

00183

# INSTITUT SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DES PECHES MARITIMES

L.S.T.P.M.  
Bibliothèque  
NANTES



Nantes, le 4 mars 1981



INFLUENCE D'UN TRAITEMENT AU CHLORE  
SUR LA CROISSANCE D'UNE DIATOMÉE :  
*Phaeodactylum tricorutum* (BOHLIN)

par

M. BARDOUIL, G. BOCQUENE et L. LE DEAN

Responsables scientifiques :

P. MAGGI et P. LASSUS

C O N T R A T   E . D . F .

DIRECTION DE L'EQUIPEMENT DE PARIS

Etude expérimentale des effets des échauffements  
sur la vie marine des côtes Atlantiques  
et de la Manche (1ère partie)  
du 15 juillet 1975.

LISTE DES PRECEDENTS RAPPORTS

- Influence de chocs thermiques sur la croissance d'une diatomée :  
*Phaeodactylum tricorutum* (BOHLIN) (31 janvier 1977)
- Influence de chocs thermiques sur la croissance d'une diatomée :  
*Gyrosigma spencerii* (CLEVE) (31 juillet 1977)
- Influence de chocs thermiques sur la croissance d'un flagellé :  
*Dunaliella tertiolecta* (BUTCHER) (30 novembre 1977)
- Influence de chocs thermiques et d'un traitement au chlore  
sur la croissance d'une diatomée : *Gyrosigma spencerii* (CLEVE)  
(20 avril 1978)
- Variations des zymogrammes estérasiques chez les larves de  
*Palaemon serratus* (PENNANT) soumises à différents chocs thermiques  
(13 novembre 1978)
- Influence de chocs thermiques et d'un traitement au chlore sur  
la croissance d'un flagellé : *Dunaliella tertiolecta* (BUTCHER)  
(9 novembre 1979)
- Etude de la sensibilité thermique des larves du crustacé décapode :  
*Palaemon serratus* (18 août 1980)
- Influence de chocs thermiques sur la civelle (24 septembre 1980)

# INFLUENCE D'UN TRAITEMENT AU CHLORE SUR LA CROISSANCE

D'UNE DIATOMÉE : *Phaeodactylum tricornutum*

---

## I - INTRODUCTION

Ces travaux complètent l'étude de l'influence de chocs thermiques sur la croissance de la diatomée *Phaeodactylum tricornutum* (BOHLIN). Ils concernent les effets d'un traitement au chlore sur le développement de cette diatomée. —

Rappelons que ces études s'inscrivent dans celles, plus générales, menées dans les laboratoires de l'I.S.T.P.M. (Nantes) afin de tenter de prévoir les effets engendrés par l'implantation de centrales nucléaires sur le littoral de l'Atlantique et de la Manche.

Les espèces planctoniques transitant dans les condenseurs de ces centrales seront ainsi soumises dans la plupart des cas, à la fois à une élévation thermique brutale et au traitement par le chlore utilisé comme anti-fouling.

La chloration a été effectuée aux quatre températures suivantes : 12°, 16°, 20° et 24° C. Pour chacune de ces températures la culture subit différentes chlorationes : 0,1 ; 0,3 ; 0,5 ; 0,7 et 1 mg/l pendant 5, 10, 15, 25 et 40 mn.

## II - METHODOLOGIE

### A - Montages expérimentaux

Le circuit expérimental est constitué :

- . d'un aquarium d'une capacité de 250 l, destiné à recevoir la culture phytoplanctonique qui subira le traitement,
- . d'un système de pompage à débit déterminé et constant,
- . d'un système d'injection des différentes solutions d'hypochlorite de sodium constitué d'une micropompe à débit constant (photo 1).

Les cultures traitées sont récupérées à la fin de chaque transit dans des ballons en pyrex de 10 l placés en salles de culture.

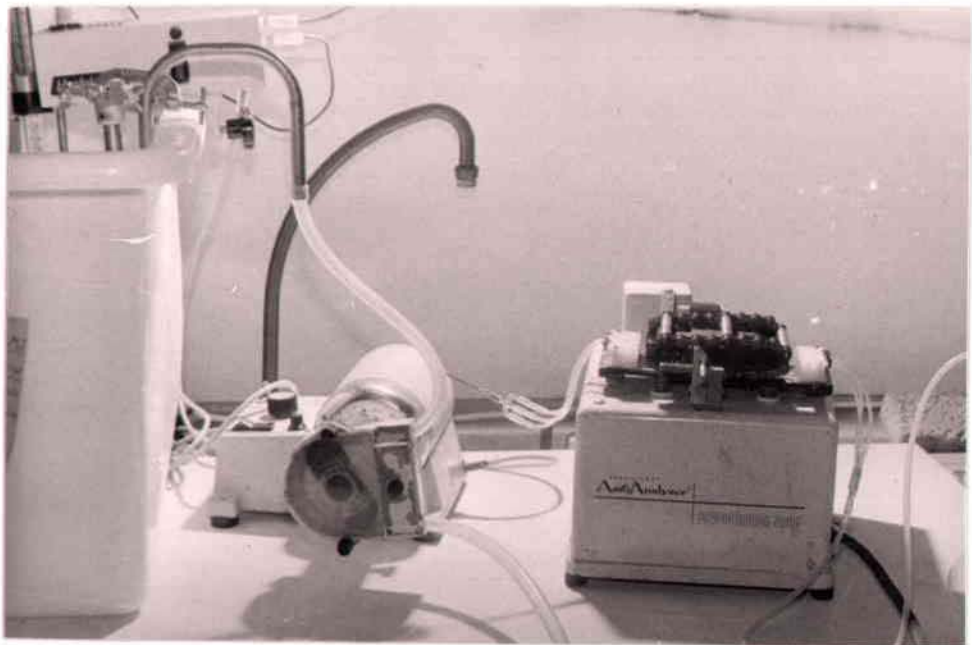


Photo 1 : Système d'injection des différentes solutions d'hypochlorite de sodium : aiguille alimentée par une micropompe à débit constant.

