

**Effets de deux métaux lourds (Cu et Cd)
sur la fonction de reproduction
chez *Idotea balthica basteri* (Crustacé, Isopode)**

B. RAMIREZ et R.A. KAIM-MALKA

Station Marine d'Endoume et Centre d'Océanologie de Marseille,
URA 41 - CNRS, rue de la Batterie des Lions, 13007 Marseille (France)

RESUME : Des *Idotea* femelles soumises aux effets chroniques de deux métaux lourds, présentent une importante baisse de la fécondité. Les résultats sont comparés à ceux obtenus avec des détergents.

ABSTRACT : Chronic toxicity test of two heavy metals on *Idotea* females fertility, shows an important decrease. This results are compared to those obtained with the detergent.

INTRODUCTION

Au cours des trente dernières années, l'aire de répartition de l'isopode *Idotea balthica basteri* s'est considérablement réduite dans la région de Marseille. Pour expliquer ce phénomène, des études ont été entreprises sur un des facteurs susceptibles d'être la cause de ce phénomène : les détergents (KAIM-MALKA 1980, 1983). Actuellement cette étude est réalisée avec des métaux lourds, pour voir si les effets provoqués sont de même type ou différents de ceux obtenus avec les détergents. Le présent travail est consacré aux effets de deux métaux lourds : le cuivre et le cadmium sur la fonction de reproduction de l'*Idotea*. Pour ces études, trois phénotypes ont été retenus : type *uniformis* pour les mâles, *albifusca* et *flavifusca* pour les femelles.

Au laboratoire, on peut obtenir l'appariement et la fécondation en mettant des femelles au contact des mâles 12h à 24h après que la femelle ait effectué la mue de la région antérieure. Après s'être assuré que la femelle a bien pondu les oeufs dans la poche incubatrice, les animaux sont séparés et les femelles sont élevées isolément dans des bacs contenant 250 ml de solution de cuivre ou de cadmium, à la concentration de 0,1 mg/l. La solution est renouvelée tous les 3 jours. Les animaux sont nourris avec des morceaux de feuilles de *Posidonies*. La salle d'expérience est maintenue à une température de 17° ± 0,5° avec un éclairage de type journalier. Si tout se passe bien, les oeufs sont incubés pendant la période d'incubation, les juvéniles sont émis quelques jours avant la mue suivante (la gestation est d'environ 25-30 jours).

Les résultats obtenus ont été traités statistiquement : la comparaison des moyennes s'est faite en utilisant le test t de STUDENT pour les petits échantillons, les pourcentages ont été comparés par la méthode de l'écart réduit.

RESULTATS

L'ensemble des résultats obtenus sont résumés dans le tableau 1.

	% avortent	% réussite	Nb tot. Juv.	Nb Juv/Q	% par rapport au témoin
Témoin	-	100	571	57,1 ± 28,55	-
0,1mg/l Cu	40	60	152	15,2 ± 24,58	26,61
0,1mg/l Cd	60	40	76	7,6 ± 12,03	13,30

Tableau 1 : Résultats obtenus pour des femelles d'*Idotea* soumises aux effets du Cu et du Cd.

Il apparaît tout d'abord que toutes les femelles témoins ont donné une descendance : 571 individus au total, et sur lesquels aucune anomalie n'a été observée. Pour les animaux soumis à l'influence du cuivre, on observe qu'une proportion non négligeable de femelles perdent leur ponte (40 %). La proportion de juvéniles obtenus représente environ le quart de celui des témoins. On y trouve une très faible proportion d'individus malformés (environ 3 % des individus obtenus). Pour les animaux soumis à l'influence du cadmium, la proportion de femelles qui perdent leur ponte est augmentée (60 %) et le nombre de juvéniles obtenus représente la moitié seulement de ceux obtenus quand les femelles sont soumises au cuivre. Aucune anomalie n'a été observée sur les juvéniles ainsi obtenus.

DISCUSSION

Si on compare ces résultats avec ceux obtenus par KAIM-MALKA (1983) pour des *Idotea* soumises à un détergent (Tableau 2)

	% avortent	% réussite	Nb tot. Juv.	Nb Juv/Q	% par rapport au témoin
Témoin	-	100	550	55 ± 17,19	-
5mg/l dét.	70	30	21	2,1 ± 3,87	3,8
30mg/l dét.	70	30	39	3,9 ± 8,69	7,09

Tableau 2. Résultats obtenus pour des femelles d'*Idotea* soumises aux effets d'un détergent aux concentrations de 5 et 30 mg/l.

- un premier point remarquable est représenté par le nombre de juvéniles obtenus chez les témoins, et qui est très proche dans les deux expériences.

- Aussi bien dans le cas des métaux lourds que dans celui du détergent, on note qu'une proportion non négligeable des femelles perdent leur ponte, suite à cette exposition.

- De plus, le pourcentage de juvéniles obtenus à la suite d'une exposition au détergent, représente en fonction de la concentration, la moitié ou le quart de celui obtenu, suite à une exposition au cadmium.

