

EFFETS D'UNE SOLUTION ESSENCE DE GIROFLE — ÉTHANOL
SUR LE CORAIL *POCILLOPORA VERRUCOSA*Thierry MULOCHAU¹ & Patrick DURVILLE^{1,2}

SUMMARY

In order to measure the effects of clove oil on coral colonies, we used a clove oil-ethanol solution, a chemical used in particular to anaesthetise and collect fishes *in situ*, and studied its effects on the hermatypic Scleractinaire, *Pocillopora verrucosa*. Loss of colouration and bleaching of coral colonies followed single or repeated exposures to variable doses of the anaesthetic solution. In experimental conditions, the solution had an impact on coral colonies, in particular after single exposure doses higher than 50 %*cc*.min. This value seems to constitute a threshold from which 100 % colonies are discoloured. A similar dose of solution was better tolerated by tested colonies when dispensed several times than when given at one go. In the natural environment, coral exposure to this type of anaesthetic product could therefore have a harmful effect on the colonies.

RÉSUMÉ

Pour mesurer les effets de l'essence de girofle sur les colonies coralliennes, nous avons choisi d'étudier en laboratoire l'impact d'une solution d'essence de girofle-éthanol, utilisée notamment pour anesthésier les poissons, sur le Scléactiniaire hermatypique *Pocillopora verrucosa*. La perte de coloration et le blanchissement de ces colonies coralliennes surviennent après exposition unique ou répétée à des doses variables de la solution anesthésique. En conditions expérimentales, la solution utilisée a un impact sur les colonies coralliennes, notamment pour des expositions uniques à des doses supérieures à 50 %*cc*.min, valeur qui semble constituer un seuil à partir duquel 100 % des colonies sont décolorées. Les coraux testés supportent mieux une même dose de solution distribuée en plusieurs fois qu'en une seule fois. Dans le milieu, l'exposition des coraux à ce type de produit anesthésiant pourrait donc avoir un effet néfaste sur les colonies.

¹ Aquarium de La Réunion, Port de Plaisance, F- 97434 Saint-Gilles-les-Bains, Ile de La Réunion. (E-mail: aquarium.reunion@wanadoo.fr).

² Université de la Réunion, Laboratoire d'Ecologie marine, BP 7151, 15 avenue René Cassin, F-97715 Saint-Denis Messag. 9, Ile de La Réunion.

INTRODUCTION

La solution d'essence de girofle-éthanol est un anesthésiant reconnu comme efficace chez les poissons marins (Munday & Wilson, 1997 ; Keene *et al.*, 1998 ; Durville & Collet, 2002). Les substances actives de cette solution sont notamment l'eugénol, qui est un dérivé phénolique (environ 70 %), l'acétate d'eugénol (environ 17 %) et le karifilène-5 (12 %) (Soto & Burhanuddin, 1995 ; Taylor & Roberts, 1999). L'éthanol (C₂H₅OH) est utilisé comme solvant organique et permet de dissoudre l'eugénol (C₁₀H₁₂O₂).

D'après certains auteurs, cet anesthésiant pourrait peut-être remplacer le cyanure ainsi que d'autres produits chimiques à plus ou moins long terme et présenter un intérêt écologique important pour les pêcheries, l'aquaculture, et le transport des poissons ; son utilisation pourrait être un moindre mal pour les récifs indonésiens et philippins déjà fortement touchés par la pêche afin d'approvisionner le marché mondial de l'aquariophilie et celui de la restauration asiatique (Erdmann, 1999). Récemment, certains scientifiques ont utilisé cet anesthésiant dans le milieu, notamment pour effectuer un recensement des espèces de poissons *in situ* (Griffiths, 2000), mais la solution d'essence de girofle-éthanol n'est pas encore utilisée pour capturer des poissons destinés au marché aquariophile ou à la consommation. Comme le précise Erdmann (1999), il faut auparavant démontrer que cette solution n'est pas toxique envers les invertébrés qui ne sont pas forcément visés, mais qui peuvent se trouver exposés aux produits utilisés (Jones & Høegh-Guldberg, 1999). Peu d'études ont été réalisées sur l'écotoxicité de l'éthanol et de l'eugénol sur les invertébrés (Ishioka, *et al.*, 1974). Certains auteurs ont suggéré que l'éthanol s'avère plus toxique que l'eugénol (Erdmann, 1999), particulièrement chez les mollusques (Mane *et al.*, 1979). D'autre part, chez les coraux, Jaap et Wheaton (1975) ont montré qu'un autre anesthésiant, utilisé dans la capture des poissons, la quinaldine, provoque l'expulsion des zooxanthelles symbiotiques et le blanchissement de certaines colonies.

