



Environnement
Canada

Environment
Canada

Service de la
protection de
l'environnement

Environmental
Protection
Service

Les effets sublétaux de dispersions de pétrole sur un isopode estuarien

Rég. Québec Biblio. Env. Canada Library



38 502 848

SPECIMEN

TD
182
R46
4-EC-82-1F

Développement technologique
Direction générale du contrôle des incidences environnementales

Rapport SPE 4-EC-82-1F
Juin 1982

LES RAPPORTS DU SERVICE DE LA PROTECTION DE L'ENVIRONNEMENT

Les rapports sur le développement des techniques décrivent l'équipement technique, les méthodes ainsi que les résultats des études de laboratoire, des usines-pilotes et des travaux de démonstration ou d'évaluation du matériel. Ils constituent la source principale d'information sur la recherche et les travaux de démonstration du Service de la protection de l'environnement.

Le Service publie nombre d'autres rapports dans les collections suivantes : Règlements, codes et méthodes d'analyse, Politique et planification, Analyse économique et technique, Surveillance, Exposés et mémoires soumis à des enquêtes publiques, Évaluation des incidences sur l'environnement et Guides de formation.

Pour tout renseignement, prière de s'adresser au Service de la protection de l'environnement, ministère de l'Environnement, Hull (Québec), Canada, K1A 1C8.

ENVIRONMENTAL PROTECTION SERVICE REPORT SERIES

Technology Development Reports describe technical apparatus and procedures, and results of laboratory, pilot plant, demonstration or equipment evaluation studies. They provide a central source of information on the development and demonstration activities of the Environmental Protection Service.

Other categories in the EPS series include such groups as Regulations, Codes and Protocols; Policy and Planning; Economic and Technical Review; Surveillance; Briefs and Submissions to Public Inquiries; and Environmental Impact and Assessment.

Inquiries pertaining to Environmental Protection Service Reports should be directed to the Environmental Protection Service, Department of the Environment, Hull, Quebec, Canada, K1A 1C8.

70181820

H2 113001

Les effets sublétaux de dispersions de pétrole sur un isopode estuarien

par

W.S. Duval, L.A. Harwood et R.P. Fink
(Environmental Sciences Limited)

pour

Environnement Canada
Service de la protection de l'environnement
Direction générale du contrôle des incidences environnementales
Direction des interventions d'urgence
Division de la recherche et du développement

Rapport SPE 4-EC-82-1F

ENVIRONNEMENT CANADA

Publication distribuée
par le Service de la protection de l'environnement
Ministère de l'Environnement
Hull
K1A 1C8

Édition française de
The Sublethal Effects of Dispersed oil on an Estuarine Isopod
préparée par le Module d'édition française
Ministère de l'Environnement

Rapport SPE 4-EC-82-1F

Imprimé par le ministère des Approvisionnements et Services
N° de catalogue : EN 46-4/82-1F
ISBN 0-662-91534-8

©
Ministre des Approvisionnements et Services
1982

RÉSUMÉ

Les effets sublétaux de dispersions par des moyens physiques ou par des moyens chimiques (Corexit 9527) de pétrole brut de la baie Prudhoe sur la physiologie et le comportement d'un isopode estuarien, *Gnorimosphaeroma oregonensis*, ont été étudiés dans un système à écoulement continu régularisé par un mini-ordinateur. Les isopodes cobayes, c'est-à-dire les sujets de l'expérience, ont été exposés à des teneurs en pétrole équivalentes à environ 0,3 et 20 p. cent de la CL_{50} - 48 h pendant des périodes de 24 et 48 heures, pour chaque type de dispersion. On a étudié les effets de la teneur en pétrole, de la durée d'exposition (c.-à-d. d'essai) et du type de dispersion de pétrole sur les paramètres sublétaux critiques et subcritiques (Percy, 1980), de même que la rapidité et l'ampleur des réactions de rétablissement.

D'une façon générale, l'exposition aux dispersions par voie physique ou par voie chimique de pétrole s'est traduite par une augmentation appréciable de la consommation d'oxygène chez les isopodes testés, accompagnée d'une diminution des taux et efficacités de l'assimilation du carbone. Les isopodes exposés aux dispersions de pétrole ont, de plus, accumulé des naphthalènes dans leurs tissus et présenté, dans certains cas, une altération des processus de mue et d'accouplement. L'importance et la persistance des effets sublétaux étaient généralement fonction de la teneur en pétrole et de la durée d'exposition. L'exposition à la dispersion par voie chimique s'est, dans la majorité des cas, traduite par des effets sublétaux plus marqués que ceux qui furent notés avec la dispersion par voie physique dans des conditions équivalentes. Les effets sublétaux ne persistaient cependant généralement pas plus de 48 heures après la fin de l'exposition. L'ampleur des effets sublétaux et des réactions de rétablissement chez les sujets de l'expérience fait l'objet d'une analyse.

*
* *

ABSTRACT

The sublethal effects of physically and chemically (Corexit 9527) dispersed Prudhoe Bay crude oil on the physiology and behaviour of the estuarine isopod, *Gnorimosphaeroma oregonensis* were examined in a minicomputer controlled flow-through system. Test organisms received oil concentrations approximating 0,3 and 20 per cent of the calculated 48-h LC_{50} for periods of 24 and 48 hours for each dispersion type. The effects of exposure concentration, exposure duration and dispersed oil type on both critical and subcritical sublethal parameters (Percy, 1980) were investigated, as well as the rate and extent of recovery responses.

In general, exposure to both physically and chemically dispersed oil caused a significant increase in oxygen consumption of treated isopods and a concomitant decrease in carbon assimilation rates and efficiencies. In addition, isopods exposed to oil dispersions accumulated naphthalenes in their tissues, and in some cases showed altered moulting patterns and mating responses. The magnitude and persistence of sublethal effects were usually dependent upon oil concentration and exposure duration. In most cases, exposures to chemically dispersed oil resulted in more pronounced sublethal effects than comparable treatments with physically dispersed oil. These sublethal effects, however, usually persisted for less than 48 hours beyond the end of the oil exposure. The significance of the sublethal effects and subsequent recovery responses observed in the test populations are discussed.

AVANT-PROPOS

Le présent rapport a été préparé par W.S. Duval, L.A. Harwood et R.P. Fink, de Environmental Sciences Limited, pour le compte de la Division de la recherche et du développement de la Direction des interventions d'urgence d'Environnement Canada. M. Cal Ross, de la Direction des interventions d'urgence, était le responsable scientifique de l'étude.

*
* *

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier M. Cal Ross de la Direction des interventions d'urgence du Service de la protection de l'environnement, qui a été le responsable scientifique de l'étude. Nous sommes aussi très reconnaissants envers M. Jeff Johansen pour son intérêt soutenu et l'aide apportée au cours des expériences menées en laboratoire.

Les laboratoires et installations connexes ont été fournis par le Dr Glen Geen et le Dr Brian McKeown de l'université Simon Fraser à Burnaby, en Colombie-Britannique. Nous remercions mesdames Nancy Knight, Appollonia Cifarelli et Joyce Street pour l'aide apportée au cours des études par radiocarbone. Nous remercions aussi le personnel des ateliers de soufflage de verre et de mécanique de l'université pour leur collaboration dans la fabrication du matériel ayant servi aux expériences.

Nous remercions M. Fielding Formway de Atlantic Richfield Refinery à Cherry Point (Washington), qui a fourni le pétrole brut de la baie Prudhoe, de même que la Garde côtière du Canada et Exxon Corporation qui ont fourni le Corexit 9527, utilisé pour l'étude.

Nous terminons en remerciant particulièrement mesdames Sharon Galenzoski pour la préparation des figures, Dianne Ouellet pour la typographie, Denise Séguin et Gabrielle Lamarche pour la mise en page.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ/ABSTRACT

AVANT-PROPOS

REMERCIEMENTS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

NOTES TERMINOLOGIQUES

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

1 Introduction

2 Méthodes

2.1	Plan général d'expériences	2
2.2	Capture et conservation des isopodes	3
2.3	Préparation des dispersions de pétrole dans l'eau	4
2.4	Matériel servant aux expériences	4
2.5	Essais biologiques de létalité aiguë	7
2.6	Étude des effets sublétaux à long terme	7
2.7	Mesure des taux de respiration	8
2.8	Mesure de l'assimilation de la nourriture	8
2.9	Mesure des teneurs en hydrocarbures des tissus	9
2.10	Observation des sujets	9

3 Résultats et analyse

3.1	Essais biologiques de létalité aiguë	10
3.2	Respiration	19
3.2.1	Plan d'expériences et données d'analyse	19
3.2.2	Caractéristiques générales	25
3.2.3	Essais d'une durée de 24 heures	26
3.2.4	Essais d'une durée de 48 heures	27
3.2.5	Résumé des expériences sur la respiration	28
3.3	Taux et efficacité d'assimilation	30
3.4	Absorption et élimination des naphthalènes	33
3.5	Réactions comportementales aux essais de toxicité sublétales	35
3.6	Effets à long terme d'une courte exposition au pétrole	36
3.6.1	Naphthalènes dans les tissus	37
3.6.2	Croissance et mue	37
3.6.3	Succès de la reproduction	38
3.6.4	Survie des adultes	39

BIBLIOGRAPHIE

ANNEXE Données recueillies au cours de l'étude

LISTE DES FIGURES

1	Schéma du dispositif de préparation et de dosage de la dispersion de pétrole dans l'eau	6
2	Distributions des tailles de gouttelettes de dispersions par voies physique et chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe	12
3	Variation dans le temps de la mortalité des sujets exposés à diverses teneurs d'une dispersion par voie physique de pétrole brut de la baie Prudhoe	13
4	Variation dans le temps de la mortalité des sujets exposés à diverses teneurs d'une dispersion par voie chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe	14
5	Courbes de toxicité de dispersion par voies physique et chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe	15
6	Différences relatives d'activité des sujets exposés à des dispersions par voies physique et chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe	17
7	Différences du nombre de mues chez des sujets exposés à des dispersions par voies physique et chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe	18
8	Effets d'une exposition de 24 heures à une dispersion par voie physique de pétrole sur la respiration des sujets	20
9	Effets d'une exposition de 24 heures à une dispersion par voie chimique de pétrole sur la respiration des sujets	21
10	Effets d'une exposition de 48 heures à une dispersion par voie physique de pétrole sur la respiration des sujets	22
11	Effets d'une exposition de 48 heures à une dispersion par voie chimique de pétrole sur la respiration des sujets	23
12	Effets des dispersions par voies physique et chimique (Corexit 9527) de pétrole brut de la baie Prudhoe sur les taux de respiration des sujets	29

LISTE DES TABLEAUX

1	Plan d'expériences pour l'étude des effets sublétaux sur les isopodes sujets	2
2	Analyse chimique des eaux de la région de capture de l'estuaire de la rivière Squamish (delta est à marée basse, 27/06/80)	3
3	Différences de mortalité par sexe au cours d'un essai biologique de 96 heures en écoulement continu portant sur une dispersion par voie chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe	16
4	Variations des taux quotidiens moyens de respiration (μl de O_2/g de poids humide par minute) en réaction aux dispersions par voies chimique (D.C.) et physique (D.P.) de pétrole	24
5	Pourcentage de variation des taux quotidiens moyens de respiration des sujets en réaction aux dispersions de pétrole	26
6	Assimilation du carbone par suite d'une exposition à des teneurs sublétales en pétrole brut de la baie Prudhoe en dispersion par voie physique ou chimique	31
7	Teneurs en naphthalènes résiduels des tissus après exposition à des dispersions par voies chimique (Corexit 9527) et physique de pétrole brut de la baie Prudhoe	33

NOTES TERMINOLOGIQUES

Assimilation : processus par lequel le carbone ingéré est transformé en nouveaux tissus.

Efficacité de l'assimilation : rendement de la transformation du carbone (ingéré)
en nouveaux tissus.

$$\frac{\text{mg de carbone assimilé}}{\text{mg de carbone ingéré}} \times 100$$

Taux d'assimilation : $\frac{\text{mg de carbone assimilé}}{\text{mg de poids sec du sujet}} \times 100$

Essai : désigne la partie de l'expérience correspondant à la période d'exposition.

Étude : désigne l'ensemble des travaux.

Expérience : couvre les périodes de pré-exposition, d'exposition et de post-exposition.

Sujet : animal soumis à l'essai (c.-à-d. aux effets de l'exposition).

Témoin : animal qui n'est pas soumis à l'essai et qui peut ainsi servir de base de comparaison.

Animal adulte : *mature organism*.

Bac à essai : *exposure vessel*.

Bac témoin : *control vessel*.

Cycle reproducteur : *life cycle*.

Dispersion par produit chimique : *chemically dispersed oil*.

Dispersion par moyen mécanique : *physically dispersed oil*.

Essai de toxicité sublétales : *sublethal exposure*.

Essai de toxicité chronique : *chronic exposure*.

Essai en écoulement continu : *flow-through assay*.

Essai en milieu statique : *static assay*.

Expérience de courte durée : *short-term study*.

Expérience de longue durée : *long-term study*.

Expérience sur les effets à long terme : *chronic exposure*.

Groupe sujet : *test population*.

Plan d'expériences : *experimental design*.

Réaction comportementale : *behavioural response*.

Sujet : *test organism*.

Taux d'ingestion : *feeding rate*.

Témoin : *control organism*.

Teneur : *concentration*.

Vitesse de rétablissement : *rate of recovery*.

Vivier : *holding tank*.

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Percy (1980), dans une étude récente des effets des hydrocarbures du pétrole et des dispersants chimiques sur les invertébrés des zones benthique et intertidale, a souligné que l'évaluation des effets des déversements de pétrole ne devait pas être restreinte à la toxicité létale, mais devait aussi porter sur les effets sublétaux qui peuvent présenter une importance encore plus grande du point de vue écologique. Cet auteur a divisé les effets sublétaux en deux catégories : ceux qui ont des conséquences directes et importantes du point de vue écologique (effets critiques) et ceux dont les conséquences ne touchent que certains individus (effets subcritiques). On a, dans le cadre du présent programme, étudié les effets critiques et subcritiques du pétrole brut (dispersé par des phénomènes physiques ou des produits chimiques) sur un crustacé estuarien de la sous-classe des isopodes, soit le cloporte *Gnorimosphaeroma oregonensis*. Le programme a été conçu de façon à fournir des réponses, mêmes partielles, aux cinq questions suivantes :

1) Quelles teneurs en pétrole dispersé suffisent à provoquer des effets sublétaux mesurables?

2) Quelle est l'importance de la durée d'exposition pour la mesure de l'ampleur et de la persistance de ces effets?

3) Les modifications sublétales de la physiologie et du comportement de l'isopode subsistent-elles après la période de contact avec le pétrole? Sinon, quelle est la période nécessaire au rétablissement des sujets?

4) L'utilisation des dispersants chimiques se traduit-elle par des effets sublétaux différents ou modifie-t-elle l'ampleur et la durée des effets attribués au pétrole dispersé par des moyens physiques?

5) Quelle est, à cet égard, l'importance écologique possible de modifications sublétales de la physiologie et du comportement de l'isopode? et l'utilisation de dispersants chimiques modifie-t-elle ces effets?

Il a été montré que le pétrole brut altérait plusieurs processus biochimiques, physiologiques et comportementaux chez les invertébrés marins, mais la nature des effets observés variait selon l'espèce, le stade évolutif (c.-à.-d. reproducteur), le type de pétrole et les conditions d'exposition. Les effets des dispersions de pétrole ou des constituants du pétrole solubles dans l'eau sur les crustacés des zones benthique et intertidale comprenaient : l'accumulation d'hydrocarbures dans les tissus par absorption directe à partir de l'eau de mer et leur ingestion avec la nourriture; une modification des taux d'excrétion des métabolites organiques et inorganiques dissous; une modification du métabolisme respiratoire; l'apparition de croissances néoplasiques et de lésions; une altération des modes d'activité (par ex.: la nage, le déplacement au sol, le comportement d'évitement); une perte de l'équilibre; une altération des fonctions de la chémoréception; une diminution de la croissance; des modifications des bilans du carbone ou de l'assimilation; une modification de la pigmentation externe; une diminution ou un accroissement de la mue; une altération du comportement de copulation et une diminution du taux de survie des nouveaux individus (Sanborn et Malins, 1977; Duval et Fink, 1980; Percy, 1980). Tous ces effets n'ont pas été observés chez les isopodes et Percy et Mullin (1975) et Duval et Fink (1980) ont présenté des données portant à penser que les isopodes pourraient être de beaucoup plus résistants aux effets du pétrole que les autres crustacés.

Le type de pétrole, la teneur en pétrole et le temps d'exposition ont influé sur le type ou l'ampleur des effets sublétaux notés chez *Gnorimosphaeroma oregonensis* pendant l'étude. Les effets suivants sur la physiologie et le comportement ont été observés : accroissement du taux de

respiration; diminution des aptitudes à nager et à ramper; réactions d'évitement; diminution de la fréquence de l'accouplement ou de l'appariement; perte de capacité motrice coordonnée; accroissement et réduction de la mue; diminution du taux d'assimilation du carbone; diminution de l'efficacité de l'assimilation du carbone; absorption de naphthalènes.

Les résultats de la présente étude indiquent aussi qu'une exposition de courte durée de *Gnorimosphaeroma* à des dispersions par des phénomènes physiques ou par des produits chimiques de pétrole brut de la baie Prudhoe n'a pas eu d'effet appréciable à long terme sur la croissance ou sur le succès de la reproduction. La plupart des effets sublétaux de l'exposition à la dispersion de pétrole dans l'eau avaient antérieurement fait l'objet d'une étude sur les effets, chez la même espèce, de la fraction soluble dans l'eau du pétrole de la baie Prudhoe (Duval et Fink, 1980), mais les caractéristiques observées au cours de la première étude n'avaient pas été définies aussi clairement que maintenant. Duval et Fink (1980) ont aussi signalé que l'exposition de *G. oregonensis* aux hydrocarbures solubles dans l'eau se traduisait par une plus forte excrétion des métabolites organiques dissous. Ils ont émis l'hypothèse que ce processus pouvait jouer un rôle dans l'élimination des hydrocarbures accumulés dans les tissus des sujets des expériences. Ce phénomène n'a cependant pas été étudié dans le cadre de la présente étude.

La teneur en pétrole de la dispersion et la durée de l'exposition ont toutes deux influé sur le type, l'ampleur et la persistance des effets sur la physiologie et le comportement. À la plus faible teneur de la dispersion étudiée (2,2 ppm) et à la durée d'exposition de 24 heures, le seul effet notable a été un faible accroissement du taux respiratoire (13,2 p. cent). Comme l'a mentionné Percy (1980), la modification du métabolisme respiratoire est en elle-même considérée comme un effet subcritique et elle présente un effet écologique restreint, à moins qu'elle ne persiste assez longtemps pour altérer d'autres processus critiques telles l'assimilation du carbone ou la croissance. À cette faible teneur jointe à une courte durée d'exposition (24 h), la respiration normale se rétablissait en moins de huit heures après la fin de l'essai, ce qui souligne la nature subcritique de ce type d'effet dans le cas de courtes expositions à de faibles teneurs. On a cependant noté, pour une teneur équivalente de dispersion par voie chimique (1,1 ppm) par rapport à la CL_{50} -48 h (3 p. cent) une absorption de naphthalènes en quantité notable chez les isopodes et aucune élimination de ceux-ci pendant la période de rétablissement de 48 heures. Le taux respiratoire s'est aussi accru légèrement (4,2 p. cent) pendant l'exposition (ou essai) et les 24 heures suivantes (9,2 p. cent), mais cette différence est négligeable du point de vue statistique. L'absorption appréciable de naphthalènes à une teneur de 50 p. cent inférieure à la teneur de la dispersion par voie physique, en volume, s'explique presque certainement par la plus petite taille des gouttelettes de pétrole produite par le Corexit 9527 servant à obtenir la dispersion. À des teneurs équivalentes de dispersions par voies chimique et physique en pétrole brut de la baie Prudhoe, la dispersion par voie chimique contenait 7,5 fois plus de particules de pétrole dont la surface était de 2,8 fois plus grande que pour la dispersion par voie physique, ce qui favorisait les possibilités de contact avec les sujets et l'assimilation des hydrocarbures par absorption par les surfaces du corps.

Aux teneurs équivalentes des dispersions par voies physique (2,2 ppm) et chimique (1,1 ppm), l'accroissement de la durée d'exposition (c.-à.-d. d'essai) de 24 à 48 heures se traduisait par des effets subcritiques plus prononcés (respiration) ainsi que par l'apparition d'un effet critique prenant la forme d'une diminution des taux d'assimilation du carbone. L'effet de la dispersion par voie physique sur la respiration était progressif; celle-ci était supérieure à la normale de 22 p. cent au deuxième jour d'exposition. Mais, comme pour des expositions de 24 heures, la respiration redevenait normale en 4 à 8 heures. On a noté, bien que ce résultat ne soit pas statistiquement significatif, que l'exposition de 48 heures à la dispersion par voie

physique à 2,2 ppm produisait aussi une diminution relativement marquée du taux et de l'efficacité de l'assimilation. Ces deux effets sublétaux seraient considérés comme critiques si l'on en réfère aux critères de Percy (1980), mais ces valeurs sont redevenues normales pendant la phase de post-exposition de 48 heures utilisée au cours de la présente étude. La plus forte respiration notée pendant la deuxième période de 24 heures d'exposition était probablement responsable de la diminution du taux d'assimilation tandis que la diminution de l'efficacité de l'assimilation pourrait dépendre d'une diminution du taux d'ingestion chez les sujets. Au contraire des résultats notés lors de l'exposition de 24 heures à la dispersion par voie physique, on notait une absorption appréciable de naphthalènes pendant l'exposition de plus longue durée et, de façon similaire, aucune élimination pendant les 48 heures suivant l'exposition. Le métabolisme des hydrocarbures absorbés nécessitant de l'énergie en plus de celle qui est nécessaire au métabolisme basal (Lee et coll., 1972), l'accroissement de la consommation d'oxygène noté à chaque jour d'exposition (5,7 et 22,3 p. cent respectivement) pourrait bien dépendre des phases initiales du métabolisme des hydrocarbures et donc se traduire par une diminution de l'assimilation nette de carbone.

Les types d'effets sublétaux notés pendant l'exposition de 48 heures à la dispersion par voie chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe à une teneur de 1,1 ppm étaient semblables à ceux qui ont été notés lors de l'exposition plus courte, mais ils étaient plus forts. Au cours de l'exposition de 24 heures, le taux de respiration ne s'est accru que de 4,2 p. cent et ne différait pas de façon significative de celui des témoins tandis que, lors du deuxième essai, des accroissements de 9,3 et 17,7 p. cent de la consommation d'oxygène ont été notés au premier et au deuxième jour d'exposition. Le rétablissement a aussi été plus lent que celui qui a été noté pendant la durée d'exposition plus courte à la même teneur en pétrole de la dispersion par voie chimique ou après l'exposition de 48 heures à la dispersion par voie physique. Les effets du traitement sur le taux d'assimilation, l'efficacité de l'assimilation et l'absorption des naphthalènes étaient presque identiques à ceux qui ont été notés pendant l'exposition de 24 heures. Le taux et l'efficacité de l'assimilation ont diminué pendant l'essai et sont redevenus normaux pendant la phase de rétablissement, et l'on a noté une absorption appréciable de naphthalènes, non suivie d'une élimination.

L'augmentation de la teneur des dispersions par voies physique et chimique à 20 p. cent de la CL_{50} - 48 h a provoqué un accroissement marqué des effets sublétaux sur la physiologie et le comportement, surtout pour les mélanges de Corexit 9527 et de pétrole brut de la baie Prudhoe. Comme il a été noté à 3 p. cent des teneurs létales aiguës des différents types de dispersions, l'allongement de la durée d'exposition avait aussi tendance à accentuer ces effets. Les essais de 24 et 48 heures aux dispersions par voies physique (13,2 ppm) et chimique (6,6 ppm) se sont traduits par une accumulation prononcée de naphthalènes dans les tissus des sujets. L'absorption des naphthalènes était aussi fonction de la teneur et nettement plus forte que celle qui a été notée aux plus faibles teneurs des deux types de dispersions. Aucune élimination appréciable de ces hydrocarbures n'a été notée pendant la période de rétablissement de 48 heures, mais les résultats d'études de longue durée effectuées à des teneurs semblables (27 p. cent de la CL_{50} - 48 h) indiquent une élimination en moins de 8 jours.

Les taux et efficacités d'assimilation ont aussi été réduits de façon marquée par l'exposition à des teneurs plus élevées de dispersions par voies physique et chimique de pétrole brut. La détermination de la signification statistique des données d'assimilation a cependant été limitée par la variabilité de celles-ci, phénomène typique dans les études sur les bilans du carbone. La dispersion par voie chimique avait tendance à réduire l'assimilation de façon plus marquée,

surtout pendant l'essai de 48 heures à 6,6 ppm, où les taux étaient de 71 p. cent inférieurs à la normale. Une réduction de l'assimilation du carbone de cette ampleur serait nettement considérée comme critique du point de vue écologique, mais comme au cours des expériences effectuées à la plus faible teneur (1,1 ppm) les taux étaient revenus à la normale moins de 48 heures après l'essai. Une diminution de l'assimilation a aussi été notée pendant l'essai de 48 heures à la dispersion par voie physique de 13,2 ppm. Dans ce cas, on n'a noté aucun rétablissement pendant la phase de post-essai. L'explication du phénomène n'a pas été trouvée.

Les effets des teneurs en pétrole plus élevées sur la consommation d'oxygène étaient fonction de la durée et de la teneur; la dispersion par voie chimique est celle qui a provoqué les accroissements les plus forts du métabolisme respiratoire. À ces teneurs, les effets de la dispersion par voie chimique sur la consommation d'oxygène apparaissaient moins de quatre heures après le début de l'exposition et ils étaient en moyenne supérieurs de 25,8 à 30,1 p. cent à la normale pendant le premier jour d'exposition et de 55,3 p. cent supérieurs aux valeurs témoins le deuxième jour d'exposition. Le rétablissement de la respiration n'a pas été aussi rapide et complet que celui qui a été observé à la plus faible teneur de la dispersion par voie chimique, les taux demeurant de 15,5 à 43,8 p. cent supérieurs à ceux des témoins le premier jour de post-exposition avant de diminuer à des valeurs de 14,8 à 23,3 p. cent supérieures à la normale pendant le reste des expériences. Toutes les expériences faites avec des mélanges de Corexit 9527 et de pétrole brut de la baie Prudhoe ont cependant permis de noter qu'il y avait retour vers la normale de la respiration au moins vers la fin des expériences.