### B - Salles de culture

Quatre salles sont utilisées pour le suivi des cultures.

Chaque salle assure une régulation thermique précise de 12°, 16°, 20° et 24° C. De plus, un éclairage artificiel de 3000 lux au niveau de la culture est maintenu 12 heures par jour en alternance avec une phase d'obscurité de même durée.

### C - Méthode expérimentale

Pour obtenir en début d'expérimentation une concentration de phytoplancton comprise entre 10 000 et 20 000 cellules, on inocule 250 l d'eau de mer filtrée sur membrane cellulosique de 0,22  $\mu$  avec un volume déterminé d'une souche stérile de *Phaeodactylum tricornerutum* en fin de croissance exponentielle.

L'eau de mer est maintenue à température (12°, 16°, 20° ou 24° C) grâce à un thermorégulateur. Par l'intermédiaire du circuit de pompage six litres de culture sont prélevés pour chaque échantillon.

La chloration s'effectue au sortir de la pompe par injection d'une solution d'hypochlorite de sodium préalablement titrée et diluée afin d'obtenir dans le circuit les concentrations en chlore actif souhaitées.

Au bout de 5, 10, 15, 25 et 40 mn l'action du chlore sur les cultures de diatomées est stoppée par adjonction de 2 ml de thiosulfate de sodium N/10.

Après cette neutralisation on ajoute 2 ml du milieu nutritif ES de PROVASOLI par litre de culture. Des essais préliminaires ont montré que la concentration en thiosulfate utilisée était sans effet sur la croissance des organismes et excédait le seuil nécessaire à la neutralisation du chlore libre résiduel. La disparition du chlore a été suivie pour chaque essai par la méthode à la diéthylparaphénylène diamine (D.P.D.) appliquée à l'eau de mer (FIQUET, 1978).

Les cultures sont suivies dans les salles thermostatées jusqu'à l'obtention de la phase de plateau chez les témoins.

#### D - Méthodes de mesure

##### a) Comptages cellulaires

Les méthodes ont été décrites en détail dans les précédents rapports ; l'évolution des cultures est suivie chaque jour par des comptages cellulaires à l'aide d'un compteur de particules "COULTER COUNTER", modèle ZB. Un analyseur, modèle C 1000 est couplé au compteur et donne la distribution des cellules de phytoplancton en fonction de leur volume.

##### b) Traitement des données

Les fréquences cellulaires pour chaque intervalle de taille sont enregistrées sur un télétype "TEXAS SILENT 700 ASR". Ces données sont traitées par une calculatrice "HEWLETT-PACKARD modèle 30".

Chaque jour et pour chaque essai on dispose :

- . du nombre de cellules de *Phaeodactylum tricorutum* par ml de culture,
- . du pourcentage de développement des essais par rapport aux témoins,
- . de la distribution des volumes cellulaires.

### III - RESULTATS

#### A - Croissance cellulaire

Les résultats sont exprimés en fonction de chaque injection de chlore testée :

- l'injection de 0,1 mg de chlore par litre ne semble pas provoquer de dommages aux cultures, ceci quelle que soit la température d'expérimentation (figure 1) ;

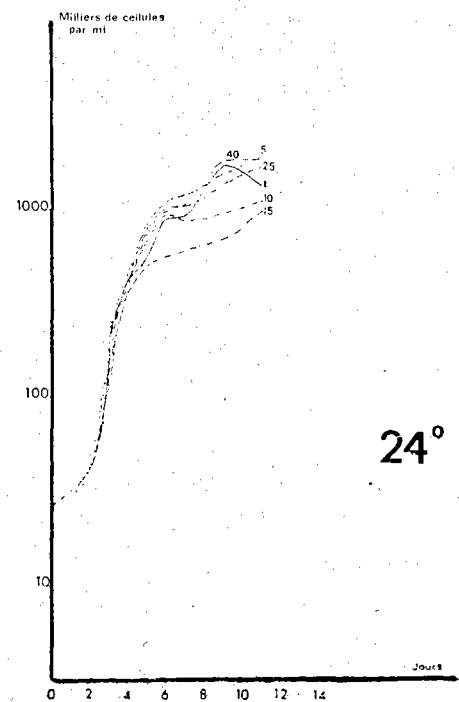
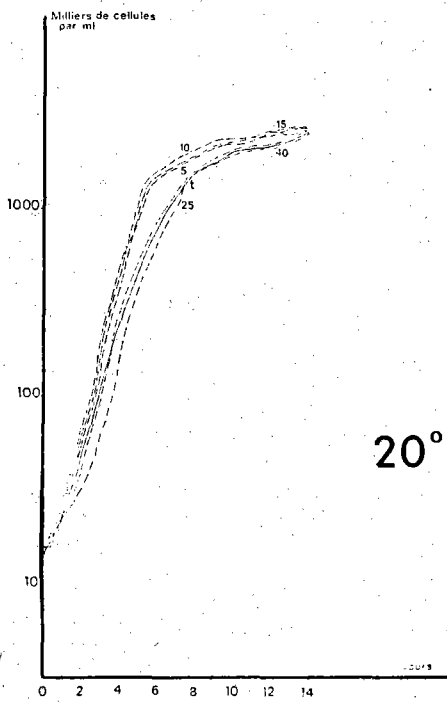
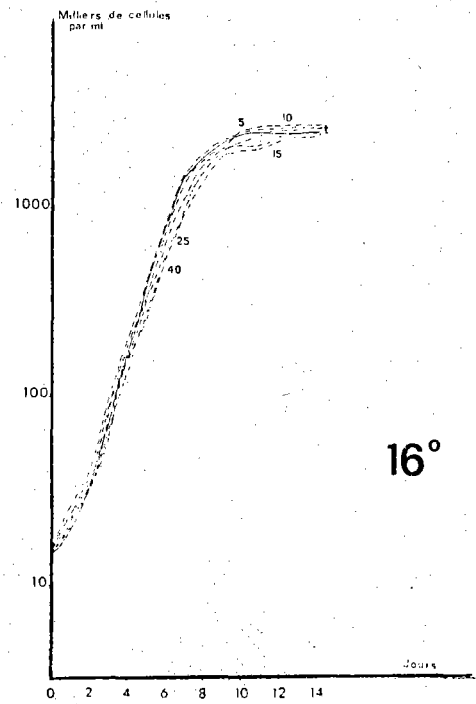
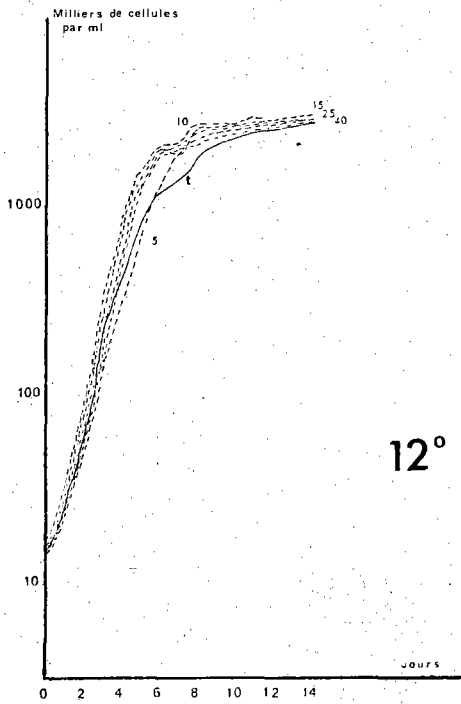