Par cette étude, réalisée en laboratoire, nous avons essayé d'évaluer l'impact que pourrait avoir une solution d'essence de girofle-éthanol sur des coraux de l'espèce *Pocillopora verrucosa* (famille des Pocilloporidae) qui est l'un des principaux bioconstructeurs des récifs coralliens de l'Indo-Pacifique.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les prélèvements ont été effectués sur l'île de La Réunion, située par 21°07' S et 55°32' E, au niveau des tétrapodes d'une digue portuaire, à une profondeur moyenne de 2 mètres. Les colonies collectées ont une forme hémisphérique d'un diamètre moyen de 10 cm.

L'effet de la solution anesthésique sur les colonies coralliennes a été testé de deux façons :

(1) Exposition unique des colonies coralliennes à une solution d'essence de girofle-éthanol de concentration 10 ‰ ou 10 g.l⁻¹ pendant des durées variables comprises entre 1 à 10 minutes (Tableau I).

TABLEAU I

Protocole expérimental : exposition unique de 16 colonies de Pocillopora verrucosa à la concentration de 10 ‰ de la solution d'essence de girofle-éthanol pendant des durées variables

Nombre de colonies testées ensemble	Concentration de la solution en ‰	Temps d'exposition en minute	Dose de solution en ‰.min
4	10	1	10
4	10	2,5	25
4	10	5	50
4	10	10	100

(2) Exposition, répétée 5 fois de suite à trois jours d'intervalle, de colonies coralliennes à une solution d'essence de girofle-éthanol de concentration 1 ‰ ou 1 g.l⁻¹ pendant des durées variables comprises entre 1 à 10 minutes (Tableau II).

TABLEAU II

Protocole expérimental : expositions répétées 5 fois à 3 jours d'intervalle de 16 colonies de Pocillopora verrucosa à la concentration de 1 ‰ de la solution d'essence de girofle-éthanol pendant des durées variables

Nombre de colonies testées ensemble	Concentration de la solution en ‰	Temps d'exposition en minute	Dose de solution en ‰.min
4	1	1	5
4	1	2,5	12,5
4	1	5	25
4	1	10	50

16 colonies ont été utilisées pour chacune de ces deux expérimentations ; les expositions aux différentes concentrations pendant des temps variables ont été réalisées avec des lots de 4 colonies. Nous avons également utilisé 4 colonies témoins. 36 colonies ont donc été nécessaires pour réaliser cette étude.

La solution utilisée dans cette étude est celle généralement employée dans le milieu pour anesthésier des poissons (Erdmann, 1999). Elle est composée de 20 % d'essence de girofle et de 80 % d'éthanol. L'utilisation de l'éthanol permet d'obtenir une solution utilisable en eau de mer et *a priori* plus efficace qu'une émulsion, obtenue après agitation du mélange essence de girofle et eau, qui reste peu miscible et forme de nombreuses gouttelettes d'huile après projection dans le milieu. Cette émulsion a par contre l'avantage d'être simple d'utilisation en milieu fermé et de n'utiliser que l'essence de girofle (Durville & Collet, 2002).