Divers auteurs ont pu observer une baisse de fécondité chez certaines espèces soumises à l'action de métaux lourds. MARTIN (1975) indique que l'ovaire de *Paracarcinus lividus* peut concentrer le Cu et le Zn. TAHVILDARI-DAMOUI (1977) indique pour *Paracarcinotrotus lividus*, que les oeufs fécondés qui atteignent le stade d'échinopluteus, quand ils sont soumis à une solution de CdCl₂, présentent une réussite inférieure de 23 à 55 % par rapport aux témoins. LIPINA et al (1987) indiquent que chez *Strongylocentrotus intermedius* soumis à des concentrations élevées de Cd la plupart des oocytes dégèrent, et les gamètes peuvent fixer le Cd directement dans l'espace intercellulaire. GOULD et al (1988) signalent que le Cu a un effet inhibiteur sur la production de gamètes et la maturation de *Placopecten magellanicus*. Des effets similaires ont été observés avec des altérégènes autres que les métaux lourds, tels pétroles et détergents.

CONCLUSIONS

L'exposition au cuivre et au cadmium, même à de très faibles concentrations, a des effets importants sur la fécondité des femelles d'*Idotea*, en abaissant d'une manière importante le nombre de juvéniles obtenus. Ceci peut avoir des conséquences importantes sur le maintien de l'espèce dans le milieu. Il pourra être intéressant d'étudier les effets provoqués par l'association métaux + détergent, sur la reproduction.

REFERENCES

- GOULD E., THOMPSON R.J., BUCKLEY L.J., RUSANOWSKY D., SENNEFELDER E.R., 1988- Uptake and effects of copper and cadmium in the gonad of the scallop *Placopecten magellanicus* concurrent metal exposure. *Mar. Biol.*, 97 : 217-223.
- KAIM-MALKA, R.A., 1980- Action d'altérégènes sur des fonctions biologiques et écologiques d'un mollusque bivalve (Action de détergents sur *Idotea balthica basteri*). These Doct. Etat. Univ. Aix-Marseille II : 165 pp + annexes.
- KAIM-MALKA R.A., 1983- Altération de la fonction de reproduction chez *Idotea balthica basteri* (Crustacés, Isopoda) soumis à l'effet chronique d'un détergent non ionique. *Mar. Environ. Res.*, 8 : 41-62.
- LIPINA J.G., GNEZDILOVA S.M., KRISTOFOROVA N.K., 1987- Cadmium distribution in gonads of the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. *Mar. Ecol. Prog. ser.* 26 : 263-266.
- MARTIN J.L.M., 1975- Recherches sur le métabolisme des métaux chez les crustacés décapodes marins : leur rapport avec la mue et la reproduction. These Doct. es Sci. nat. Univ. Aix-Marseille II : 296 pp + 12 planches.
- SCHWARTZ D., 1963- Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Flammarion, Editeur : 296 pp.
- TAHVILDARI-DAMOUI S., 1977- Contribution à l'étude des effets de quelques détergents et métaux lourds sur les séquences du développement (*in vitro*) d'une espèce d'oursin *Paracarcinotrotus lividus* (L.). Méthodologie expérimentale et estimation statistique. These Spécialité en Océanologie, Univ. Aix-Marseille II : 55 pp + annexe.

Rapp. Comm. int. Mer Médit., 31, 2 (1988).

**Increase of domestic sewage toxicity
as a consequence of treatment by flocculating agents
as determined by the sea Urchin bioassay**

G. PAGANO*, G. CORSALE*, A. ESPOSITO*, LA. ROMANA** and N.M. TRIEFF***

* Istituto Nazionale Tumori, Fondazione G. Pascale, 80131 Naples (Italy)

** IFREMER, Centre de Toulon, 83507 La Seyne-sur-Mer (France)

*** UTMB, Department of Community Health and Preventive Medicine, Galveston, TX 77550 (U.S.A.)

The distribution, fate, and biological quality of domestic sewage in the Bay of Toulon, France, have been investigated in a multi-disciplinary study involving a number of physico-chemical, analytical, microbiological, and toxicological parameters. The present data refer to the results of testing developmental, genetic, and reproductive toxicity of seawater and sewage samples on sea urchin embryos and sperm.

1. Effluent from the sewage treatment plant (STP) at La Garde-Toulon Est was tested in its raw form (after primary treatment), or after flocculating by means of iron chlorosulfate and polyelectrolytes (PE) (resins Nos. 910 and 934), at dilutions ranging from 10⁻² to 3x10⁻².
2. Sewage treatment was simulated in the laboratory by stirring raw sewage with some flocculating agents [FeCl₃, or FeCl₂, or Al₂(SO₄)₃] with or without PE.
3. Seawater samples were collected at different distances from the sewage outlet and tested for their effects on embryogenesis and fertilization success as a function of sewage dilution.

