

Cette communication ne peut être citée sans l'autorisation préalable des auteurs.

Conseil International pour  
l'Exploration de la mer

C.M. 1980/F : 27

Comité de la Mariculture

Action d'un sel organo-métallique, l'acétate de tributyle-étain sur les oeufs et les larves D de Crassostrea gigas (Thunberg).

*Toxicity of the stain acetate tributyle on  
par eggs and D larvae of Crassostrea  
gigas (Thunberg)*

E. HIS\* et R. ROBERT\*.

Résumé.

L'action de l'acétate de tributyle-étain, à des concentrations variant de 5 à 100 micro-grammes /l. a été étudiée sur les oeufs de Crassostrea gigas en cours de fécondation.

Parallèlement les mêmes concentrations ont été testées sur les larves D âgées de 24 heures.

Abstract.

The toxicity of the stain acetate tributyle at concentrations varying from 5 to 100 micro-grams /l, on eggs of Crassostrea gigas developping into larvae was studied. The same concentra-tions were tested on D larvae.

---

\* M. E. HIS, ISTEPM, 63 Boulevard Deganne, 33120 ARCACHON (France).  
M. R. ROBERT.

## 1. Introduction.

Les élevages en milieu contrôlé ont permis de tester l'influence de nombreux facteurs (naturels ou nuisances) sur les différents stades larvaires chez les Lamellibranches. Ainsi CALABRESE et Coll. (1970) étudient l'influence de différents micropolluants (détergents, pesticides, herbicides, métaux lourds), sur les embryons et les larves de C. Virginica et Merceneria merceneria.

En ce qui concerne l'espèce qui nous intéresse, C. gigas, BRERETON et Coll. (1973), puis BOYDEN et Coll. (1975) ont précisé l'action du sulfate de zinc sur les véligères, les pédivéligères et le jeune naissain. L'ensemble de ces études démontre que le seuil de sensibilité le plus bas est celui des larves D.

Par ailleurs les organo-métalliques sont suspectés d'être plus toxiques que les sels minéraux des différents métaux testés.

Ceci nous a amené à étudier l'action de l'un d'eux, l'acétate de tributyle-étain (ou T.B.T.) sur les oeufs et les larves D de l'huître japonaise.

## 2. Protocole expérimental.

Les élevages ont été conduits selon la méthode de LUCAS et Coll. (1976), en tenant compte plus précisément des exigences particulières des larves de C. gigas, définies par HELM et Coll. (1977).

Afin d'obtenir une eau de mer la plus indemne possible de tout élément polluant, nous avons utilisé l'eau de l'Océan, prélevée à un minimum de 6 miles nautiques de la presqu'île du Cap Ferret. La salinité était ramenée à la valeur de 28 o/oo par

adjonction d'eau distillée. La filtration était effectuée sur cartouche, puis sur membrane de porosité 0,8 microns. La température d'élevage était de 24 degrés.

Les géniteurs, des C.gigas captées dans le bassin d'Arcachon, puis mis en élevage en Baie de Quiberon ont été conditionnés pendant trois semaines à la température de 22 degrés ; ils étaient alimentés quotidiennement à l'aide de cultures de Palvlova lutheri et Tetraselmis suecica.

Les pontes ont été déclenchées par simple stimulation thermique (passage de 32° à 15°). Les oeufs après tamisage et comptage étaient placés dans des béciers stériles de deux litres en pyrex. Ils étaient fécondés par adjonction d'une suspension de sperme.

Au bout de 24 heures le contenu des béciers était tamisé pour observation et comparaison avec les élevages témoins.

En ce qui concerne les essais portant sur les larves D, l'eau était renouvelée tous les jours. Dès les premières 48 heures les véligères étaient alimentées (de 50 à 100 cellules le Paylova lutheri par microlitre).

Chaque série de test comprenait :

- deux élevages témoins (eau de mer plus 2 cc d'une solution d'eau distillée à 2 o/oo d'acide chlorhydrique : cette adjonction ne se traduisait par aucune modification sensible de pH de l'élevage).

- deux élevages pour chacune des concentrations suivantes : 5 mg/l ; 10 mg/l ; 25 mg/l ; 50 mg/l ; 100 mg/l de T.B.T., obtenues à partir d'une solution mère à 50 mg/l. légèrement acidifiée (2 o/oo d'Hcl).

