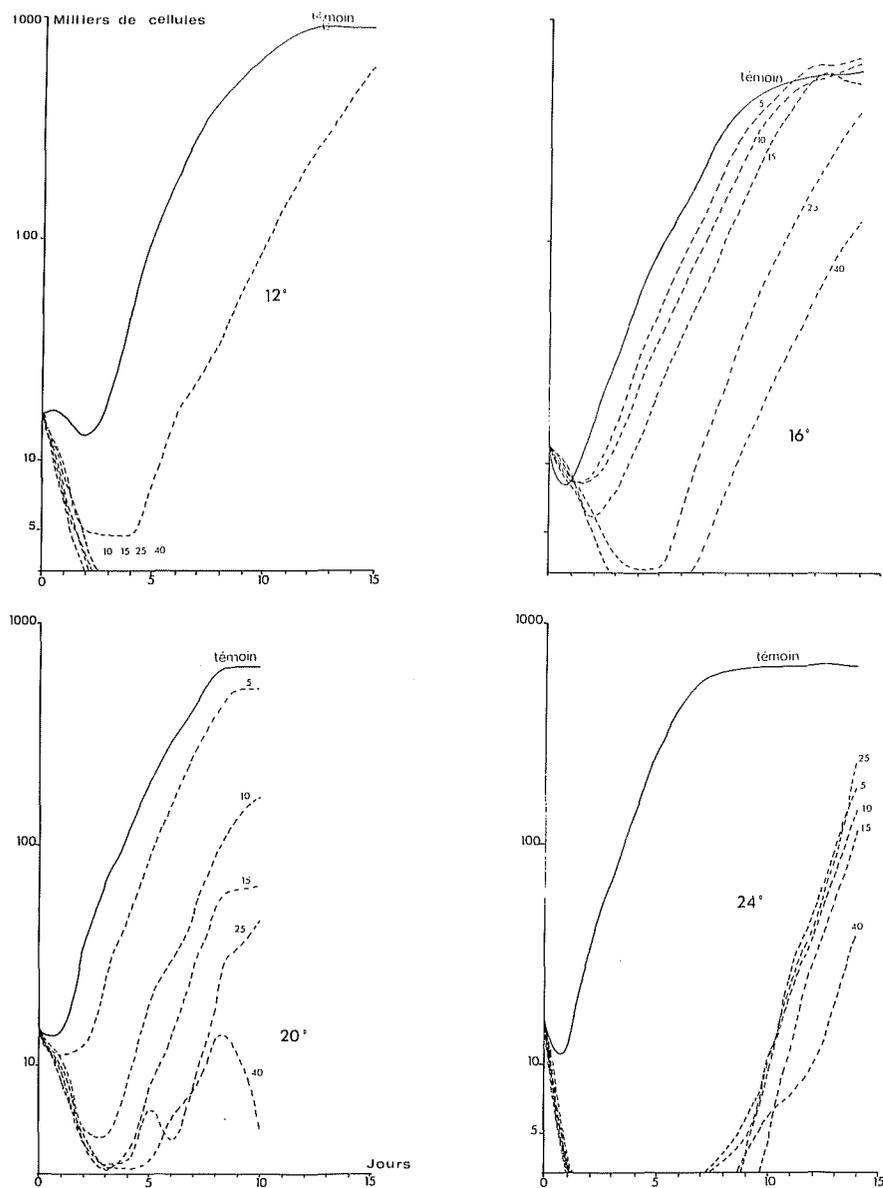


FIG. 3. — Influence d'un traitement au chlore (0,5 mg/l) sans élévation thermique, aux températures initiales 12, 16, 20 et 24°, sur la multiplication cellulaire de *Dunaliella tertiolecta*.

0,5 mg/l le taux moyen de chlore résiduel a été de l'ordre de 0,05 à 0,1 mg/l. Rappelons que la chloration est effectuée sur de l'eau de mer filtrée contenant les cellules phytoplanctoniques.

L'injection de 0,5 mg/l de chlore, en l'absence de choc thermique, provoque de sérieux dommages aux cultures (fig. 3).

A 12° de température initiale, les cellules sont détruites excepté pour l'exposition de 5 mn où l'on note un retard de développement de 4 jours par rapport au témoin.

A 16 et 20° les retards augmentent, avec la durée d'exposition au chlore, jusqu'à atteindre 6 jours. A 24° enfin, les retards sont de 9 jours pour l'ensemble des cultures.