Les 36 colonies coralliennes ont d'abord été maintenues pendant 8 semaines dans deux bacs, dits « bacs de maintenance », contenant chacun 100 litres d'eau de mer, avec une hauteur d'eau de 20 cm, un brassage de 10 litres par minute et un éclairage adapté à la maintenance des coraux d'une puissance lumineuse totale de 2 500 Lux pendant 12 heures. Le renouvellement de l'eau s'effectue par un pompage situé en mer à proximité d'un récif corallien et permet un apport en eau naturelle de 10 litres par minute pendant 12 heures par jour. Cette période de maintenance est nécessaire à l'adaptation des colonies coralliennes à leur nouvel environnement et à la validation des résultats.

Afin de tester les effets de la solution utilisée, les colonies coralliennes sont sorties de leur bac de maintenance et sont placées 4 par 4 dans des cuves de traitement contenant 20 litres d'eau de mer. Elles sont alors exposées à la solution d'essence de girofle-éthanol aux concentrations de 1 ‰ et 10 ‰ pendant des périodes de 1 minute, 2,5 minutes, 5 minutes et 10 minutes. Une pompe à air assure une aération et un brassage efficaces pendant l'expérience. La température de l'eau et la puissance lumineuse sont équivalentes à celles des bacs de maintenance. Après l'expérience, un bain dit de « récupération », nécessaire pour éviter l'accumulation de mucus dans les bacs de maintenance, sert d'intermédiaire avant le repositionnement dans ces derniers. Le temps de passage dans le bac de récupération est surtout fonction de la production de mucus par les colonies. Celles-ci sont replacées dans leur bac de maintenance lorsque la production de mucus s'arrête. Les 4 témoins sont répartis deux à deux dans les deux bacs de maintenance. Chaque jour toutes les colonies coralliennes sont observées depuis leur premier bain dans la solution jusqu'à un mois après la dernière exposition. La durée de cette étude a été de 3 mois et 15 jours et toutes les colonies sont restées dans leur bac de maintenance pendant cette période.

Pour faire le lien entre les durées d'exposition et les concentrations de la solution utilisée, la concentration de la solution d'essence de girofle-éthanol en ‰ est multipliée par le temps d'exposition en minutes pour donner une dose de solution en ‰.min (Jones, 1995) (Tableaux I et II). Cette technique est notamment utilisée pour évaluer les effets du pétrole sur les organismes marins (McAuliffe, 1987).

La couleur brune du corail provient essentiellement des pigments photosynthétiques des zooxanthelles vivant en symbiose avec les colonies coralliennes dans leurs tissus. Des conditions anormales présentes dans leur environnement peuvent entraîner un stress provoquant la perte d'une partie ou de la totalité de ces algues symbiotiques (Brown, 1997). Cette expulsion des zooxanthelles peut entraîner une décoloration des colonies coralliennes (Høegh-Guldberg & Smith, 1989) ou un blanchissement total (Conand *et al.*, 2003). Dans notre expérience, la décoloration et le blanchissement sont suivis pendant et après les différentes étapes. Nous avons considéré qu'une colonie est « décolorée » lorsque sa couleur passe du brun foncé au rose clair. Les colonies dites « blanchies » sont entièrement blanches.

RÉSULTATS

La maintenance des colonies de *Pocillopora verrucosa* pendant 8 semaines en milieu fermé révèle que 100 % des colonies se sont adaptées à leur condition d'élevage. Il n'y a pas de zone de décoloration ou de zone de blanchissement visible avant les expérimentations. Les quatre témoins n'ont subi aucune décoloration et aucun blanchissement pendant la durée totale de cette étude montrant que les facteurs physico-chimiques de l'eau des bacs de maintenance sont restés stables et adaptés aux besoins de ces colonies coralliennes.

