

Effets toxiques du Diuron et de l'Irgarol 1051 sur la diatomée marine *Chaetoceros gracilis*.

Steffie Sauren¹, Geneviève Arzul¹, Gael Durand² et Dorothee Hureau²

1 : Ifremer, DEL-PC, BP 70, 29280 Plouzané, France
2 : Pôle Analytique des Eaux, BP 52, 29280 Plouzané, France

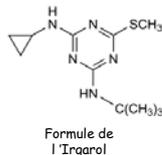
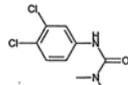
Introduction

Diuron and Irgarol 1051 sont les molécules actives entrant dans la formulation de peintures antifouling. Leur fonction est de prévenir la fixation des macroalgues sur la coque des navires, et elles agissent en inhibant la photosynthèse par blocage du transport d'électron. Cependant ces produits atteignent également le phytoplancton.

Cette étude a pour objectif d'étudier les effets des deux biocides organiques sur la diatomée marine *Chaetoceros gracilis*.

C. gracilis est choisi comme modèle représentant les producteurs primaires principaux en eaux côtières tempérées.

Les effets observés ont été: la croissance algale (taux de croissance et taille cellulaire), le rapport C/N et la production primaire.



Matériel et Méthodes

L'expérience était faite sur des cultures de 50 mL réalisées en ballons de verre contenant l'eau de mer (salinité 35), des sels nutritifs simulant la situation post-hivernale, les doses appropriées de Diuron et Irgarol (testés séparément) et l'inoculum *C. gracilis*. Les cultures étaient réalisées à $\pm 20^\circ\text{C}$, en condition de lumière alternée 12 h /12 h jour/nuit (approx. 60 $\mu\text{mol quanta/cm}^2/\text{h}$). La concentration cellulaire au départ de chaque expérience était environ de 10 000 cells/ml dans chaque ballon, et chaque culture était re-inoculée tous les quatre jours dans un milieu contenant une dose de contaminant identique à la précédente. Les effets des biocides sur la diatomée étaient observés sur la base de plusieurs bio-indicateurs.

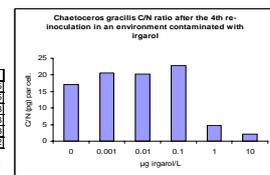
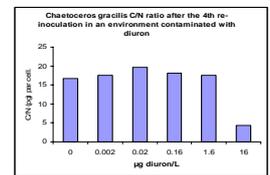
La croissance algale était déterminée par comptage cellulaire au microscope à l'aide d'une cellule de Malassez. La taille cellulaire était mesurée au microscope relié à un équipement informatique adapté (programme comptagephyto version 1.0). La production primaire était mesurée à partir d'assimilation de carbonate ^{14}C selon la méthode de Bérard et al. (2002), et le rapport C/N dans les cellules déterminé au moyen d'un appareil Elemental Vario EL I. Trois dérivés du Diuron ont été testés également (DCPMU, DCPU, DCA) et dans ce cas la DO à 670 nm était utilisée pour remplacer le comptage cellulaire.

-Rapport Carbone/Azote

Diuron et Irgarol affectent rapport C/N.

De même que pour le taux de croissance, seules les concentrations les plus élevées affectent les algues; l'Irgarol agit dès 1 $\mu\text{g/l}$.

Les tables ci-dessous montrent que le changement correspond à une diminution de C et à une élévation de N. En présence de 10 $\mu\text{g/L}$ d'Irgarol les deux composés sont plus élevés et en particulier N, d'où une valeur de C/N basse.



Conc. ($\mu\text{g/l}$)	pgC/cell	pgN/cell
0	12,3404194	0,76961326
0,002	19,8570531	1,12911326
0,02	23,9704259	1,21780748
0,16	19,3769396	1,06845054
1,6	18,9510249	1,02916144
16	11,569667	2,62959107

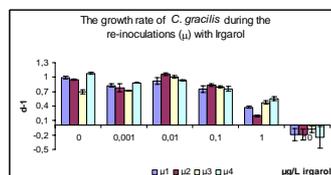
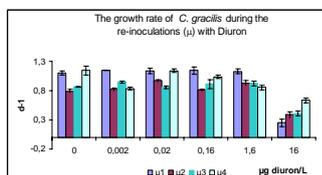
Table 1. Diuron pgC & pgN/cell

Conc. ($\mu\text{g/l}$)	pgC/cell	pgN/cell
0	12,507288	0,74727016
0,001	20,5119182	0,99699296
0,01	16,8886377	0,93576713
0,1	17,3695648	0,7577823
1	7,42439549	1,54216243
10	71,5712283	32,6933282

Table 2. Irgarol pgC & pgN/cell

Résultats

- Taux de Croissance

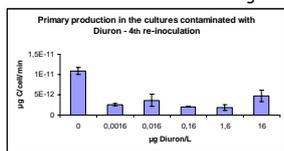
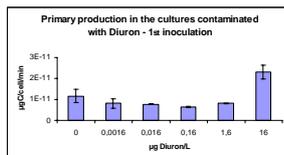


Aux concentrations les plus élevées les deux produits antifouling causent une diminution du taux de croissance. Cependant les résultats montrent que *C. gracilis* est plus sensible à l'Irgarol qu'au Diuron. Les CE50 étaient: 0.49 et 4.93 $\mu\text{g/L}$ respectivement, et la NOEC 0.01 et 0.2 $\mu\text{g/L}$.