### 3° Les effets combinés des chocs thermiques et de la chloration.

Une injection de 0,5 mg/l de chlore ajoutée aux chocs thermiques provoque la destruction totale des cultures, excepté pour une température initiale de 16°, avec des élévations thermiques de 10 et 12°. Dans ce dernier cas, on observe quelques reprises tardives du développement mais sans relation étroite avec la durée d'exposition ; nous avons résumé dans la figure 4 ces différents types de croissance cellulaire.

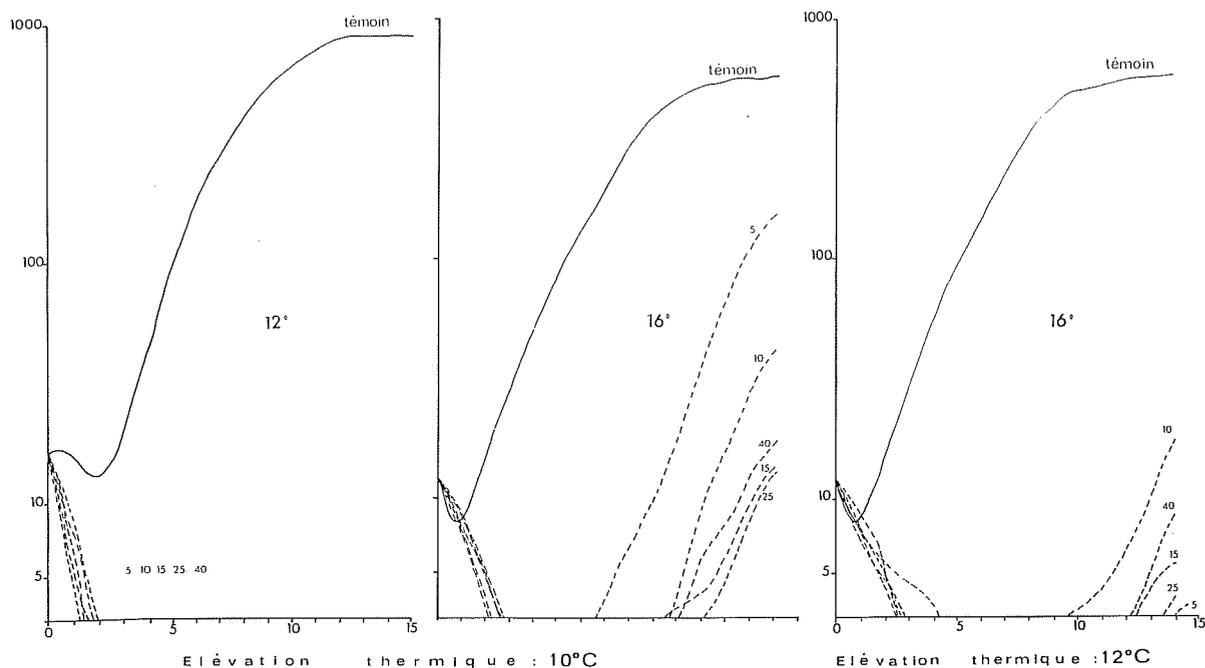


FIG. 4. — Influence d'un traitement au chlore (0,5 mg/l) et de deux élévations thermiques (10 et 12 °C) à partir des températures initiales 12 et 16 °C sur la multiplication cellulaire de *D. tertiolecta*.

En ce qui concerne les tailles des flagellés, nous n'avons pas constaté de variations significatives, tant dans leur mode que dans leur distribution, dans toutes les conditions expérimentales. Quant aux mesures des teneurs en chlorophylles a, elles nous ont permis de confirmer l'absence d'anomalies, pour ce pigment, dans les cellules.

### III. Discussion.

Nous avons représenté graphiquement le développement des différentes cultures de *D. tertiolecta* par leur multiplication cellulaire quotidienne rapportée à celle de la culture témoin.