Plusieurs études ont montré que l'exposition des crustacés benthiques à des hydrocarbures de pétrole pouvait retarder et parfois inhiber totalement la mue (Caldwell et coll., 1977; Wells, 1972). Mecklenberg et coll. (1977; cité dans Percy, 1980) ont émis l'hypothèse que la sensibilité des crustacés pouvait être reliée à une plus grande perméabilité de l'exosquelette pendant la mue, ce qui favoriserait la pénétration des composés toxiques dans les tissus. La mue, pendant nos essais avec la dispersion par voie chimique, a immédiatement été fortement réduite aux teneurs supérieures à 28,1 ppm. La dispersion par voie physique stimulait la mue à la teneur de 3 ppm; celle-ci était cependant réduite aux teneurs plus élevées (12,5 à 59,3 ppm) mais pas avec la même ampleur aux teneurs équivalentes à celles de la dispersion par voie chimique de pétrole brut. La stimulation de la mue par les hydrocarbures du pétrole a été observée par d'autres auteurs (par ex. Percy, 1978) de même qu'à l'occasion d'une étude portant sur la même espèce et la fraction soluble dans l'eau de pétrole brut de la baie Prudhoe (Duval et Fink 1980). La croissance et le cycle de mue des crustacés présentent d'étroites relations et des réductions de la fréquence de la mue de l'ordre de celles notées au cours de la présente étude pourraient être considérées clairement comme un effet critique selon les critères de Percy (1980). Nos expériences de longue durée montrent cependant qu'une courte exposition (24 heures) à presque les mêmes teneurs (27 p. cent de la CL_{50} - 48 h) des dispersions par voie physique ou chimique ne se traduisait pas par une diminution appréciable de la croissance sur une période de huit semaines.

Une réduction de l'accouplement a été signalée dans des études antérieures (par ex. Atema et coll., 1973) et l'on a émis l'hypothèse que celle-ci pouvait être reliée à des interférences au niveau des réactions chimiotactiques. Une telle réduction a été notée au cours des essais avec les dispersions par voies physique et chimique et les effets étaient plus prononcés et apparaissaient à des teneurs plus faibles avec les dispersions par voie chimique. La diminution de l'accouplement est aussi considérée comme un effet critique (Percy, 1980), mais les études à long terme n'ont pas permis de noter une diminution du nombre de nouveaux individus juvéniles, en 8 semaines d'observation, pendant des expositions aux deux types de dispersions à une teneur équivalente à 27 p. cent de la CL_{50} - 48 h.

Des effets sublétaux ont donc pu être mesurés au cours d'essais avec dispersions par voies physique et chimique de pétrole dont les teneurs étaient aussi faibles que 3 p. cent de la CL_{50} - 48 h (respectivement 2,2 et 1,1 ppm). Les effets sublétaux sont, avec l'augmentation de la durée d'essai et/ou de la teneur en pétrole, passés de très faibles stimulations à court terme du métabolisme respiratoire (effet subcritique) à des réductions des taux et efficacités de l'assimilation du carbone et à une absorption de naphthalènes (effets critiques). Les effets les plus prononcés et les plus persistants ont, dans tous les cas, été notés quand des sujets ont été exposés à des mélanges de Corexit 9527 et de pétrole brut de la baie Prudhoe. Le temps nécessaire au rétablissement des sujets était fonction du type de pétrole, de la teneur et de la durée d'essai, de la même façon que la fonction de physiologie comportementale altérée. Les taux de consommation d'oxygène et d'assimilation revenaient généralement à la normale moins de 48 heures après la fin de l'exposition, l'élimination des naphthalènes nécessitant de 2 à 8 jours. Les résultats des expériences de longue durée qui comprenaient un essai de 24 heures à des dispersions par voie physique ou chimique de teneurs en pétrole équivalentes à 27 p. cent de la CL_{50} - 48 h, suivie de huit semaines d'observations et de mesures, n'ont pas permis de noter d'effets appréciables sur la croissance, la fréquence de la mue et le nombre de nouveaux individus juvéniles.

L'interprétation des résultats de la présente étude est limitée par l'absence générale de données décrivant les teneurs en pétrole et la persistance du pétrole émulsifié dans les milieux littoraux après un déversement. Des facteurs comme la quantité et le type de pétrole déversé, les caractéristiques géographiques de la région, l'action des marées, les conditions météorologiques, les modes de nettoyage et le moment de l'année peuvent tous influencer sur le type et l'ampleur de la pollution par le pétrole. Des études en laboratoire et des expériences de déversements portent cependant à penser que les teneurs en pétrole dans la partie supérieure de la masse d'eau à la suite d'un déversement en pleine mer sont comparables à l'éventail des teneurs utilisées pour la présente étude. Des déversements simulés, tels ceux de Cormack et Nichols (1977) montrent par ailleurs que ces teneurs en pétrole dans la masse d'eau persisteraient, en général, tout au plus une heure. Dans un milieu estuarien où la capacité de rétention du pétrole pourrait être élevée et où les possibilités de dilution seraient relativement faibles, des teneurs en pétrole dispersé de l'ordre de celles qui ont été utilisées pour la présente étude pourraient probablement persister pendant plus longtemps. Les auteurs ont émis l'hypothèse que des éventails de teneurs allant de 1,1 à 13,2 ppm et des durées (24-48 h) d'exposition à la dispersion de pétrole de l'ordre de celles qui ont été utilisées pour la présente étude pourraient exister à la suite d'une pollution par le pétrole d'un marais estuarien, tel celui de la rivière Squamish.

Les résultats de la présente étude indiquent que l'utilisation de dispersants chimiques pour le nettoyage peut se traduire par des effets sublétaux plus prononcés chez certains crustacés estuariens que ceux qui résultent de la dispersion naturelle des nappes de pétrole. Cela est probablement relié au plus grand passage dans l'eau des constituants solubles du pétrole brut et à un contact plus grand entre les isopodes et les gouttelettes de pétrole. Cependant, les conséquences écologiques de l'exposition aux deux types de dispersions seraient fortement fonction de la teneur en pétrole et de la persistance du pétrole dans les environnements littoraux. Des augmentations de la teneur ou de la durée d'exposition auraient tous deux pour effet d'accroître la probabilité d'apparition d'effets écologiques critiques sur le comportement et la physiologie. La présente étude porte par ailleurs à penser que, du moins dans le cas de *Gnorimosphaeroma oregonensis*, même les effets sublétaux critiques causés par une brève exposition à du pétrole en émulsion persisteraient assez peu de temps et n'altéreraient peut-être pas la croissance ou la survie des individus atteints.

1 INTRODUCTION

Ces dernières années, on a mis de plus en plus l'accent sur la mesure des effets sublétaux d'une exposition de toxicité aiguë ou chronique au pétrole sur la flore et la faune marines. Les études de la toxicité létale aiguë de divers types de pétroles et d'agents dispersants sont utiles à l'évaluation de la sensibilité relative de diverses espèces et de la force de divers toxiques. Une information plus particulière au domaine écologique peut cependant être obtenue au moyen de programmes de recherches sur les effets sublétaux portant sur la mesure des processus physiologiques et comportementaux reliés à la croissance, la survie, la capacité de reproduction et la productivité (Percy, 1980). La période nécessaire au rétablissement des ressources touchées revêt elle aussi une grande importance dans l'évaluation des effets des déversements de pétrole ou des dispersants chimiques utilisés pour le nettoyage. Les répercussions écologiques et bioénergétiques des déversements de pétrole et des dispersants sont fortement fonction de la persistance des effets sublétaux. Les risques d'accroître tant la durée que l'ampleur des effets consécutifs à l'utilisation de dispersants (pour le nettoyage) revêtent une importance toute particulière à cet égard.

Le présent programme de recherches a été conçu afin d'évaluer la nature, l'ampleur et la durée des effets sublétaux physiologiques et comportementaux de l'exposition relativement courte d'un invertébré de la zone intertidale à des suspensions aqueuses de pétrole brut de la baie Prudhoe obtenues par voie physique ou chimique. On a choisi un invertébré de la zone intertidale comme sujet d'expériences, c'est-à-dire comme cobaye, à cause de la sensibilité connue des habitats intertidaux et estuariens aux déversements de pétrole (Clark et Finley, 1977; Sanborn, 1977) et de la possibilité de la persistance de pétrole émulsifié dans des habitats après un déversement et l'utilisation de dispersant. L'étude a porté sur un isopode estuarien, le cloporte *G. oregonensis*, parce qu'il est abondant dans la zone d'étude et afin de faciliter les comparaisons avec les résultats d'une étude antérieure effectuée par les auteurs et portant sur la même espèce et la fraction soluble dans l'eau du pétrole brut de la baie Prudhoe (Duval et Fink, 1980). Les résultats de la présente étude et d'autres études effectuées sur les invertébrés benthiques intertidaux (Percy et Mullin, 1975; 1977) indiquent que les isopodes sont relativement résistants au pétrole. Un autre objectif du présent programme consistait à déterminer si les dispersants chimiques modifiaient la sensibilité des isopodes au pétrole. Le pétrole brut de la baie Prudhoe et le dispersant Corexit 9527 ont été choisis pour l'étude car on dispose déjà de rapports (par ex. Foy, 1978, 1979) sur les effets toxiques sublétaux de ces substances, ce qui permet d'effectuer des comparaisons avec les résultats de la présente étude.

Le plan d'expériences et le matériel utilisés pour la présente étude sont semblables à ceux du programme de recherches sur les effets sublétaux déjà réalisé par les auteurs (Duval et Fink, 1980; Duval et coll., 1980). On a cependant, dans la présente étude, mis un plus grand accent sur la mesure des effets sublétaux "sous-critiques" (comme ceux qui portent sur la respiration et l'activité) et "critiques" (comme ceux qui portent sur la croissance, l'assimilation du carbone, la mue, le succès de la reproduction et la copulation (Percy, 1980). L'étude a été effectuée dans le cadre du programme sur les déversements d'hydrocarbures en milieu marin arctique. Elle a duré dix semaines et s'est déroulée à l'université Simon Fraser, à Burnaby (C.-B.).

2 MÉTHODES

2.1 Plan général d'expériences

Le présent programme a porté sur l'étude des effets sublétaux de dispersions par voies physique et chimique (Corexit 9527) de pétrole brut de la baie Prudhoe sur le comportement et la physiologie de l'isopode estuarien *Gnorimosphaeroma oregonensis*. Les sujets de l'expérience ont, pendant huit expériences d'une durée de cinq à six jours, été exposés pendant des périodes de 24 et 48 heures à chacun des types de dispersions à des teneurs équivalant à 3 et 20 p. cent de la CL_{50} -48 h calculée (tableau 1). Les teneurs létales aiguës des dispersions par voies physique et chimique du pétrole brut de la baie Prudhoe ont été calculées 48 et 96 heures après la fin des essais à écoulement continu (voir 2.5). Un essai supplémentaire a été effectué afin de déterminer la teneur létale aiguë du Corexit 9527 (sans pétrole brut) pour les sujets de l'expérience. Une proportion dispersant/pétrole brut de 1:10 a été maintenue pendant toutes les expériences comportant des dispersions par voie chimique. Les paramètres mesurés dans les études des effets sublétaux comprenaient les taux de respiration, le taux et l'efficacité de l'assimilation du carbone ainsi que l'assimilation et l'excrétion des naphthalènes. Des observations portant sur la copulation, la mue, la mortalité et le niveau d'activité générale des sujets ont été effectuées chaque jour. Les huit expériences de courte durée ont été effectuées à l'aide d'un système à écoulement continu commandé par mini-ordinateur déjà décrit par Duval et Fink (1980) et dont nous traitons brièvement dans les sections suivantes.

Tableau 1
Plan d'expériences pour l'étude des effets sublétaux sur les isopodes sujets

Type de dispersion	Durée de l'exposition (heures)	Teneur d'exposition (ppm)
Moyen physique	24	2,2 (3 p. cent CL_{50} -48 h)
	48	2,2
	24	13,2 (20 p. cent CL_{50} -48 h)
	48	13,2
Moyen chimique	24	1,1 (3 p. cent CL_{50} -48 h)
	48	1,1
	24	6,6 (20 p. cent CL_{50} -48 h)
	48	6,6

Chaque expérience comprenait une période d'acclimatation de 20 heures avant les étapes de mesures de pré-exposition et de l'alimentation. Le matériel comprenait huit bacs d'expériences de 8 litres, mais les taux de respiration n'ont été déterminés que dans quatre d'entre eux, étant donné les limites du logiciel. Les taux de respiration ont été mesurés à intervalles de 30 minutes tout au long de chaque expérience, qui comprenait 48 heures de pré-exposition, une période d'exposition de 24 ou 48 heures et une période de post-exposition de 48 heures permettant de mesurer le niveau de récupération des sujets. Les isopodes des quatre bacs non utilisés pour la mesure des taux de respiration connaissaient eux aussi une période de pré-exposition de 48 heures

avant d'être soumis à la dispersion par voie physique ou chimique. Les sujets étaient cependant retirés de ces derniers bacs à la fin de la période d'exposition afin de permettre la comparaison des taux d'assimilation du carbone et des teneurs en naphthalènes des tissus avant et après la période de rétablissement de 48 heures.

On a, en plus d'étudier les effets sublétaux à court terme, étudié les effets à long terme (huit semaines) de courtes expositions (24 heures) à des dispersions par voie physique ou chimique de pétrole brut. Les paramètres mesurés chaque semaine après l'exposition initiale comprenaient la teneur en naphthalènes résiduels des tissus, la longueur et le poids d'un sous-échantillon d'isopodes, la mortalité (y compris par sexe) et le nombre d'individus juvéniles parmi les sujets soumis à l'expérience.

2.2 Capture et conservation des isopodes

Des *Gnorimosphaeroma* ont été capturés dans le marais littoral du delta est de l'estuaire de la rivière Squamish, entre avril et juin 1980. Les isopodes capturés ont été identifiés comme des *Gnorimosphaeroma oregonensis* (Dana) selon Schultz (1969) et Menzies (1954). Les zones de capture intertidales étaient caractérisées par de nombreux étangs et canaux littoraux contenant des souches immergées, des débris de bois et des sédiments riches en sulfure. Les analyses chimiques de l'eau (Hach, DREL/4) effectuées dans la région n'ont pas permis de détecter la présence de polluants qui auraient pu être des causes de stress pour les individus avant leur utilisation pour les études des effets sublétaux (tableau 2).

Tableau 2
Analyse chimique des eaux de la région de capture de l'estuaire de la rivière Squamish
(Delta est à marée basse, 27/06/80)

Paramètre	Valeur
H ₂ S (sédiments en place)	n.d.
H ₂ S (sédiments déplacés)	1,0 mg/l
Brome	0,14 mg/l
Chlore	0,04 mg/l
Chrome (hexavalent)	0,001 mg/l
Couleur	40 APHA
Conductivité	4 900 µmhos/cm
Cuivre	0,05 mg/l
Iode	< 0,2 mg/l
Fer (total)	0,12 mg/l
Manganèse	0,3 mg/l
Azote (ammoniac)	0,64 mg/l
Azote (nitrate)	1,9 mg/l
Azote (nitrite)	0,06 mg/l
Phosphore (réactif)	0,72 mg/l
Silice	2,35 mg/l
Sulfate	155 mg/l
Turbidité	12 UTF

Les isopodes ont été capturés à marée basse, en dessous de débris de billes et d'écorces immergés. Ils ont été transportés au laboratoire de l'université Simon Fraser dans des viviers de plastique de 10 litres et conservés de 18 à 24 heures avant le début de chaque expérience. L'eau contenant les isopodes était, pendant cette période, continuellement aérée et maintenue à la température ambiante (16-18 °C). Environ 100 grammes d'isopodes étaient capturés pour chaque expérience et toute modification du rapport des sexes (ou la présence d'individus juvéniles dans la population naturelle) a été enregistrée pendant les trois mois de l'étude.

Les *Gnorimosphaeroma* ont, après la période de conservation, bénéficié d'une période d'acclimatation à la température de l'essai (11-14 °C) d'environ 20 heures. La phase d'acclimatation s'est achevée dans les bacs d'expériences décrits à la section 2.4.

2.3 Préparation des dispersions de pétrole dans l'eau

Une quantité de 45 litres de pétrole brut de la baie Prudhoe (versant nord de l'Alaska) a été fournie par Atlantic Richfield Refinery de Cherry Point (Washington). Le pétrole a été transféré des contenants de transport de 5 gallons en acier inoxydable dans des erlenmeyers de verre de 1 ou 2 litres avant le début du programme de recherches. Chaque flacon a été bouché et recouvert de papier d'aluminium afin d'éviter l'évaporation et la photo-oxydation des hydrocarbures volatils. L'utilisation de tubes de taille différente a permis d'obtenir le rapport désiré de 10 parties de pétrole pour une partie de dispersant. Le pétrole et le dispersant étaient réunis dans une même conduite où ils étaient en contact pendant au moins 2 minutes avant d'atteindre le bassin à mélange.

Pendant la durée de l'essai proprement dit (soit la période d'exposition), un volume déterminé de la dispersion de pétrole diluée avec de l'eau de mer était transféré toutes les 30 minutes dans les bacs à essai de 8 litres. Ainsi, les teneurs en pétrole augmentaient graduellement pour atteindre un équilibre environ 10 heures après le début de l'ajout du liquide toxique. La teneur en pétrole dans les bacs à essai diminuait aussi en fonction du temps à la fin de l'exposition.

2.4 Matériel servant aux expériences

Les effets sublétaux de dispersions par voies physique et chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe sur les taux de respiration ont été mesurés dans quatre bacs à écoulement continu de 8 litres. Quatre bacs supplémentaires de 8 litres ont servi à l'étude de l'assimilation du carbone et des teneurs en naphthalènes résiduels dans les tissus des sujets de l'expérience jusqu'à la fin de la période d'exposition.

Une pompe Manostat à deux canaux a servi pendant la préparation des dispersions par voie physique pour le transfert hydraulique du pétrole des erlenmeyers de 1 ou 2 litres dans un bassin à mélange en verre, isolé, d'une capacité de 15 litres. Selon la teneur requise, un ou deux des canaux de la pompe péristaltique ont servi au transfert du pétrole. Les débits ont été variés de 0,5 à 1,0 ml/mn afin d'obtenir des teneurs en pétrole de 500 à 1 000 ppm dans le bassin à mélange. Le pétrole était dispersé en continu dans de l'eau de mer fraîche à l'aide d'un agitateur Caframo de type RZR1-64 fonctionnant à 1 500 tr/mn. Un interrupteur actionné par un flotteur commandait l'arrivée d'eau de mer et de pétrole dans le bassin à mélange à mesure que le volume de la dispersion diminuait par suite de son utilisation pour chaque cycle d'exposition. De l'eau de mer contenue dans un bassin de 200 litres passait par gravité dans le bassin à mélange, le débit étant réglé par une valve à solénoïde commandée par un régulateur à micro-interrupteur

(figure 1). L'éventail des teneurs en liquide toxique requis pour les divers essais était obtenu par la variation du débit de la pompe et du rapport : liquide toxique/eau de mer, mesuré pour chaque bac à essai.

Le dispersant chimique (Corexit 9527) a été obtenu de la Garde côtière canadienne et de Exxon Corporation (Division des produits chimiques). La dispersion par voie chimique a été préparée d'une façon similaire à la dispersion par voie physique, sauf pour les points suivants. Une pompe Manostat à 10 canaux a été utilisée pour transférer le pétrole (2 canaux) et pomper directement le Corexit (1 canal) dans le bassin à mélange, en verre, de 15 litres.

Les appareils utilisés pour le programme de recherches étaient semblables à ceux qu'avaient décrits Duval et Fink (1980) dans une étude portant sur les effets sublétaux, chez divers animaux de la faune marine, de la fraction soluble dans l'eau du pétrole brut de la baie Prudhoe. Nous décrivons brièvement ci-dessous les principales composantes du système ainsi que les modifications que nécessitait le présent programme de recherches. Le lecteur trouvera dans Duval et Fink (1980) ou Duval et coll. (1980) le détail du montage et du fonctionnement des bacs respiromètres et des appareils annexes.

Un réservoir d'eau de mer de 200 litres alimentait à la fois le bassin à mélange (ou bassin de préparation du liquide toxique) et un bassin de recirculation de l'eau de mer situé au-dessus du bain d'eau contenant les bacs d'expériences (ou bacs respiromètres). L'alimentation par gravité en eau de mer et en pétrole dispersé, à partir des bassins, était réglée par une série de valves à solénoïde en acier inoxydable commandées par l'ordinateur. La teneur en pétrole de la dispersion pénétrant dans chaque bac d'expériences était déterminée par le temps pendant lequel chacune des valves était ouverte et périodiquement contrôlée par un compteur Coulter de modèle TAI. Quatre bacs respiromètres de 8 litres (2 bacs témoins et 2 bacs à essai) étaient placés dans un bain d'eau thermostaté, sous les bassins d'eau de mer et de liquide toxique. De l'eau de mer ou de la dispersion par voie physique ou chimique étaient retirées des bacs, puis passées dans un analyseur d'oxygène où la teneur en oxygène dissous était mesurée. La différence entre la teneur en oxygène de l'eau retirée des bacs et la teneur en oxygène de l'eau de mer saturée d'air des bassins a servi à calculer les taux respiratoires des isopodes en μl de O_2 par gramme de poids humide par minute.

Une minuterie à 2 cycles de 12 heures servait à régler la photopériode (12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité) en commandant les fluorescents du plafond du laboratoire. La période "jour" s'étendait de 08 h 00 à 20 h 00, l'intensité lumineuse au niveau des bacs respiromètres variant de 11 à 15 microeinsteins par mètre cube par minute. Les températures du bain contenant les bacs respiromètres et celles du bassin d'eau de mer ont varié entre 11 et 14 °C au long de la période d'expériences.

Les composantes d'acquisition des données étaient regroupées autour d'un mini-ordinateur Data General Nova 2/10 à mémoire à tores de 16 K mots. Un sous-ensemble Data General Model 6030 Dual Diskette a été utilisé pour charger le principal programme de contrôle et divers systèmes de mesures. La communication avec le mini-ordinateur et l'enregistrement des données des expériences se faisaient à l'aide d'un terminal à imprimante de 60 caractères/seconde Dasher Model 6040. Le principal programme de contrôle qui réglait le déroulement des expériences et l'acquisition des données à intervalles déterminés (30 minutes) était écrit en *Assembler* en système d'exploitation en temps réel. Un moniteur de teneur en oxygène YSI Model 53 a été modifié de façon à accepter quatre électrodes polarographiques Model 4304 et les capteurs ont été placés dans des venturis de Perspex de façon à minimiser les effets de la consommation d'oxygène résiduel. Le mini-ordinateur a aussi servi à contrôler et à compenser les dérives d'étalonnage de chacune des sondes et à effectuer une vérification interne du moniteur d'oxygène YSI (test A-B).

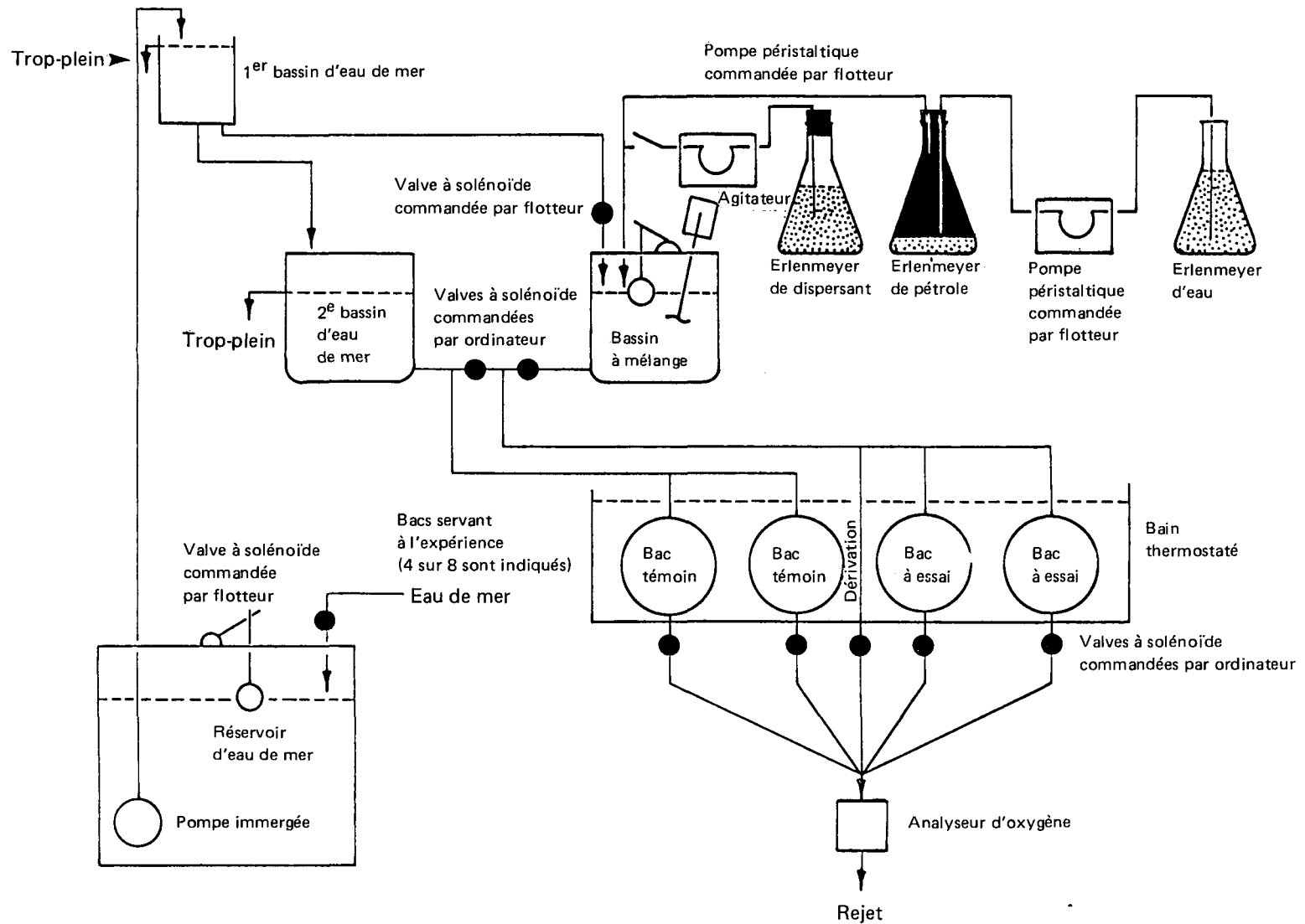


Figure 1. — Schéma du dispositif de préparation et de dosage de la dispersion de pétrole dans l'eau

2.5 Essais biologiques de létalité aiguë

Des essais biologiques en écoulement continu (96 h) ont été réalisés avant le début des études des effets sublétaux à court et long terme afin de déterminer la concentration létale aiguë des dispersions par voies physique et chimique pour l'isopode estuarien *G. oregonensis*. Des valeurs de 3 et de 20 p. cent de la CL₅₀ - 48 h de chacun des types de dispersions ont été choisies pour constituer les teneurs servant aux expériences sur les effets sublétaux. Un essai supplémentaire en écoulement continu a été effectué pour évaluer la concentration létale aiguë du Corexit 9527 pour les sujets des expériences.