- des oeufs fraîchement émis, en cours de fécondation puis des larves D âgées de 24 heures, obtenues en eau de mer non traitée, ont été soumis à ces différentes doses.

### 3. Résultats.

#### 3.1. Action du T.B.T. sur les fécondations, la segmentation et la formation des larves D. - (Tableau 1)

Dès les premières 24 heures, 100 % des oeufs ont donné lieu à la formation de larves D dans les élevages témoins ; celles-ci étaient normales tant sur le plan morphologique (que sur celui du comportement (mobilité)).

La hauteur moyenne (distance dorso-ventrale) était de 63 microns.

A l'inverse, même aux concentrations les plus faibles (5mg/l.) aucune véligère n'était observée : le développement est donc inhibé.

Les trochophores obtenues étaient toutes monstrueuses (amas cellulaires difformes, nage désordonnée).

A 10 mg/l. apparaissent les premières inhibitions au niveau de la segmentation. (20% des oeufs non segmentés).

A 100 mg/l. les oeufs ne sont pas fécondés.

Afin de préciser ces observations, nous avons soumis des gamètes fraîchement émis à la concentration de 50 mg/l. de T.B.T. :

- Des ovules émis en milieu contaminé étaient placés après une demi-heure de traitement dans un béccher stérile contenant deux litres d'eau de l'Océan. La fécondation était effectuée à l'aide d'une suspension de sperme non traité.

- Des ovules non traitées étaient fécondées par du sperme émis en eau de mer contenant du T.B.T.

Les résultats étaient comparés à ceux obtenus avec des gamètes non traitées (tableau 2).

Les oeufs traités ont été fécondés mais seulement 5 % d'entre eux ont pu se segmenter (stade 2 et 4).

Le contact avec la solution de T.B.T. pendant seulement une demi-heure inhibe l'embryogénèse.

A l'inverse, le sperme n'a pas été détruit ; toutefois 12 % des véligères obtenues en 18 heures étaient anormales.

### 3.2. Action du T.B.T. sur les larves D de C. gigas.

- Des larves D âgées de 24 heures (hauteur moyenne 63  $\mu$ ) ont été soumises aux différentes concentrations de T.B.T. Taux de mortalité, d'anomalies et croissance étaient comparés à ceux de deux élevages témoins (eau de l'Océan plus 2 cc d'une solution d'acide chlorhydrique à 2 o/oo) (tableau 3).

Dès les premières vingt quatre heures une mortalité de masse affecte les élevages à des teneurs aussi basse que 25 microgrammes par litre. Aux valeurs de 10 et 5 microgrammes par litre, outre les mortalités relativement importantes (40 % et 30 % respectivement) les larves ne présentent qu'une très faible croissance (passage de 63 microns à 64 et 64,5 microns) alors que dans les élevages témoins la valeur moyenne de 73,5 microns est atteinte. Des anomalies morphologiques (charnières concaves, échancrures des valves, boursoflures du velum) affectent 8 % des larves ; ces dernières ont enfin un comportement anormal : nage "en toupie" dans les deux cas.

Tous les élevages traités sont entièrement décimés en vingt quatre heures.

#### 4. Conclusions.

Le sulfate de zinc, à la concentration de 50 microgrammes par litre a peu d'action sur les larves D de C.gigas au bout de six jours d'expositions. (BRERETON et Coll., 1973). A cette même concentration le sel organo-métallique testé, par une simple action d'une demi-heure sur les ovules, inhibe l'embryogénèse. A la valeur de 5 microgrammes par litre, l'acetate de tributyle-étain empêche la formation des larves D ; de même des larves D formées sont tuées en vingt quatre heures.

Ces faits démontrent la toxicité aiguë de ce composé. Nous n'avons pas testé les concentrations inférieures à 5 p.p.b. Elles se situent à notre connaissance au seuil des possibilités analytiques actuelles dans le milieu naturel, ce qui enlève toute signification écologique à ce niveau d'expérimentation.

Nos observations mettent cependant en évidence le danger que constitue le produit testé pour les zones conchylicoles à vocation de centre de captage de l'huitre japonaise.

