

La toxicité du Cr sur le Copépode Harpacticoïde *Tisbe holothuriae* en relation avec la température*

par

G. VERRIOPOULOS

Laboratoire de Zoologie, Université d'Athènes (Grèce)

Abstract

We've studied the results of Cr⁺⁺ toxicity (lethal doses for the 48 or the 24 hours) between the temperatures of 14° C, 18° C and 24° C who correspond the midium temperatures in the three thermic periods caracteristic of the Aegean sea.

We have observed the toxicity's augmentation in connection with the temperature.

LC50 (48 h) — 17,36 mgCr/lit for 14° C

LC50 (48 h) — 15,77 mgCr/lit for 18° C

LC50 (24 h) — 16,12 mgCr/lit for 24° C

The elaboration of the results have been done by BLISS'method. We've used femal oviporus for our observations.

*
* *

Introduction

Depuis le début du siècle l'industrialisation intensive de notre société fait que les apports en métaux dans les eaux de surface sont de plus en plus importants. L'ensemble des problèmes sur la toxicité de ces substances ne sera résolu que peu à peu, au fur et à mesure de l'avancement des recherches en écotoxicologie. Dans le cadre de ces recherches que le laboratoire zoologique de l'université d'Athènes a entreprises depuis quelques années, nous exposons dans cette étude la toxicité aiguë du Cr⁺⁺ sur le Copépode Harpacticoïde *Tisbe holothuriae*, en relation avec la température.

La présence catastrophique et le déséquilibre écologique que provoquent les hautes doses de cette substance dans le milieu marin sont déjà démontrés par les observations de EISLER & HENNEKEY, 1977, OSHIRA & WRIGHT, 1977 et TRABALKA, 1977, MORAITOU-APOSTOLOPOULOU & VERRIOPOULOS, 1979 sur les étoiles de mer, les polychaetes, les crabes, les mollusques, les poissons, les oursins et les copépodes. Nous avons choisi le Cr, avec d'autres oligoéléments, à cause de leur présence en quantités importantes dans le golfe Saronique (golfe d'Athènes) (GRIMANIS *et coll.* 1977).

Matériel et méthodes

L'étude a été effectuée avec des femelles oviportantes de *Tisbe holothuriae* d'une population élevée (plusieurs générations) au laboratoire et sous les mêmes conditions de température, d'éclairage et de salinité d'eau que les animaux d'expérimentation. Nous avons choisi des femelles ovigères pour avoir des animaux du même âge ayant le même comportement physiologique. Des observations à 14° C, 18° C et 24° C ont été faites, valeurs correspondant aux températures moyennes des trois époques thermiques qui règnent en mer Egée et dans le golfe Saronique, (KIORTSIS *et coll.* 1969, MORAITOU-APOSTOLOPOULOU, 1974, COACHMAN *et coll.*, 1976).

* Communication présentée par le modérateur de la séance.

Les concentrations avec lesquelles nous avons effectué nos observations étaient de 10,0; 12,0; 14,0; 14,5; 15,0; 15,5; 16,0 et 20,0 mgr Cr/lit. pour les trois températures expérimentales. Ces valeurs doivent être considérées comme théoriques (nominales), parce que la plupart des polluants, dès leur contact avec le milieu marin et à cause des processus physico-chimiques créent des complexes qui changent de forme d'après les conditions ambiantes. (REEVE *et coll.*, 1970, EISLER & HENNEKEY, 1977, MCKEE & WOLF, 1963, DOUDOUROFF & KATZ, 1953, BENDER *et coll.*, 1970).