Toutes les expériences ont été réalisées en utilisant 8 bacs de 8 litres. Les isopodes de six des bacs ont été exposés à des dispersions de teneurs variées. Les deux autres bacs ne recevaient pas de liquide toxique : ils servaient de témoins. L'ajout d'eau de mer et de mer contenant du pétrole était réglé par le mini-ordinateur et les composantes matériel/logiciel décrites ci-dessus. Les teneurs en pétrole des dispersions dans les bacs étaient périodiquement mesurées sur une base volumétrique à l'aide d'un compteur Coulter Model TAI. Cette technique a été préférée à l'analyse chimique car elle permet de mesurer de façon plus précise la teneur totale en particules de pétrole tout en facilitant l'examen de la distribution des tailles des particules du pétrole émulsifié.

Environ 100 grammes d'isopodes ont été placés dans chaque bac d'expériences. Le taux de mortalité était enregistré en fonction du temps sur une échelle logarithmique selon la méthode de Sprague (1969). Le niveau d'activité générale, le comportement de copulation, la mue et la coloration externe étaient aussi notés pendant chaque période d'observation. Après 96 heures, les isopodes étaient retirés des bacs et l'on calculait le taux de mortalité pour chaque teneur de dispersion et chaque période d'observation. Les concentrations létales (CL₅₀ - 48 h et 96 h) des dispersions par voies physique et chimique du pétrole brut de la baie Prudhoe pour *Gnorimosphaeroma* ont été déterminées par la méthode graphique de Litchfield et Wilcoxon (1949).

2.6 Étude des effets sublétaux à long terme

Le présent programme comporte, en plus des études sur les effets à court terme des dispersions de pétrole sur la physiologie et le comportement, l'étude des effets à long terme d'une courte exposition des isopodes à des dispersions par voies physique et chimique de pétrole à des teneurs sublétales. Les paramètres mesurés pendant une période de huit semaines suivant un essai (c'est-à-dire une exposition) de 24 heures à une dispersion de pétrole comprenaient les teneurs en naphthalènes des tissus des sujets, la mortalité, la croissance et le nombre estimatif d'individus juvéniles.

Six bacs de 8 litres à écoulement continu contenant chacun 13 g (poids humide) de sujets déjà acclimatés ont été utilisés pour la phase d'exposition. Deux bacs ont été utilisés comme témoins tandis que deux paires de bacs contenaient respectivement 18 ppm et 9 ppm (27 p. cent de la CL₅₀ - 48 h) de dispersions par voie physique ou chimique. Immédiatement après l'exposition aux dispersions, les isopodes des bacs appariés (même exposition) ont été réunis et transférés dans des cuves de polyéthylène de 25 litres où ils ont été observés toutes les semaines pendant huit semaines. Les cuves étaient maintenues à une température de 16 à 20 °C, aérées en continu et l'eau de mer y était changée six fois par jour par alimentation en continu. Dans toutes les cuves, les sujets recevaient comme aliments des tissus de doré et de crabe. La nourriture était donnée "au besoin", ce qui s'est traduit par 31 grammes d'aliments par cuve pendant la période de huit semaines. La nourriture non consommée était enlevée chaque semaine et remplacée par de la nourriture nouvelle.

Un échantillon de 40 à 50 isopodes était prélevé au hasard dans chaque cuve une fois par semaine. Après tri des sujets selon le sexe, en fonction des caractéristiques d'anatomie et de taille décrites par Menzies (1954), la longueur totale de 10 mâles et de 10 femelles était mesurée au compas d'épaisseur. Le reste de l'échantillon servait à déterminer les poids humide et sec et la teneur en naphthalènes résiduels des tissus. Les échantillons de tissus ont été préparés et analysés pour la teneur en naphthalènes selon les méthodes décrites en 2.9. Le nombre et le sexe de tous les isopodes morts dans chaque cuve étaient notés avant que les sujets ne soient enlevés chaque semaine. Le nombres d'individus juvéniles et d'exuvies présents dans chaque cuve étaient aussi évalués au cours de chaque période d'observation hebdomadaire.

2.7 Mesure des taux de respiration

Le taux de respiration (μl de O_2/g de poids humide/mn) des isopodes des quatre bacs respiromètres était calculé par le mini-ordinateur à intervalles de 30 minutes sur toute la durée des périodes de pré-exposition, d'exposition et de post-exposition des expériences sur les effets sublétaux à court terme. Le calcul comportait la comparaison des teneurs en oxygène dissous de l'eau de mer pénétrant et sortant des bacs respiromètres, après corrections pour la dérive d'étalonnage. Les différences entre la teneur en oxygène dissous de l'eau de mer et de celle de l'eau de mer contenant le pétrole ont aussi été prises en considération dans le calcul des taux de respiration (Duval et Fink, 1980).

2.8 Mesure de l'assimilation de la nourriture

Le taux et l'efficacité de l'assimilation de la nourriture chez les isopodes ont été évalués immédiatement après des essais avec des teneurs sublétales de dispersions par voies physique et chimique ainsi que 48 heures après les essais. On donnait chaque jour aux isopodes des rations de crevettes artémias (*Artemia salina*) marquées au carbone 14, et après la fin de chaque essai un sous-échantillon des sujets de chaque bac était congelé pour analyse ultérieure du carbone 14.

On a, au cours de l'étude, préparé trois cultures d'artémias marquées au ^{14}C . Dans chaque cas, on laissait les artémias se nourrir d'une culture de *Dunaliella tertiolecta* en phase de croissance exponentielle que l'on avait inoculée par du bicarbonate marqué au ^{14}C . Les crevettes étaient retirées des cultures d'algues après 24 heures et congelées en paquets de 20. Un paquet était placé dans chaque bac, chaque jour, pendant les expériences de courte durée. De plus, au moins six échantillons, de cinq crevettes, étaient prélevés de chaque lot pour mesure ultérieure de l'activité des rations quotidiennes. L'activité moyenne des artémias de chacun des trois lots était de 191 000, 21 300 et 47 000 doses par minute par crevette.

Les échantillons d'isopodes pour l'analyse du carbone 14 étaient formés de 3 mâles et de 3 femelles séchés à masse constante, pesés sur balance de précision Mettler H20T et oxydés à l'aide d'un Packard Model B0306 Tri-carb. On a utilisé de l'Oxisorb- CO_2 et de l'Oxyprep-2 comme, respectivement, agent de capture du ^{14}C et agent fluorescent. La radioactivité des échantillons calcinés a été déterminée à l'aide d'un compteur de scintillation Beckman L3-8000 et les désintégrations par minute ont été transformées en doses par minute par un programme informatique Nubec. L'efficacité de l'assimilation (doses par minute récupérées/doses par minute fournies) et le taux d'assimilation (μg de $^{14}\text{C}/\text{mg}$ de poids sec par jour) ont ensuite été calculés pour les isopodes de chaque bac d'exposition, ce pour tous les essais.

2.9 Mesure des teneurs en hydrocarbures des tissus

Les naphthalènes résiduels ont été dosés dans les tissus d'isopodes congelés immédiatement après et 48 heures après expositions à des teneurs sublétales de dispersions par voies physique et chimique. Des échantillons hebdomadaires d'isopodes des cuves d'expériences de longue durée ont été conservés pour l'analyse des hydrocarbures.

Les échantillons d'isopodes étaient refroidis sur glace carbonique, pulvérisés au mortier et pesés sur une balance de précision Mettler H20T, La masse des échantillons variait de 0,5 à 1,2 gramme. Chaque échantillon était placé dans un flacon de 20 ml lavé à l'acide contenant 15 ml d'hexanes de qualité spectrophotométrie UV. Les flacons étaient ensuite scellés avec du papier d'aluminium, agités doucement pendant une minute et conservés pendant 3 heures à 4 °C.

Les lipides et les matériaux cellulaires étaient éliminés des extraits par passage sur colonne d'alumine activée par la chaleur. L'éluat était recueilli dans des flacons lavés à l'acide et le volume normalisé à 20 ml par de l'hexane. Le pourcentage de transmittance de chaque échantillon était déterminé par rapport à un blanc à l'hexane à 221 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV Perkin-Elmer. La transmittance de chaque échantillon était ensuite transformée en teneur en naphthalènes à l'aide d'une courbe d'étalonnage obtenue avec des étalons de 0,01 à 10 ppm de naphthalènes dans de l'hexane de qualité spectrophotométrie.

2.10 Observation des sujets

Les observations étaient faites au même moment chaque jour dans le cas des expériences de courte durée. Les paramètres observés comprenaient la mortalité, le nombre des mues, l'activité d'alimentation relative, la présence de couples appariés, l'activité de nage relative, la coloration et le niveau général d'activité.

3 RÉSULTATS ET ANALYSE

3.1 Essais biologiques de létalité aiguë

Les teneurs létales aiguës des dispersions par voies physique et chimique (Corexit 9527) du pétrole brut de la baie Prudhoe et du dispersant ont été déterminées par essais de 96 heures en écoulement continu. Les taux de mortalité des isopodes à chaque période d'observation et pour chaque teneur en dispersion sont présentés au tableau A de l'annexe. Le taux de mortalité n'a jamais été supérieur à 3 p. cent dans les bacs témoins. Le Corexit 9527 employé seul n'a provoqué aucune mort en 96 heures à la teneur la plus élevée (1 000 ppm) utilisée pendant un essai donné. La mortalité notée pendant l'exposition des isopodes à la dispersion par voie chimique n'a donc pas été attribuée au dispersant. Les CL_{50} -96 h et les limites de confiance de 95 p. cent des dispersions ont été évaluées par des méthodes graphiques (Litchfield et Wilcoxon, 1949) et elles étaient de 21,5 (7,1-68,0) ppm et 8,2 (3,5-19,4) ppm pour, respectivement, les dispersions par voies physique et chimique. Les CL_{50} -48 h étaient respectivement de 70 (24-203) ppm et de 32 (13-78) ppm pour les mêmes dispersions. Selon les méthodes d'analyse décrites par Litchfield et Wilcoxon (1949), les CL_{50} en 48 ou 96 heures des deux types de dispersions ne différaient pas de façon significative ($p > 0,05$). Il faudra effectuer des essais supplémentaires pour étayer la toxicité apparente plus élevée des dispersions par voie chimique chez l'espèce testée.

Il existe beaucoup de données sur la toxicité aiguë des dispersions de pétrole pour les organismes marins, mais la comparaison des résultats des études est souvent compliquée par l'absence de méthodes normalisées (par ex. les essais en milieu statique par rapport aux essais en écoulement continu) et le fait que plusieurs auteurs n'ont pas contrôlé les teneurs en hydrocarbures dans la masse d'eau où les sujets sont testés. Une forte variabilité dans la composition des pétroles étudiés et l'utilisation d'espèces différentes à des stades évolutifs (ou reproducteurs) différents restreignent encore plus l'interprétation des résultats des études antérieures.

Craddock (1977) a résumé les résultats d'un grand nombre d'expériences de laboratoire portant sur la toxicité aiguë des divers pétroles bruts et produits pétroliers raffinés pour les invertébrés marins. Les effets létaux aigus des dispersions de pétrole chez les isopodes n'ont cependant pas été étudiés en système à écoulement continu, tel celui qui a été utilisé pour la présente étude. Percy et Mullin (1975) ont signalé l'absence de mortalité après 96 heures pour trois espèces d'isopodes arctiques (*Mesidotea entomon*, *M. sibirica* et *M. sabini*) exposées à de fortes dispersions (dose initiale de plus de 300 ppm) de pétrole brut de Norman Wells en milieu statique. Foy (1978), au cours d'une expérience semblable en milieu statique, a étudié la toxicité aiguë de dispersions par voie physique et par Corexit 9527 de pétrole brut de la baie Prudhoe chez trois espèces d'amphipodes arctiques (*Onisimus litoralis*, *Boeckosimus edwardsi* et *Anonyx nugax*). Les CL_{50} -96 h pour les dispersions de pétrole dans l'eau variaient de 32 à 55 ppm pour toutes les espèces. Les gammes étaient de 24 à 213 ppm pour *Onisimus* et de 64 à 213 ppm pour *Boeckosimus* et *Anonyx* pour les dispersions par Corexit. Il a émis l'hypothèse qu'une plus grande partie des hydrocarbures non toxiques étaient dispersés dans la masse d'eau avec l'utilisation du Corexit, ce qui diminuerait les teneurs létales par rapport aux dispersions mécaniques. Les résultats de ces deux études ne correspondent pas à ceux de la présente étude qui portent à penser que la dispersion du pétrole brut de la baie Prudhoe obtenue par Corexit 9527 était légèrement plus toxique que la dispersion par voie physique. Cet écart peut s'expliquer par des différences de charges toxiques découlant des essais en milieu statique ou en écoulement continu. La technique en écoulement continu facilitant le renouvellement constant en pétrole non dégradé, le produit exposition-teneur et la dose efficace sont plus élevés tout au long de l'essai.

D'autres facteurs ont pu contribuer aux plus fortes toxicités aiguës des dispersions notées au cours de la présente étude, mais il est généralement admis que les essais en écoulement continu permettent d'obtenir une évaluation plus complète de la toxicité (par ex. Vaughan, 1973).

Les auteurs du présent rapport n'acceptent pas l'hypothèse de Foy (1978) voulant que l'utilisation de dispersants chimiques se traduise par une plus forte proportion d'hydrocarbures non toxiques dans la masse d'eau. À teneurs égales en pétrole ajouté à l'eau, l'utilisation de Corexit 9527 ne fait pas seulement accroître la quantité totale de pétrole présent sous forme dispersée, mais accroît aussi le rapport surface/volume (par une diminution du volume moyen des particules), ce qui favorise le passage en solution des aromatiques partiellement solubles qui sont les hydrocarbures les plus responsables des effets toxiques aigus. Foy (1978) a signalé qu'après 3,5 heures, sans mélange, les émulsions de pétrole brut de la baie Prudhoe obtenues par Corexit contenaient jusqu'à 7,5 fois plus d'hydrocarbures mesurables (spectroscopie de fluorescence) dans la masse d'eau qu'une dispersion par voie physique d'une même quantité de pétrole. Les résultats de notre étude indiquent aussi que la taille moyenne des particules des dispersions par voie chimique était, en moyenne, de 75 p. cent inférieure à celle des émulsions obtenues par voie physique. Comme on peut le voir à la figure 2, les volumes moyens des particules des dispersions par voies chimique et physique du pétrole brut de la baie Prudhoe étaient, respectivement, de $536 \mu^3$ ($\phi = 5,04 \mu$) et de $2\ 154 \mu^3$ ($\phi = 8,00 \mu$). La possibilité de contact avec les sujets est donc accrue avec la dispersion par voie chimique, de même que la surface effective de passage en solution qui donne une fraction aqueuse.

D'autres chercheurs ont suggéré la possibilité d'une toxicité généralement plus forte de la dispersion par voie chimique de pétrole pour les invertébrés autres que les isopodes, mais les différences en ce qui concerne les types de pétrole et des espèces utilisées rendent ici aussi les comparaisons difficiles. Swedmark et coll. (1973) ont noté, au cours d'un essai en écoulement continu, que les pétroles émulsifiés par divers dispersants étaient d'une façon générale plus toxiques pour les bivalves et les crustacés que le pétrole brut ou le dispersant utilisé seul. Ainsi, les émulsions de pétrole brut d'Oman préparées avec du Corexit 7664 étaient plus toxiques pour le crustacé le plus sensible utilisé, la crevette *Leander adspersus*, ($CL_{50} = 170$ ppm) que la dispersion par voie physique de pétrole brut d'Oman (teneur initiale supérieure à 1 000 ppm).

Sprague (1969) a signalé que les courbes de toxicité (temps léthal médian en fonction de la teneur) et le rapport entre le taux de mortalité à diverses teneurs en toxiques et le moment d'observation pouvaient permettre de mieux connaître le mode d'action des divers polluants. Les données présentées aux figures 3 et 4 portent à penser que les effets toxiques des dispersions par voies physique et chimique de pétrole étaient généralement linéaires, sur échelle de log-probit, et qu'elles présentaient un mode d'action commun. Cette conclusion semble juste car les pentes de ces courbes ne varient pas de beaucoup en fonction de la teneur en pétrole ou des types de dispersion, bien que la dispersion par voie chimique soit nettement plus toxique aux plus faibles teneurs (ce que les courbes de toxicité (figure 5) des dispersions par voies chimique et physique corroborent). Aux teneurs en pétrole inférieures à 40 ppm, les temps de survie médians étaient significativement ($p < 0,05$) plus faibles quand du Corexit 9527 avait été utilisé pour la dispersion.

L'enregistrement du sexe des sujets morts s'est poursuivi pendant les essais portant sur la dispersion par voie chimique et il s'est avéré que les isopodes mâles présentaient un taux de mortalité de beaucoup supérieur à celui des femelles. Un phénomène semblable a été noté pour la dispersion par voie physique, mais le sexe des sujets morts n'a pas été enregistré. Comme on peut le voir au tableau 3, les deux plus faibles teneurs en pétrole utilisées pour l'essai (5,2 et 12,5 ppm) n'ont provoqué qu'une légère mortalité chez les isopodes femelles tandis que presque

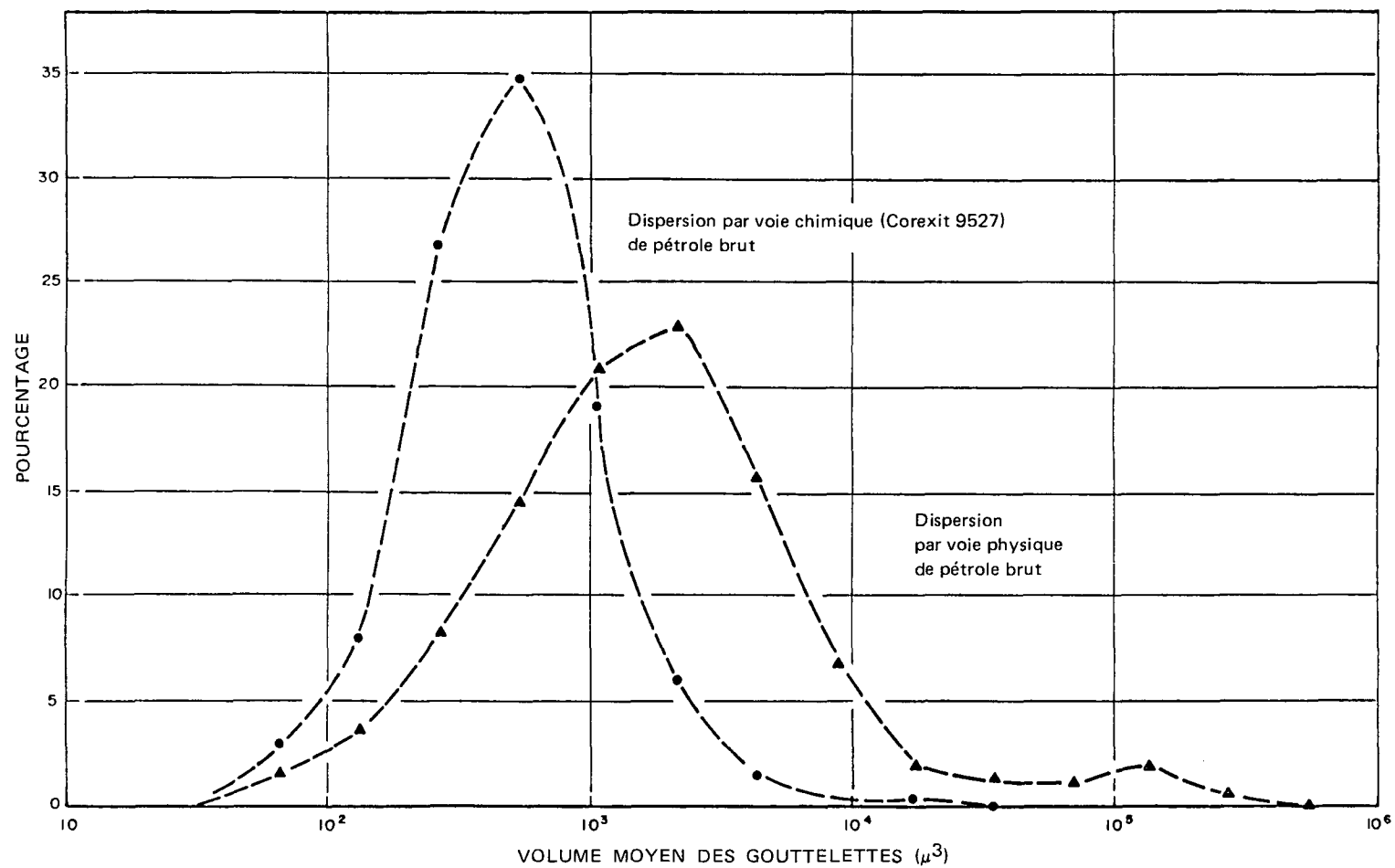


Figure 2. — Distributions des tailles de gouttelettes de dispersions par voies physique et chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe

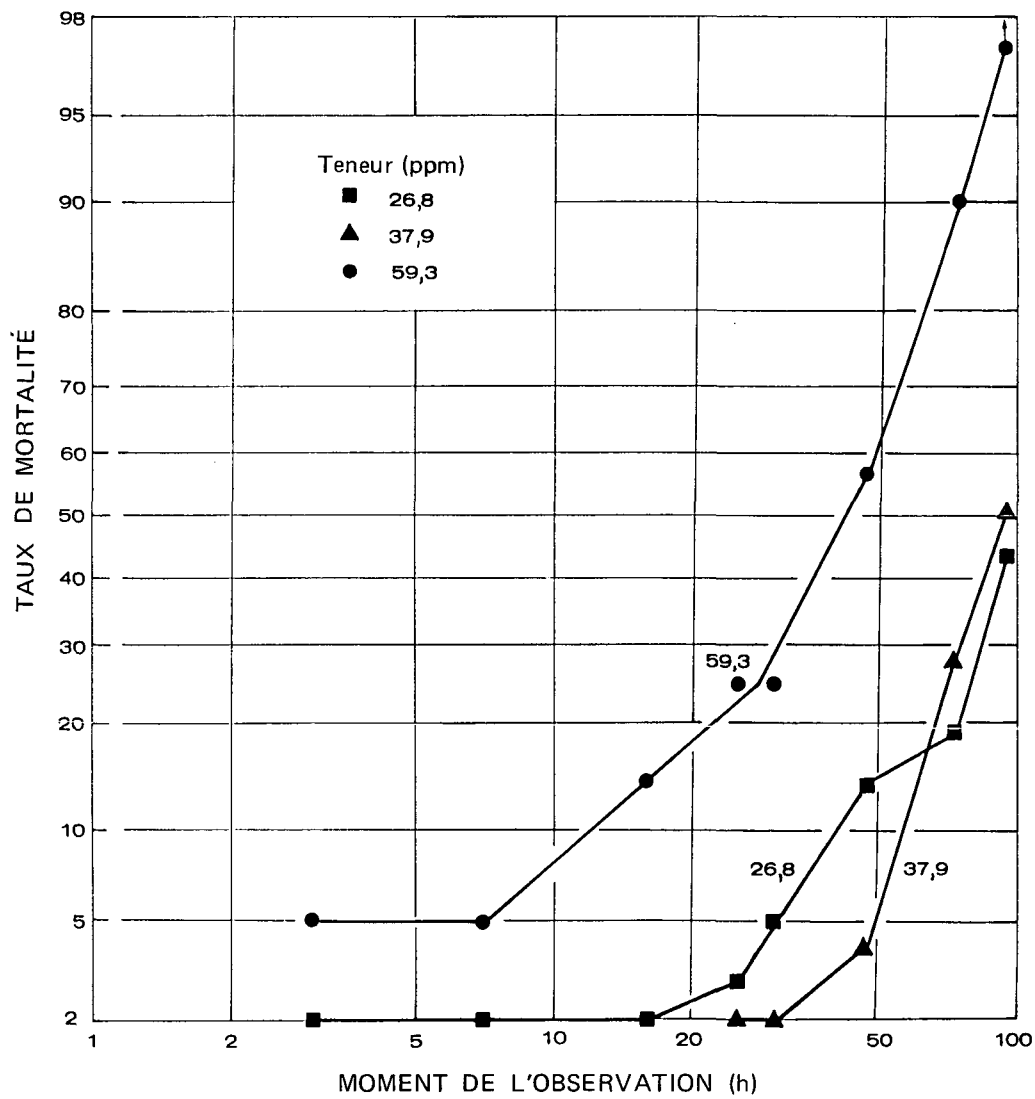


Figure 3. — Variation dans le temps de la mortalité des sujets exposés à diverses teneurs d'une dispersion par voie physique de pétrole brut de la baie Prudhoe