Figure 1 : Influence d'un traitement au chlore (0,1 mg/l) sur la multiplication cellulaire de *Phaeodactylum tricornutum* aux températures de 12, 16, 20 et 24°C pendant 5, 10, 15, 25 et 40 mn.



- l'injection de 0,3 mg/l de chlore entraîne un retard dans le développement et fait donc apparaître une phase de latence qui va de quatre jours pour la température de 12° C à six/huit jours pour les trois autres températures 16°, 20°, et 24° C (figure 2) ;
- on peut noter des retards dans le développement plus accentués à 20° C pour 0,3 mg/l de chlore initial ce qui pourrait résulter d'un effet plus immédiat de la concentration en oxydants totaux, ou d'une demande en chlore plus faible de l'eau de mer utilisée dans cette expérience ;
- les injections de 0,5 - 0,7 et 1 mg de chlore/l provoquent une destruction quasi-totale des cellules, aux températures initiales de 16, 20 et 24° C. Toutes les courbes de développement sont très voisines quelles que soient les températures initiales. Ce type de courbe est représenté dans la figure 3. Les effets sont moindres pour les mêmes chlorations effectuées à 12° C (figure 4).

#### B - Pourcentages de développement par rapport aux témoins

La figure 5 confirme les observations faites précédemment. Il semble que les cultures traitées avec 0,1 mg de chlore par litre se développent plus rapidement que les témoins tandis qu'à partir de 0,5 mg/l de chlore injecté le développement est bloqué pendant au moins dix jours après la chloration.

#### C - Volumes cellulaires par rapport aux témoins

Afin de quantifier les effets de la chloration on a représenté sur la figure 6 les modifications des volumes cellulaires moyens des cultures traitées par rapport aux cultures témoins soit le rapport  $\frac{V}{V_0}$ . Dans ce cas, V représente le volume cellulaire moyen (mode de la distribution) des cultures chlorées et  $V_0$  celui du témoin. Il apparaît clairement qu'une chloration de 0,1 mg/l n'entraîne pas de modifications significatives de la taille des cellules par rapport aux témoins.

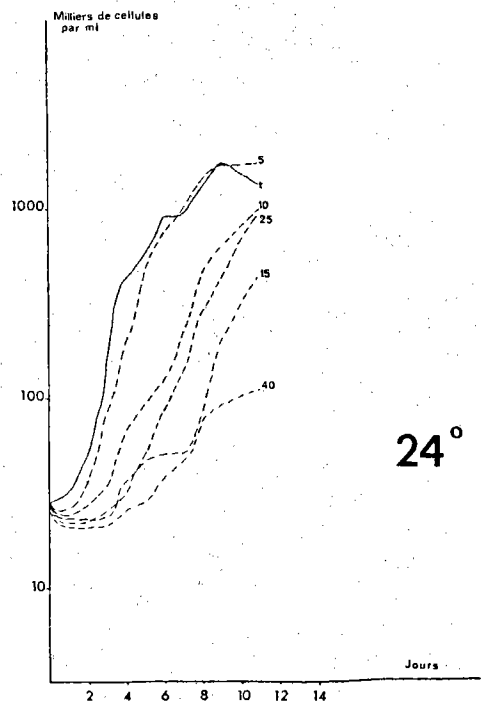
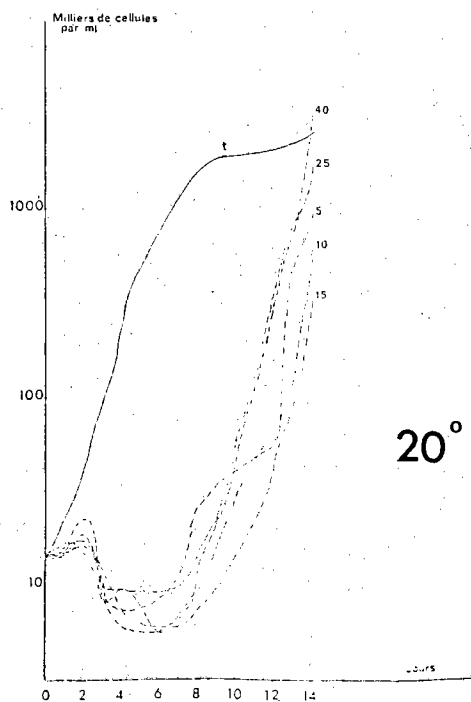
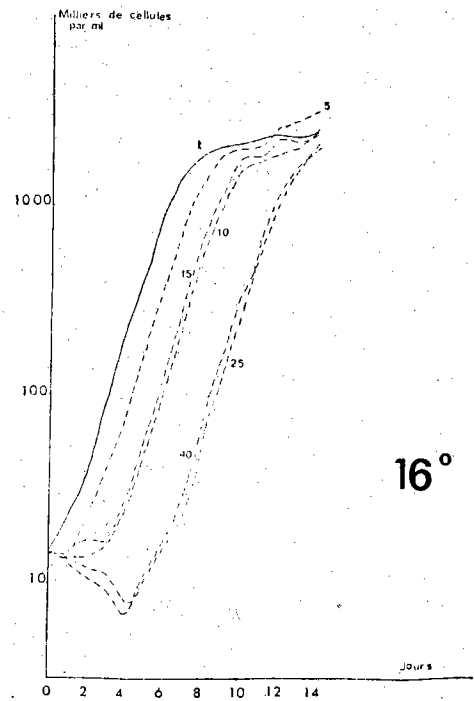
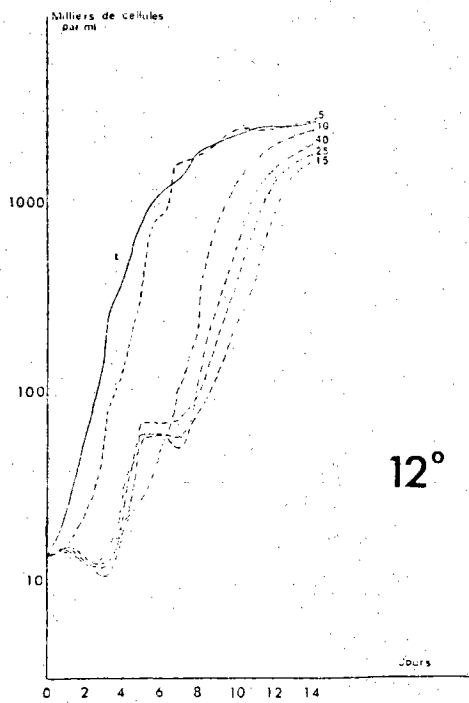