The above samples were tested on developing embryos or sperm from the sea urchins *Paracentrotus lividus* and *Sphaerechinus granularis*, according to the methods reported by Pagano et al. (1986). To summarize: a) developmental defects and larval mortality in exposed embryos, and b) cytogenetic abnormalities (both aberrations and changes in quantitative parameters) were determined according to Pagano et al. (1983/1986). The effects on sperm were determined by changes in: a) fertilizing capacity, and b) offspring quality (embryogenesis, mortality, and mitotic activity).

Our results show an increase in the developmental toxicity of sewage following treatment with FeCl₃ and PE (at the STP or in the laboratory), or with FeCl₂ or Al₂(SO₄)₃ (with or without PE). Comparing the effects of the different agents, embryotoxicity may be ranked as follows:

[Al₂(SO₄)₃ ± PE] > [FeCl₂ + PE] > [FeCl₂ - PE] = [FeCl₃ + PE] > raw sewage = [FeCl₃ - PE]. These data were consistently obtained both with *P. lividus* and *S. granularis*, and showed an embryotoxic effect of FeCl₃-treated sewage at realistic levels, e.g. 3x10⁻² dilution. When developing embryos were reared in seawater samples collected at different distances from the sewage outlet, developmental defects displayed a dose-related trend as a function of sewage levels, with a significant increase of malformations in embryos reared in low-level sewage (~10⁻² dilution).

Sperm pretreatment experiments resulted in a decrease in fertilization success in sperm suspended in realistic levels of treated (not raw) sewage (e.g. 10⁻² dilution). It should be noted that high, non-realistic levels of treated sewage, as well as aged sewage (both raw and treated) resulted in an increase of fertilizing capacity, as compared to control seawater. When sperm were suspended in seawater samples collected at different distances from the sewage outlet, fertilization success was enhanced in plume samples (sewage dilution ~10⁻²), whereas diluted sewage (~10⁻² to 10⁻³) resulted in a decrease of fertilization success, as compared to offshore-collected seawater.

Present data point to the environmental hazards related to sewage treatment by using flocculation procedures and suggest that domestic effluents may contribute to developmental and reproductive imbalance in marine organisms. Developmental toxicity of sewage was exerted following treatment with each of the coagulants used. Due to the different potencies of the coagulants tested, it may be inferred that FeCl₂- or Al₂(SO₄)₃-treated sewage could exert a more severe embryotoxicity than FeCl₃-treated sewage. Spermio-toxicity was exerted by treated sewage at environmental levels, thus suggesting a role for domestic sewage in affecting reproductive success of some externally-fertilizing marine organisms. Some results suggest that aged or high-level sewage may cause an enhancement of the fertilizing capacity of echinoid sperm, or hormesis (Pagano et al., 1986) which might result in excess echinoid population growth.

The present study shows a good agreement between laboratory-simulated and in-field data, thus providing further evidence for the reliability of sea urchin embryo and sperm bioassay in toxicity testing and in biological monitoring of marine pollution (Kobayashi, 1971; Muchmore & Epel, 1973; Stebbing et al., 1980; Oshida et al., 1981; Dinnel et al., 1982; Pagano et al., 1986).

REFERENCES

- Dinnel, P.A., Stober, Q.J., Crumley, S.C., and Nakatani, R.E. (1982). Development of a sperm cell toxicity test for marine waters. In: Pearson, J.G., Foster, R.B., and Bishop, W.E. (Eds.) "Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Fifth Conference, ASTM STP 766". American Society for Testing and Materials, Philadelphia, pp. 82-98.
- Kobayashi, N. (1971). Fertilized sea urchin eggs as an indicator material for marine pollution bioassay, preliminary experiments. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.* 18:379-406.
- Muchmore, D., and Epel, D. (1973). The effects of chlorination of wastewater on fertilization in some marine invertebrates. *Mar. Biol.* 19:93-95.
- Oshida, P.S., Goochey, T.K., and Mearns, A.J. (1981). Effects of municipal wastewater on fertilization, survival, and development of the sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus*. In: Vernberg, F.J., Calabrese, A., Thurberg, F.P., and Vernberg, W.B. (Eds.) "Biological Monitoring of Marine Pollutants". Academic Press, New York, pp. 389-402.
- Pagano, G., Esposito, A., Bove, P., de Angelis, M., Rota, A., and Giordano, G.G. (1983). The effects of hexavalent and trivalent chromium on fertilization and development in sea urchins. *Environ. Res.* 30:442-452.
- Pagano, G., Cipollaro, M., Corsale, G., Esposito, A., Ragucci, E., Giordano, G.G., and Trieff, N.M. (1986). The sea urchin: Bioassay for the assessment of damage from environmental contaminants. In: Cairns, J., Jr. (Ed.) "Community Toxicity Testing, ASTM STP 920". American Society for Testing and Materials, Philadelphia, pp. 66-92.
- Stebbing, A.R.D., Åkesson, B., Calabrese, A., Gentile, J.H., Jensen, A., and Lloyd, R. (1980). The role of bioassays in marine pollution monitoring. *Bioassay panel report. Rapp. P.-v. Réunion. Cons. Int. Explor. Mer* 179:322-332.

Rapp. Comm. int. Mer Médit., 31, 2 (1988).