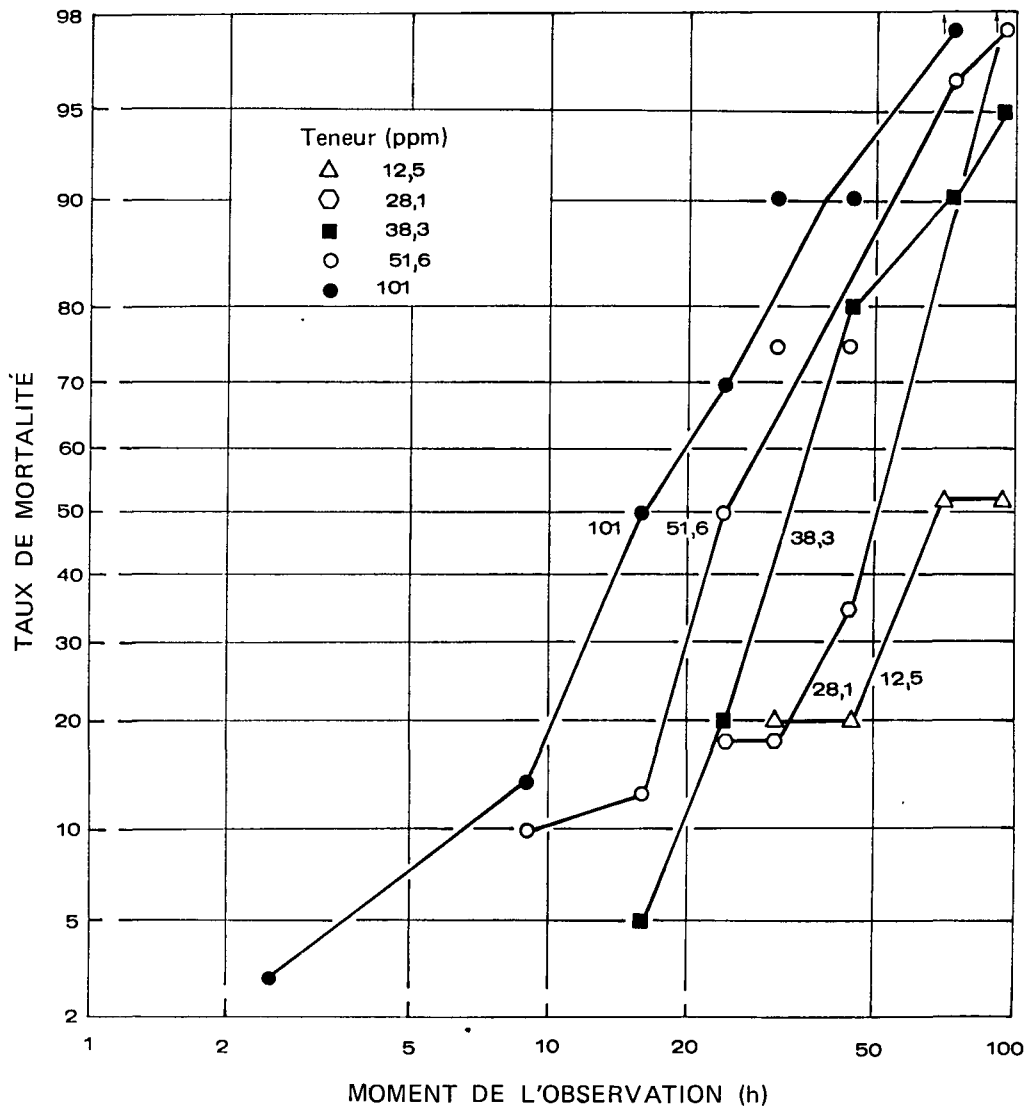


Figure 4. — Variation dans le temps de la mortalité des sujets exposés à diverses teneurs d'une dispersion par voie chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe

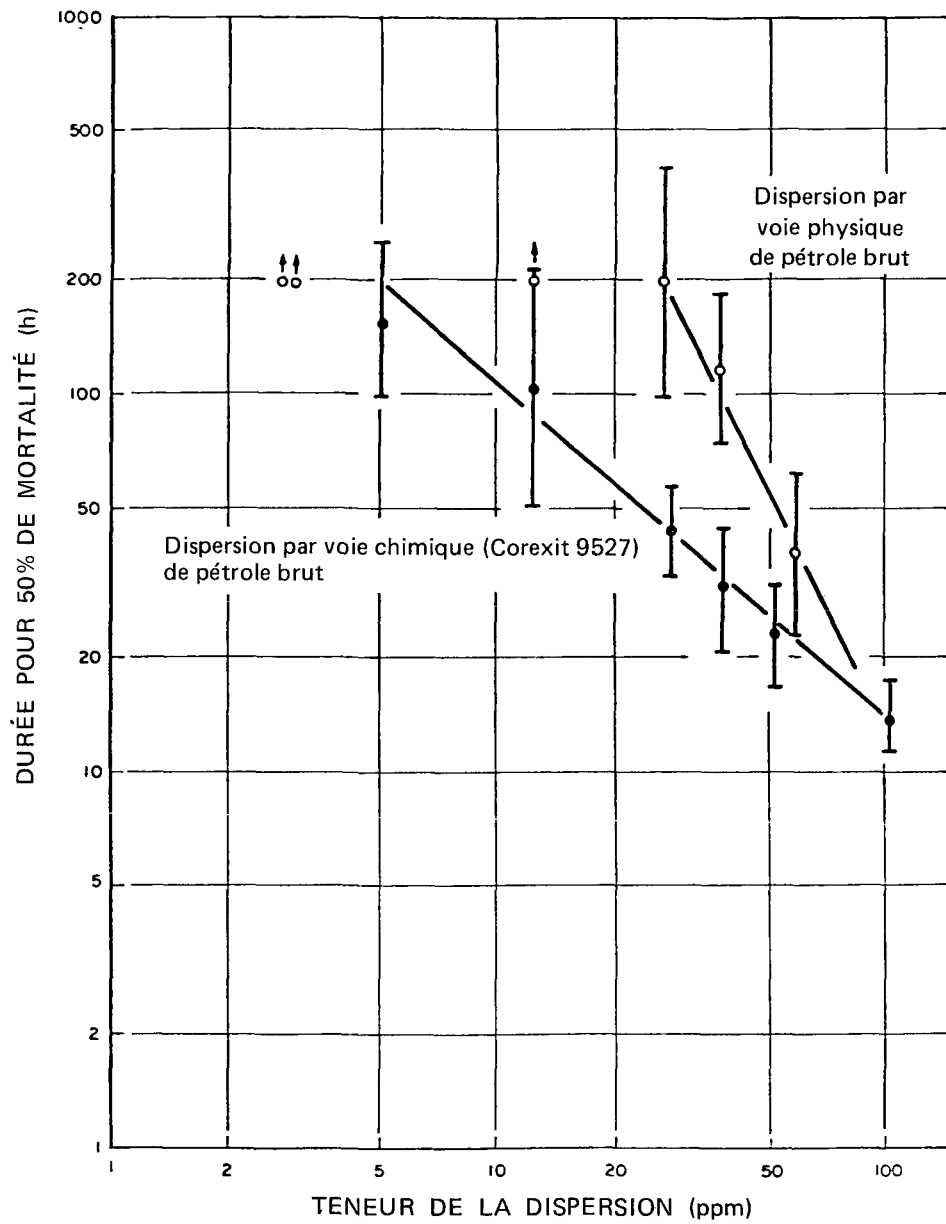


Figure 5. — Courbes de toxicité de dispersions par voies physique et chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe

Tableau 3
Différences de mortalité par sexe au cours d'un essai biologique de 96 heures en écoulement continu portant sur une dispersion par voie chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe

Teneur en pétrole (ppm)	Mortalité des femelles (%)	Mortalité des mâles (%)
5,2	12,5	96,7
12,5	12,0	98,2
28,1	86,0	98,5
38,3	98,1	100,0
51,6	100,0	100,0
101,0	100,0	100,0

tous les mâles sont morts. Cette différence sur le plan de la mortalité diminuait avec l'augmentation de la teneur en pétrole, et la dispersion par voie chimique de pétrole brut de Prudhoe utilisée à des teneurs de 51,6 à 101 ppm était mortelle pour tous les individus des deux sexes en moins de 96 heures. De plus, le niveau d'activité des mâles dans les bacs à essai à écoulement continu diminuait beaucoup plus tôt et à de plus faibles teneurs que celui des femelles. La plus grande sensibilité des mâles aux dispersions de pétrole était probablement liée au moment de l'observation, qui coïncidait avec la phase de post-reproduction de leur cycle évolutif, alors que leur mortalité naturelle était élevée et que leur abondance dans la zone de capture diminuait continuellement.

On a aussi observé au cours des expériences les comportements à la fois des sujets et des témoins. Une diminution marquée de la fréquence des copulations a été notée pendant les premières heures de l'essai avec la dispersion par voie chimique. La diminution a été plus forte aux teneurs les plus élevées ainsi que pendant le dernier jour d'exposition aux plus faibles teneurs. On a, dans certains cas, noté une diminution de la copulation pendant l'exposition à la dispersion par voie physique bien que les tendances liées à la teneur et à la durée n'apparaissent pas de façon aussi évidente que dans le cas de l'émulsion chimique. Duval et Fink (1980) ont déjà signalé une diminution de la fréquence des copulations chez des individus de cette espèce exposés à la fraction soluble dans l'eau du pétrole brut de la baie Prudhoe. Il est donc possible que les effets plus considérables de la dispersion par voie chimique sur la copulation soient reliés à une plus grande possibilité de passage en solution des hydrocarbures aromatiques au moment de l'ajout des dispersants au pétrole brut.

La perte de coordination motrice est un autre effet des dispersions du pétrole. On notait, pour une dispersion par voie physique à une teneur en pétrole de 59,3 ppm, que 98 p. cent des sujets étaient immobilisés après 16 heures. À une teneur de 101 ppm d'une dispersion par voie chimique correspondait l'immobilisation de 90 p. cent des sujets en moins de 2,5 heures. Les différences relatives d'activité de sujets exposés aux dispersions par voies physique et chimique sont présentées à la figure 6. Il faut cependant souligner que les observations de ce genre tendent à être quelque peu subjectives et fonction du moment de la journée où elles sont faites, c'est-à-dire fonction des rythmes d'activité circadiens. Des diminutions de l'activité générale des sujets n'en étaient pas moins décelables, surtout avec la dispersion par voie chimique à teneurs supérieures à 28,1 ppm. L'immobilisation des sujets après l'exposition au pétrole présentait cinq degrés :

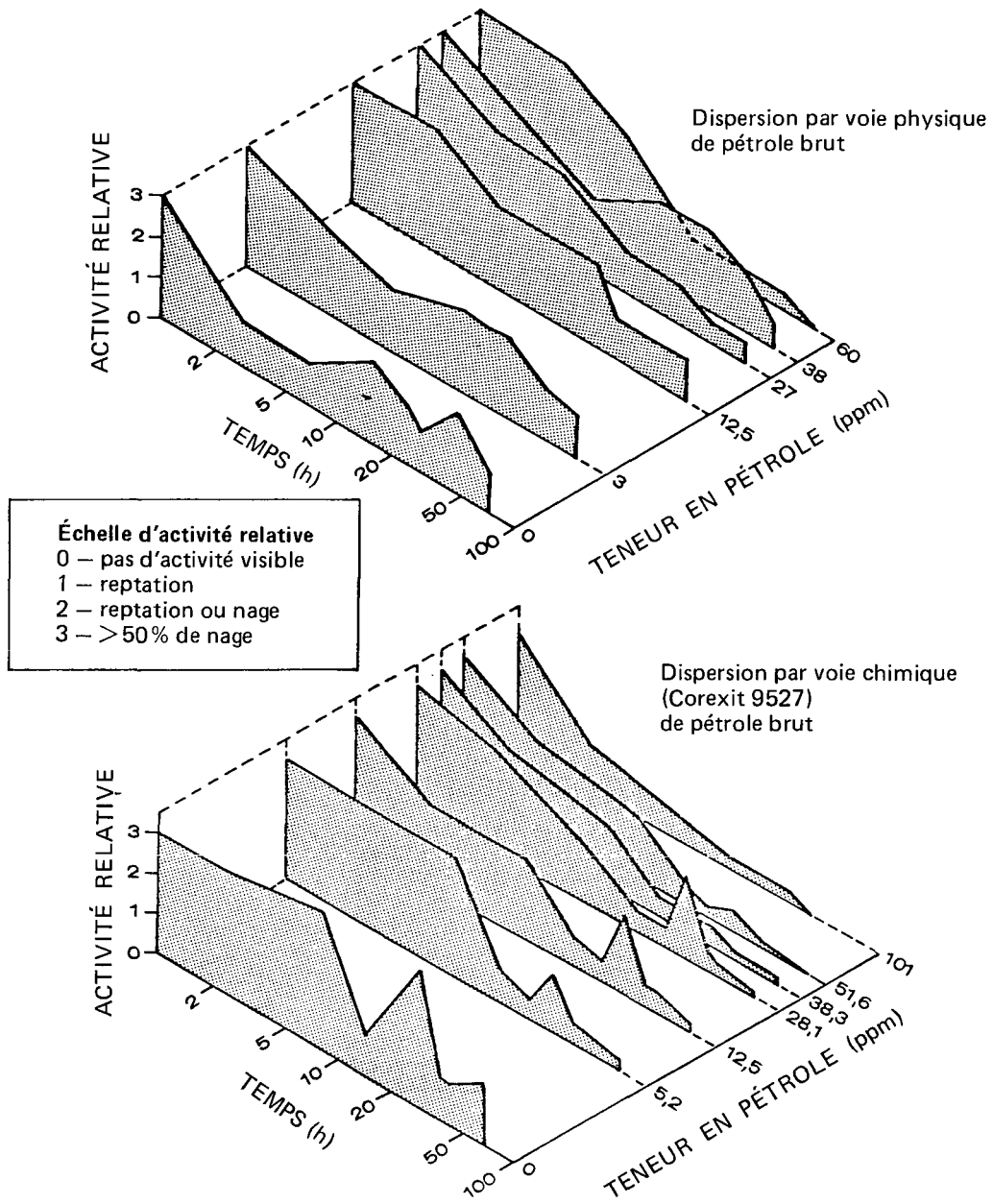


Figure 6. — Différences relatives d'activité des sujets exposés à des dispersions par voies physique et chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe

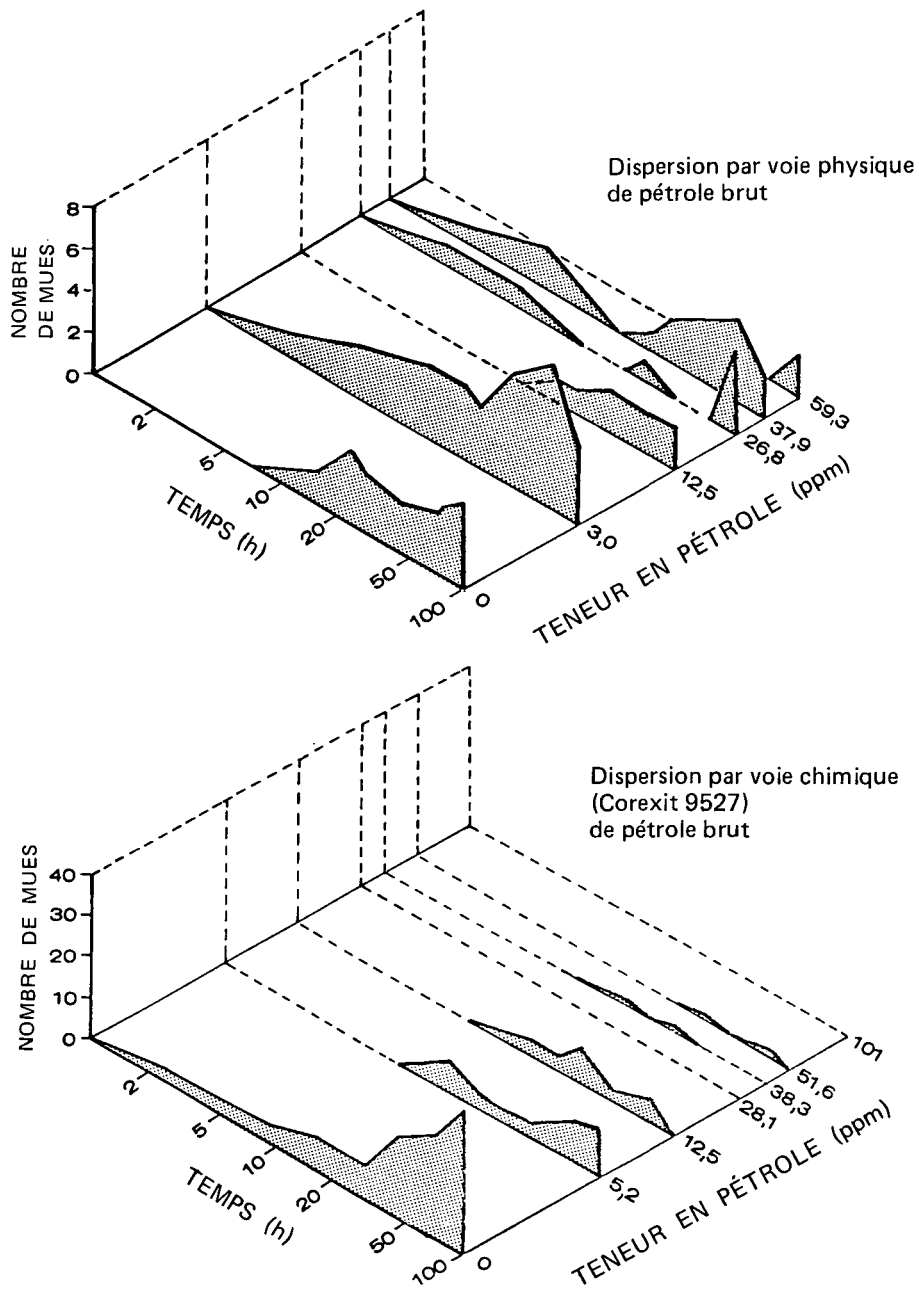


Figure 7. — Différences du nombre de mues chez des sujets exposés à des dispersions par voies physique et chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe

- 1) perte de la capacité de ramper de façon coordonnée;
- 2) incapacité de se redresser après s'être posé sur la face dorsale après avoir nagé;
- 3) perte de la capacité de nager;
- 4) perte de la mobilité de tous les appendices sauf les pléopodes;
- 5) perte du mouvement de flexion dorso-ventral (nécessaire au redressement) et celui des pléopodes.

Notre étude indique que les isopodes pourraient se remettre des trois premiers degrés d'immobilisation si l'exposition à la dispersion de pétrole cessait, mais d'autres études devront être effectuées pour confirmer le degré et la vitesse de rétablissement après une immobilisation par dispersion de pétrole.

Duval et Fink (1980) ont signalé que l'exposition de *Gnorimosphaeroma* à la fraction soluble dans l'eau du pétrole brut de Prudhoe provoquait un accroissement de la mue. Ce phénomène a aussi été examiné au cours de notre étude. Des augmentations de la fréquence des mues, telles que cela fut notée au cours d'une étude précédente, n'ont été observées que lorsque les isopodes étaient exposés à la dispersion par voie physique, surtout à la teneur de 3 ppm et, dans une moindre mesure, à la teneur de 37,9 ppm (figure 7). La dispersion par voie physique avait aussi pour effet d'avancer le temps de la mue par rapport à la normale. L'exposition à toutes les teneurs de dispersion par voie chimique avait par ailleurs pour effet de réduire de façon marquée la fréquence des mues (figure 7), surtout aux teneurs en pétrole supérieures à 12,5 ppm.

Les effets du pétrole sur le rythme diurne de la pigmentation des corps et les réactions d'évitement des isopodes ont aussi été étudiés pendant nos essais. Au contraire des rythmes de pigmentation modifiés observés lorsque cette espèce était exposée aux hydrocarbures solubles dans l'eau du pétrole brut de la baie Prudhoe (Duval et Fink, 1980), la majorité des sujets exposés aux dispersions par voie physique ou chimique ont conservé leur coloration normale (bandes brun pâle le jour et bandes brun pâle translucides la nuit) jusqu'à leur mort. Les réactions d'évitement à la dispersion par voie physique étaient mal définies et souvent variables tandis que ces réactions à la dispersion au Corexit 9527 prenaient la forme d'une nage immédiate et forte.

3.2 Respiration

3.2.1 Plan d'expériences et données d'analyse. — Les effets de dispersions par voies physique et chimique de pétrole sur la respiration de *G. oregonensis* ont été étudiés au moyen de huit expériences de courte durée (tableau 1, section 2.1). Les effets de deux périodes d'exposition (24 et 48 heures) et trois teneurs (0, 3 et 20 p. cent des CL₅₀ - 48 h) ont été étudiés pour chaque type de dispersion. Les expériences comprenaient une période de pré-exposition de 48 heures, une exposition de 24 ou 48 heures et une période de rétablissement ou de post-exposition de 48 heures. Pendant chaque expérience, deux des quatre bacs respiromètres contenaient des groupes témoins. Les données sur la respiration relevées toutes les 30 minutes pour chacun des 4 groupes ont servi à calculer les taux moyens de consommation d'oxygène pour 4 heures des groupes sujets et des groupes témoins (figures 8 à 11). Les taux de respiration moyens ($\pm\sigma$) des sujets et des témoins au cours de chaque expérience sont présentés aux tableaux B à I de l'annexe. La comparaison des taux moyens de périodes de 4 heures effectuée à l'aide du test t de Student a servi à déterminer si les différences résultaient de l'exposition au liquide toxique, et cela dans le cas de chaque expérience.

Les taux quotidiens moyens de consommation d'oxygène des groupes témoins variaient, durant les 44 jours de mesure, de 6,30 à 13,23 μl de O₂/g de poids humide par minute. La varia-

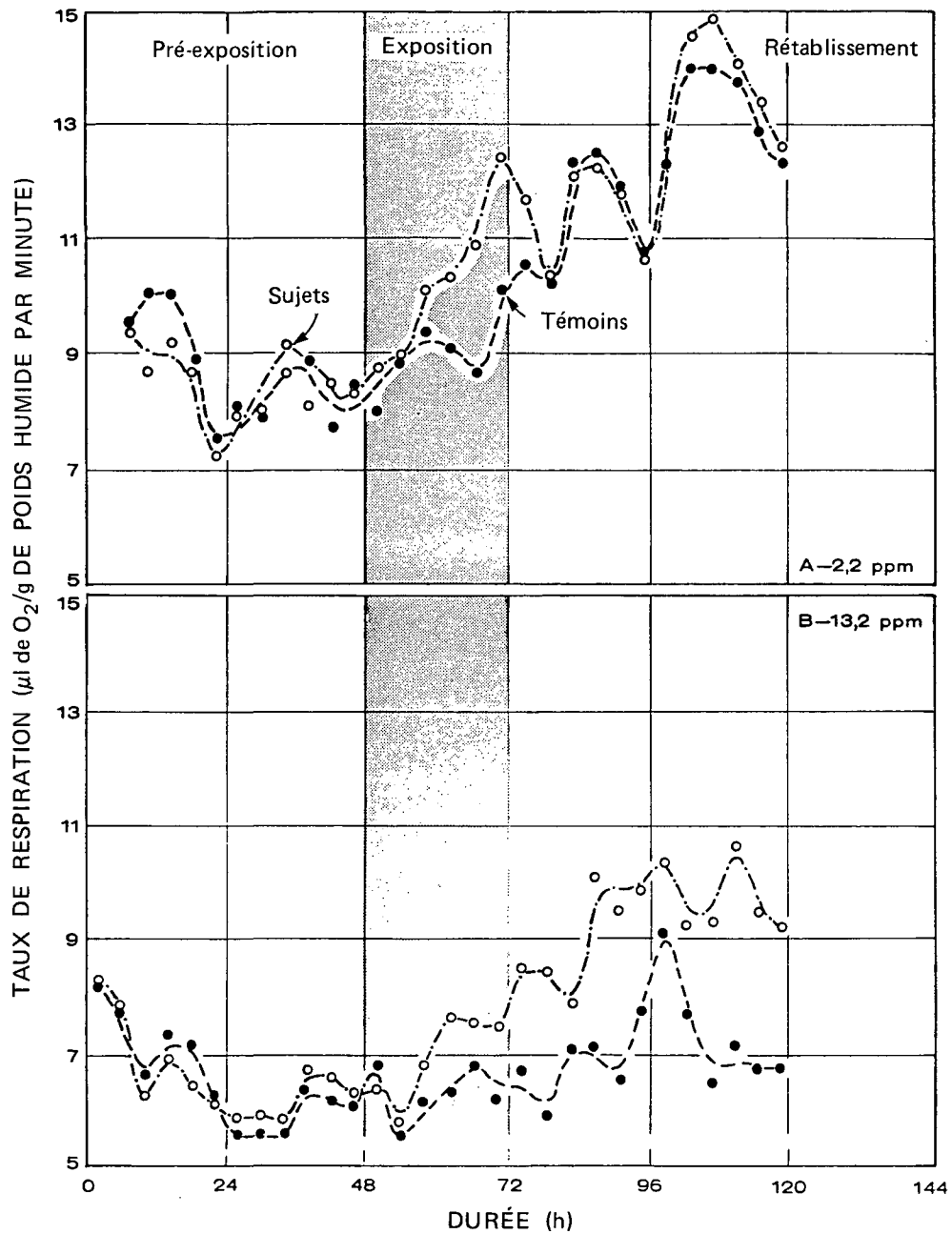


Figure 8. — Effets d'une exposition de 24 heures à une dispersion par voie physique de pétrole sur la respiration de *Gnorimosphaeroma oregonensis*