Figure 2 : Influence d'un traitement au chlore (0,3 mg/l) sur la multiplication cellulaire de *Phaeodactylum tricornerutum* aux températures de 12, 16, 20 et 24° C pendant 5, 10, 15, 25 et 40 mn.

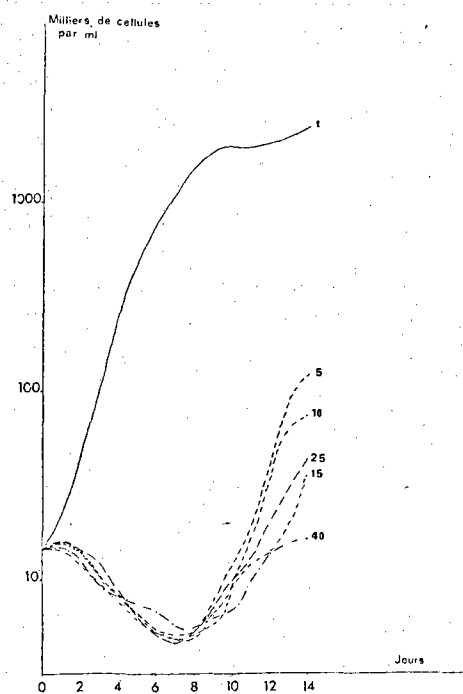


Figure 3 : Courbes-types de l'influence d'un traitement au chlore (0,5 mg/l, 0,7 mg/l et 1 mg/l) sur la multiplication cellulaire de *Phaeodactylum tricornutum* aux températures de 16, 20 et 24° C pendant 5, 10, 15, 25 et 40 mn.

