JOURNEES DE LA THERMO-ECOLOGIE CENTRE OCEANOLOGIQUE DE BRETAGNE 15 - 16 NOVEMBRE 1976

UTILISATION DES DOSAGES D'ADENOSINE TRI-PHOSPHATE (A T P) DANS L'ESTIMATION DES PERTES DE MATIERES VIVANTES AU COURS DU TRANSIT DANS LES CONDENSEURS DE LA CENTRALE DE DUNKERQUE

M. HERAL

Institut Scientifique et Technique des Pêches Maritimes — Nantes Centre de la Tremblade

avec la collaboration de D. WOERHLING

RESULE: Des dosages d'adénosine triphosphate nous ont permis d'estimer la mortalité planctonique provoquée par le transit des eaux de refroidissement dans les condenseurs de la centrale thermique de Dunkerque.

Pour le phytoplancton, le chlore employé comme biocide provoque une perte de 70 à 95 % de la biomasse absorbée.

Une méthode d'extraction de 1'A T P a été mise au point pour le zooplancton afin de connaître l'évolution des planctontes vivants. Les résultats montrent que les pertes sont faibles voire nulles et que certaines espèces semblent proliférer à proximité immédiate du rejet.

Une approche du taux de mortalité des larves de poissons, par comptage sur les grilles d'aspiration, semble montrer que celle-ci est très élevée.

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'une étude globale de l'écosystème particulier d'un bassin du port de Dunkerque. Il ne constitue qu'un maillon de l'ensemble des études menées par l'Institut Océanographique, la station Biologique de Wimereux, l'Institut Scientifique et Technique des Pêches Maritimes et la Direction des études et recherches E D F de Chatou. Nous avons tenté d'effectuer une première approche de la perte directe de matière vivante au cours du transit dans les condenseurs par la mesure de l'A T P. Après avoir exposé les caractéristiques de la centrale de Dunkerque, nous présenterons brièvement les résultats obtenus sur le phytoplancton. Nous développerons plus particulièrement la technique et les résultats du zooplancton et aborderons le problème de l'ichtyoplancton.

Caractéristiques de la centrale de Dunkerque

La centrale E D F de Dunkerque est une centrale thermique au fuel de faible puissance (environ 500 MW). Elle est équipée de quatre tranches de 125 LM chacune. Chaque tranche aspire en moyenne 5,5 m³/s. Périodiquement, une tranche est arrêtée pour entretien, le débit de l'eau aspiré par la centrale varie donc de 16 à 21 m³/s. Le trajet de l'eau dans le circuit de refroidissement dure 15 mm. La prise d'eau est située à la profondeur de 14 mètres tandis que le rejet s'effectue en surface avec un effet de jet. La différence de température entre la prise et le rejet (Δ T) est voisine de 7° C, mais il existe une certaine recirculation (Δ T') de l'ordre de 3° C.

L'adénosine triphosphate (A T P)

HOLM - HANSEN et BOOTH (1966) ont mis au point une méthode d'estimation de la matière vivante présente dans l'eau de mer : le dosage de l'A T P. Présent chez tous les végétaux et animaux, l'A T P est rapidement détruite à la mort des organismes, ce qui lui permet d'être un paramètre spécifique de la vie. L'A T P est le stockeur d'énergie des cellules. Sous l'action d'enzymes (phospho-kinases), l'A T P se transforme en A D P + P avec un dégagement d'énergie (8000 calories DAU.AS).

M. HERAL 147

DAUMAS et FIALA (1969) puis LABORDE (1972) appliquèrent en France cette méthode dans l'estimation de la biomasse phytoplanctonique. Seus BALCH (1972) et ROMANO (1975 communication personnelle) entreprirent des travaux préliminaires sur les teneurs des copépodes en A T P. Il ne faut pas chercher dans les mesures des taux d'A T P la solution de tous les problèmes que nous nous posons pour estimer la biomasse planctonique mais cette mesure, associée aux autres paramètres plus souvent étudiés (chlorophylle, C₁₄, protéines, comptages du phyto et du zooplancton, etc...) nous permet de mieux saisir la part du matériel vivant.