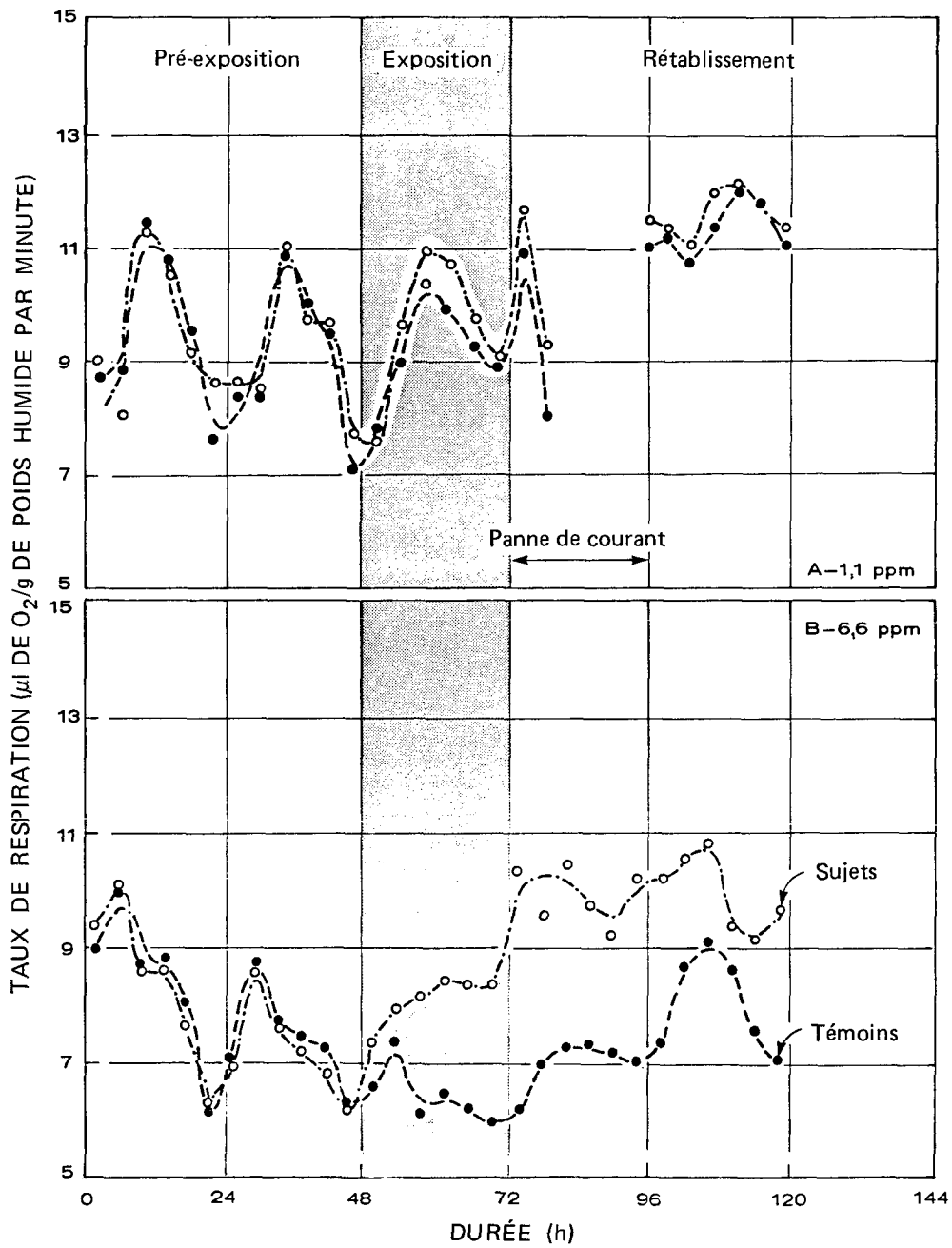


Figure 9. — Effets d'une exposition de 24 heures à une dispersion par voie chimique de pétrole sur la respiration des sujets

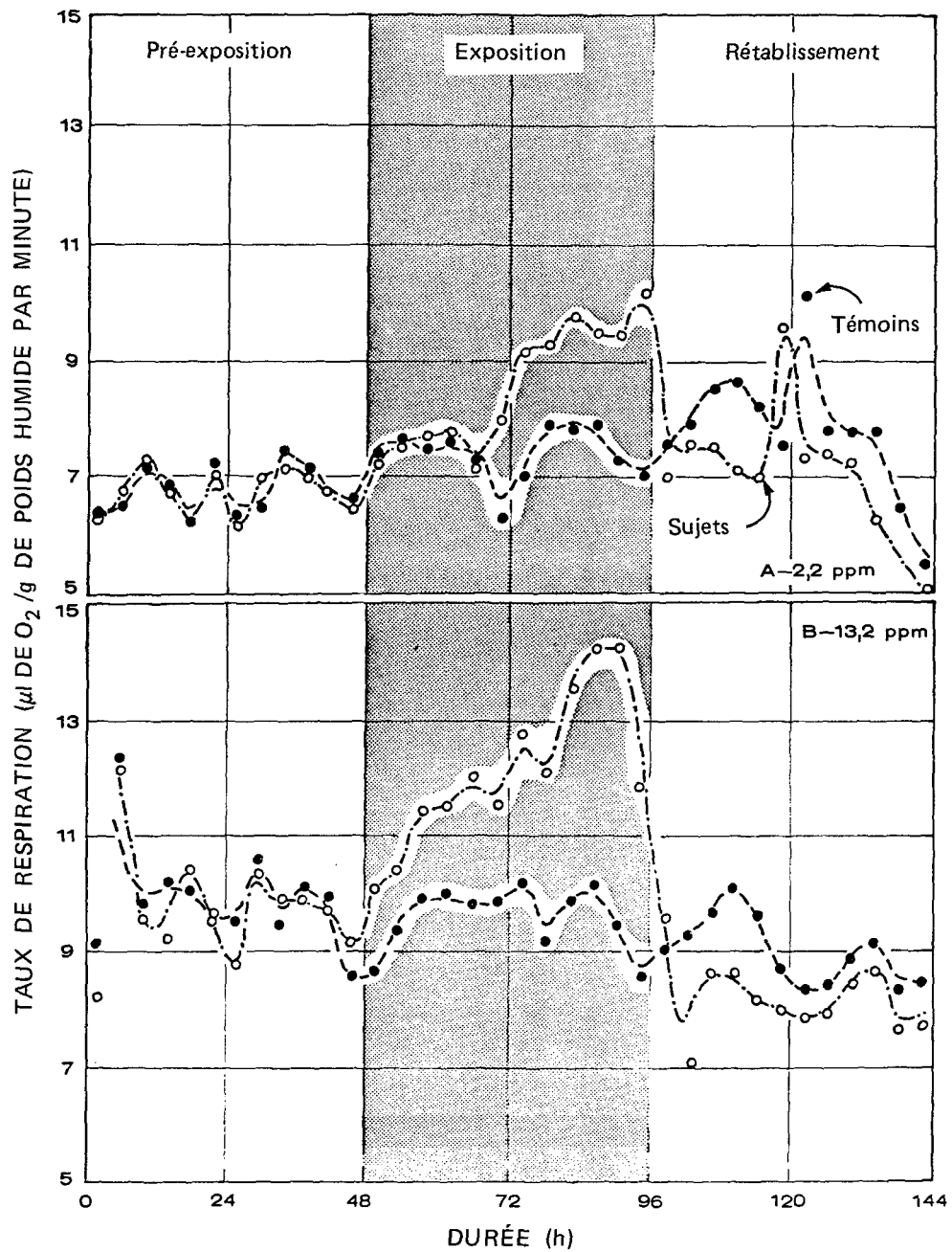


Figure 10. — Effets d'une exposition de 48 heures à une dispersion par voie physique de pétrole sur la respiration des sujets

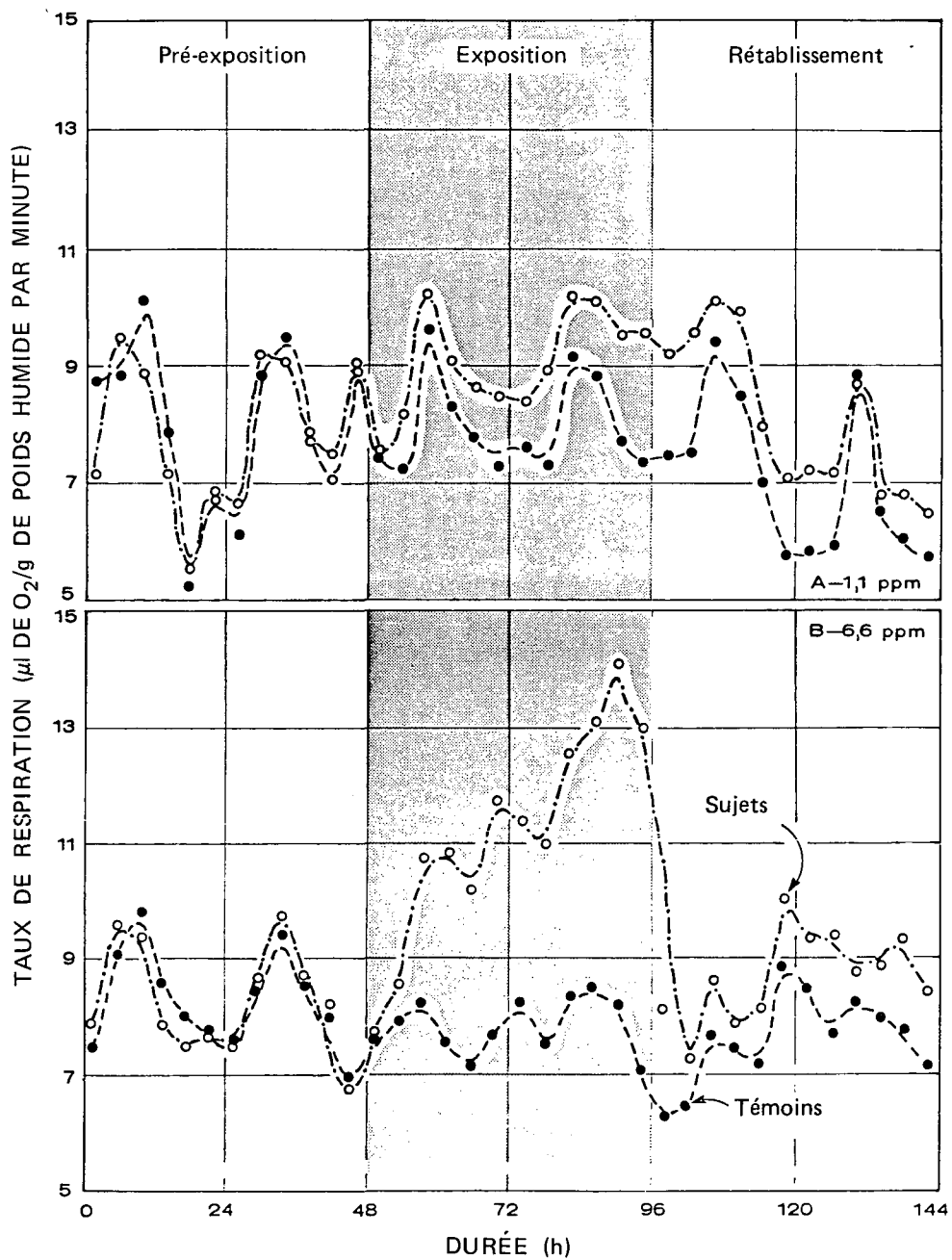


Figure 11. — Effets d'une exposition de 48 heures à une dispersion par voie chimique de pétrole sur la respiration de *Gnorimosphaeroma oregonensis*

tion assez forte chez les témoins des taux de consommation d'oxygène mesurés au cours de l'étude, tant entre les expériences que pendant chacune de celles-ci (tableau 4), peut être reliée à des ajustements physiologiques à court terme aux conditions de salinité, d'éclairement et de température imposées pendant les expériences. Il s'avérait donc nécessaire de déterminer une norme de consommation d'oxygène afin de faciliter les comparaisons d'une expérience à l'autre, surtout pour l'évaluation des effets du type de dispersion, de la durée d'exposition et de la teneur. Cela s'est fait de la façon suivante. Les données témoins des huit expériences ont servi à calculer un taux moyen de consommation d'oxygène pour chaque jour de pré-exposition, d'exposition et de rétablissement. Des facteurs de normalisation ont ensuite été calculés pour chaque jour de chaque expérience en utilisant le rapport entre le taux témoin moyen de consommation quotidienne d'oxygène et le taux général moyen pour le nombre de jours approprié. Ces facteurs ont ensuite été appliqués aux taux de consommation d'oxygène observés dans les bacs à essai, afin d'établir une correction pour les différences de consommation d'oxygène non reliées à l'exposition au pétrole.

Tableau 4
Variations des taux quotidiens moyens de respiration (μl de O_2/g de poids humide par minute) en réaction aux dispersions par voies chimique (D.C.) et physique (D.P.) en pétrole

Conditions de l'expérience			Pré-exposition Jour 1	Pré-exposition Jour 2	Exposition Jour 1	Post-exposition Jour 1	Post-exposition Jour 2
D.P.	2,2 ppm/24 h	T	9,26 \pm 2,07	8,28 \pm 1,72	9,06 \pm 2,30	11,42 \pm 2,42	13,25 \pm 2,32
		S	8,63 \pm 2,28 n = 70 ns	8,38 \pm 2,33 n = 96 ns	10,26 \pm 2,37 n = 96 t = 3,560 ***	11,50 \pm 2,68 n = 92 ns	13,60 \pm 2,88 n = 96 ns
D.P.	13,2 ppm/24 h	T	7,19 \pm 1,37	5,89 \pm 0,78	6,30 \pm 1,65	6,85 \pm 1,86	7,15 \pm 1,00
		S	6,93 \pm 1,52 n = 92 ns	6,16 \pm 0,62 n = 96 ns	6,94 \pm 1,21 n = 96 t = 3,065 **	9,05 \pm 1,54 n = 96 t = 8,926 ***	9,88 \pm 1,01 n = 96 t = 18,820 ***
D.C.	1,1 ppm/24 h	T	9,50 \pm 2,23	9,05 \pm 2,16	9,23 \pm 2,23	9,87 \pm 3,04	11,41 \pm 2,43
		S	9,45 \pm 2,39 n = 90 ns	9,21 \pm 1,93 n = 96 ns	9,62 \pm 2,34 n = 96 ns	10,78 \pm 3,62 n = 32 ns	11,57 \pm 2,71 n = 94 ns
D.C.	6,6 ppm/24 h	T	8,34 \pm 2,11	7,33 \pm 1,73	6,39 \pm 1,05	6,88 \pm 1,85	8,06 \pm 1,83
		S	8,32 \pm 2,22 n = 94 ns	7,15 \pm 1,50 n = 96 ns	8,04 \pm 1,14 n = 96 t = 10,431 ***	9,89 \pm 2,04 n = 96 t = 10,709 ***	9,94 \pm 2,32 n = 94 t = 6,169 ***

ns Différence non significative à $p > 0,05$

* Différence significative à $p < 0,05$

** Différence significative à $p < 0,01$

*** Différence significative à $p < 0,001$

T Témoin

S Sujet

3.2.2 Caractéristiques générales. – La principale caractéristique de la respiration de *Gnorimosphaeroma oregonensis* prend la forme d'un rythme circadien bien défini présentant des taux de respiration élevés en soirée qui diminuent graduellement vers le lever du jour (Duval et Fink, 1980). Ce modèle quotidien de consommation d'oxygène était parallèle au rythme d'activité générale qui se caractérisait par une augmentation de l'activité atteignant un pic environ 3 à 5 heures après la tombée du jour. Il a donc été nécessaire, tout au long de l'étude, de distinguer entre les variations de la consommation d'oxygène découlant de l'exposition aux hydrocarbures et les variations quotidiennes de la respiration reliées aux rythmes circadiens.

Les effets des dispersions par voies chimique et physique de pétrole sur le modèle respiratoire de *Gnorimosphaeroma* sont illustrés aux figures 8 à 11. L'exposition à une dispersion par voie chimique ou physique a été responsable, dans sept des huit expériences, d'un écart notable par rapport aux taux témoins de consommation d'oxygène. Les taux quotidiens moyens mesurés dans les bacs témoins (T) et les bacs à essai (E) pendant chaque expérience sont présentés au tableau 4, de même que les résultats des tests t de Student relatifs à la signification statistique des écarts entre les taux des témoins et des taux des sujets. Ces tests montrent que les taux mesurés dans les bacs témoins et les bacs à essai ne différaient pas de façon significative pendant la phase pré-exposition des expériences ($p > 0,05$), une condition importante à respecter pour l'étude des effets des dispersions. Les données des figures 8 et 11 indiquent aussi que les modèles quotidiens de consommation d'oxygène dans les bacs témoins et les bacs à essai ont généralement été parallèles tout au long des phases de pré-exposition des expériences.

L'exposition à des dispersions par voies physique et chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe s'est traduite par un accroissement du taux de consommation d'oxygène chez les sujets, par rapport au taux observé chez les témoins. L'ampleur de l'écart avec la consommation normale a cependant varié en fonction du type de dispersion, de la teneur en liquide toxique et de la durée de l'exposition. Les principales observations notées étaient :

1) L'écart par rapport aux taux normaux diminuait généralement avec la teneur en pétrole des dispersions par voies physique et chimique. Les taux de consommation d'oxygène ont été en moyenne, au cours d'expositions de 24 heures d'isopodes à la dispersion par voie physique, supérieurs de 9,5 et de 14,3 p. cent à la valeur normale pour des teneurs respectives de 2,2 et 13,2 ppm. Les augmentations des taux de consommation d'oxygène reliées à la teneur, en période de 24 heures pour la dispersion par voie chimique, ont été encore plus fortes, les moyennes étant de 6,8 et 28,0 p. cent pour des teneurs respectives de 1,1 et 6,6 ppm.

2) L'accroissement de la durée d'exposition de 24 à 48 heures s'est, dans tous les cas, traduit par un écart plus grand par rapport à la normale, la teneur de la dispersion continuant à influencer sur le degré d'accroissement du taux de consommation d'oxygène (tableau 5).

3) La dispersion par voie chimique de pétrole brut de Prudhoe avait un effet significativement plus grand sur la consommation d'oxygène que la dispersion par voie physique quand la teneur des deux types de dispersion était égale à 20 p. cent de leur $CL_{50} - 48$ h respectives.

4) Le modèle et le degré de rétablissement de la respiration après exposition à une dispersion étaient fonction du type de dispersion, de la teneur en matières toxiques et de la durée des essais. Le rétablissement après des essais courts (24 heures) à faibles teneurs aux deux types de dispersions était généralement complet pendant les premières 24 heures de la période de post-essai. L'essai court avec des teneurs plus élevées, de même que des essais plus longs (48 heures) avec des dispersions à teneurs ou faibles ou fortes, se traduisaient parfois par un rétablissement retardé ou incomplet de la respiration (tableau 5).

Tableau 5
 Pourcentage de variation des taux quotidiens moyens de respiration des sujets
 en réaction aux dispersions de pétrole

Conditions de l'expérience		Essai Jour 1	Essai Jour 2	Post-essai Jour 1	Post-essai Jour 2
D.P.	2,2 ppm/24 h	+ 13,2		+ 0,7	+ 2,6
	13,2 ppm/24 h	+ 10,2		+ 32,1	+ 38,2
D.C.	1,1 ppm/24 h	+ 4,2		+ 9,2	+ 1,4
	6,6 ppm/24 h	+ 25,8		+ 43,8	+ 23,3
D.P.	2,2 ppm/48 h	+ 5,7	+ 22,3	- 4,5	- 6,2
	13,2 ppm/48 h	+ 18,7	+ 36,9	- 11,1	- 6,1
D.C.	1,1 ppm/48 h	+ 9,3	+ 17,7	+ 17,4	+ 10,5
	6,6 ppm/48 h	+ 30,0	+ 55,3	+ 15,5	+ 14,8

D.P. — Dispersion par voie physique de pétrole dans l'eau

D.C. — Dispersion par voie chimique de pétrole dans l'eau

3.2.3 Essais d'une durée de 24 heures. — Les réactions respiratoires notées pendant et après des expositions de 24 heures à des dispersions par voie physique de 2,2 et 13,2 ppm sont présentées aux figures 8A et 8B. Des variations notables ($p > 0,001$) de la consommation d'oxygène n'apparaissent qu'après 16 heures d'exposition, à la plus faible teneur. Pendant les 8 dernières heures d'exposition, le taux moyen de consommation d'oxygène par les sujets était d'environ 24 p. cent supérieur au taux témoin. Les taux quotidiens moyens chez les sujets (tableau 4) n'étaient que de 13,2 p. cent supérieurs à la normale pendant l'exposition. Le rétablissement des sujets a été très rapide après la période d'exposition et l'on ne notait plus, après 8 heures, de différence entre les sujets et les témoins. Les sujets ont, à la teneur la plus élevée (13,2 ppm) de la dispersion par voie physique, réagi plus rapidement au liquide toxique (figure 8B), les taux quotidiens moyens de consommation d'oxygène étant de 10,2 32,1 et 38,2 p. cent plus élevés que les taux témoins, cela respectivement pour la période d'exposition et pour le premier et le deuxième jour de post-exposition. L'analyse du rétablissement respiratoire ultérieur a cependant été compliquée par les méthodes utilisées au cours de l'expérience. On a noté que, à cette teneur de la dispersion, une certaine quantité de pétrole s'accumulait dans les parties supérieures des bacs à essai et qu'elle n'était pas totalement éliminée par la purge d'une demi-heure effectuée pendant la post-exposition. L'absence du rétablissement respiratoire après cette exposition de 24 heures pourrait bien être un artefact, correspondant à une exposition prolongée. Ce problème a été éliminé au cours des expériences suivantes en transférant les sujets dans des récipients propres à la fin de la période d'exposition. Ce transfert a, dans certains cas, produit une augmentation de 1 ou 2 heure(s) de l'accroissement de la consommation d'oxygène, mais cela n'a pas nui à l'évaluation des réactions de rétablissement.

Les effets d'une exposition de 24 heures à des dispersions par voie chimique de 1,1 et 6,6 ppm sont présentés aux figures 9A et 9B. Au contraire de la dispersion par voie physique, la plus faible teneur (3 p. cent de la $CL_{50} - 48$ h) n'a pas fait varier de façon notable ($p > 0,05$) la consommation d'oxygène par les sujets, que ce soit durant ou après l'exposition. On notait cependant, à 6,6 ppm, une réaction semblable à celle qui a été notée pour une exposition à 13,2 ppm à la dispersion par voie physique. Les taux de consommation d'oxygène étaient signi-

ficativement ($p < 0,01$) plus élevés que la normale moins de 4 heures après le début de l'exposition et ils ont continué à s'élever tout au long de l'essai. Le rétablissement de la respiration a, de plus, été incomplet pendant la post-exposition. Les taux quotidiens moyens de consommation d'oxygène par les sujets étaient de 25,8, 43,8 et 23,3 p. cent supérieurs aux taux témoins, pendant respectivement la période d'exposition et les deux jours de rétablissement.

3.2.4 Essais d'une durée de 48 heures. — Les effets des dispersions de pétrole sur les taux respiratoires notés pendant les 24 premières heures des essais de 48 heures ont, de façon générale, été semblables aux taux observés pour les essais de 24 heures. Le taux de consommation d'oxygène a continué de s'accroître pendant le deuxième jour d'exposition à la dispersion par voie physique de 2,2 ppm pour, en moyenne, être de 22 p. cent plus élevé que le taux témoin. La réaction de rétablissement a été quelque peu différente de celle qui a été notée après l'essai de 24 heures, car dans ce second cas le taux de consommation d'oxygène a diminué à une valeur inférieure à celle du taux témoin. Les taux quotidiens moyens de consommation d'oxygène des sujets et ceux des témoins ne différaient cependant pas de façon notable ($p > 0,05$; tableau 4) pendant les deux jours de rétablissement, ce qui indique un rétablissement respiratoire complet.

La réaction à la dispersion par voie chimique de 13,2 ppm pendant les 24 heures d'exposition correspondait à celle qui a été décrite plus tôt (3.2.3). Le taux de respiration a, pendant la deuxième période de 24 heures, continué de s'accroître jusqu'à la 44^e heure environ, où il était de 50 p. cent supérieur au taux témoin (figure 10B). La consommation d'oxygène des sujets, avant la fin de la période d'exposition, commença à décliner rapidement et elle était passée de 14,3 à 7,1 μl de O_2/g de poids humide par minute après 8 heures de post-exposition. La première partie de cette diminution peut avoir été reliée à la transition normale du rythme circadien notée à l'aube, mais la dernière partie était presque certainement causée par la fin de l'exposition au pétrole. Les taux quotidiens moyens de respiration des sujets, pendant le premier et le deuxième jour d'exposition étaient de 18,4 et 36,9 p. cent supérieurs à la normale pour deux jours consécutifs d'exposition et de 11,1 et 6,1 p. cent inférieurs aux taux témoins pendant la période de post-exposition. Comme on peut le voir au tableau 5, la consommation quotidienne moyenne d'oxygène par les sujets était significativement inférieure ($p < 0,001$) à la valeur témoin pendant le premier jour de post-exposition, mais non pendant le deuxième, ce qui indique un rétablissement respiratoire retardé mais complet. Le rétablissement après cet essai de 48 heures n'était pas directement comparable à celui qui a été noté après l'essai de 24 heures à la dispersion par voie physique de 13,2 ppm, étant donné la présence de pétrole résiduel au cours de la période de post-exposition suivant l'essai de 24 heures (3.2.3).

Les effets d'une exposition de 48 heures à une dispersion par voie chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe à une teneur de 1 ppm sont présentés à la figure 11A. L'accroissement du taux de consommation d'oxygène observé pendant les 24 premières heures d'exposition était légèrement supérieur à celui qui a été noté pendant l'essai de 24 heures avec la même teneur, bien qu'il n'était supérieur au taux témoin que de 9,3 p. cent sur une base quotidienne (tableau 5). Comme pendant les autres essais de 48 heures, la consommation d'oxygène par les sujets a continué de s'accroître pendant le deuxième jour de l'essai et elle était, en moyenne, de 17,7 p. cent supérieur à celle des témoins. Les taux sont demeurés plus élevés que ceux des témoins pendant le premier (17,4 p. cent; $p < 0,001$) et le deuxième (10,5 p. cent ; $p < 0,05$) jours de post-exposition, mais l'on notait tout de même un rétablissement partiel vers la fin de l'essai.