EXPOSITION UNIQUE

100 % des coraux exposés à une concentration de 10 ‰ de la solution pendant une durée de 10 minutes (100 ‰.min) ont entièrement blanchi dans les heures qui ont suivi le traitement. Avec les temps d'exposition d'une durée inférieure ou égale à 5 minutes (< à 50 ‰.min), certaines colonies ont subi une décoloration. Ainsi, 100 % des colonies sont décolorées à une dose de 50 ‰.min, 50 % des colonies sont décolorées à une dose de 25 ‰.min et 25 % des colonies sont décolorées à une dose de 10 ‰.min (Fig. 1).

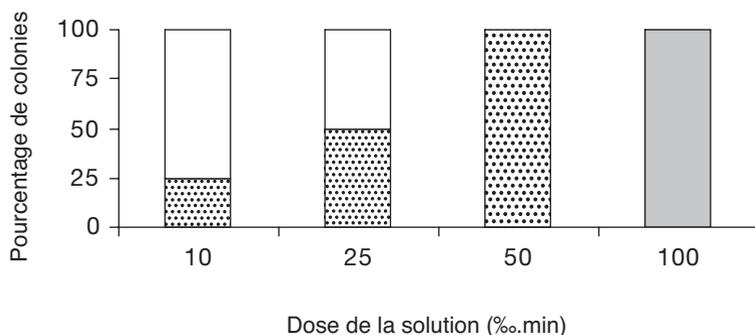


Figure 1. — Pourcentage des colonies de *Pocillopora verrucosa* non décolorées (en blanc), décolorées (en pointillé), blanchies (en gris) en fonction de la dose de solution reçue en une seule fois.

EXPOSITIONS RÉPÉTÉES

Aucune colonie exposée 5 fois à une concentration de 1 ‰ de la solution pendant 15 jours à 3 jours d'intervalle avec des temps d'exposition variant de 1 à 10 minutes n'a blanchi. 100 % des colonies exposées à une concentration de 5 ‰.min sont vivantes et non décolorées. Par contre, 25 % des colonies sont décolorées à une dose de 12,5 ‰.min et de 25 ‰.min, et 50 % des colonies sont décolorées à une dose de 50 ‰.min (Fig. 2).

Les essais effectués avec la concentration à 1 ‰ et répétés 5 fois, montrent donc que ces colonies supportent mieux une même dose (en ‰.min) distribuée en plusieurs fois qu'en une seule fois. L'exposition des colonies à une dose de

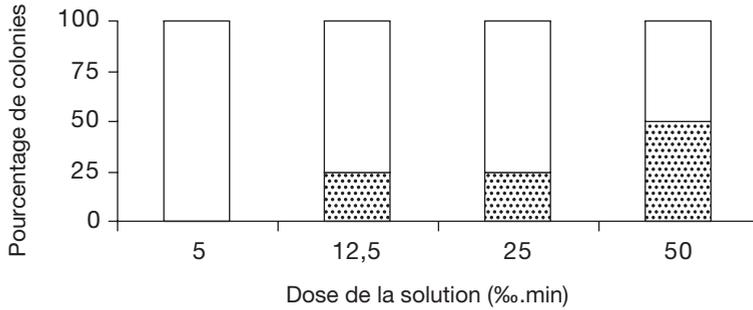


Figure 2. — Pourcentage des colonies de *Pocillopora verrucosa* non décolorées (en blanc), décolorées (en pointillé), blanchies (en gris) en fonction de la dose de solution reçue en 5 fois.

25 %.min reçue en une fois (10 % × 2,5 min) ou en 5 fois (5 × 1 % × 5 min) ou l'exposition à une dose de 50 %.min reçue en une fois (10 % × 5 min) ou en 5 fois (5 × 1 % × 10 min) confirme ce phénomène.

La décoloration (ou le blanchissement) des colonies atteintes est uniformément répartie de la base à l'extrémité distale de chaque colonie. Il n'y a pas de colonies partiellement décolorées ou blanchies.