Principe du dosage

Mc ELROY (1947) a montré que des extraits de queues de lucioles (Photynus pyralis) produisent un éclair lumineux lorsqu'ils sont en présence d'A T P selon la réaction :

A T P + luciferine $\frac{\text{luciferase}}{\text{Mg} + +}$ luciferine AMP + P-P luciferine AMP + 0₂ $\frac{\text{luciferase}}{\text{luciferine}}$ luciferine oxydée AMP + H₂O + photons

et luciferine oxydée APM + P $\xrightarrow{\text{luciferase}}$ luciferine oxydée + A T P

L'émission de photons est proportionnelle à la quantité d'A TP extraite. La réaction est très rapide (quelques secondes). Nous avons effectué ces dosages sur un pico A TP mètre de chez Jobin Yvon. Cet appareil est muni d'un injecteur automatique.

La technique du dosage est celle que nous a enseigné LABORDE qui est décrite dans sa thèse.

Phytoplancton

Résultats: Le professeur BROUARDEL dans le cadre de l'étude de la productivité primaire du bassin de Dunkerque et de l'influence de la centrale E D F effectue des dosages d'A T P. C'est pour cette raison que nous n'avons pas poursuivi les études sur ce sujet. Lors de l'extraction, l'eau est préfiltrée sur une maille de 150 µ pour éviter la présence de zooplancton, la filtration a lieu sur un filtre de 0,45 µ. Les dosages d'A T P portent donc sur le phytoplancton, les ciliés et la microflore.

Nos prélèvements ont été effectués le premier juin le matin et l'après midi. Les températures à la prise étaient voisines de 18°. La chloration était effectuée en continu à un taux voisin de 1mg/l. Au rejet, le taux résiduel en chlore libre avait pour valeur moyenne 0,21 mg/l. Le matin, on constate une perte moyenne de 95 % du phytoplancton aspiré. L'après midi elle est de 73 %. Ces résultats rejoignent ceux trouvés par EROUARDEL avec la méthode du carbone 14, qui constate une inhibition de 90 à 95 % de production primaire dans des échantillons chlorés maintenus en incubation en situ.

Nous remarquons que la biomasse est très élevée dans ce bassin semi-fermé, zone particulièrement eutrophe.

Discussions: Il faut noter qu'avec la technique employée, les dosages d'A T P dans ce bassin sont entachés de forts taux d'inhibition (40 à 80 %); ces taux d'inhibition sont mesurés par la méthode des "étalons internes". LABORDE (1972) cite comme inhibiteur de l'émission lumineuse:

- les anions monovalents (chlore-nitrites)
- des inhibiteurs naturels et enzymes hydrolitiques dans les extraits
 - la turbidité des échantillons
 - la présence d'ions NH,+

Ces fortes inhibitions induisent une relativité des résultats qui restent comparables les uns par rapport aux autres et nous permettent de connaître le pourcentage de mortalité entre la prise et le rejet.

Parallèlement, le matin on constate une baisse des teneurs en chlorophylle a de 58 % entre la prise et le rejet et une augmentation des teneurs en phéopigments de 36 %; l'après midi, la baisse en chlorophylle a est identique 57 % mais le taux de phéopigments reste constant. L'A T P paraît donc être un meilleur paramètre pour estimer la biomasse de phytoplancton vivant car la dégradation de la chlorophylle en phéopigment est lente et entraîne donc des erreurs par excès. Malgré la prolifération éventuelle de cyanophycées et l'apport de salissures dûes au transit dans les condenseurs, on

M. HERAL 149

peut affirmer que, comme les résultats de carbone 14 et de chlorophylle a (BROUARDEL) vont dans le même sens que nos dosages de chlorophylle a, de phéopigments et d'A T P, l'incidence des injections de chlore provoque une mortalité des populations phytoplanctoniques de 70 à 95 %.

Zooplancton

HOLM - HANSEN (1970) indique que la teneur d'A T P du copépode <u>Calanus helgolandicus</u> est relativement stable. BALCH (1972) estime que les teneurs en A T P sont stables par rapport aux teneurs en carbone pour le copépode <u>Calanus finmarchicus</u>.

Par contre, d'après BOUCHER et SAMAIN (communication personnelle), les teneurs en A T P des copépodes varient dans de grandes proportions avec les conditions physiologiques des organismes. D'autre part, les teneurs en A T P des copépodes seraient très différentes d'une espèce à l'autre. Il serait intéressant de connaître les variations du taux d'A T P des copépodes en fonction des espèces, de leur taille et des différentes conditions physiologiques comme viennent de le faire BOUCHER et coll. (1976) pour les teneurs en carbone et azote.