L'analyse des résultats de l'exposition de 48 heures à une dispersion par voie chimique à 6,6 ppm a été compliquée par un taux de mortalité de 90 p. cent des sujets mâles adultes. Un

taux de mortalité particulier aux mâles a été observé aux cours de l'essai avec la dispersion par voie chimique (3.1; tableau 3), mais l'analyse des résultats a montré que la période nécessaire pour atteindre un taux de mortalité de 50 p. cent à la teneur de 6,6 ppm de la dispersion par voie chimique se situerait entre 100 et 200 heures (figure 5). Cet accroissement apparent de la sensibilité des isopodes mâles à la dispersion par voie chimique peut être relié à des variations de leur état physiologique préliminaire à la mort naturelle. On n'a pas tenté de corriger les taux de respiration en fonction de cette perte de biomasse, la relation entre le temps passé en phase d'exposition et le taux de mortalité étant inconnue. De plus, il a été impossible d'estimer l'effet sur les taux de respiration de la prolifération bactérienne qui en est probablement résultée. On a, en dépit de cette mortalité noté une augmentation marquée (30-55 p. cent) de la consommation d'oxygène tout au long de la phase d'exposition (tableau 5). Les taux de consommation d'oxygène ont commencé à baisser à la fin de la période d'exposition de 48 heures (figure 11B), mais ils sont demeurés significativement plus élevés ($p < 0,001$) que ceux des témoins (tableau 4).

3.2.5 Résumé des expériences sur la respiration. — Un résumé des effets des dispersions par voies physique et chimique (Corexit 9527) de pétrole brut sur le taux de consommation d'oxygène par *Gnorimosphaeroma oregonensis* est présenté à la figure 12. Les données ont été normalisées par les méthodes décrites en 3.2.1 afin de faciliter la comparaison entre différentes expériences présentant des taux témoins qui variaient. Selon les résultats de la présente étude, la dispersion par voie chimique de pétrole brut a des effets plus prononcés et persistants sur la respiration que la dispersion par voie physique. D'une façon générale, l'augmentation de la durée d'exposition et de la teneur de la dispersion se traduisaient par un plus grand écart avec les taux normaux de consommation d'oxygène. À l'exception de l'essai de 24 heures à une dispersion par voie physique de 13,2 ppm (3.2.3) et de l'essai de 48 heures à une dispersion par voie chimique de 6,6 ppm, toutes les expériences ont montré qu'il y avait rétablissement partiel, sinon complet, de la respiration en moins de 48 heures après la fin de l'exposition.

Les effets des hydrocarbures de pétrole sur les taux de consommation d'oxygène par les invertébrés marins ont déjà fait l'objet de plusieurs études, mais les seules études portant sur les isopodes ont été celles de Percy et Mullin (1975) et de Duval et Fink (1980). Le taux de respiration des isopodes ont, selon l'espèce, le type de pétrole, la teneur et la durée d'exposition, été accrus ou diminués par exposition à des dispersions de pétrole ou à ses fractions solubles dans l'eau. Percy et Mullin (1975) ont signalé des diminutions de 35 et de 31 p. cent de la consommation d'oxygène de *Mesidotea sibirica* après exposition de 24 heures à, respectivement, des pétroles bruts de Norman Wells (20-200 ppm) et de Pembina (10-22 ppm). Les mêmes auteurs ont cependant trouvé que le taux de respiration de *M. entomon* augmentait de 20 à 68 p. cent au cours d'expositions à du pétrole brut de Norman Wells à une teneur de 10 à 1 000 ppm. Duval et Fink (1980) ont étudié les effets d'une fraction soluble dans l'eau de pétrole brut de la baie Prudhoe sur la respiration de l'espèce d'isopode utilisée pour la présente étude et ils ont trouvé que la consommation d'oxygène pouvait décroître ou augmenter en fonction de la durée d'exposition et de la teneur en pétrole. On n'a noté, au cours de la présente étude, aucune indication d'une diminution de la respiration reliée aux hydrocarbures ou d'un renversement du phénomène d'inhibition décrit par Percy et Mullin (1975), cela en dépit du fait que nos essais ont été réalisés avec des teneurs en pétrole plus faibles, logiquement susceptibles de provoquer une inhibition de la respiration. Nous avons observé l'accélération du métabolisme respiratoire déjà décrit par Percy et Mullin (1975). La relation existant entre la teneur, la durée d'exposition et la consommation d'oxygène tend à appuyer l'hypothèse émise par ces derniers auteurs, à

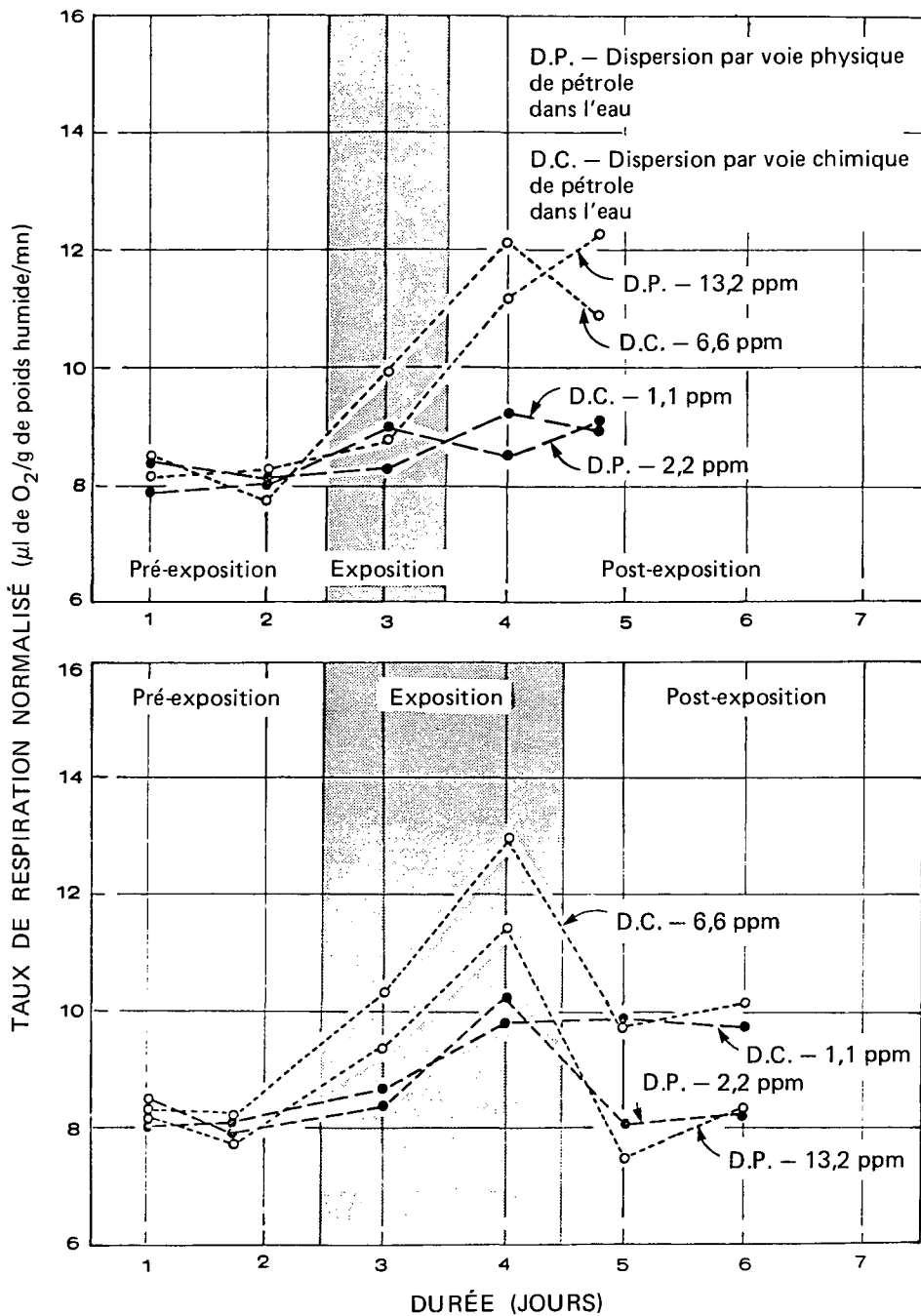


Figure 12. – Effets des dispersions par voies physique et chimique (Corexit 9527) de pétrole brut de la baie Prudhoe sur les taux de respiration des sujets

savoir que la teneur de l'eau de la dispersion en certains composants solubles augmente à mesure que la teneur de la dispersion s'accroît et que ces composants pénètrent dans les tissus où ils stimulent le métabolisme cellulaire. L'importance écologique de ce phénomène et d'autres effets sublétaux notés au cours de la présente étude est traitée au chapitre 4.

3.3 Taux et efficacité d'assimilation

L'exposition à des hydrocarbures peut produire des modifications du comportement et de la physiologie qui peuvent à leur tour modifier les bilans du carbone et les quantités d'énergie disponible pour le maintien, la croissance et la reproduction (Gilfillan, 1975). On a, au cours de huit essais de courte durée faisant partie de la présente étude, mesuré les effets de concentrations sublétales de pétrole brut de la baie Prudhoe en dispersions par voies physique et chimique sur l'assimilation du carbone chez *G. oregonensis*. Tout au long du rapport, le terme assimilation signifie "assimilation nette", soit la proportion du carbone ingéré par l'organisme qui est transformée en nouveaux tissus après les pertes par excrétion ou par respiration. Quand l'ingestion de nourriture est constante, l'assimilation nette peut diminuer à la suite d'une diminution d'efficacité ou de pertes énergétiques reliées à un accroissement du métabolisme respiratoire ou de l'excrétion de métabolisme dissous.

L'exposition des isopodes à des dispersions par voie physique ou chimique de pétrole brut à des teneurs sublétales a, d'une façon générale, provoqué une diminution notable des taux et efficacités d'assimilation du carbone quand les teneurs correspondaient à environ 20 p. cent de la CL_{50} - 48 h et quand la durée d'exposition était de 48 heures. Les effets sur l'assimilation n'étaient cependant pas apparents après une période de rétablissement de 48 heures, ce qui porte à penser que le déséquilibre du bilan du carbone noté pendant l'exposition au pétrole n'était que temporaire.

Des analyses doubles de variance ont servi à vérifier si la durée d'exposition (24 ou 48 heures) et la teneur en pétrole des dispersions (0, 3 ou 20 p. cent de la CL_{50} - 48 h) avaient un effet significatif sur les taux (μg de C/mg de poids sec par jour) et les efficacités (dose par minute assimilée par jour/dose par minute donnée par jour, en pourcentage) tant avant qu'après la période de rétablissement de 48 heures. Le test t de Student a ensuite servi à déterminer l'incidence des écarts significatifs pour les taux et les efficacités d'assimilation de même que les effets comparés des dispersions par voies physique et chimique. Comme on peut le voir au tableau 6, il y avait une forte variation des taux et efficacités d'assimilation dans de mêmes conditions d'essai. Cette variation était certainement reliée à une répartition inégale du radiocarbone au sein du groupe testé car : 1) peu importe le jour, toute la nourriture marquée donnée n'était généralement consommée que par un maximum de 10 p. cent des sujets; 2) du cannibalisme était fréquemment observé; 3) la nourriture ingérée pendant la post-exposition n'était pas assimilée en un même laps de temps. Plusieurs aspects de l'assimilation du radiocarbone n'en était pas moins statistiquement significatifs; ils sont traités plus en détail ci-dessous.

Les taux et efficacités d'assimilation, aux teneurs les plus élevées (20 p. cent de la CL_{50} - 48 h) des dispersions par voies physique et chimique de pétrole brut de Prudhoe, étaient significativement ($p < 0,05$) plus faibles après les expositions de 48 heures, comparativement à celles de 24 heures. Les taux et efficacités d'assimilation étaient aussi significativement inférieurs aux valeurs témoins immédiatement après l'exposition de 48 heures à la teneur la plus élevée (6,6 ppm) de la dispersion par voie chimique. L'exposition de 24 heures aux deux teneurs (2,2 et 13,2 ppm) de la dispersion par voie chimique ne s'est cependant traduite que par une faible augmentation non significative de l'assimilation comparativement aux témoins. La durée d'ex-

Tableau 6
Assimilation du carbone par suite d'une exposition à des teneurs sublétales de pétrole brut de la baie Prudhoe
en dispersion par voie physique ou chimique ($X \pm \sigma$)

	Teneur en pétrole (ppm)	Durée de l'exposition (h)	Taux d'assimilation (μg de C/mg de poids sec/j)			Efficacité d'assimilation (%)		
			Témoins (n = 32)	Avant le rétablissement (n = 8)	Après le rétablissement (n = 8)	Témoins (n = 32)	Avant le rétablissement (n = 8)	Après le rétablissement (n = 8)
Dispersion physique	2,2	24	0,172 \pm 0,21	0,264 \pm 0,3	0,137 \pm 0,11	25,62 \pm 23,2	20,0 \pm 24,4	21,6 \pm 18,1
		48	0,139 \pm 0,18	0,075 \pm 0,1	0,129 \pm 0,18	19,60 \pm 22,0	8,9 \pm 13,4	25,4 \pm 38,1
	13,2	24	0,172 \pm 0,21	0,266 \pm 0,23	0,080 \pm 0,07	25,62 \pm 23,2	62,5 \pm 57,4	18,7 \pm 18,2
		48	0,139 \pm 0,18	0,077 \pm 0,03	0,022 \pm 0,014	19,60 \pm 22,0	10,7 \pm 5,0	4,3 \pm 2,9
Dispersion chimique	1,1	24	0,316 \pm 0,34	0,184 \pm 1,22	0,178 \pm 0,158	58,2 \pm 64,0	33,0 \pm 25,3	33,9 \pm 32,3
		48	0,139 \pm 0,11	0,088 \pm 0,055	0,159 \pm 0,11	43,2 \pm 51,2	25,4 \pm 17,1	30,2 \pm 22,5
	6,6	24	0,316 \pm 0,34	0,114 \pm 0,095	0,187 \pm 0,10	58,2 \pm 64,0	19,5 \pm 17,4	32,0 \pm 18,5
		48	0,139 \pm 0,11	0,040 \pm 0,017	0,155 \pm 0,266	43,2 \pm 51,2	4,8 \pm 2,6	27,2 \pm 49,9

position n'a pas eu d'effet ($p < 0,05$) sur l'assimilation du carbone aux plus faibles teneurs (3 p. cent de la CL_{50} - 48 h) de la dispersion par voie physique.

Le deuxième aspect important des effets des dispersions sur l'assimilation du carbone avait trait à la teneur en pétrole. Le taux et l'efficacité d'assimilation chez les isopodes exposés à la teneur la plus élevée (6,6 ppm) de la dispersion par voie chimique pendant 48 heures étaient inférieurs aux valeurs notées chez les témoins ($p < 0,01$) et chez les isopodes exposés à la plus faible teneur, soit 1,1 ppm ($p < 0,05$). La teneur en pétrole n'a pas eu d'effet sur l'assimilation du radiocarbone pendant l'exposition de 24 heures, aux deux teneurs de la dispersion par voie physique.

Comme on peut le voir au tableau 6, la dispersion par voie chimique (6,6 ppm et exposition de 48 heures) a provoqué une plus grande diminution des taux d'assimilation ($p < 0,05$) que la dispersion par voie physique (13,2 ppm et exposition de 48 heures), mais cette différence était disparue après la période de rétablissement de 48 heures.

L'efficacité de l'assimilation diminuant chaque fois que le taux d'assimilation était réduit, il y avait probablement réduction du taux d'ingestion chez les sujets. L'augmentation significative simultanée de la respiration notée lors des expositions de 48 heures aux teneurs les plus élevées (20 p. cent de la CL_{50} ; section 3.2.4) peut aussi avoir contribué à la diminution de l'assimilation nette du carbone. Bien qu'elle n'ait pas fait l'objet d'essais au cours de la présente étude, l'accroissement de l'excrétion, noté par Duval et Fink (1980), peut aussi avoir altéré l'échange de carbone chez les sujets. La présente étude indique cependant que bien que l'exposition à des hydrocarbures ait provoqué des diminutions ou accroissements des taux et efficacités de l'assimilation du carbone, ces effets étaient d'une durée relativement courte. Les taux et efficacités moyens d'assimilation mesurés après la phase de rétablissement de 48 heures utilisée pour nos essais ne différaient jamais de façon notable des valeurs témoins.

D'autres études ont déjà porté sur les effets des hydrocarbures solubles dans l'eau sur l'assimilation du carbone chez les invertébrés marins, mais les effets de teneurs sublétales de pétrole brut en dispersions par voies physique et chimique n'avaient pas fait l'objet de publication. Duval et Fink (1980) ont décrit les effets sublétaux d'une fraction soluble dans l'eau de pétrole brut de la baie Prudhoe sur l'espèce d'isopodes utilisée pour la présente étude. Ces auteurs ont signalé que de faibles teneurs (2,4 ppm) en hydrocarbures en solution aqueuse augmentaient légèrement l'assimilation du carbone tandis qu'aux teneurs plus élevées (9,7 ppm) il y avait une nette diminution du taux d'assimilation à mesure que la durée d'exposition augmentait. Ce dernier phénomène a été attribué à une augmentation marquée de la respiration des isopodes à une teneur de 9,7 ppm.

Les résultats d'autres recherches effectuées sur les effets des hydrocarbures du pétrole sur le bilan du carbone des crustacés et des mollusques sont aussi en accord avec les résultats de la présente étude. Ainsi, Gilfillan (1975) a montré que la fraction soluble dans l'eau (1 ppm) de pétroles bruts non sulfurés de la partie centrale du continent avait pour effets de réduire l'ingestion et l'assimilation et d'accroître la respiration chez deux espèces de moules (*Mytilus edulis*, *Modiolus demissus*). Gilfillan et coll. (1976) ont ultérieurement mesuré les bilans du carbone chez des myes (*Mya arenaria*) après exposition à du mazout lourd n° 6 provenant du pétrolier *Tamano*. Ces auteurs ont signalé que les *Mya* des zones polluées présentaient un bilan net de carbone et un taux de croissance significativement plus faibles résultant d'une diminution de l'ingestion et d'un accroissement des dépenses respiratoires. Milovidova (1974, cité dans Johnson, 1977) a aussi signalé une diminution de l'ingestion chez des isopodes (*Idotea baltica basteri*) exposés à 1 000 ppm (teneur initiale) de pétrole brut de Anastasieyevka tandis que Wells et

Sprague (1976) démontraient une réduction de la consommation alimentaire chez les larves de homards (*Homarus americanus*) pendant une exposition de 30 jours à 0,11 ppm de pétrole brut du Venezuela.

Les présents résultats portent à penser que la diminution de l'assimilation du carbone chez *Gnorimosphaeroma* est plus fonction de la durée d'exposition que de la teneur en pétrole et que le pétrole dispersé chimiquement présente un effet subléta à court terme plus prononcé sur l'assimilation du carbone que le pétrole dispersé par des phénomènes physiques. Toutefois, ces effets sont probablement d'une durée assez courte.

3.4 Absorption et élimination des naphthalènes

La teneur en naphthalènes des tissus de l'isopode a été mesurée après exposition à des teneurs sublétales des dispersions par voies physique et chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe immédiatement après l'essai et après une période de rétablissement de 48 heures. Les résultats des analyses sont résumés au tableau 7. On peut se dégager quelques observations générales.

1) Les isopodes exposés aux deux types de dispersions ont accumulé des naphthalènes dans leurs tissus.

2) Il n'y avait pas ou peu d'indication d'une élimination des naphthalènes pendant la période de rétablissement de 48 heures.

3) L'augmentation des teneurs des deux types de dispersions provoquait un accroissement général de l'absorption des naphthalènes.

4) La durée d'exposition n'avait pas d'effet appréciable sur l'absorption des naphthalènes.

5) L'accumulation des naphthalènes était plus forte dans le cas de la dispersion par voie chimique que dans le cas de la dispersion par voie physique.

L'absorption de naphthalènes par les invertébrés marins exposés à des dispersions de pétrole dans l'eau ou à la fraction de pétrole brut soluble dans l'eau a fait l'objet de beaucoup d'exposés. Aucune étude n'avait cependant porté sur l'absorption et l'élimination subséquente des hydrocarbures chez des isopodes exposés à des dispersions par voie physique ou chimique de pétrole brut. Duval et Fink (1980) ont signalé des teneurs en naphthalènes de tissus chez l'isopode *G. oregonensis* qui étaient le double des valeurs témoins après exposition de 24 à 48 heures à la fraction soluble dans l'eau de pétrole brut de la baie Prudhoe et une période d'élimination de 48 heures. Ces résultats concordent avec ceux de la présente étude car nous n'avons noté aucune

Tableau 7
Teneurs en naphthalènes résiduels des tissus après exposition à des dispersions par voies chimique (Corexit 9527) et physique de pétrole brut de la baie Prudhoe (Moyenne $\pm \sigma$)

Type de dispersion	Teneurs (ppm)	Naphthalènes dans les tissus (ppm)					
		Témoins n = 8		Post-exposition n = 4		Post-rétablissement n = 4	
Voie physique	2,2	1,26	0,85	2,55	2,11	2,33	1,00
Voie chimique	13,2	1,19	0,55	8,45	6,87	5,78	1,08
Voie physique	1,1	2,50	1,40	5,73	2,43	7,73	1,77
Voie chimique	6,6	1,49	0,86	9,68	1,26	11,30	6,67

élimination des naphthalènes chez les isopodes 48 heures après essai avec dispersion par voie chimique et une élimination non significative des hydrocarbures après essai avec dispersion par voie physique. Il n'en est pas de même chez des amphipodes (*Anisogammarus confervicolus*) qui, après exposition de 24 heures à une fraction soluble dans l'eau de 2,2, ppm, présentaient des teneurs en naphthalènes de tissus ne différant pas de façon significative de celles des témoins après une période de rétablissement de 48 heures (Duval et Fink, 1980). Les auteurs ont émis l'hypothèse que les amphipodes avaient probablement accumulé des hydrocarbures mais que, au contraire de ce qui s'est produit dans le cas des isopodes, les naphthalènes avaient été éliminés presque entièrement des tissus pendant la période de rétablissement de 48 heures.

D'autres études ont porté sur l'absorption et l'élimination d'hydrocarbures du pétrole chez des crustacés décapodes. Ainsi, Anderson (1975; cité dans Varanasi et Malins, 1977) a noté que les teneurs en naphthalènes des tissus de crevettes *Palaemonetes* sp. exposées à une dispersion (20 h) et à une fraction soluble dans l'eau (24 h) de fuel-oil n° 2 atteignaient une valeur maximale après 6 ou 7 heures et diminuaient ensuite pendant le reste de l'exposition. Une fois les crevettes transférées dans l'eau non polluée, l'élimination des hydrocarbures se poursuivait et elle était presque complète après 48 heures. Anderson et coll. (1974) ont aussi étudié l'absorption des naphthalènes chez des crevettes grises (*Penaeus axtecus*) exposées pendant 30 minutes à une fraction soluble dans l'eau à 30 p. cent de fuel-oil n° 2. Les sujets ont accumulé des naphthalènes en teneurs dix fois supérieures à celles de leur milieu. Les naphthalènes ont cependant été graduellement éliminés en une période de 10 heures quand les sujets ont été transférés dans de l'eau non polluée.

Nous avons, aux cours de la présente étude, utilisé des analyses doubles de variance et le test t de Student pour déterminer si la durée de l'essai (24 ou 48 h) et la teneur (0,3 et 20 p. cent de la CL_{50} - 48 h) des dispersions par voies physique et chimique avaient un effet notable sur les teneurs en naphthalènes des tissus immédiatement après l'essai et après une période de rétablissement de 48 heures. Comme cela a été mentionné déjà, la durée d'exposition n'a pas eu d'effet sur l'absorption des naphthalènes. On a donc réuni les données des essais de 24 et de 48 heures afin d'accroître le nombre d'échantillons, ce qui permettait d'évaluer correctement les effets des teneurs et les différences entre les absorptions reliées au type de dispersion. L'exposition des isopodes à une dispersion physique de pétrole d'une teneur de 2,2 ppm ne s'est pas traduite par une absorption significative de naphthalènes ($p > 0,05$). L'exposition aux deux teneurs de la dispersion par voie physique a cependant provoqué une accumulation marquée de naphthalènes ($p < 0,01$). La teneur avait aussi un effet notable ($p < 0,05$) sur le taux d'absorption des naphthalènes à partir des deux types de dispersions. Comme on peut le voir au tableau 7, il y a peut-être eu une certaine élimination des hydrocarbures chez les isopodes exposés à la dispersion par voie physique pendant les 48 heures suivant l'essai, mais cette diminution de la teneur en naphthalènes n'était pas significative du point de vue statistique ($p > 0,05$). On notait par ailleurs que les teneurs en naphthalènes présentaient une certaine tendance à être légèrement, mais non significativement, plus fortes à la fin de la période de rétablissement de 48 heures que immédiatement après l'exposition à l'émulsion aqueuse de pétrole préparée chimiquement. Les causes de cela ne sont pas claires, mais elles pourraient être reliées à la variabilité biologique ou à la plus petite taille des particules de pétrole et à la plus forte probabilité de contact avec les sujets quand les dispersions étaient obtenues par Corexit 9527. Ces dispersions demeurant plus longtemps en suspension et étant formées de particules plus fines, elles pourraient avoir adhéré aux isopodes ou avoir été emprisonnées dans des fissures sur le corps des isopodes, ce qui se traduirait par la possibilité d'une absorption se poursuivant après la fin de la phase d'exposition proprement dite.

Les résultats de la présente étude concordent avec ceux d'études antérieurement effectuées par les auteurs et portant sur les effets de la fraction soluble dans l'eau de pétrole brut de la baie Prudhoe chez *Gnorimosphaeroma*. Ces études indiquent que chez cette espèce l'élimination des naphthalènes nécessite une période supérieure à 48 heures. Le cadre de la présente étude ne permet pas de définir nettement la durée nécessaire à l'élimination des hydrocarbures, mais celle-ci est presque certainement plus longue que celles qui ont été signalées pour la crevette (Anderson et coll., 1974; Anderson, 1975) et les amphipodes (Duval et Fink, 1980). Les isopodes ont, durant les expériences de longue durée décrites en détail à la section 3.6, subi une exposition de 18 ppm à la dispersion par voie physique ou de 9 ppm à la dispersion par voie chimique, pendant 24 heures. Huit jours après la fin de l'exposition, les teneurs en naphthalènes des tissus ne différaient pas de façon significative de celles des témoins. On peut donc penser que l'élimination totale des hydrocarbures, chez *Gnorimosphaeroma*, nécessite de deux à huit jours.

Les résultats obtenus portent aussi à croire que l'exposition à la dispersion par voie chimique se traduit par une plus forte absorption d'hydrocarbures que l'exposition à la dispersion par voie physique. Ce phénomène peut être attribué au plus grand rapport surface/volume du pétrole obtenu avec l'utilisation du Corexit 9527, ce qui se traduit probablement par une augmentation de la teneur en hydrocarbures solubles dans l'eau, donc par une possibilité d'absorption accrue pour les sujets.