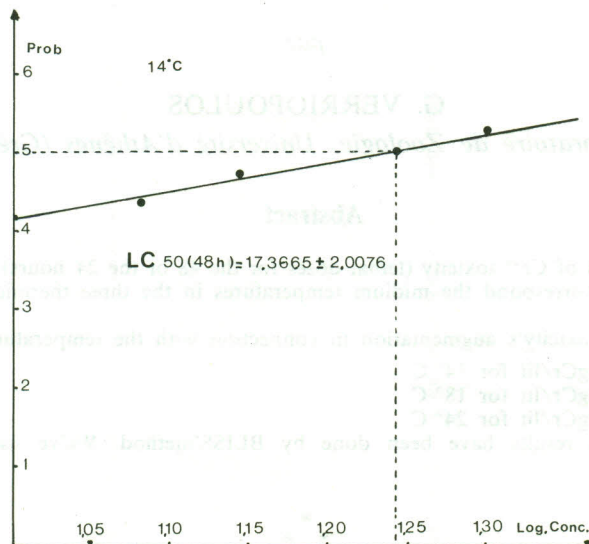


Fig. 1. — Droite de régression de la CL50 48 h (concentration létale) à 14° C.

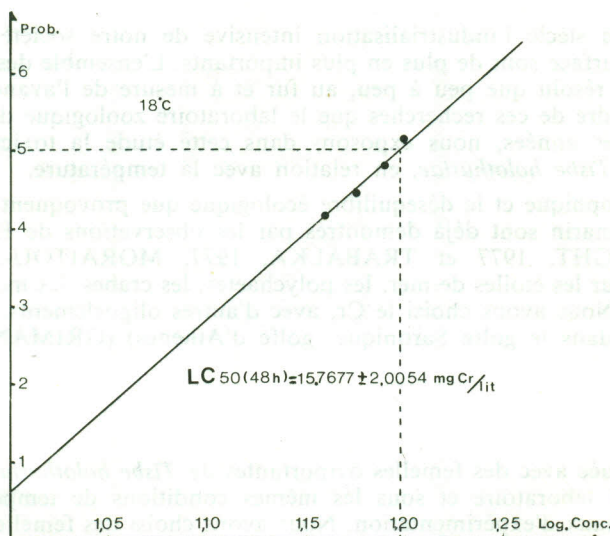


Fig. 2. — Droite de régression de la CL50 48 h (concentration létale) à 18° C.

Pour chaque concentration testée nous avons utilisé 20 copépodes placés dans des cristallisoirs de 50 ml (un animal par coupe). Les témoins nous donnaient la mortalité naturelle.

Pour obtenir les concentrations expérimentales, nous avons préparé une solution mère avec du Na_2CrO_4 et à partir de celle-ci par dilutions successives, nous avons obtenu les valeurs théoriques qui nous intéressaient.

Les observations ont été effectuées toutes les 24 h et les 48 h pour chaque solution. L'expérience a été effectuée dans des chambres à température constante où nous avons installé un système d'éclairage tamisé respectant le cycle nyctéméral naturel. En raison du petit volume des récipients utilisés, aucun dispositif particulier d'aération d'eau n'a été prévu ; à noter que les cristallisoirs étaient couverts pour éviter l'évaporation d'eau.

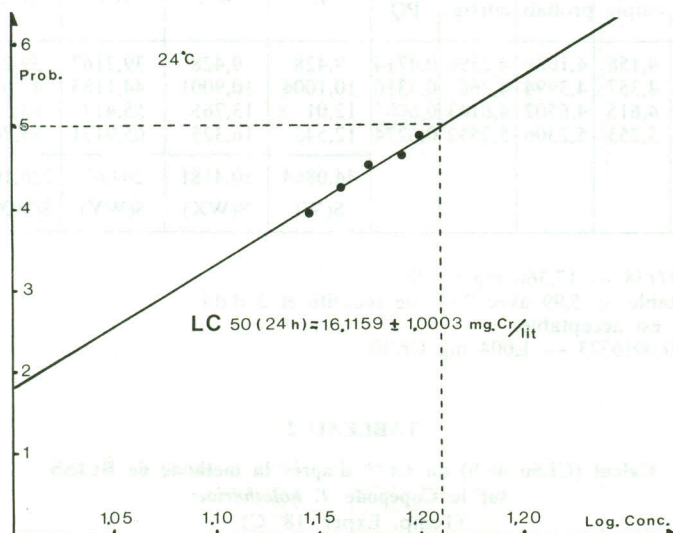


Fig. 3. — Droite de régression de la CL50 24 h (concentration létale) à 24° C.