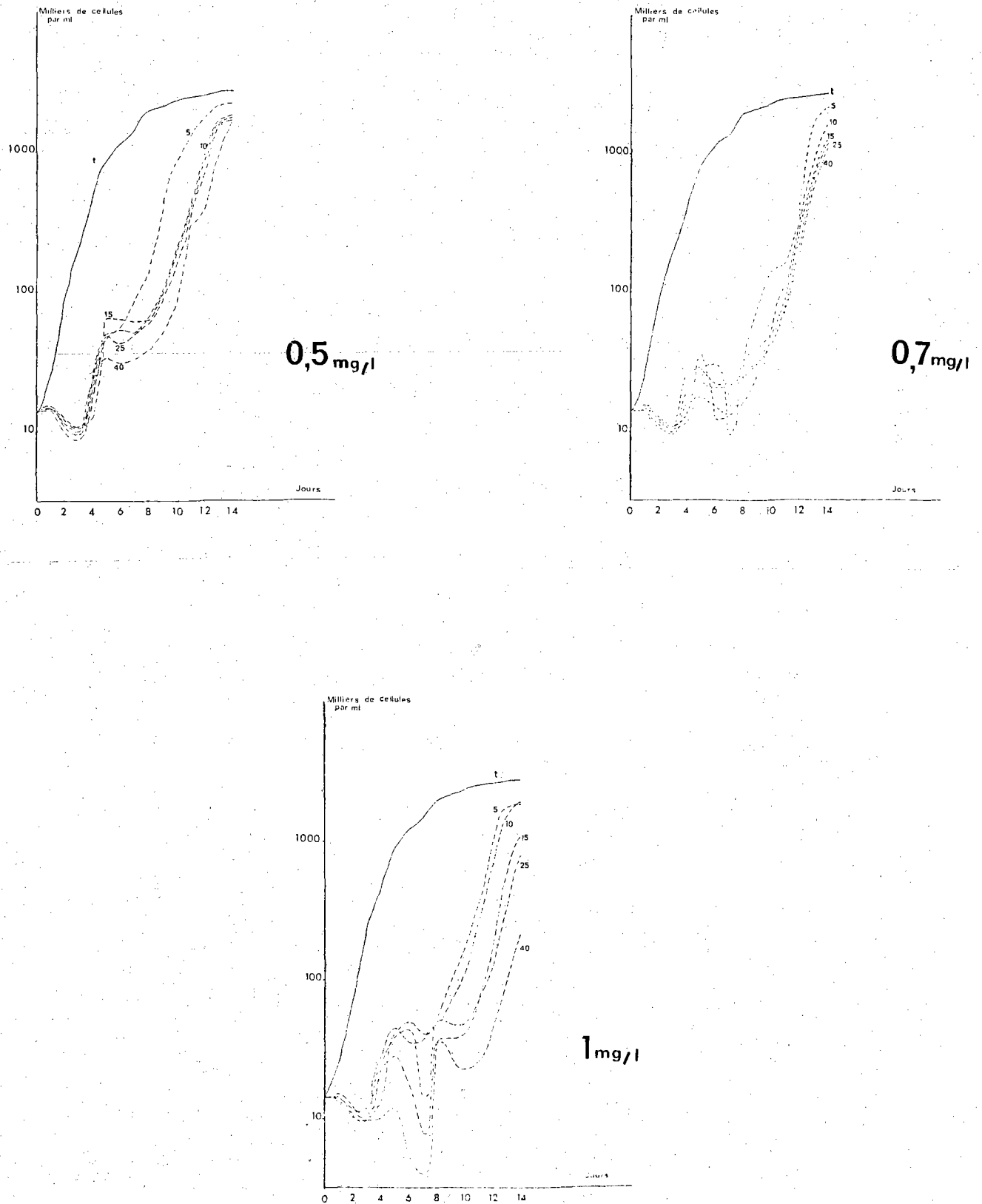


Figure 4 : Influence d'un traitement au chlore (0,5 mg/l, 0,7 mg/l, 1 mg/l) sur la multiplication cellulaire de *Phaeodactylum tricorneratum* à la température de 12° C.

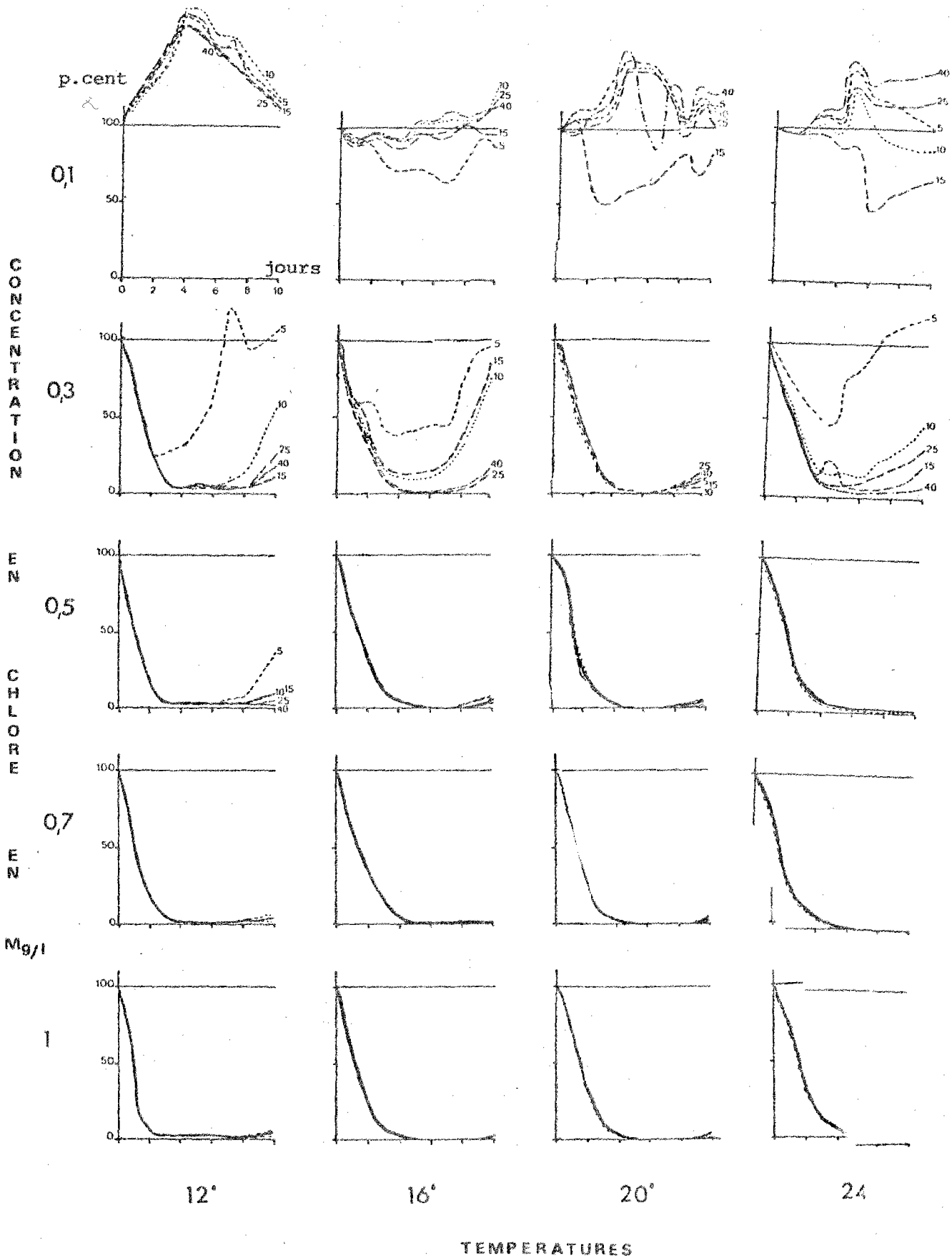


Figure 5 : Pourcentage de développement par rapport aux témoins de cultures de *Phaeodactylum tricornutum* subissant un traitement au chlore à différentes températures.