En ce qui concerne les effets thermiques seuls, nous constatons principalement des améliorations de croissance par rapport au témoin. Les effets les plus significatifs sont obtenus pour une température initiale de 12°, aux élévations thermiques 15° et surtout 17°. Quant au retard dans le développement il n'est constaté que pour 40 mn d'élévation thermique 17°, à partir de 24° de température initiale ; remarquons à nouveau, que la concentration cellulaire revient à des valeurs proches de celles du témoin, dès le 12<sup>e</sup> jour de culture

(fig. 5). Il est à noter que cette faible inhibition de croissance est obtenue pour une température finale de 41° (24 + 17°) alors que pour la diatomée précédemment étudiée (*Gyrosigma spencerii*) les premières perturbations apparaissent dès 33° de température finale. Ces résultats sont très voisins de ceux obtenus par

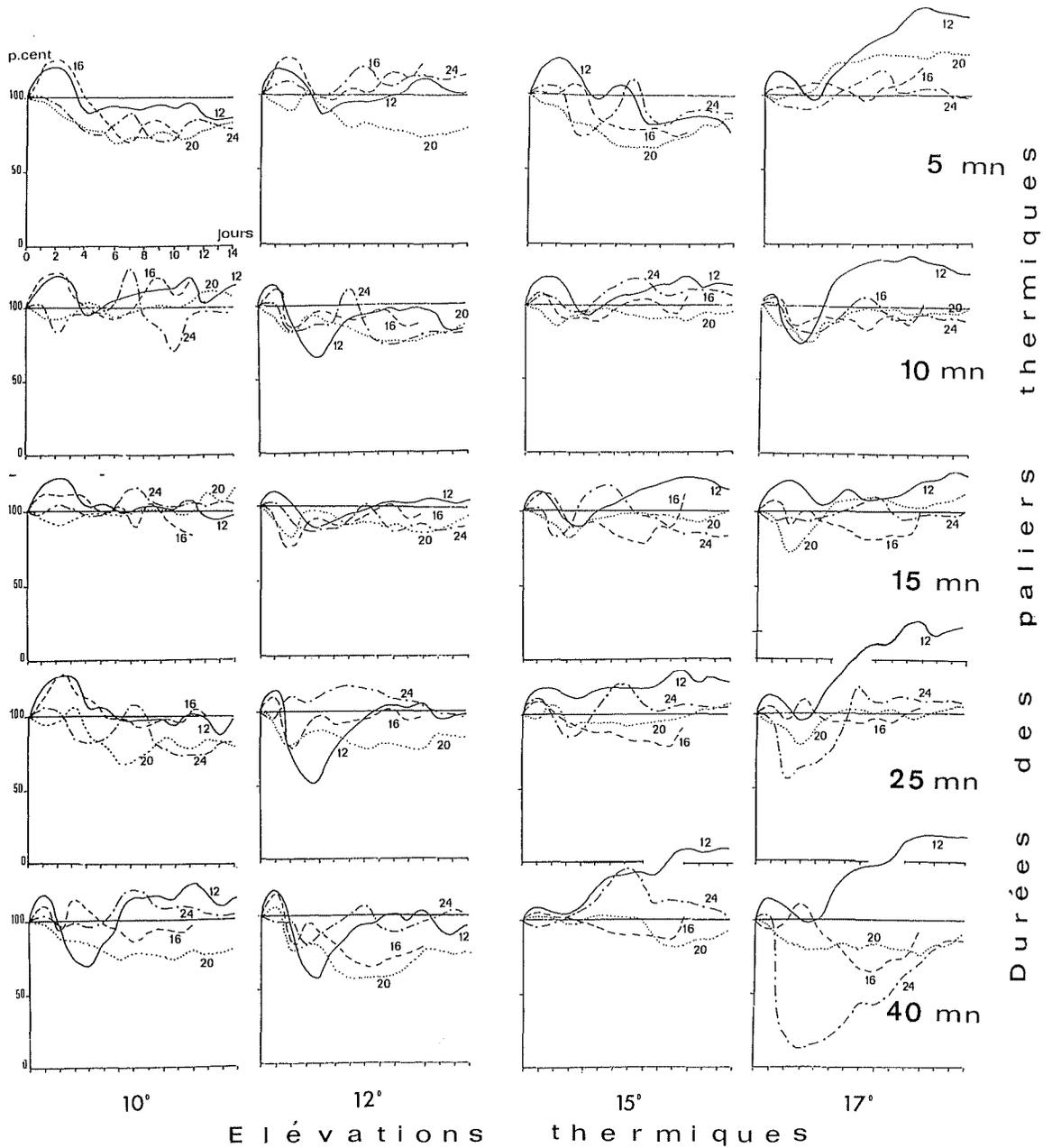


FIG. 5. — Pourcentages de développement, par rapport au témoin, de cultures de *Dunaliella tertiolecta* subissant un échauffement brutal, à partir des températures 12, 16, 20 et 24 °C.