L'effet du Diuron n'était observé qu'à 16 $\mu\text{g/l}$, dose la plus élevée dans notre test. L'expérience avec l'Irgarol montre un effet dès 1 $\mu\text{g/l}$.

La Figure 1 montre que les cellules se sont adaptées à l'effet du Diuron: à 16 $\mu\text{g/l}$ la croissance tend vers la normale au cours des re-inoculations successives. Le même processus apparaît dans l'expérience avec l'Irgarol. Dans la culture contenant 1 $\mu\text{g/l}$ les cellules s'adaptent et le taux de croissance s'élève au cours des re-inoculations. Cependant à la concentration la plus élevée, 10 $\mu\text{g/l}$, il n'y a pas d'adaptation, aucune croissance cellulaire n'apparaît dans les ballons et le nombre de cellules décroît.

- Production primaire



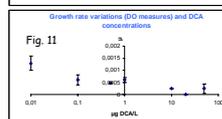
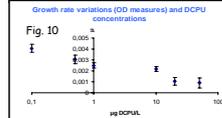
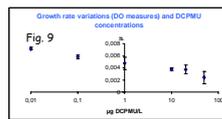
La production primaire en présence d'Irgarol n'a pas été mesurée, aussi seuls les résultats avec le Diuron sont présentés.

La comparaison des figures 3 & 4 montre que le Diuron diminue la production primaire. L'assimilation du carbone exprimée en $\mu\text{gC}/\text{Cellule}/\text{minute}$ demeure identique dans les témoins: 1.16456E-11 le dernier jour de la première culture (jour 4) et 1.08756E-11 le dernier jour de l'expérience (jour 16), tandis qu'une exposition continue au Diuron diminue la production primaire dans toutes les cultures. La production primaire plus élevée en présence de 16 $\mu\text{g/L}$ de Diuron au jour 4 est inexpliquée.

-Dérivés du Diuron

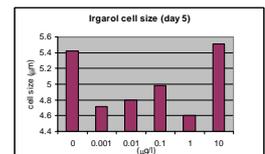
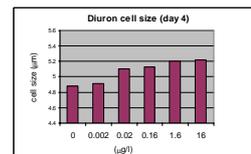
Trois dérivés naturels du Diuron: 1-(3,4-Dichlorophenyl)-3-méthyl urée (DCPMU), 1-(3,4-Dichlorophenyl) urée (DCPU); et 3,4-Dichloroaniline (DCA) ont été testés sur *C. gracilis* dans l'expérience à 96h.

Le calcul des CE50 au moyen du logiciel Rextox donne les résultats suivants en $\mu\text{g/L}$: DCPMU: 7.3; DCPU: 12.2; DCA: 0.1.



- Taille cellulaire

Les figures 7 & 8 montrent la taille moyenne des cellules le dernier jour de la culture après cinq re inoculations. La taille cellulaire s'élève avec la concentration du Diuron, tandis qu'elle diminue avec celle de l'Irgarol (le cas de la dernière concentration présente une exception non expliquée).



Conclusion

Les doses élevées de Diuron diminuent les taux de croissance (Fig. 1) et le rapport C/N dans les cellules (Fig. 5). La présence de Diuron affecte la production primaire (Fig. 3 & 4) et augmente la taille cellulaire (Fig. 8). Cependant, plus la durée d'exposition des cellules augmente et plus leur taux de croissance tend à redevenir proche de celui du témoin (Fig. 1).

L'Irgarol 1051 est plus toxique que le Diuron pour la diatomée *Chaetoceros gracilis*. Non seulement il affecte le taux de croissance, mais il peut également diminuer les concentrations cellulaires (Fig. 2). A doses élevées il entraîne une forte diminution du rapport C/N dans les cellules algales (Fig. 6), et dès les concentrations faibles il diminue la taille cellulaire (Fig. 9).

Les dérivés du Diuron affectent le taux de croissance de la diatomée. La comparaison des CE50 montre l'échelle de toxicité croissante: DCPU < DCPMU < Diuron < DCA.

Les plus fortes concentrations mesurées dans les eaux de la Rade de Brest (2003-2004) étaient 0.803 $\mu\text{g/L}$ de Diuron et 0.102 $\mu\text{g/L}$ d'Irgarol. Dans d'autres marines et d'autres zones portuaires, des concentrations allant jusqu'à 6.7 $\mu\text{g/L}$ en Diuron et 1.7 $\mu\text{g/L}$ en Irgarol ont été mesurées (Chesworth et al., 2004). Ainsi ces deux produits antifouling peuvent être rencontrés dans le milieu naturel à doses suffisamment élevées pour produire un effet sur les algues planctoniques.