Cependant, nous avons estimé que parallèlement à des expériences d'incubations de copépodes in situ, réalisées par BRYLINSKI, et à des comptages de populations effectués par WOERHLING et HALGAND, les dosages d'A T P du zooplancton nous apporteraient des résultats complémentaires intéressants. Nous avons donc effectué des extractions d'A T P en travaillant sur d'assez grands volumes d'eau filtrée (30 litres) afin de réduire la variabilité des échantillons. Les prélèvements au rejet ont été effectués environ 15 minutes après les prélèvements de la prise d'eau (temps de transit dans les condenseurs), ce qui permet de travailler sur la même population zooplanctonique et donc sur les mêmes abondances relatives de copépodes comme Acartia, Témora, Centropages. Ceci permet donc de réduire les variations du taux d'A T P inter spécifique. Enfin, nous nous sommes attachés à perturber le moins possible les organismes en évitant l'emploi de filet à plancton et en conservant les planctontes en permanence dans de l'eau de mer.

Cette méthode nous a obligés à non broyer les organismes et donc à procéder à des extractions incomplètes, mais en opérant d'une manière rigoureusement identique, nous avons tenté d'atteindre le même seuil d'extraction pour chaque échantillon.

Technique:

Nous filtrons 20 à 30 litres d'eau prélevés par une pompe sur une soie de 150 µ immergée dans un récipient. Ceci nous permet de travailler sur 30 à 50 planctontes. Les organismes sont en permanence dans l'eau jusqu'au moment de l'extraction qui s'effectue dans un tampon TRIS bouillant, les copépodes restent sur le filtre de soie, les organismes ne sont pas broyés. Les premiers essais ont été effectués avec une toile de nylon mais celle—ci au contact du tampon TRIS bouillant provoque une inhibition de la réaction lumineuse d'environ 40 ½. C'est pour cette raison que nous avons par la suite préféré la soie qui ne cause guère d'inhibition si elle ne reste pas plus de 5 minutes dans le TRIS bouillant.

Les prélèvements ont été effectués en double ou en triple et chaque dosage est effectué trois fois.

Résultats:

Les expériences ont eu lieu le 1er juin puis le 20 août le matin et l'après midi. Elles montrent une faible mortalité du zooplancton quelque soit la température et la chloration. En juin, nous ne constatons aucune diminution du taux d'A T P dans la tranche 1 et dans la tranche 2; la tranche 4 la plus chlorée présente 52 % de diminution du taux d'A T P. La perte moyenne de biomasse est de 20 ;.

En août, sans chloration, nous trouvons une diminution de 35 % tandis que, avec la chloration et à des températures de 31°, nous trouvons une augmentation de la teneur d'A T P de 80 %.

Ce phénomène a également été observé par MOERHLING en avril au cours de pêches de plancton réalisées au devant de la centrale avec un filet Bongo. Il constate une plus grande abondance de planctontes au rejet qu'à la prise, et ce en particulier pour les larves de cirripèdes et de <u>Carcinus maenas</u>. D'autre part, GAUDY et BENON dans la centrale de Martigue ont trouvé une prolifération plus abondante de copépodes dans les rejets d'eau chaude.

M. HERAL 151

Il semble donc que les populations zooplanctoniques soient peu perturbées par le passage dans les condenseurs.

Il est à noter que dans tous les prélèvements effectués de jour, le zooplancton est de 4 à 20 fois plus abondant au fond à 13 mètres qu'en surface. Il semble que les copépodes s'écartent des eaux de surface plus chaudes et chargées de polluants divers.

Discussion:

Il ne semble pas exister de mortalité importante du zooplancton au cours du transit dans les condenseurs et ce même lors des conditions particulièrement défavorables du mois d'août (températures supérieures à 30° C).

Par contre, à proximité du rejet, dans le panache thermique (26 à 28°), les eaux de surface sont très pauvres en zooplancton (87 % d'A T P de moins qu'au rejet).

Il peut se produire soit une mortalité et une sédimentation des organismes perturbés comme l'ont trouvé CARPENTER et <u>coll</u> (1972), soit une nage active de planctontes vers le fond ce qui leur permet de s'éloigner des eaux surchauffées et chlorées ; c'est d'ailleurs ce qui semble se produire dans la totalité du bassin.