HIRAYAMA et HIRANO (1970) sur le flagellé *Chlamydomonas sp.* qui n'est pas affecté, dans son développement, jusqu'à une température finale de 43°. D'autre part, le genre *Dunaliella* semble pouvoir s'acclimater facilement à des températures élevées puisque GIBOR (1956) constate des améliorations de la crois-

sance de *D. salina* et *D. viridis* jusqu'à 30° et que UKELES (1961) ne trouve pas de ralentissement dans le développement de *D. euchlora* tant que la température de culture demeure inférieure à 35°.

L'effet toxique du chlore seul est globalement accentué par l'augmentation de la durée d'exposition et les cultures semblent plus résistantes à 16° (fig. 6).

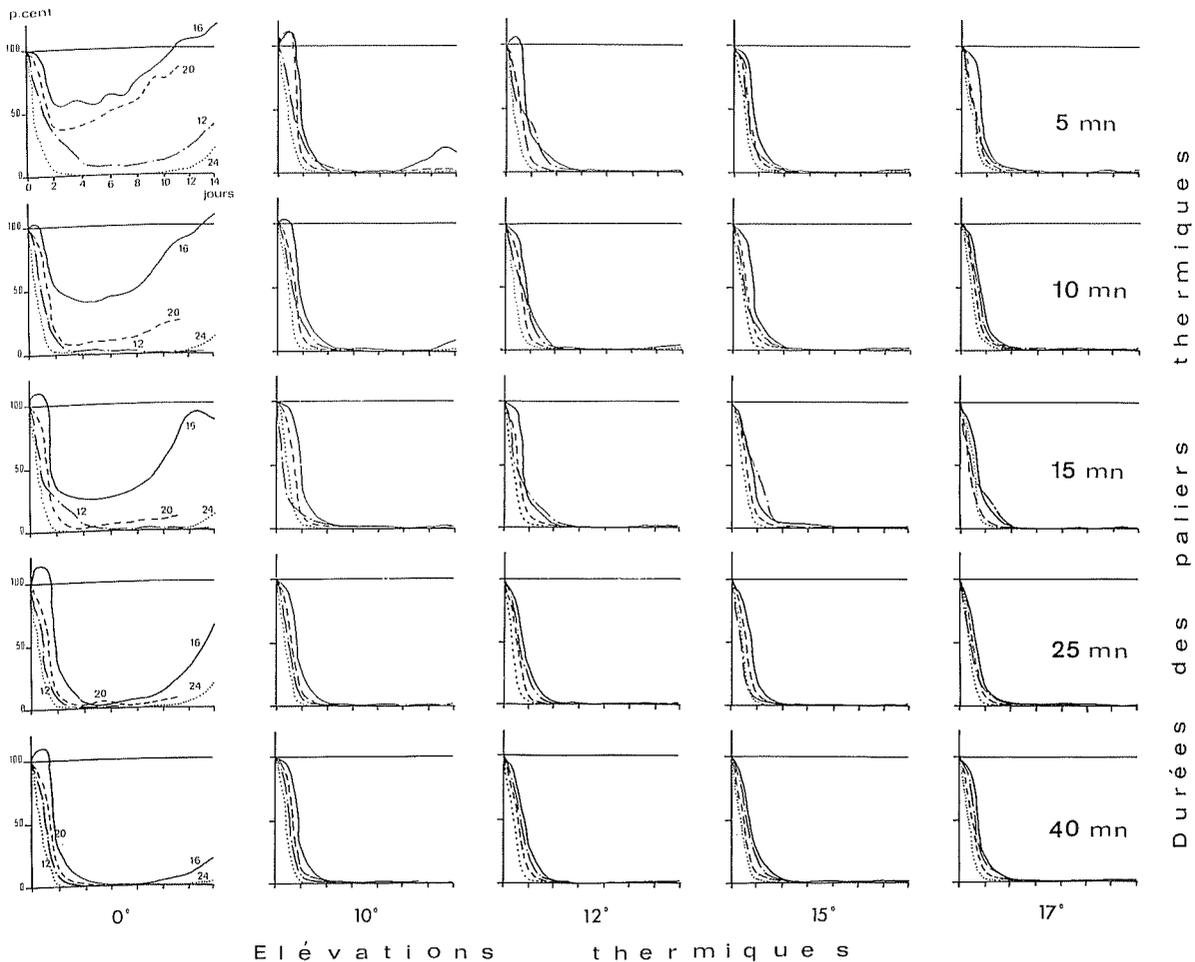


FIG. 6. — Pourcentages de développement, par rapport au témoin, de cultures de *Dunaliella tertiolecta* subissant un échauffement brutal et une injection de chlore de 0,5 mg/l, à partir des températures initiales 12, 16, 20 et 24°.