Toutes les colonies exposées à la solution d'essence de girofle-éthanol produisent davantage de mucus que les témoins. La quantité et la durée de production de mucus pourraient être fonction de la dose de la solution. Ainsi, le passage dans le bain de récupération a duré une heure pour les colonies exposées à des doses de 100 %.min en raison d'une production importante de mucus.

DISCUSSION

Les colonies coralliennes sont sensibles à toutes les modifications des facteurs physico-chimiques de leur environnement (Brown & Howard, 1985). La solution d'essence de girofle-éthanol, utilisée dans les conditions décrites dans cette étude, modifie ces paramètres et peut rapidement provoquer, à de fortes concentrations, la décoloration ou le blanchissement des colonies de *Pocillopora verrucosa*. Il est très difficile de se prononcer sur la survie des colonies ayant subi une décoloration ou un blanchissement car un temps de récupération de 6 mois à un an est parfois nécessaire aux coraux pour être colonisés de nouveau par des zooxanthelles (Jones, 1995). Néanmoins, les colonies décolorées lors de nos expérimentations n'ont pas récupéré leur couleur initiale après un mois de maintenance. Le stress subi est donc important.

Dans cette expérience, l'exposition unique à la concentration de 10 % (Tableau I et Fig. 1) montre que la dose de 50 %.min (10 % × 5 min) semble constituer un seuil maximal pour ces coraux, au-delà duquel la décoloration ou le blanchissement concernent toutes les colonies. Des doses inférieures à 10 %.min semblent avoir un impact faible sur les colonies de *Pocillopora verrucosa*.

Dans cette étude, les expositions répétées à la concentration de 5 ‰ (Tableau II et Fig. 2), montrent également que la dose de 50 ‰.min ($5 \times 1 \text{ ‰} \times 10 \text{ min}$) semble constituer un seuil à partir duquel au moins 50 % des colonies coralliennes sont décolorées. Des doses inférieures à 12,5 ‰.min ($5 \times 1 \text{ ‰} \times 2,5 \text{ min}$) semblent avoir un impact faible sur les colonies étudiées.

Cette première approche tend à montrer que ces coraux supportent mieux des expositions répétées à faible concentration qu'une seule exposition à forte concentration. On peut donc admettre qu'une dose de la solution essence de girofle-éthanol pouvant s'avérer mortelle en une seule exposition pourrait être sans effet visible sur les colonies coralliennes si cette même dose est distribuée en plusieurs fois à quelques jours d'intervalles. Cependant, les coraux peuvent perdre de 40 à 60 % de leurs zooxanthelles sans se décolorer (Jones, 1995, 1997). Leur métabolisme peut donc être affecté par la baisse de densité des zooxanthelles sans que les effets en soient visibles à l'œil nu. Des mesures complémentaires *in situ* seraient donc nécessaires pour évaluer les effets d'une exposition chronique à de faibles doses de la solution d'essence de girofle-éthanol, mais également des études d'écotoxicité devront être réalisées afin d'évaluer l'impact sur les colonies coralliennes de chacun des deux composants, éthanol et essence de girofle, utilisée dans cette étude. Cependant, nos observations personnelles montrent que l'essence de girofle utilisée seule en eau de mer a une efficacité réduite et que l'éthanol est un solvant nécessaire à son utilisation.

La pêche des poissons coralliens *in situ*, avec la solution utilisée ici, peut exposer les coraux à des concentrations initiales élevées qui baissent rapidement pour finir par se diluer complètement. La dose reçue en ‰.min dépend de la proximité de la cible, de la concentration de la solution et de la vitesse de dilution. Il paraît donc difficile d'évaluer correctement la dose de solution que reçoivent les coraux dans le milieu. Néanmoins, de fortes concentrations d'essence de girofle et d'éthanol risquent d'être utilisées si ce type de pêche se généralise, notamment pour anesthésier de gros spécimens. Dans ce cas, les doses reçues par les colonies coralliennes pourraient être toxiques et provoquer l'expulsion des zooxanthelles voire la mort des colonies.