3.5 Réactions comportementales aux essais de toxicité sublétales

Les réactions comportementales aux dispersions par voies physique et chimique de pétrole ont été étudiées au cours des essais biologiques et des expériences de courte durée à des doses sublétales. On a, pendant ces deux types d'expériences, noté le comportement des sujets à chaque jour afin d'identifier toute variation pouvant être reliée à l'exposition au pétrole. Des effets prononcés sur la mue et l'accouplement ou l'appariement ont été notés au cours des essais biologiques et traités en 3.1. Des effets semblables ont été notés pendant les expériences de courte durée, mais les effets sur la mue et l'accouplement n'ont été observés que pendant les expositions de 48 heures aux teneurs de 6,6 ppm et 13,2 ppm respectivement pour les dispersions par voies chimique et physique. Avec la dispersion par voie chimique, le comportement normal d'appariement a presque disparu et la plupart des mâles ne présentaient plus le rythme circadien caractérisant la pigmentation externe. Il faut aussi souligner qu'un fort taux de mortalité chez les mâles a été constaté pendant cette expérience (3.2.4). On notait, au même moment, une réduction de la fréquence des mues pendant l'exposition de 48 heures à la dispersion par voie chimique de 6,6 ppm. La pigmentation des survivants redevenait normale pendant la période de rétablissement, mais non les fréquences d'appariement et de mue. L'exposition à la dispersion par voie physique de 13,2 ppm pendant 48 heures se traduisait par une diminution de la fréquence de la mue, mais non par d'autres modifications du comportement. L'ingestion et la dégradation des exuvies a interdit d'étudier le retour du comportement de mue pendant la post-exposition.

L'altération des schèmes normaux du comportement de *Gnorimosphaeroma* en présence d'hydrocarbures se produit probablement de façon progressive, la fréquence de la mue étant alors modifiée avant l'appariement ou la pigmentation. Les résultats de la présente étude indiquent aussi que la dispersion par voie chimique a un effet plus prononcé sur le comportement des isopodes que la dispersion par voie physique, à teneurs égales, car le premier type de dispersion a aussi modifié l'appariement et la coloration. Les effets sublétaux généralement plus marqués

de la dispersion par voie chimique étaient aussi plus apparents aux points de vue de la respiration, de l'assimilation du carbone et de l'absorption des naphthalènes.

Les réactions des isopodes aux essais de toxicité sublétales et chroniques des hydrocarbures du pétrole ont déjà été décrites par Duval et Fink (1980) et Percy (1978). Les premiers auteurs ont étudié les modifications de la fréquence de la mue, de l'appariement et de la pigmentation chez des isopodes (*G. oregonensis*) exposés à une fraction soluble dans l'eau de pétrole brut de la baie Prudhoe. Toutes les teneurs utilisées (2,4 à 9,7) ont provoqué une augmentation de la fréquence de mue et les teneurs de 5,2 et 9,7 ppm se sont traduites par une inhibition du comportement reproductif et une perte de la pigmentation normale. Ces variations du comportement, à l'exception de l'accroissement de la fréquence de mue, concordent avec les résultats obtenus au cours de la présente étude. La différence entre les toxiques utilisés pour les deux études, fraction soluble ou dispersion, ont pu influencer sur les effets observés pour la mue, bien que le moment choisi pour les études peut aussi avoir contribué à la réaction différente au pétrole brut, étant donné les différences saisonnières du cycle de mue. Percy (1978) a observé le début du cycle de mue et la durée de la période d'inter-mue chez des isopodes juvéniles (*Mesidotea entomon*) au cours d'essais de toxicité chronique à des fractions solubles dans l'eau de pétrole brut de Norman Wells et de Pembina. Il a signalé que les variations du cycle de mue n'apparaissent qu'à des teneurs de pétrole proches de la valeur létale chronique. Un allongement de la période séparant les mues a été noté à une teneur de 1,12 ppm de pétrole brut altéré, tandis que les périodes subséquentes étaient réduites d'environ la moitié après chaque mue. Percy (1978) a émis l'hypothèse que ce phénomène pouvait représenter une adaptation physiologique des isopodes au pétrole en fonction du temps. Il est difficile de comparer les résultats de Percy à ceux de la présente étude car les durées d'exposition ne sont pas les mêmes. On note cependant, dans les deux études, que l'exposition aux hydrocarbures modifie la fréquence de la mue des isopodes.

En plus de la réaction d'évitement à la dispersion par voie chimique déjà signalée (3.1), l'exposition à des teneurs élevées de dispersions par voies physique et chimique inhibait la réaction normale des isopodes consistant à adopter un comportement de nage lors de la détection d'un interface air-eau. Cette réaction peut être reliée à la préférence des *Gnorimosphaeroma* à demeurer immergés tout au long du cycle tidal. La perte ou l'inhibition de ce comportement pourrait menacer la survie de cette espèce après un déversement de pétrole. L'importance écologique de cette réaction comportementale et d'autres par suite d'une exposition à des hydrocarbures est abordée au chapitre 4.

3.6 Effets à long terme d'une courte exposition au pétrole

Les effets à long terme d'un essai de 24 heures avec des dispersions par voies physique et chimique de pétrole ont été étudiés à l'aide du système à écoulement continu décrit en 2.6. Les sujets ont été mis en présence de dispersions par voies physique (18 ppm) et chimique (9 ppm) de teneurs d'environ 27 p. cent de la CL_{50} - 48 h et ensuite placés pendant 8 semaines dans de l'eau de mer ne contenant pas de pétrole. Les paramètres durant cette période comprenaient la fréquence de la mue, le nombre de nouveaux individus juvéniles et le taux de mortalité chez les adultes. La longueur, le poids et la teneur en naphthalènes résiduels des tissus ont aussi été déterminés chez des sujets formant un sous-échantillon prélevé des bacs chaque semaine.

On a observé, vers la fin de l'essai de 24 heures, qu'environ 10 p. cent des isopodes mâles exposés à la dispersion par voie chimique reposaient sur leur face dorsale, au fond des bacs. Ces sujets étaient probablement incapables de se redresser bien que la mobilité des appendices

ne semblait pas diminuée. De tels effets n'ont pas été notés chez les isopodes exposés à la dispersion par voie physique. Le taux de mortalité était cependant négligeable (2 à 3 p. cent) pour les deux dispersions, de même que chez les témoins. La période de surveillance ultérieure de 8 semaines a montré que les courtes expositions n'avaient pas eu à long terme d'effets notables sur les teneurs en naphthalènes des tissus (mesurées après 8 jours), la croissance, le succès de la reproduction ou la survie des sujets adultes. Des effets sublétaux, comme la survie des individus juvéniles ou la longévité des adultes, qui auraient pu apparaître après 8 semaines, n'ont pas été étudiés au cours de la présente étude.

3.6.1 Naphthalènes dans les tissus. – On a mesuré les teneurs en naphthalènes des tissus des sujets et de ceux des témoins chaque semaine tout au long des expériences de longue durée. Les résultats des premières analyses effectuées après 8 jours d'exposition, et chaque semaine par la suite, indiquaient des teneurs en naphthalènes des tissus chez les sujets non significativement plus élevées que chez les témoins (annexe , tableau J). L'absence d'élimination appréciable des hydrocarbures des tissus après 48 heures de rétablissement au cours d'expériences de courte durée (3.4) porte à penser qu'il faut de 2 à 8 jours à *Gnorimosphaeroma* pour éliminer les naphthalènes accumulés pendant de courtes expositions au pétrole à des teneurs sublétales.

3.6.2 Croissance et mue. – La croissance reflète un ensemble d'interactions entre des fonctions physiologiques et comportementales et peut servir d'indicateur utile du stress chez certains animaux. Les paramètres de croissance déterminés chez les isopodes adultes durant l'étude étaient la longueur totale et le poids (annexe, tableau K). La fréquence de mue a aussi été notée car cette dernière est un phénomène relié de près à la croissance chez les crustacés et une augmentation de la sensibilité au stress environnemental est reliée au cycle de la mue chez ce groupe taxonomique (Swedmark, 1971; Lockwood, 1967).

Des analyses doubles de variance ont servi à déterminer si la longueur du corps des sujets différait de façon notable de celle des témoins, chaque semaine de l'expérience de longue durée. L'exposition à la dispersion par voie physique ou chimique n'a pas eu d'effet notable sur la longueur du corps ($p > 0,05$), qui ne variait d'ailleurs pas dans le temps au cours d'une même expérience. La longueur moyenne des femelles et des mâles a été respectivement de 7,9 mm et de 5,1 mm pendant l'expérience de 8 semaines. Le poids sec des isopodes n'a pas non plus été modifié par l'exposition au pétrole ($p > 0,05$), les poids moyens des femelles et des mâles étant respectivement de 23,03 mg et de 6,95 mg. On n'a enregistré aucune différence entre les fréquences de mue des témoins et des sujets tout au long de l'étude de longue durée (annexe, tableau K). La fréquence de mue a été élevée (accroissement de plus de 40 p. cent) pendant la première semaine suivant l'exposition et faible pendant la suite de l'expérience.

Il faut cependant souligner que l'absence d'effets appréciables de l'exposition aux dispersions de pétrole sur la croissance et la mue peut aussi s'expliquer en partie par le moment où l'expérience a été effectuée, ce qui coïncidait avec la période de reproduction chez l'espèce étudiée. Étant donné qu'il n'y a pas eu d'augmentation notable du poids des sujets pendant les huit semaines de l'expérience et que des individus juvéniles étaient présents tant dans la population de laboratoire que la population sauvage pendant l'expérience, il est possible que l'énergie généralement utilisée pour la croissance ait servi au processus de la reproduction. La mort de presque tous les mâles pendant la période allant de la mi-mai à juin tend aussi à appuyer l'hypothèse voulant qu'une plus grande partie de l'énergie ait été utilisée pour des processus autres que celui de la croissance.

Les effets des hydrocarbures du pétrole sur les modèles de croissance et de mue de crustacés ont été étudiés antérieurement, mais la majorité des études mettait l'accent sur les effets d'une exposition à long terme au pétrole chez des invertébrés aux stades larvaires ou juvéniles tandis que la présente étude porte sur une courte exposition dans le cas d'adultes. Ainsi, Percy (1978) a exposé des isopodes juvéniles marins arctiques (*Mesidotea entomon*) à la fraction soluble dans l'eau de pétrole brut altéré et non altéré pendant 160 jours et constaté de légers effets sur la croissance et la mue à des teneurs inférieures aux teneurs létales pour des expositions à long terme. Cox et Anderson (1973) ont aussi signalé l'absence d'effet significatif sur la croissance de crevettes grises juvéniles (*Palaemonetes aztecus*). Tatem (1976) a cependant noté une réduction de la croissance chez la larve de la crevette *P. pugio* après exposition pendant 12 jours à la fraction soluble dans l'eau de fuel-oil n° 2. Les effets signalés des hydrocarbures de pétrole sur les crustacés présentent donc une variabilité considérable, reliée aux conditions d'exposition et à l'espèce. Les stades larvaires et juvéniles sont généralement plus sensibles que le stade adulte (Linden, 1976; Percy, 1978, Broderson, 1977). Les résultats de la présente étude ne peuvent être comparés directement à ceux des études antérieures, mais ils portent à penser qu'une exposition relativement courte de *G. oregonensis* adultes à des teneurs sublétales de pétrole en dispersion n'a pas d'effet apparent sur la croissance. Il faudrait effectuer d'autres études afin d'évaluer les effets d'expositions plus longues ou de modifications possibles de la croissance à d'autres moments de l'année.

3.6.3 Succès de la reproduction. — La reproduction des crustacés marins dépend en partie de signaux chimiques exogènes et l'altération de la réception de ces signaux par de faibles teneurs en hydrocarbures du milieu pourrait nuire au succès de la reproduction (Johnson, 1977). Des modifications du comportement en réaction au pétrole (comme l'évitement) pourraient aussi réduire le succès de la reproduction en déplaçant les activités d'appariement dans l'espace et le temps. Le critère du succès de la reproduction surveillé pendant la présente étude était le nombre de nouveaux individus juvéniles noté chaque semaine dans chaque bac après leur première apparition, quatre semaines après le début des expériences de longue durée. Les résultats sont exprimés en nombre d'individus juvéniles par femelle présents, sur la base d'une semaine, pendant la quatrième semaine (annexe, tableau L), des sous-échantillons d'isopodes prélevés hebdomadairement sans effectuer de remplacement interdisant de calculer le nombre de jeunes par femelle présents pour n'importe quelle semaine. On a, en plus de contrôler le succès de la reproduction chez les trois groupes sujet, noté les stades du cycle vital chez la population d'isopodes de l'estuaire de la rivière Squamish. L'interprétation des résultats de cette facette du programme de recherche a cependant été limitée par le retrait hebdomadaire de femelles (peut-être gravides) et l'absence d'information sur le cycle reproducteur de *G. oregonensis*.

Après fécondation, les embryons se développent dans la poche incubatrice de la femelle jusqu'à leur sortie comme individus juvéniles. La présence des premiers individus juvéniles a été notée vers la fin de mai, tant sur le terrain qu'au laboratoire, soit environ 4 semaines après l'exposition au pétrole en laboratoire. La période de gestation variant probablement de 2 à 6 semaines (Hoestlandt, 1973), la phase d'exposition des expériences de longue durée a pu se produire au moment soit de la fécondation soit du développement des embryons chez certains ou chez tous les sujets. De toute façon, l'exposition à la dispersion par voie physique ou chimique de pétrole n'a pas fait varier le moment de l'apparition des individus juvéniles par rapport aux populations témoins ou naturelles. L'analyse des différences entre les pentes des fonctions décrivant le rapport entre le nombre d'individus juvéniles et le temps (Sokal et Rohlf, 1969)

indiquait l'absence de différence significative dans le nombre de nouveaux individus juvéniles chez les groupes sujets (dispersion par voie physique ou chimique) et chez la population témoin. Dans tous les cas, le nombre d'individus juvéniles par femelle augmentait de façon continue pendant les deux semaines de leur première apparition pour demeurer ensuite constant.

Les effets des hydrocarbures de pétrole sur le succès de la reproduction des crustacés ont fait l'objet d'un bon nombre de publications. Mais ici aussi, une comparaison directe entre la présente étude et d'autres s'avère difficile, étant donné les différences de conception des diverses études. D'une façon générale, la plupart des auteurs signalent une diminution du succès de la reproduction chez les adultes par suite d'une exposition aux hydrocarbures. Ainsi, Tatem (1976) a signalé qu'une exposition de 72 heures de crevettes *P. pugio* gravides à 1,44 ppm de la fraction soluble dans l'eau de fuel-oil n° 2 provoquait une diminution marquée de la fécondité. Les femelles exposées avaient, en moyenne, 9 larves comparativement à 45 chez les témoins. Linden (1976) a aussi montré une diminution de la fécondité et une inhibition de la phase précopulatoire chez l'amphipode *Gammarus oceanicus* pendant une exposition à long terme (60 jours) à du pétrole brut.

Une réduction du succès de la reproduction par suite d'une exposition à long terme à du pétrole a donc été signalée chez des crustacés autres que des isopodes. Les résultats de la présente étude portent cependant à penser que le succès de la reproduction chez *Gnorimosphaeroma* n'était pas modifié par une exposition de 24 heures à des dispersions par voie physique ou chimique de pétrole de teneurs équivalentes à environ 27 p. cent de la CL₅₀ - 48 h. Cet écart apparent de sensibilité peut être relié à la durée relativement courte de l'exposition utilisée pour la présente étude ou à la résistance relativement forte des isopodes adultes (Percy et Mullin, 1975).

3.6.4 Survie des adultes. — Le taux de survie des isopodes adultes pendant l'expérience de 8 semaines a été calculé comme le pourcentage de morts chez les mâles et femelles encore présents chaque semaine après l'exposition (annexe, tableau M), le sous-échantillonnage effectué sans remplacement à chaque semaine interdisant de déterminer une mortalité cumulative. Le test t Student a servi à comparer les taux de mortalité des groupes sujets et des groupes témoins. Ces analyses ont montré que l'exposition de courte durée à la dispersion par voie physique ou chimique n'avait pas d'effet notable sur la survie des isopodes adultes. Les taux de mortalité hebdomadaire des isopodes ayant subi les deux types d'exposition et ceux des témoins étaient de 3,2 et 27 p. cent respectivement chez les femelles et les mâles. La forte mortalité chez les mâles ($p < 0,01$) ayant été observée chez les témoins comme chez les sujets, on a supposé qu'il s'agissait d'un phénomène naturel non relié à l'exposition aux hydrocarbures. Un taux supérieur de mortalité similaire observé chez les mâles de la population naturelle de l'estuaire de la rivière Squamish renforce cette hypothèse.

La mortalité à long terme des isopodes par suite d'une exposition courte à une dispersion de pétrole n'avait pas fait l'objet d'étude. Linden (1976) a cependant, au cours d'une étude de conception semblable à la présente étude, signalé une réduction de la survie d'amphipodes adultes (*Gammarus oceanicus*) par suite d'une exposition de 48 heures à 100 et 300 ppm de pétrole brut du Vénézuéla. Les deux teneurs ont provoqué une forte mortalité chez les amphipodes pendant la deuxième semaine de la phase de rétablissement. Une mortalité retardée de ce type n'a pas été observée dans la présente étude sur l'isopode *Gnorimosphaeroma*. Comme cela a déjà été mentionné, Percy et Mullin (1975) ont étudié les effets de courtes expositions au pétrole chez plusieurs espèces d'isopodes marins arctiques et ont conclu que les adultes étaient très résistants au pétrole.

BIBLIOGRAPHIE¹

- Anderson, J.W., "Laboratory Studies on the Effects of Oil on Marine Organisms: An Overview", *Am. Petrol. Inst. Publ.* 4249, pp. 1-70, (1975).
- Anderson, J.W., J.M. Neff, B.A. Cox, H.E. Tatem and G.M. Hightower, "The Effects of Oil. The Effects of Oil on Estuarine Animals: Toxicity, Uptake and Depuration, Respiration," In: Pollution and Physiology of Marine Organisms, F.J. Vernberg and W.B. Vernberg (ed.), Academic Press, New York, pp. 285-310 (1974).
- Atema, J., S. Jacobson, J. Todd and D. Boylan, "The Importance of Chemical Signals in Stimulating Behaviour of Marine Organisms: Effects of Altered Environmental Chemistry on Animal Communication," In: Bioassay Techniques and Environmental Chemistry, G.E. Glass (ed.), Symposium at National Conf. Am. Chem. Soc., Washington, D.C., 1971, Ann Arbor Science Pub. Inc., Ann Arbor, Mich. pp. 177-197, (1973).
- Brodersen, C.C., S.D. Rice, J.W. Short, T.A. Mecklenburg and J.F. Karinen, "Sensitivity of Larval and Adult Alaskan Shrimp and Crabs to Acute Exposures of the Water-Soluble Fraction of Cook Inlet Crude Oil," In: Proceedings 1977 Oil Spill Conference -Prevention, Behaviour, Control, Cleanup, Amer. Petrol. Inst., E.P.A. and U.S. Coast Guard, pp. 575-578, (1977).
- Caldwell, R.S., E.M. Caldarone and M.H. Mallon, "Effects of a Seawater-Soluble Fraction of Cook Inlet Crude Oil and its Major Aromatic Components on Larval Stages of the Dungeness Crab, Cancer magister Dana," In: Fate and Effects of Petroleum Hydrocarbons in Marine Ecosystems and Organisms, D.A. Wolfe (ed.), Proc. Symp., Seattle, Wash., 1976, Pergamon Press, New York, N.Y., pp. 210-220, (1977).
- Clark, R.C. and J.S. Finley, "Effects of Oil Spills on Arctic and Subarctic Environments," In: Effects of Petroleum on Arctic and Subarctic Marine Environments and Organisms, Vol. 2 Biological Effects, D.C. Malins (ed.), Academic Press, New York, pp. 411-477, (1977).
- Cormack, D. and J.A. Nichols, "The Concentrations of Oil in Seawater Resulting from Natural and Chemically Induced Dispersion of Oil Slicks," In: Proceedings 1977 Oil Spill Conference - Prevention, Behaviour, Control, Cleanup, Amer. Petrol. Inst., E.P.A. and U.S. Coast Guard, (1977).
- Cox, B.A. and J.W. Anderson, "Some Effects of No. 2 Fuel Oil on the Brown Shrimp, Penaeus aztecus," Am. Zool. 13:1308 (abstract), (1973).
- Craddock, D.R., "Acute Toxic Effects of Petroleum on Arctic and Subarctic Marine Organisms," In: Effects of Petroleum on Arctic and Subarctic Marine Environments and Organisms, Vol. 2 Biological Effects, D.C. Malins (ed.), Academic Press, London, pp. 1-94, (1977).

¹ Liste reproduite de l'édition anglaise.

Duval, W.S. and R.P. Fink, "The Sublethal Effects of Water-Soluble Hydrocarbons on the Physiology and Behaviour of Selected Marine Fauna," Prepared by F.F. Slaney & Company Ltd., Vancouver, for: Research and Development Division, Env. Emerg. Branch, Env. Prot. Serv., Environment Canada, 86 p., (1980).

Duval, W.S., R.P. Fink and G.H. Geen, "An Aquatic Respirometer for Use in Sublethal Studies," Water Res. (in press), (1980).

Edwards, R.R.C., "Effects of Water-Soluble Oil Fractions on Metabolism, Growth and Carbon Budget of the Shrimp Crangon crangon," Mar. Biol. 46:259-265, (1978).

Forns, J.M., "The Effects of Crude Oil on Larvae of Lobster Homarus americanus," In: Proceedings 1977 Oil Spill Conference (Prevention, Behaviour, Control, Cleanup), Amer. Petrol. Inst., E.P.A. and U.S. Coast Guard, pp. 569-574, (1977).

Foy, M.G., "Acute Lethal Toxicity of Prudhoe Bay Crude Oil and Corexit 9527 on Four Arctic Marine Invertebrates," prepared by LGL Limited, Toronto, Ontario for the Environmental Protection Service, Environment Canada, Hull, Quebec, 98 p., (1978).

Foy, M.G., "Acute Lethal Toxicity of Prudhoe Bay Crude Oil and Corexit 9527 to Arctic Marine Invertebrates and Fish from Frobisher Bay, N.W.T.," Prepared by LGL Limited for the Environmental Protection Service, Environment Canada, Hull, Quebec, 90 p., (1979).

Gilfillan, E.S., "Decrease of Net Carbon Flux in Two Species of Mussels caused by Extracts of Crude Oil," Mar. Biol. 29:53-57, (1975).

Gilfillan, E.S., D. Mayo, S. Hanson, D. Donovan and L.C. Jiang, "Reduction in Carbon Flux in Mya arenaria caused by a Spill of No. 6 Fuel Oil," Mar. Biol. 37:115-123, (1976).

Gordon, D.C. Jr., P.D. Keizer and N.J. Prouse, "Laboratory Studies of the Accommodation of Some Crude and Residual Fuel Oils in Seawater," J. Fish. Res. Bd. Canada 30:1611-1618, (1973).

Hoestlandt, H., "Étude systématique et Génétique de Trois Espèces Pacifiques Nord-Américaines du Genre Gnorimosphaeroma Menzies (Isopodes flabellifères), Arch. Zool. exp. gén., 114:349-395, (1973).

Johnson, F.G., "Sublethal Biological Effects of Petroleum Hydrocarbon Exposures: Bacteria, Algae, and Invertebrates," In: Effects of Petroleum in Arctic and Subarctic Marine Environments and Organisms, Vol. 2 Biological Effects, D.C. Malins (ed.), Academic Press, New York, pp. 271-318, (1977).

Lee, R.F., R. Sauerheber and G.H. Dobbs, "Uptake, Metabolism and Discharge of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Marine Fish," Mar. Biol. 17:201-208, (1972).

Linden, O., "Effects of Oil on the Amphipod Gammarus oceanicus," Environ. Pollut. 10:239-250, (1976).

Litchfield, J.T. Jr. and F. Wilcoxon, "A Simplified Method of Evaluating Dose-Effect Experiments," J. Pharmacol. Exp. Ther. 96:99-113, (1949).

Lockwood, A.P.M., Aspects of the Physiology of Crustacea, W.H. Freeman (publisher), San Francisco, Calif. 325 p., (1967).

Mecklenberg, T.A., S.D. Rice and J.F. Karinen, "Moulting and Survival of King Crab (Paralithodes camtschatica) and Coonstripe Shrimp (Pandalus hypsinotus) Larvae Exposed to Cook Inlet Crude Oil Water-Soluble Fraction," In: Fate and Effects of Petroleum Hydrocarbons in Marine Ecosystems and Organisms, D.A. Wolfe (ed.), Proc. Symp., Seattle, Wash., 1976, Pergamon Press, New York, pp. 221-228 (1977).

Menzies, R.J., "A Review of the Systematics and Ecology of the Genus 'Exosphaeroma' with the Description of a New Genus, a New Species, and a New Subspecies (Crustacea, Isopods, Sphaeromidae)," American Museum Novitates, No. 1683, 24 p., (1954).

Milovidova, N.Y., "The Effect of Oil Pollution on some Coastal Crustaceans of Black Sea," Hydrobiol. J., 10(4):76-79, (1974).

Neff, J.M., D. Dixit, B.A. Cox and J.W. Anderson, "Accumulation and Release of Petroleum Derived Aromatic Hydrocarbons by Marine Animals," Mar. Biol. (Berl.) (abstract), (1976).

Percy, J.A., "Effects of Chronic Exposure to Petroleum upon the Growth and Moulting of Juveniles of the Arctic Marine Isopod Crustacean Mesidotea entomon," J. Fish. Res. Board Can. 35:650-656, (1978).

Percy, J.A., "Benthic and Intertidal Organisms," In: Oil and Dispersants in Canadian Seas - Research Appraisal and Recommendations, J.B. Sprague, J.H. Vandermeulen and P.G. Wells (eds.), for Environmental Protection Service, Environment Canada, (1980).

Percy, J.A. and T.C. Mullin, "Effects of Crude Oils on Arctic Marine Invertebrates," Beaufort Sea Tech. Rep. No. 11, Environment Canada, Victoria, B.C. 167 p., (1975).