Il ne faut pas non plus ignorer que pour le zooplancton la dégradation de l'A T P à la mort des organismes n'est pas immédiate (10 minutes d'après ROHANO). Il serait alors intéressant de mesurer la charge énergétique globale (ALP + ADP + ATP) de ce zooplancton car lors de variations physiologiquement stressantes, les rapports de chaque adénosine évoluent rapidement.

Cette méthode reste enfin à perfectionner. Il semble préférable d'augmenter le volume filtré. D'autre part, l'emploi de colorant à la prise d'eau permettrait d'être certain de travailler au rejet dans la même masse d'eau.

Ichtyoplancton

Etant donné la faible abondance de larves de poissons et la difficulté à les récolter vivantes, la méthode de dosages d'A T P ne peut être appliquée. Il semble, qu'il soit possible d'effectuer des comptages des larves mortes sur les tamis rotatifs à la prise d'eau.

En calculant en un temps précis le volume d'eau aspiré et en se reportant à des pêches d'ichtyoplancton effectuées au voisinnage de la prise, on peut estimer le pourcentage de mortalité des larves. D'après nos comptages, il semble qu'il soit proche de 100 % et ce principalement à cause des chocs contre les grilles d'aspiration.

Pour les oeufs de poissons il semble difficile de trouver une méthode car leur opacité lors du comptage peut être dûe à de nombreux facteurs :

- absence de fécondation
- arrêt de l'embryogénèse
- choc physique lors de la pêche.

Conclusion

Cette étude préliminaire a montré que les teneurs en adénosine triphosphate apportent des renseignements fort utiles. Cependant cette méthode doit encore être perfectionnée plus spécialement pour l'étude du zooplancton avant que nous puissions tirer des conclusions définitives.

Il serait cependant souhaitable d'intégrer dès maintenant ce paramètre aux études de projets (Gravelines, Paluel et Flamanville) afin de permettre une meilleure connaissance du matériel vivant, avant l'implantation de la centrale. Enfin, les résultats présentés concernent une centrale de 500 MJ et les effets provoqués par une centrale nucléaire de 5000 MJ risquent d'être sensiblement différents. Il serait peut-être intéressant d'effectuer dès maintenant ces dosages sur une centrale de puissance intermédiaire, par exemple la centrale de Cordemais dans l'estuaire de la Loire (2000 MJ).

ZOOPLANCTON

Date	Lieu	Profondeur en mètres	Quantité d'eau filtrée litre	ATP $\mu_{\mathbb{S}}/1$ d'extraict	ATP µg/1 d'eau de mer	ATP moyenne µg/1	Variation entre prise et rejet
1er Juin 16 H	Prise	- 1	20	5	0,025	0,025	
avec chloration	Prise	- 7	20	8	0,040	0,040	
1er Juin 16 H avec chloration	Prise réelle	- 14	20	20	0,100		- 20 %
	Prise réelle	- 14	20	22	0,110	0,100	
	Prise réelle	- 14	30	20	0,100		
1er Juin 16 H avec chloration	Rejet tranche 1	– 1	20	20	0,100		
	Rejet tranche 2	1	20	18	0,090	0,080	
	Rejet tranche 4	- 1	20	10	0,050		
20 août sans chloration	Prise	- 1	30	1,7	0,008		
	Prise	- 1	30	2	0,010	0,090	
20 août sans chloration	Prise	- 7	30	7,5	0,037	0.006	
	Prise	- 7	30	3	0,015	0,026	
20 août sans chloration	Prise réelle	- 14	30	52	0,260	0,200	- 35 ⅓
	Prise réelle	- 14	30	30	0,150	0,200	
20 août sans chloration	Rejet	- 1	30	30	0,15	0.430	
	Rejet	- 1	30	22	0,11	0,130	
20 août avec chloration	Rejet	_ 1	30	41	0,20	0.350	+ 80 ;
	Rejet	- 1	30	104	0,52	0,360	
20 août avec chloration	Panache	- 1	20	6	0,03	0.025	67
	Panache	- 1	30	4	0,02	0,025	- 87 ½