---

**TABLEAU 1** : Action de l'acétate de tributyle-étain (TBT) sur la fécondation, la segmentation et la formation de larves D; chez C. gigas. Observations effectuées 24 heures après les fécondations. - A chaque concentration deux élevages ont été effectués.

CONCENTRATIONS (Microgrammes/litre)	OBSERVATIONS
0 (Témoins)	- 100 % de larves D normales formées. Hauteur moyenne : 63 $\mu$ .
5	- 100 % d'oeufs ayant donné des trochophores monstrueuses.
10	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 100 % d'oeufs fécondés.</li> <li>- 80 % de segmentations (stades 2 à steroblastule)</li> <li>- 20 % d'oeufs non segmentés</li> <li>- Très rares trochophores monstrueuses.</li> </ul>
25	- 60 % seulement d'oeufs segmentés, en décomposition.
50	- 99 % d'oeufs non segmentés. (Très rares émissions de globules polaires).
100	- 100 % d'oeufs non fécondés. En décomposition.

TABLEAU 2 : Action du TBT sur les oeufs et le sperme soumis pendant une demi-heure à une eau de mer contenant 50 microgrammes par litre de TBT.

Durée	Témoins	Ovules traités	Sperme traité
Départ	-ovules non traités -sperme non traité -eau de l'océan	-ovules traités 1/2 h. -sperme non traité - eau de l'Océan	-ovules non traités -sperme traité 1/2 h. -eau de l'Océan
3 H	100 % d'oeufs segmentés stades 8 à 32 abandons.	-100% d'oeufs non segmentés (Très rares émissions du premier globule polaire).	-100 % d'oeufs segmentés stades 8 au maximum.
18 H	70 % de larves D normales. 30 % de trochophores	-95 % d'oeufs en décomposition -5% d'oeufs au stade 2 et 4	-98 % de larves D (12% d'anormales).



**TABLEAU 3 :** Action de l'acétate de tributyle-étain sur les larves D de *C. gigas*. Des véligères âgées de 24 heures ont été soumises à différentes concentrations de TBT (Lm = hauteur moyenne - ou distance dorso-ventrale des véligères-exprimée en microns) ; les anomalies signalées sont de type morphologique : charnière concave, échancrures des valves ; boursoflures du velum).

Age des larves (heures)	Durée de l'exposition (heures)	Concentrations exprimées en microgrammes/litre.					
		0 (témoins)	5	10	25	50	100
24	0	Lm=63	Lm=63	Lm=63	Lm=63	Lm=63	Lm=63
48	24	Lm=73,5 mortalité:0%  -2% d'anomalie nage & comportement normaux	Lm=64,5 mortalité: 30%  anomalie nage anormale 8 %	Lm=64 mortalité: 40%  mortalité: 40% anomalie nage anormale 8%	mortalité: 95%	mortalité: 95%	mortalité: 100%
		ARRET DES ELEVAGES					
72	48	Lm=75 mortalité: 7% anomalie : 2% nage normale s'alimente bien.	mortalité: 100%	mortalité: 100%			

Référence bibliographiques.

-----

- BOYDEN C.R., WATLING H. et THORNTON I., 1975.- Effect of zinc on the settlement of the Oyster Crassostrea gigas., Marine Biology 31 : 227-234.
- BRERETON A., LORD H., THORNTON I. et WEBB J.S., 1973.- Effect of zinc on growth and Development of larvae of the Pacific Oyster Crassostrea gigas., Marine Biology 19 : 96-101.
- CALABRESE A., COLLIER R.S., NELSON D.A. et MAC INNES J.R., 1973.- The toxicity of heavy metals to embryos of the American oyster Crassostrea gigas., Marine Biology 18 : 162-166.
- CALABRESE A. et DAVIS H.C., 1970.- Tolerances and requirements of embryos and larvae of bivalve molluscs., Helgoländer wiss. Meeresunters 20 : 553-564.
- HELM M.M. et MILLICAN P.F., 1977.- Experiments in the hatchery of Pacific oyster larvae (Crassostrea gigas Thunberg). Aquaculture 11 : 1-12.
- LUCAS A., LE PENNEC M., PRIEUR D. et LE ROUX S., 1976.- Elevages expérimentaux de larves de mollusques marins., LABORATOIRE de ZOOLOGIE, Aquaculture et Pollutions Marines Brest. 12 p. ronéotype.-