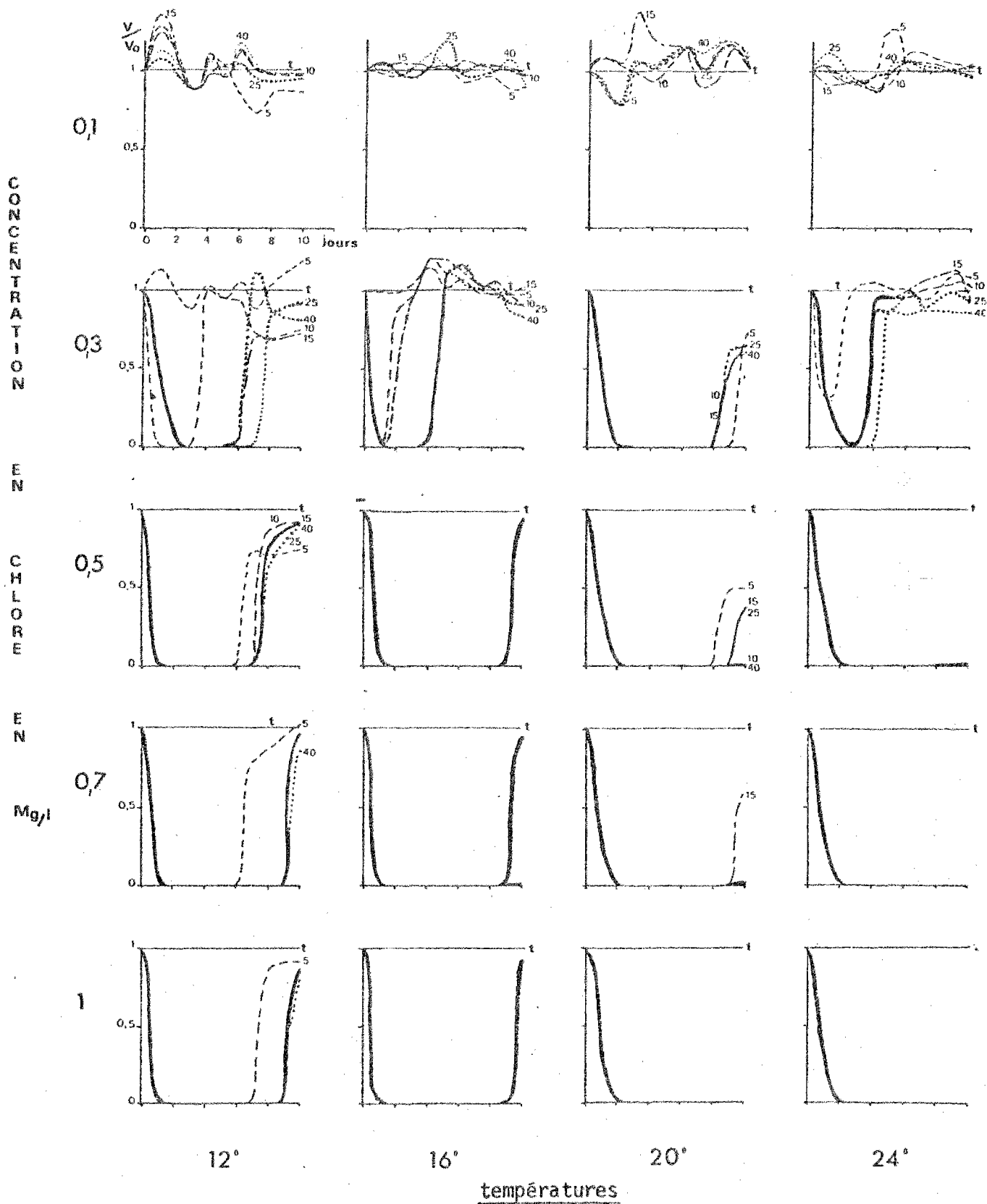


Figure 6 : Modifications des volumes cellulaires moyens des cultures traitées au chlore par rapport aux cultures témoins (soit  $V_0$ ) à différentes températures.

Aux autres concentrations on note une diminution brutale du volume cellulaire qui correspond en fait à une chute du nombre de cellules. En effet, les réglages du compteur de particules sont ajustés à la taille de la diatomée, ce qui entraîne une absence de pic lorsque les particules comptées sont inférieures à 3 microns. D'autre part, si la densité cellulaire de la diatomée est inférieure à celle d'autres particules de taille différente (bactéries ou autres), c'est le pic caractérisant ces particules qui sera pris en compte.

A 24° C pour des concentrations en chlore de 0,5 - 0,7 et 1 mg/l cette diminution aboutit à une totale inhibition de la croissance (figure 6).

#### IV - DISCUSSION

Une synthèse des résultats est donnée par les diagrammes de la figure 7.

On constate que :

- . une chloration de 0,1 mg/l n'a pas d'effet sensible et accompagne même parfois une certaine amélioration de la division cellulaire à 12° C,
- . une chloration de 0,3 mg/l fait apparaître des résultats variables selon la charge organique de l'eau de mer utilisée mais d'une façon générale des retards proportionnels à la durée de la chloration se manifestent dans le développement des cultures. Ce taux de chloration représente une concentration seuil pour laquelle on détecte les premiers effets létaux,
- . au-dessus de 0,3 mg/l, la chloration entraîne un blocage total du développement sept jours après l'inoculation.

La concentration cellulaire initiale, de l'ordre de 15 000 cellules/ml représente une concentration très supérieure à celle du milieu naturel, ce qui, en laboratoire, pourrait expliquer une reprise du développement après quelquefois 10 jours de latence, cette reprise restant peu probable dans le milieu naturel où les densités cellulaires rencontrées sont très faibles pendant la plus grande partie de l'année.