PHYTOPLANCTON avec chloration

Date	Lieu	Profondeur en mètres	Quantité d'eau filtrée litre	A T P en µg/l d'extraiot	A T P en $\mu g/1$ d'eau de mer	Ghloro µg/l	Phéo µg/1	A T P moyenne $\mu \varepsilon/1$	Variation entre prise et rejet	
1er Juin 10 H	Prise	1	0,5	653	3,3	6 , 7	4,3	3,3		
	Prise	- 7	0,5	400	2	12,3	1,8	2		
	Prise réelle	- 14	0,5	300	1,5	8,0	4,4	1,5		
1er Juin 10 H	Rejet tranche 1	- 1	0,5	24	0,12	1,6	6,7		- 95 %	
	Rejet tranche 2	- 1	0,5	7	0,03	3,8	6,0	0,08	- 90 (8	
	Rejet tranche 4	- 1	0,5	16	0,08	4,5	5,4			
1er Juin 16 H	Prise	- 1	0,250	122	0,6	8,5	13,4	0,6		
	Prise	- 7	0,250	257	1,3	8,2	6,4	0.7		
	Prise	- 7	0,250	108	0,5			0,7		
1er Juin 16 H	Prise réelle	- 14	0,250	163	0,9	15,5	4 , 5			
	Prise réelle	- 14	0,250	179	0,9			0,9		
1er Juin 16 H	Rejet tranche 1	- 1	0,250	46	0,2	8,5	4,1			
	Rejet tranche 2	1	0,250	28	0,14	5	6 , 5	0,24	- 73 >>	
	Rejet tranche 4	- 1	0,250	77	0,38	6 , 2	3,5			

Littérature citée

BALCH: A T P content of Calanus funmarchicus. Limnol oceanog. 17 (6) 906-908: 1972.

BERLAND, BONIN, DAUMAS, LABORDE, MAESTRINI: Variations du comportement physiologique de l'algue Monallantus salina (Xanthophycée) en culture Mar. Biol. Vol 7 nº 1 1970.

BOUCHER, EAZOULS, RAZOULS: composition chimique élémentaire en carbone et azote de Centropages typicus et Tempora stylifera. Analyse des variations en fonction de la physiologie et des conditions écologiques. Cah. Biol. Mar. 17 (1), 37-43 (1976).

BROUARDEL: Influence sur la production primaire du passage de l'eau de mer dans une centrale thermique (Dunkerque). Etide préliminaire 17 pages.

CARPENTER, PECK, ANDERSON cooling water chlorination and productivity of phytoplankton. Mar. Biol. Vol 16 nº 1 1972.

CARPENTER, PECK, ANDERSON: Survival of copepods passing through a nuclear station on northeastern long Island Sound U S A. Mar. Biol. Vol. 24 nº 1 1974.

DAUMAS et FIALA: Evaluation de la matière organique vivante dans les eaux marines par la mesure de l'adénosine triphosphate. Mar. Biol. Vol 3 n° 3 1969.

DAULAS: Evaluation de la teneur en adénosine triphosphate des organismes marins: possibilités actuelles et limites de la méthode. Téthys Vol 5 nº 1 - 1973.

CAUDY R., BENON P. Impact du rejet thermique sur le zooplancton dans le voisinage de la centrale de Martigues-Ponteau. Communication aux journées thermoécologie 1976.

HOLM - HANSEN et BOOTH : The measurement of adenosine triphosphate in the ocean and its ecological significance. Limnol. Oceanogr. 11 510 - 519 1966.

HOLM - HANSEN: A T P levels in algal cells as influenced by environmental conditions. Plant. CEll. Physiol. 11 689 - 700: 1970.

KHALANSKI: Etude de l'influence du fonctionnement d'une centrale thermique sur le plancton du port de Dunkerque. Résultats préliminaires. Communication aux journées de thermoécologie 1976.

LABORDE : L'adénosine triphosphate des microorganismes marins planctoniques. Rapports avec la biomasse et la productivité primaire. Thèse 3è cycle Univ. Aix-Marseille 108 pages 1972.

Mac ELROY: The energy source for bioluminescence in an isolated system. Proc. mat Acad. Sci. U S A 33 342-346: 1974.

ROLANO J. C.: Les adénosines 5 phosphate chez des algues planctoniques en culture et en zone eutrophe (Golfe de Fos). Signification métabolique et écologique. Thèse 3è cycle, Université d'Aix-Marseille II. U E R des Sciences de la mer et de l'environnement.

STRICKLAND J. D. H. PARSONS T. R. 1968. A practical handbook of sea water analysis. Bull. Fish. Res. Bd. Canada 167: 1-311.