L'addition des chocs thermiques à l'injection de 0,5 mg/l de chlore accroît l'effet inhibiteur de la chloration seule. Si on compare ces résultats avec ceux obtenus sur *Gyrosigma spencerii*, à la même concentration, on remarque nettement, et en particulier à partir des courbes de pourcentage de développement, que les effets inhibiteurs sont plus marqués chez *D. tertiolecta*. Notons par exemple l'absence de reprise du développement après une combinaison échauffement/chloration de 5 mn pour ce flagellé, alors qu'il n'en est pas de même pour *G. spencerii*.

Il semble donc, dans une certaine mesure, que ce flagellé soit un peu plus sensible au chlore que la diatomée antérieurement étudiée. Ces résultats sont opposables à ceux de HIRAYAMA et HIRANO (1970) pour *Chlamydomonas sp.* dont le développement n'est que peu affecté même pour 5 à 10 mn de chloration à 20 mg/l. Par contre, GENTILE, cité par MATTICE et ZITTEL (1976), fait état d'une CL 50 en 24 h de

0,11 mg/l pour *D. tertiolecta*, mais sans indication de la concentration cellulaire initiale. VIDEAU et Coll. (1979) quant à eux, précisent que, pour une concentration initiale de  $10^6$  cellules par millilitre, la mortalité en 24 h de *D. primolecta* est de 80 % pour 0,6 ppm de chlore. Ces auteurs approfondissent l'importance de la densité cellulaire dans la sensibilité au chlore du phytoplancton : il s'agirait vraisemblablement d'une diminution de la quantité d'agent oxydant disponible au niveau de chaque cellule lorsque le nombre de cellules augmente.

Par ailleurs, il est intéressant de remarquer que si *D. tertiolecta* est très sensible au chlore, elle se révèle résistante à divers polluants tels que :

les résidus de papeteries (STOCKNER et COSTELLA, 1976) ;

le chlorure de mercure (DAVIES, 1976) ;

les composés chlorés tels que le trichloréthylène, l'hexachlorobenzène et les biphényles polychlorés (BIGGS et Coll., 1979).