L'eau de mer que nous avons utilisée provenait d'une région relativement propre du golfe Saronique dont nous savons, d'après des analyses chimiques (GRIMANIS *et coll.*, 1977), que les concentrations en métaux lourds sont telles qu'elles n'influencent pas nos observations en laboratoire. Aussi avant l'expérience l'eau était-elle filtrée par un double papier filtre, exposé au rayons UV pendant 24 heures.

L'élaboration des résultats a été effectuée par la méthode des probabilités de BLISS, 1938, qui nous permet de préciser la présence de CL50 ainsi que celle d'autres concentrations. Cette méthode ayant une variation linéaire des probabilités de mortalité en fonction des logarithmes des concentrations utilisées, consiste en l'établissement de l'équation d'une droite de régression.

Résultats

Sur les figures 1, 2, 3, nous avons les droites de régression établies par la méthode de BLISS, qui nous donnent respectivement les concentrations létales CL 50 en fonction avec la température de 14°, de 18° et de 24° C, pour 24 ou 48 heures. Les tableaux 1, 2, 3 nous donnent, en détail, les paramètres indispensables pour le calcul des concentrations létales, la variation de chaque concentration et le test de linéarité de chaque droite de régression. Le tableau 4 présente les résultats de la comparaison (t-test) des droites de régression des fig. 1, 2 et 3.

Discussion

Un des meilleurs moyens pour contrôler l'influence des métaux lourds sur les organismes marins, est de l'expérimenter sur des organismes planctoniques et surtout sur les copépodes qui sont très sensibles aux changements des facteurs biotiques et abiotiques du milieu.

TABLEAU 1

Calcul (CL50 48 h) du Cr⁺⁶ d'après la méthode de BLISS
sur le Copépode *T. holothuriae*
(Temp. Exper. 14° C)

Conc. mg/lit	Nb de morts	% morts	Log. des conc.	Prob. empir.	Prob. probab.	Prob. corrige.	Z ² PQ	W	WX	WY	WXY	WX ²	WY ²
10	4	20,00	1,0	4,158	4,1028	4,1596	0,4714	9,428	9,428	39,2167	39,2167	9,428	163,1258
12	5	26,32	1,07918	4,357	4,3994	4,368	0,5316	10,1004	10,9001	44,1185	47,6118	11,7632	192,7098
14	7	35,00	1,14613	4,615	4,6502	4,6143	0,6005	12,01	13,765	55,4177	63,5159	15,7765	255,7141
20	12	60,00	1,30103	5,253	5,2306	5,2532	0,6274	12,548	16,325	65,9171	85,760	21,2397	346,276
								44,0864 S(W)	50,4181 S(WX)	204,67 S(WY)	236,1044 S(WXY)	58,2074 S(WX ²)	957,8257 S(WY ²)

- a) Log CL50 48 h = 1,2397138 --- 17,366 mg Cr/lit.
b) X² = 0,0623 X² de table = 5,99 avec 95 % de sécurité et 2 d.d.l.
La linéarité de la droite est acceptable.
c) Variance Log CL50 = 0,0016573 --- 1,004 mg Cr/lit.

TABLEAU 2

Calcul (CL50 48 h) du Cr⁺⁶ d'après la méthode de BLISS
sur le Copépode *T. holothuriae*
(Temp. Exper. 18° C)

Conc. mg/lit	Nb de morts	% morts	Log. des conc.	Prob. empir.	Prob. probab.	Prob. corrige.	Z ² PQ	W	WX	WY	WXY	WX ²	WY ²
14,5	4	20,00	1,1613	4,158	4,1543	4,1596	0,4714	9,428	10,9487	39,216	45,5424	12,7148	163,1258
15,0	6	30,00	1,17609	4,476	4,4986	4,4773	0,5579	11,158	13,1228	49,957	58,7548	15,4346	223,6757
15,5	9	45,00	1,19033	4,874	4,7602	4,8779	0,6161	12,322	14,6672	60,105	71,5454	17,4588	293,1885
16,0	11	55,00	1,20412	5,126	5,1510	5,12545	0,6343	12,686	15,2755	65,021	78,2936	18,3935	333,2642
								45,594 S(W)	54,0142 S(WX)	214,301 S(WY)	254,1362 S(WXY)	64,0007 S(WX ²)	1013,2542 S(WY ²)

- a) Log CL50 48 h = 1,1977698 --- 15,767 mg Cr/lit.
b) X² = 0,0808 X² de table = 5,99 avec 95 % de sécurité et 2 d.d.l.
La linéarité de la droite est acceptable.
c) Variance Log CL50 = 0,0000308 --- 1,000 mg Cr/lit.