Percy, J.A. and T.C. Mullin, "Effects of Crude Oil on the Locomotory Activity of Arctic Marine Invertebrates," Mar. Poll. Bull. 8:35-40, (1977).

Sanborn, H.R., "Effects of Petroleum on Ecosystems," In: Effects of Petroleum in Arctic and Subarctic Marine Environments and Organisms, Vol. 2 Biological Effects, D.C. Malins (ed.), Academic Press, New York, pp. 337-352, (1977).

Sanborn, H.R. and D.C. Malins, "Toxicity and Metabolism of Naphthalene: A Study with Marine Larval Invertebrates," Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 154:151-155, (1977).

Schultz, G.A., How to Know the Marine Isopod Crustaceans, W.C. Brown Ltd. Dubuque, Iowa, (1969).

Sokal, R.R. and F.J. Rohlf, Biometry, W.H. Freeman and Co., San Francisco, (1969).

Sprague, J.B., "Measurement of Pollutant Toxicity to Fish, I. Bioassay Methods for Acute Toxicity," Water Res. 3:793-821, (1969).

Swedmark, M., B. Braaten, F. Emanuelsson and A. Granmo, "Biological Effects of Surface Active Agents on Marine Animals," Mar. Biol. 9:183-201, (1971).

Swedmark, M., Å. Granmo and S. Kollberg, "Effects of Oil Dispersants and Oil Emulsions on Marine Animals," Water Res. 7:1649-1672, (1973).

Tatem, H.E., "Accumulation of Naphthalenes by Grass Shrimp: Effects on Respiration, Hatching and Larval Growth," In: Proceedings of Symposium on Fate and Effects of Petroleum Hydrocarbons in Marine Ecosystems and Organisms, D. Wolfe (ed.), In press. Pergamon Press, New York, (1976).

Varanasi, V. and D.C. Malins, "Metabolism of Petroleum Hydrocarbons: Accumulation and Biotransformation in Marine Organisms," In: Effects of Petroleum in Arctic and Subarctic Marine Environments and Organisms, Vol. 2, Biological Effects, D.C. Malins (ed.), Academic Press, New York, pp. 175-262, (1977).

Vaughan, B.C. (ed.), Effects of Oil and Chemically Dispersed Oil on Selected Marine Biota - a Laboratory Study, Prepared by Battelle, Richland, Wash. for the American Petroleum Inst. Committee on Environmental Affairs, API Publ. No. 4191, (1973).

Wells, P.G. "Influence of Venezuelan Crude Oil on Lobster Larvae," Mar. Poll. Bull. 3:105-106, (1972).

Wells, P.G. and J.B. Sprague, "Effects of Crude Oil on American Lobster (Homarus americanus) Larvae in the Laboratory," J. Fish. Res. Bd. Canada 33:1604-1614, (1976).

ANNEXE

DONNÉES RECUEILLIES AU COURS DE L'ÉTUDE

Tableau A

Taux de mortalité observé au cours des essais biologiques de 96 heures en écoulement continu portant sur des dispersions par voies physique et chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe

A.- Dispersion par voie physique de pétrole brut de la baie Prudhoe: évaluations du taux de mortalité (%)

Durée (h)	Teneur de la dispersion en pétrole (ppm)*							
	0.0	0.0	2.8	3.0	12.5	26.8	37.9	59.3
1.5	0	1	1	1	0	0	0	1
3.0	0	1	1	4	1	2	1	5
7.0	0	1	1	4	1	2	1	5
16.0	0	2	1	4	1	2	1	14
25.0	0	2	1	4	1	3	2	29
30.0	0	2	1	4	1	5	2	29
47.0	3	2	2	4	1	14	4	57
73.7**	3	2	3	8	3	19	28	90
96.0**	3	2	6	18	20	44	51	100

B.- Dispersion par voie chimique (Corexit 9527) de pétrole brut de la baie Prudhoe

Durée (h)	Teneur de la dispersion en pétrole (ppm)*							
	0.0	0.0	5.2	12.5	28.1	38.3	51.6	101
2.5	0	1	0	0	0	0	0	3
9.0	0	1	0	0	0	0	10	14
16.0	0	1	0	0	0	5	13	50
24.0	1	1	0	0	18	20	50	70
31.0	1	1	4	20	18	80	75	90
45.0	1	1	4	20	35	80	75	90
72.0**	1	2	20	52	90	90	96	100
96.0**	1	2	39	52	94	99	100	100

* Teneur moyenne en pétrole mesurée par compteur Coulter

** Mortalité obtenue par comptage direct

Tableau B

Taux moyens de respiration ($\pm\sigma$) par périodes de 4 heures
(μl de O_2/g de poids humide par minute)

Essai P-3: Dispersion par voie physique de pétrole brut de la baie Prudhoe: exposition de 24 h à 2,2 ppm (figure 8A)

Jour	Heure	Témoins	Sujets
Pré- exposition Jour 1	1800	9.40+2.09	9.54+2.44
	2000	10.16+1.66	8.74+2.00*
	2400	10.18+1.19	9.18+1.93
	0400	8.92+1.07	8.75+1.73
	0800	7.51+2.97	7.25+3.00
Pré- exposition Jour 2	1200	8.03+1.90	7.98+2.51
	1600	7.85+1.33	7.96+2.10
	2000	8.65+1.72	9.18+2.36
	2400	8.88+1.68	8.16+2.12
	0400	7.68+1.39	8.48+1.96
Exposition (24 h)	0800	8.56+2.10	8.39+2.96
	1200	8.01+2.80	8.76+2.08
	1600	8.89+1.66	8.94+2.03
	2000	9.44+1.70	10.14+1.90
	2400	9.15+1.85	10.36+1.97
Post- exposition Jour 1	0400	8.72+1.53	10.91+1.61***
	0800	10.14+3.41	12.43+2.69*
	1200	10.55+4.74	11.72+4.77
	1600	10.24+2.00	10.39+2.79
	2000	12.36+1.32	12.10+2.83
Post- exposition Jour 2	2400	12.48+1.06	12.31+1.60
	0400	11.91+1.53	11.84+1.79
	0800	10.75+2.24	10.68+1.44
	1200	12.35+3.59	12.26+4.48
	1600	14.00+2.54	14.47+3.50
Post- exposition Jour 2	2000	14.18+1.39	14.83+2.15
	2400	13.92+1.25	14.06+1.74
	0400	12.82+1.59	13.38+2.08
	0800	12.29+2.17	12.63+1.64

* Différence significative à $p < 0,05$

** Différence significative à $p < 0,01$

*** Différence significative à $p < 0,001$

Tableau C

Taux moyens de respiration ($\pm\sigma$) par périodes de 4 heures chez
Gnorimosphaeroma oregonensis (μl de O_2/g de poids humide par minute)

Essai P-1: Dispersion par voie physique de pétrole brut de la baie Prudhoe: exposition de 24 h à 13,2 ppm (figure 8B)

Jour	Heure	Témoins	Sujets
Pré- exposition Jour 1	1200	8.08+3.26	8.79+3.82
	1600	9.36+2.99	8.49+3.45
	2000	6.95+1.29	6.38+1.13
	2400	7.28+0.51	6.89+0.36*
	0400	7.80+0.91	6.59+1.75*
	0800	6.45+2.59	7.24+2.47
Pré- exposition Jour 2	1200	5.81+1.00	5.69+1.08
	1600	7.54+2.00	6.77+2.35
	2000	5.52+1.04	6.19+1.36
	2400	6.45+0.53	6.73+0.49
	0400	6.49+1.00	6.68+1.24
	0800	6.43+1.96	6.40+1.72
Exposition (24 h)	1200	7.19+4.56	8.10+2.82
	1600	6.15+2.76	7.83+3.61
	2000	8.13+3.29	8.95+3.04
	2400	6.39+1.20	7.82+1.13**
	0400	6.11+2.37	7.64+3.32
	0800	7.98+3.54	7.64+2.42
Post- exposition Jour 1	1200	6.53+2.96	9.41+3.46
	1600	8.99+4.11	7.75+3.69
	2000	7.16+3.15	8.55+2.27
	2400	7.24+0.91	10.28+1.39***
	0400	7.69+2.39	10.49+3.15*
	0800	9.80+3.09	7.80+2.71
Post- exposition Jour 2	1200	9.23+4.69	8.95+3.36
	1600	8.22+2.84	10.17+3.29
	2000	7.03+1.88	9.04+2.68*
	2400	7.24+0.84	10.63+1.46***
	0400	7.60+2.53	9.84+2.42*
	0800	8.30+3.04	9.79+2.82

* Différence significative à $p < 0,05$

** Différence significative à $p < 0,01$

*** Différence significative à $p < 0,001$

Tableau D

Taux moyens de respiration ($\pm\sigma$) par périodes de 4 heures chez
Gnorimosphaeroma oregonensis (μl de O_2/g de poids humide par minute)

Essai C-4: Dispersion par voie chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe: exposition
de 24 h à 1,1 ppm (figure 9A)

Jour	Heure	Témoins	Sujets
Pré- exposition Jour 1	1200	8.64+3.22	9.02+3.42
	1600	8.84+1.74	8.03+1.79
	2000	11.33+2.24	11.25+1.40
	2400	10.74+0.95	10.49+1.34
	0400	9.52+1.60	9.07+2.63
	0800	7.63+1.36	8.66+2.28
Pré- exposition Jour 2	1200	8.38+1.10	8.61+1.93
	1600	8.43+1.90	8.49+1.35
	2000	10.84+2.19	11.00+2.35
	2400	10.01+2.09	9.73+1.02
	0400	9.54+1.62	9.69+1.45
	0800	7.09+1.79	7.74+1.46
Exposition (24 h)	1200	7.82+2.73	7.60+2.54
	1600	8.99+2.29	9.62+1.77
	2000	10.36+2.50	10.93+2.43
	2400	9.91+1.48	10.72+1.17
	0400	9.41+1.37	9.76+2.31
	0800	8.91+2.07	9.12+2.17
Post- exposition Jour 1	1200	10.94+3.47	11.68+4.62
	1600	8.05+1.80	9.35+2.00
		Panne de courant	
	1100	11.03+1.44	11.50+0.94
Post- exposition Jour 2	1200	11.29+3.34	11.34+4.00
	1600	10.79+2.33	11.12+4.16
	2000	11.38+2.88	11.98+2.27
	2400	12.08+1.42	12.13+1.41
	0400	11.76+1.46	11.76+1.16
	0800	11.12+2.74	11.38+2.17

* Différence significative à $p < 0,05$

** Différence significative à $p < 0,01$

*** Différence significative à $p < 0,001$

Tableau E

Taux moyens de respiration ($\pm\sigma$) par périodes de 4 heures chez
Gnorimosphaeroma oregonensis (μl de O_2/g de poids humide par minute)

Essai C-2: Dispersion par voie chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe: exposition
 de 24 h à 6,6 ppm (figure 9B)

Jour	Heure	Témoins	Sujets
Pré- exposition Jour 1	1200	8.84+3.51	9.32+4.16
	1600	9.97+1.25	10.00+1.10
	2000	8.59+0.87	8.51+0.91
	2400	8.71+0.89	8.49+0.78
	0400	7.96+1.29	7.56+1.21
	0800	6.02+1.69	6.18+1.43
Pré- exposition Jour 2	1200	6.94+1.85	6.88+1.93
	1600	8.61+0.72	8.50+0.96
	2000	7.66+1.51	7.54+1.41
	2400	7.38+1.16	7.09+0.67
	0400	7.22+2.04	6.76+1.63
	0800	6.15+1.93	6.14+1.00
Exposition (24 h)	1200	6.53+0.97	7.29+0.96*
	1600	7.28+0.79	7.90+0.76*
	2000	6.11+0.73	8.08+0.76***
	2400	6.42+1.04	8.39+1.26***
	0400	6.13+1.07	8.30+1.61***
	0800	5.89+1.18	8.30+1.00***
Post- exposition Jour 1	1200	6.15+2.96	10.33+3.24***
	1600	6.95+1.44	9.54+1.41***
	2000	7.20+0.90	10.35+1.00***
	2400	7.25+1.30	9.74+0.99***
	0400	7.12+1.23	9.20+1.33***
	0800	6.96+2.21	10.19+2.99**
Post- exposition Jour 2	1200	7.34+2.37	10.20+1.59***
	1600	8.66+1.74	10.53+1.57**
	2000	9.08+0.99	10.79+1.56***
	2400	8.58+0.78	9.35+0.80*
	0400	7.53+1.58	9.11+1.31**
	0800	7.01+2.27	9.66+4.93**

* Différence significative à $p < 0,05$

** Différence significative à $p < 0,01$

*** Différence significative à $p < 0,001$

Tableau F

Taux moyens de respiration ($\pm \sigma$) par périodes de 4 heures chez
Gnorimosphaeroma oregonensis (μl de O_2/g de poids humide par minute)

Essai P-2: Dispersion par voie physique de pétrole brut de la baie Prudhoe: exposition de 48 h à 2,2 ppm (figure 10A)

Jour	Heure	Témoins	Sujets
Pré- exposition Jour 1	1200	6.25+1.65	6.22+1.36
	1600	6.44+1.15	6.74+1.06
	2000	7.17+1.04	7.25+0.95
	2400	6.80+0.97	6.72+0.93
	0400	6.17+0.96	6.18+0.80
	0800	7.20+1.34	6.97+1.49
Pré- exposition Jour 2	1200	6.30+1.33	6.08+1.23
	1600	6.41+1.10	6.92+0.92
	2000	7.39+1.05	7.11+0.77
	2400	7.11+1.12	6.98+0.72
	0400	6.68+1.35	6.69+0.59
	0800	6.60+2.72	6.41+1.85
Exposition Jour 1	1200	7.35+1.89	7.16+1.41
	1600	7.60+1.58	7.58+0.74
	2000	7.44+1.62	7.67+1.60
	2400	7.56+1.09	7.65+0.85
	0400	7.32+1.57	7.75+1.07
	0800	6.23+2.16	8.13+1.74*
Exposition Jour 2	1200	7.02+1.34	7.97+1.02*
	1600	7.92+1.04	9.11+1.27**
	2000	7.79+1.49	9.26+1.38**
	2400	7.94+0.98	9.76+1.06***
	0400	7.26+1.36	9.47+1.67***
	0800	7.00+2.80	9.43+2.28*
Post- exposition Jour 1	1200	7.56+1.97	10.16+4.15*
	1600	7.90+1.55	6.99+1.06
	2000	8.54+1.45	7.56+1.62
	2400	8.67+1.19	7.48+0.85**
	0400	8.22+1.63	7.07+0.86*
	0800	7.52+1.62	7.01+1.27
Post- exposition Jour 2	1200	10.18+2.08	9.57+2.55
	1600	7.80+1.18	7.33+1.00
	2000	7.81+1.14	7.41+1.37
	2400	7.79+0.72	7.24+0.55**
	0400	6.44+1.21	6.21+0.98
	0800	5.53+1.38	4.99+1.26

* Différence significative à $p < 0,05$

** Différence significative à $p < 0,01$

*** Différence significative à $p < 0,001$

Tableau G

Taux moyens de respiration ($\pm\sigma$) par périodes de 4 heures chez
Gnorimosphaeroma oregonensis ($\mu\text{l de O}_2/\text{g de poids humide par minute}$)

Essai P-4: Dispersion par voie physique de pétrole brut de la baie Prudhoe: exposition de 48 h à 13,2 ppm (figure 10B)

Jour	Heure	Témoins	Sujets
Pré- exposition Jour 1	1300	9.12+3.63	8.18+2.49
	1600	12.11+1.65	11.94+1.65
	2000	9.79+2.58	9.53+1.76
	2400	10.16+3.45	9.18+2.90
	0400	10.06+1.60	10.39+1.41
	0800	9.61+1.73	9.57+1.00
Pré- exposition Jour 2	1200	9.49+2.16	8.76+1.83
	1600	10.58+2.25	10.27+2.22
	2000	9.48+1.21	9.88+0.90
	2400	10.13+0.97	9.86+0.84
	0400	9.88+1.51	9.67+0.53
	0800	8.57+2.30	9.14+1.14
Exposition Jour 1	1200	8.65+1.92	10.08+1.10*
	1600	9.36+1.50	10.41+1.08*
	2000	9.90+1.35	11.46+0.94***
	2400	10.06+1.93	11.59+2.00*
	0400	9.82+1.59	12.04+1.61***
	0800	8.98+3.89	11.57+1.35*
Exposition Jour 2	1200	10.21+0.66	12.74+0.92***
	1600	9.18+1.34	12.11+1.66***
	2000	9.89+1.50	13.61+1.50***
	2400	10.19+1.76	14.24+2.49***
	0400	9.53+1.99	14.31+2.22***
	0800	8.57+2.12	11.85+2.28***
Post- exposition Jour 1	1200	9.03+2.11	9.61+3.47
	1600	9.30+1.52	7.10+1.88**
	2000	9.96+2.32	8.65+1.56
	2400	10.14+1.51	8.66+1.05**
	0400	9.64+2.00	8.23+1.07*
	0800	8.71+2.16	7.99+2.19
Post- exposition Jour 2	1200	8.40+3.15	7.89+2.39
	1600	8.41+1.88	7.96+1.72
	1800	8.96+2.48	8.65+2.03
	2400	9.21+1.55	8.69+1.16
	0400	8.37+1.67	7.67+1.52
	0800	8.52+3.47	7.81+2.48

* Différence significative à $p < 0,05$

** Différence significative à $p < 0,01$

*** Différence significative à $p < 0,001$

Tableau H

Taux moyens de respiration ($\pm\sigma$) par périodes de 4 heures chez
Gnorimosphaeroma oregonensis ($\mu\text{l de O}_2/\text{g de poids humide par minute}$)

Essai C-3: Dispersion par voie chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe: exposition de 48 h à 1,1 ppm (figure 11A)

Jour	Heure	Témoins	Sujets
Pré- exposition Jour 1	1200	8.71+3.32	7.09+2.78
	1600	8.86+1.63	9.45+1.40
	2000	10.14+1.18	8.84+1.05***
	2400	7.84+1.73	7.13+1.11
	0400	5.19+2.40	5.50+1.87
	0800	6.69+2.38	6.81+2.21
Pré- exposition Jour 2	1200	6.07+2.60	6.63+1.84
	1600	8.81+1.57	9.19+1.26
	2000	9.48+1.16	9.04+1.80
	2400	7.75+1.22	7.77+1.25
	0400	7.02+1.85	7.46+1.73
	0800	9.02+2.09	8.90+2.38
Exposition Jour 1	1200	7.39+2.17	7.52+1.15
	1600	7.21+1.35	8.13+1.04*
	2000	9.61+2.00	10.20+1.91
	2400	8.33+1.90	9.03+1.09
	0400	7.81+1.53	8.66+1.72
	0800	7.24+1.85	8.49+2.34
Exposition Jour 2	1200	7.64+2.57	8.41+1.91
	1600	7.30+1.70	8.91+1.52**
	2000	9.13+2.64	10.21+3.05
	2400	8.79+1.27	10.10+1.02**
	0400	7.74+1.11	9.54+1.90**
	0800	7.36+1.16	9.58+1.40***
Post- exposition Jour 1	1200	7.45+2.54	9.22+2.89
	1600	7.48+1.69	9.62+2.25**
	2000	9.42+2.45	9.96+2.97
	2400	8.53+1.41	9.71+1.14*
	0400	7.04+1.22	7.99+1.56
	0800	5.76+0.98	7.01+1.42*
Post- exposition Jour 2	1200	6.04+1.98	7.21+2.48
	1600	6.09+1.12	7.23+1.31*
	2000	8.81+2.01	8.68+1.98
	2400	6.53+1.52	6.76+2.04
	0400	6.01+1.79	6.83+2.22
	0800	5.69+2.72	6.44+3.20

* Différence significative à $p < 0,05$

* Différence significative à $p < 0,01$

*** Différence significative à $p < 0,001$

Tableau I

Taux moyens de respiration ($\pm\sigma$) par périodes de 4 heures chez
Gnorimosphaeroma oregonensis (μl de O_2/g de poids humide par minute)

Essai C-1: Dispersion par voie chimique de pétrole brut de la baie Prudhoe: exposition de 48 h à 6,6 ppm (figure 11B)

Jour	Heure	Témoins	Sujets
Pré- exposition Jour 1	1200	7.42+3.50	7.80+4.77
	1600	9.03+1.25	9.52+1.57
	2400	8.54+0.89	7.81+1.10
	0400	7.93+0.90	7.43+1.04
	0800	7.64+0.99	7.61+1.60
Pré- exposition Jour 2	1200	7.43+1.72	7.41+0.84
	1600	8.39+0.61	8.64+0.47
	2000	9.36+0.95	9.69+0.67
	2400	8.49+1.33	8.66+0.91
	0400	7.96+1.12	8.08+0.66
Exposition Jour 1	0800	6.74+1.26	6.73+1.63
	1200	7.58+1.94	7.74+1.68
	1600	7.88+0.87	8.51+1.34
	2000	8.19+0.71	10.69+0.83***
	2400	7.48+1.26	10.82+1.20***
Exposition Jour 2	0400	7.11+2.15	10.22+1.60***
	0800	7.68+1.33	11.67+2.37***
	1200	8.22+1.90	11.37+4.22*
	1600	7.46+1.19	10.94+1.88***
	2000	8.29+1.20	12.54+1.18***
Post- exposition Jour 1	2400	8.47+1.51	13.09+1.44***
	0400	8.20+1.88	14.06+2.12***
	0800	7.11+1.62	12.97+2.49***
	1200	6.30+1.30	7.93+2.19*
	1600	6.43+1.64	7.23+1.15
Post- exposition Jour 2	2000	7.66+2.49	8.60+3.02
	2400	7.50+1.04	7.86+1.79
	0400	7.22+1.70	7.88+1.78
	0800	8.89+2.84	10.04+1.96
	1200	8.54+1.44	9.37+1.52
Post- exposition Jour 2	1600	7.73+1.36	9.41+2.11*
	2000	8.30+1.13	8.84+1.95
	2400	7.99+0.82	8.91+2.03
	0400	7.78+1.56	9.38+1.56*
	0800	7.09+2.00	8.45+2.92

* Différence significative à $p < 0,05$

** Différence significative à $p < 0,01$

*** Différence significative à $p < 0,001$

Tableau J

Naphtalènes résiduels (ppm) dans les tissus* d'isopodes
Gnoringosphaeroma oregonensis après exposition de 24 heures
à des dispersions par voies physique et chimique de pétrole

Semaine après l'exposition	Milieu témoin	Dispersion par voie physique (18 ppm)	Dispersion par voie chimique (9 ppm)
1	0.40	0.60	0.90
2	0.40	0.60	0.60
3	0.40	1.10	0.70
4	2.30	0.60	1.90
5	1.00	1.00	1.00

* Poids humide des échantillons: 0,5 à 1,2 g

Tableau K

Moyennes des longueurs, poids secs et fréquences de mue d'isopodes
Gnorimosphaeroma oregonensis après exposition de 24 heures
à des dispersions par voies physique et chimique de pétrole

a) Longueur moyenne $\pm \sigma$ (mm)
(n = 10)

Semaines après l'exposition	Femelles témoins	Mâles témoins	Dispersion par voie physique (18 ppm)		Dispersion par voie chimique (9 ppm)	
			Femelles	Mâles	Femelles	Mâles
1	4.8 \pm 0.4	8.1 \pm 0.8	5.0 \pm 0.8	8.2 \pm 0.9	5.1 \pm 0.5	8.2 \pm 0.4
2	5.1 \pm 0.5	8.1 \pm 0.7	5.3 \pm 0.4	7.6 \pm 0.7	5.0 \pm 0.5	7.9 \pm 1.2
3	5.2 \pm 0.4	7.5 \pm 1.2	5.3 \pm 0.6	7.6 \pm 0.5	4.7 \pm 0.6	8.0 \pm 0.8
4	4.8 \pm 0.4	7.5 \pm 0.6	5.0 \pm 0.5	7.7 \pm 0.7	4.7 \pm 0.6	8.0 \pm 0.8
5	5.0 \pm 0.6	7.7 \pm 0.3	5.3 \pm 0.4	7.9 \pm 0.5	5.5 \pm 0.7	7.9 \pm 0.5
6*	5.3 \pm 0.8	-	5.1 \pm 0.4	-	5.2 \pm 0.6	-
7*	5.1 \pm 0.4	-	5.1 \pm 0.4	-	5.2 \pm 0.5	-

* n = 20 (mortalité totale des mâles)

b) Poids sec moyen (mg)

Semaines après l'exposition	Milieu témoin	Dispersion par voie physique (18 ppm)	Dispersion par voie chimique (9 ppm)
1	7.41	7.50	6.60
2	7.60	7.53	6.56
3	6.74	7.01	7.86
4	6.70	6.04	6.44
5	6.53	6.86	6.82

c) Fréquence de mue (nombre de mues par cuve)

Semaines après l'exposition	Milieu témoin	Dispersion par voie physique (18 ppm)	Dispersion par voie chimique (9 ppm)
1	+100	+100	+100
2	27	20	25
3	10	20	5
4	10	16	10
5	2	4	9

Tableau L

Nombre d'individus juvéniles par femelle présents la quatrième semaine
après des exposition de 24 heures à des dispersions
par voies physique et chimique de pétrole

Semaines après l'exposition	Milieu témoins	Dispersion par voie physique (18 ppm)	Dispersion par voie chimique (9 ppm)
4	0.11	0.02	0.04
5	0.80	1.44	0.40
6	2.31	3.63	3.60
7	3.28	5.14	4.49
8	3.14	4.95	4.96
9	4.45	5.09	4.03

Tableau M

Taux de mortalité après exposition de 24 heures à des dispersions
par voies physique et chimique de pétrole

(Taux de mortalité par rapport à la population restante)

Semaines après l'exposition	Femelles témoins	Mâles témoins	Dispersion par voie physique (18 ppm)		Dispersion par voie chimique (9 ppm)	
			Femelles	Mâles	Femelles	Mâles
1	3.4	18.0	4.9	20.4	3.5	14.5
2	2.3	8.7	2.2	10.5	2.1	12.7
3	6.0	32.9	2.7	17.0	4.1	25.1
4	5.3	29.8	2.7	43.5	3.9	34.7
5	4.6	35.9	1.2	25.0	2.8	35.7
6	0	40.0	2.2	25.0	3.9	71.4