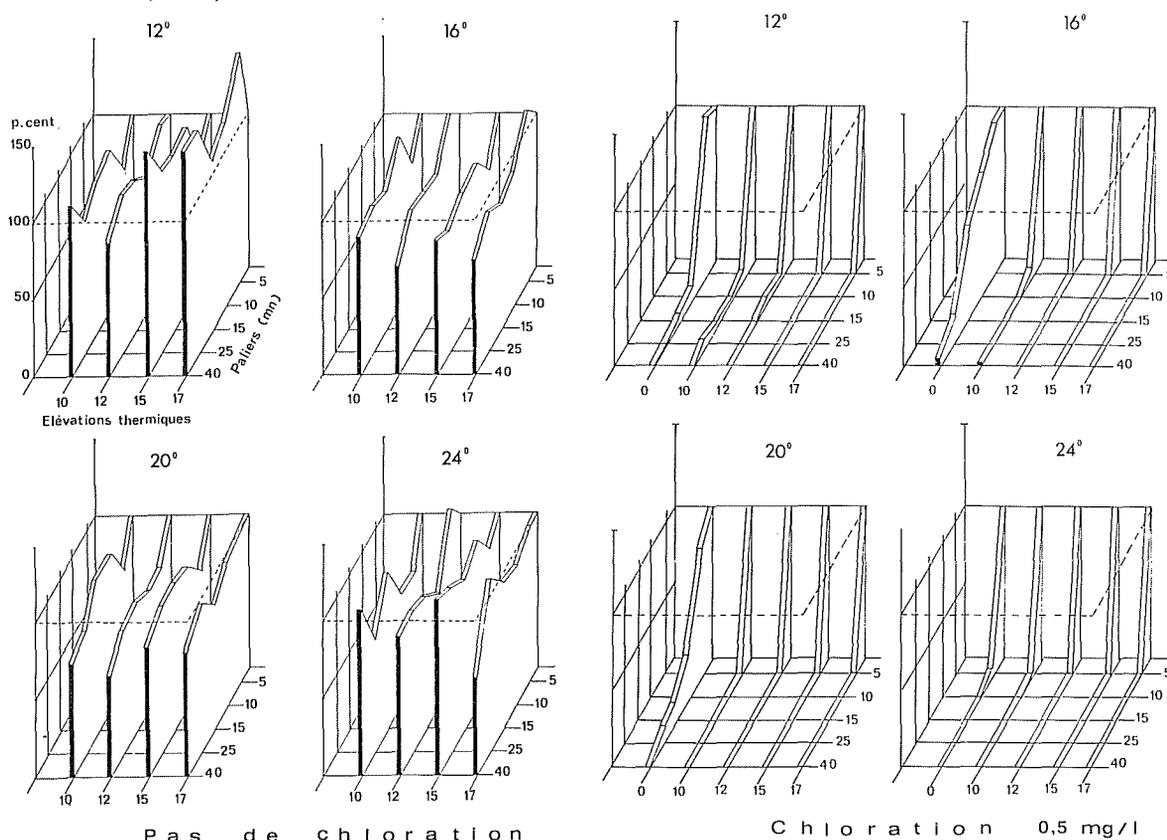


FIG. 7. — Diagrammes des pourcentages de développement, calculés par rapport au témoin, de *Dunaliella tertiolecta*, en fonction des paliers et élévations thermiques, avec ou sans injection de chlore, à partir des quatre températures initiales 12, 16, 20 et 24° ; 18<sup>e</sup> jour de culture pour 12° et 10° pour 16, 20 et 24°.

### Conclusion.

Nos résultats, en ce qui concerne le flagellé *Dunaliella tertiolecta*, font apparaître une tolérance relativement élevée aux effets d'un échauffement pouvant atteindre jusqu'à 41 °C de température finale alors qu'à l'inverse la sensibilité au chlore est assez grande : les cultures montrant une certaine reprise du développement cellulaire après injection de 0,5 mg/l de chlore sont détruites lorsque ce traitement se surajoute à une élévation thermique quelconque. Nous avons illustré ces résultats dans la figure 7 pour chaque culture en fin

de phase exponentielle, en fonction de deux paramètres : les élévations thermiques et les durées d'exposition aux échauffements subis avec ou sans chloration. Il semble par ailleurs opportun de signaler que la même interprétation graphique des résultats pour *G. spencerii* faisait apparaître une sensibilité similaire à l'égard du chlore, mais une tolérance nettement plus réduite aux élévations thermiques de 15 et 17 °C, les déficiences dans le développement apparaissant pour cette diatomée dès 33 °C de température finale.

### BIBLIOGRAPHIE

- BIGGS (D.C.), ROWLAND (R.G.) et WURSTER (C.F.), 1979. — Effect of trichlorethylene, hexachlorobenzene and polychlorinated biphenyls on the growth and cell size of marine phytoplankton. — *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, **21** : 196-201.
- DAVIES (A.G.), 1976. — An assessment of the basis of mercury tolerance in *Dunaliella tertiolecta*. — *J. mar. biol. Ass. U.K.*, **56** : 39-57.
- GIBOR (A.), 1956. — The culture of brine algae. — *Biol. Bull.*, **111** : 223-229.
- HIRAYAMA (K.) et HIRANO (R.), 1970. — Influences of high temperature and residual chlorine on marine phytoplankton. — *Mar. biol.*, **7** : 205-213.
- MAGGI (P.), LASSUS (P.) et ABARNOU (A.), 1980. — Influence de chocs thermiques et d'un traitement au chlore sur la croissance d'organismes phytoplanctoniques marins. 1. La diatomée *Gyrosigma spencerii* (CLEVE). — *Science et Pêche, Bull. Inst. Pêches marit.*, n° 301 : 1-15.
- MATTICE (J.S.) et ZITTEL (H.E.), 1976. — Site-specifics evaluation of power plant chlorination. — *Journal WPCF*, **48** (10) : 2284-2308.
- STOCKNER (J.C.) et COSTELLA (A.C.), 1976. — Marine phytoplankton growth in high concentrations of pulpmill effluent. — *J. Fish. Res. Bd Canada*, **33** : 2758-2765.
- UKELES (R.), 1961. — The effect of temperature on the growth and survival of several marine algal species. — *Biol. Bull.*, **120** (2) : 255-264.
- VIDEAU (C.) et KHALANSKI (M.), 1979. — Preliminary results concerning effects of chlorine on mono-specific marine phytoplankton. — *J. Exp. mar. Biol. Ecol.*, **36** : 111-123.
-