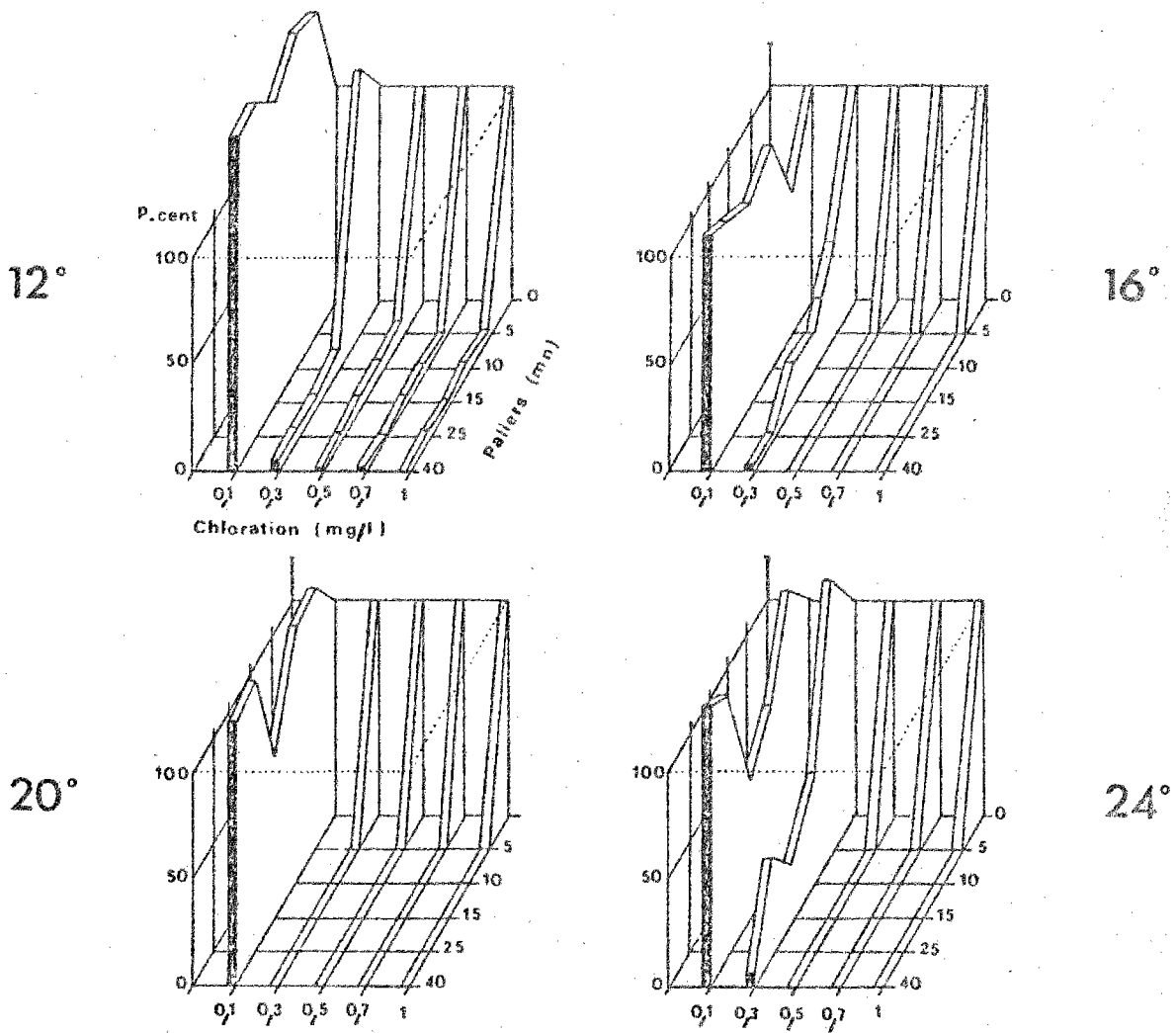


Figure 7 : Effets de chloration à 0,1 - 0,3 - 0,5 - 0,7 et 1 mg/l sur le développement de *Phaeodactylum tricornerum* au 7ème jour de culture.



Des expériences ultérieures devraient permettre de confirmer l'hypothèse d'un blocage des cellules survivantes au niveau de leur division cellulaire. Cependant, une réduction initiale de la densité cellulaire par la mortalité pourrait suffire à expliquer les retards importants constatés dans la reprise du développement. En effet, une simple dilution de l'inoculum à des concentrations inférieures à 1 cellule par ml entraîne des retards comparables (jusqu'à 270 heures) comme l'attestent la relation de la figure 8 et la droite de régression de la figure 9.

De telles abaques devraient permettre d'estimer la mortalité initiale pour chaque culture expérimentée.

Les fluctuations numériques qui précèdent les phases exponentielles des cultures présentant des retards importants (cf figures 2 à 4) sont expliquées par l'analyse comparée des figures 6 et 2, 3, 4. Ces variations ne correspondent pas au pic caractéristique de la diatomée pour les volumes cellulaires moyens mais à des particules indéterminées inférieures à  $15 \mu^3$  (cf travaux précédents) (\*).

#### V - CONCLUSIONS

De l'ensemble de ces résultats, il semble que la diatomée *Phaeodactylum tricorutum* est sensible à des concentrations de chlore injectée aussi faible que 0,3 mg/l quelle que soit la température d'expérience.

Cependant, comme l'ont montré VIDEAU et Coll. (1979) la concentration cellulaire initiale joue un rôle important sur le taux de cellules survivantes. Ainsi, les pourcentages de mortalité constatés pour une concen-

(\*) Influence de chocs thermiques et d'un traitement au chlore sur la croissance d'une diatomée *Gyrosigma spencerii* (P. MAGGI, P. LASSUS, A. ABARNOU, 1978).