Il faut souligner que l'influence des oligoéléments peut être décisive pour les concentrations léthales et assez critique pour les sub-léthales, où nous constatons un abaissement de la longévité, de l'ovogenèse, des perturbations à la consommation d'oxygène et à la consommation de nourriture. (MORAITOU-APOSTOLOPOULOU & VERRIOPOULOS, 1979, VERRIOPOULOS (*sous presse*), 1980).

Un des facteurs influençant l'action des métaux lourds est la température.

D'après nos résultats :

$$14^{\circ} \text{ C CL50 (48 h)} = 17,36 + 0,60 \text{ mgr Cr/lit.}$$

$$18^{\circ} \text{ C CL50 (48 h)} = 15,77 + 0,53 \text{ mgr Cr/lit.}$$

$$24^{\circ} \text{ C CL50 (24 h)} = 16,12 + 0,35 \text{ mgr Cr/lit.}$$

et ceux de CROSS *et coll.* 1969 et de STORA, 1972, nous constatons une augmentation de la toxicité avec l'élévation de la température. Nous voyons qu'avec les mêmes concentrations, à 24° C nous obtenons 50 % de la mortalité dans les 24 heures et qu'à 18° C 50 % sont obtenus en un temps de double durée.

TABLEAU 3

Calcul (CL50 24 h) du Cr⁺⁶ d'après la méthode de BLISS
sur le Copépode *T. holothuriae*
(Temp. Exper. 24° C)

Conc. mg/lit	Nb de morts	% morts	Log. des conc.	Prob. empir.	Prob. probab.	Prob. corrig.	Z ² PQ	W	WX	WY	WXY	WX ²	WY ²
14,0	3	15,00	1,14613	3,964	4,005	3,96395	0,4386	8,772	10,05385	34,7717	39,9087	11,5230	137,834
14,5	5	25,00	1,16137	4,326	4,236	4,332	0,5026	10,052	11,67409	43,5453	50,5722	13,5579	188,638
15,0	5	29,42	1,17609	4,447	4,458	4,4599	0,5579	9,4843	11,15439	42,2990	49,7475	13,1186	188,649
15,5	7	36,85	1,19033	4,642	4,673	4,6645	0,6005	11,4095	13,58107	53,2196	63,3489	16,1660	248,243
16,0	9	45,00	1,20412	4,874	4,881	4,8747	0,6274	12,548	15,10929	61,1677	73,6533	18,1934	298,174
								52,2658	61,57269	235,0033	277,2306	72,5589	1061,538
								S(W)	S(WX)	S(WY)	S(WXY)	S(WX ²)	S(WY ²)

- a) Log CL50 24 h = 1,2072562 --- 16,116 mg Cr/lit.
b) X² = 1,678 X² de table = 7,81 avec 95 % de sécurité et 3 d.d.l.
La linéarité de la droite est acceptable.
c) Variance Log CL50 = 0,0001295 --- 1,000 mg Cr/lit.

TABLEAU 4

Résultats de la comparaison (t-test) des droites de régression des fig. 1, 2, 3

	(LC50 48 h) 18° C	(LC50 24 h) 24° C
(LC50 48 h) 14° C	0,732 NON SIGNIF. 14° C ≈ 18° C	2,691 SIGNIF. pour 90 % 14° C > 24° C
(LC50 48 h) 18° C		8,553 SIGNIF. pour 99 % 18° C > 24° C

Une comparaison des concentrations léthales du Cr avec d'autres métaux lourds sur différents copépodes nous donne une idée de sa toxicité et de la sensibilité de *Tisbe holothuriae*.

Tisbe holothuriae à 24° C CL50 (48 h) = 16,12 mgr Cr/lit.
CL50 (48 h) = 0,08 mgr Cu/lit.
CL50 (48 h) = 0,964 mgr Cd/lit.