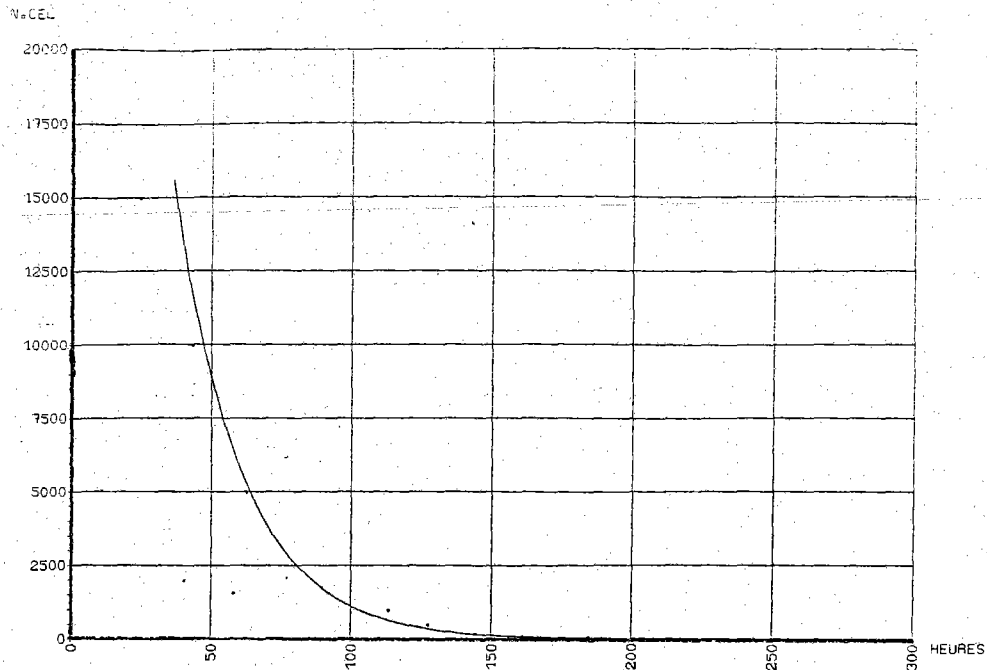


Figure 8 : Relation entre le nombre de cellule initial de *P. tricornutum* et l'augmentation (en heures) de la phase de latence.

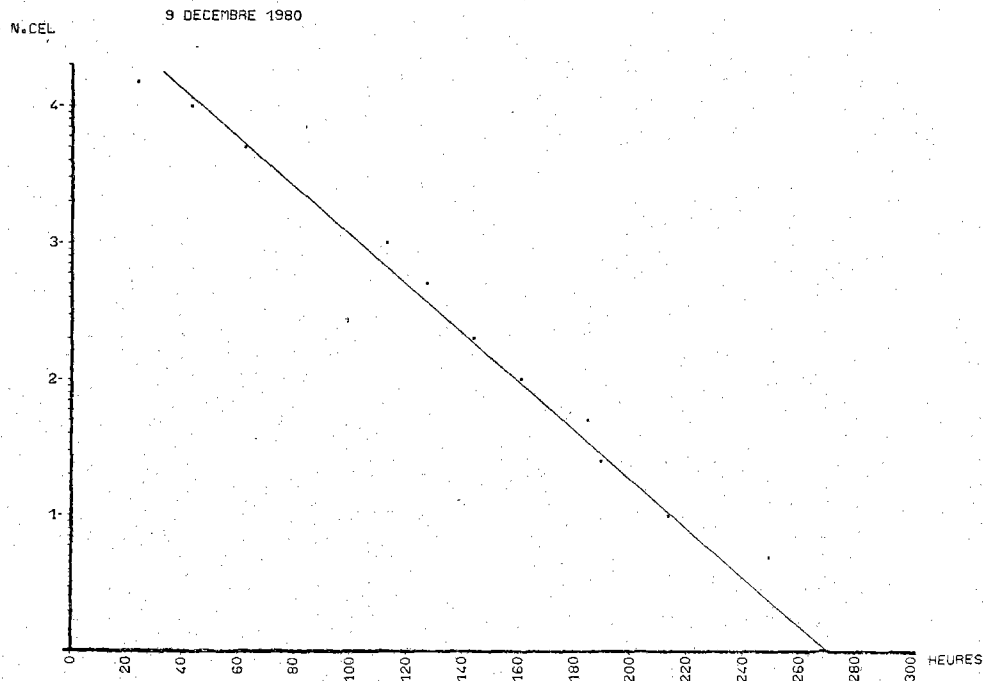


Figure 9 : Droite de régression correspond à la relation de la figure 8.

tration en chlore donnée vont en croissant régulièrement lorsque le logarithme décimal de la concentration cellulaire initiale diminue. Ces résultats sont particulièrement nets pour la chlorophycée *Dunaliella primolecta*. Les auteurs expliquent ce phénomène par le fait que la quantité d'agent oxydant disponible au niveau de chaque cellule est d'autant plus faible que la surface cellulaire est plus élevée.

D'autre part, l'allongement considérable de la phase de latence dans le développement des cultures chlorées de *P. tricornutum*, semble imputable à la mortalité initiale, d'autant que la relation : concentration cellulaire initiale/ retard dans le développement est de type logarithmique.

A partir de ces premières observations, il semblerait que l'hypothèse d'un blocage au niveau de la division des cellules survivantes puisse être envisagée mais qu'elle n'est pas encore prouvée.

#### VI - BIBLIOGRAPHIE

- FIQUET (J.M.), 1978. - Contribution à l'étude du dosage du chlore dans l'eau de mer. Techniques et Sciences municipales, l'Eau : 239 - 245.
- HIRAYAMA (K.), HIRANO (R.), 1970. - Influence of high temperature and residual chlorine on marine phytoplankton. Marine Biol. 7 : 205 - 213.
- KHALANSKI (M.), 1977. - Influence du fonctionnement d'une centrale thermique sur la production primaire planctonique du port de Dunkerque. - Rapport EDF, E-31-77/n° 3 janv.
- VIDEAU (C.), KHALANSKI (M.) et PENOT (M.), 1978. - Effets de la chloration sur des cultures monospécifiques de phytoplancton marin. - Résultats préliminaires. J. Rech. Océanogr. (3) 2 : 19 - 28.
- VIDEAU (C.), KHALANSKI (M.) et PENOT (M.), 1979. - Preliminary results concerning effects of chlorine on monospecific marine phytoplankton. J. exp. mar. Biol. Ecol. 36 : 111 - 123.