(MORAITOU-APOSTOLOPOULOU & VERRIOPOULOS *in press*, 1980)

Artemia salina à 20-27° C CL50 (24 h) = 40 mgr Cr/lit.
(OKUBO & OKUBO, 1962)

Acartia clausi à 14° C CL50 (48 h) = 15,21 + 2,57 mgr Cr/lit.
18° C CL50 (48 h) = 0,082 + 0,003 mgr Cu/lit.
22° C CL50 (48 h) = 0,74 + 0,023 mgr Cd/lit.

(MORAITOU-APOSTOLOPOULOU & VERRIOPOULOS, 1979).

Références

- BENDER M.E., MATSON W.R. & R.A. JORDAN, (1970). — On the significance of metal complexing agent in secondary sewage effluents. *J. Env. Sci. Tech.* 4: 520-521.
BLISS C. (1938). — The determination of the dosage-mortality curve from small numbers. *Quart. J. Pharm.* II: 192-216.

- COACHMAN L.K., HOPKINS T.S. & R.C. DUGDALE (1976). — Water masses of the Saronikos gulf in winter. *Acta Adriatica*, XVIII (1-23): 131-161.
- CROSS F.A., DEAN J.M. & C.L. OSTERBERG (1969). — The effect of temperature sediment and feeding on the behavior of the radionuclides in a marine benthic amphipod. Proc. 2nd Nat. Symp. on Radio. USAEC conf. 670503: 450-461.
- DOUDOUROFF P. & M. KATZ (1953). — Critical review of literature on the toxicity of industrial wastes and components to fish. II The metals and salts. *Sewage ind. Wastes*, 25: 802-839.
- EISLER R. & R.J. HENNEKEY (1977). — Acute toxicities of Cd^{2+} Cr^{6+} Hg^{2+} and Zn^{2+} to Estuarine Macrofauna. *Arch. Environm. Contam. Toxicol*, 6: 315-323.
- GRIMANIS, A.P. VASSILAKI-GRIMANI M. & G.B. GRIGGS (1977). — Pollution studies of trace elements in sediments from the Upper Saronikos gulf. *J. of Radio. Chem. vol.*, 37: 761-773.
- KIORTSIS V. *et coll.* (1969). — Marine faune of the Aegean Sea. Zoological Laboratory and Museum University of Athens, Greece.
- MORAITOU-APOSTOLOPOULOU M. (1974). — An ecological approach to the systematic study of planktonic copepods in a polluted area (Saronic gulf-Greece). *Boll. Pesca Piscic. Idrobiol*: 29-47.
- MORAITOU-APOSTOLOPOULOU M. & G. VERRIOPOULOS (1980). — Toxicity of chromium to the marine planktonic copepod *Acartia clausi*. (*in press*).
- MCKEE J.E. & H.W. WOLF (1963). — *Water quality criteria*. 2nd Edn. Publication no 3-A. Ressources Agency of California Sacramento.
- OKUBO K. & T. OKUBO (1962). — Study on the bioassay method for the evaluation of water pollution. II. Use of the fertilized eggs of sea urshins and bivalves. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, 32: 131-140.
- OSHIDA P.S. & J.L. WRIGHT (1977). — Effects of hexavalent chromium on sea urchin embryos and brittle: SCCWRP: El Segundo, CA (USA) p. 181 SCCWRP AR77 *An. Rep. So. Calif. Coast. Water Res. Proj.*
- REEVE, M.R. WALTER, M.A. DAREG K. & T. IKEDA (1977). — Evaluation of potential indicators of sublethal toxic stress on marine zooplankton (feeding, fecundity, respiration and excretion). Controlled ecosystem pollution experiment. *Bull. mar. Sci.*, 24: 105-113.
- STORA G. (1972). — Contribution à l'étude de la notion de concentration létale limite moyenne (CL50), appliquée à des invertébrés marins. I. Etude méthodologique. *Tethys*, 4 (3): 597-644.
- TRABALKA J.R. (1977). — An observation on the toxicity of hexavalent chromium to *Daphnia magna*. *Toxicology Lett.* 1 (3): 131-134.