CONCLUSION

La solution utilisée dans cette étude, composée de 20 % d'essence de girofle et de 80 % d'éthanol, a un impact sur les colonies coralliennes de l'espèce *Pocillopora verrucosa*, dans les conditions expérimentales décrites ci-dessus. L'effet visible sur la coloration des coraux dépend de la dose reçue par les colonies et du temps d'exposition. Dans le milieu, l'exposition des coraux à ce type de produit anesthésiant pourrait donc provoquer une décoloration, un blanchissement ou la mort des colonies. Néanmoins, la vitesse de dilution très importante peut laisser penser que l'impact reste faible.

L'essence de girofle, peu coûteuse, non toxique pour l'être humain et présent en milieu tropical est très efficace en tant qu'anesthésiant chez les poissons. Mais compte tenu des résultats obtenus ici, des études complémentaires seraient nécessaires pour vérifier que l'impact de la solution d'essence de girofle-éthanol sur les colonies coralliennes est moins important que celui du cyanure.

REMERCIEMENTS

La réalisation de cette étude a été possible grâce au concours de l' Aquarium de La Réunion et du Laboratoire d' Ecologie Marine (ECOMAR) de l' Université de La Réunion. Nous remercions le Docteur Odile Naïm de l' Université de La Réunion pour ses précieux conseils.

RÉFÉRENCES

- BROWN, B. (1997). — Coral Bleaching : causes and consequences. *Proc. 8th Int. Coral Reef Sym.*, 1 : 65-74.
- BROWN, B.E. & HOWARD, L.S. (1985). — Assessing the effects of stress on coral reefs. *Advances in Marine Biology*, 22 : 1-63.
- CONAND, C., LARUE, M., QUOD, J.-P., CONAND, F. & TURQUET, J. (2003). — Bleaching in a western Indian ocean island, La Réunion : a multi-scale approach. *Proc. 9th Int. Coral Reef Sym.*, Bali, Indonésie, (sous presse).
- DURVILLE, P. & COLLET, A. (2002). — Clove oil used as an anaesthetic with juvenile tropical marine fish. *SPC Live Reef Fish Information Bulletin*, 9 : 17-19.
- ERDMANN, M.V. (1999). — L' essence de girofle : une alternative « écologique » à l' emploi du cyanure dans l' industrie des poissons de récif vivants ? *Ressources marines et commercialisation, Bulletin de la CPS*, 5 : 4-7.
- GRIFFITHS, S.P. (2000). — The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rock-pool fishes. *J. Fish Biology*, 57 : 1453-1464.
- HØEGH-GULDBERG, O. & SMITH, G.J. (1989). — The effects of sudden changes in light, temperature and salinity on the population density and export of zooxanthellae from the reef corals *Seriatopora hystrix* and *Stylophora pistillata*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 129 : 279-303.
- ISHIOKA, H., FUKUHARA, O. & SAKAGUCHI, S. (1974). — Studies on the anesthetic effects of eugenol to Kuruma prawn juveniles. *Bull. Nansei Reg. Fish. Res. Lab.*, 7 : 31-42.
- JAAP, W. & WHEATON, J. (1975). — Observations on Florida reef corals treated with fish collecting chemicals. *Florida Mar. Res. Publ.*, 10 : 1-17.
- JONES, R.J. (1995). — *Sublethal stress assessment in scleractinia and the regulatory biology of the coral-algal symbiosis*. PhD thesis, James Cook University of North Queensland, Department of Chemistry, Townsville, Australia.
- JONES, R.J. (1997). — Effects of cyanide on coral. *SPC Live Reef Fish Information Bulletin*, 3 : 3-8.
- JONES, R.J. & HØEGH-GULDBERG, O. (1999). — Effects of cyanide on coral photosynthesis : implications for identifying the cause of coral bleaching and for assessing the environmental effects of cyanide fishing. *Marine Ecology Progress Series*, 177 : 83-91.
- KEENE, J.L., NOAKES, D.G., MOCCIA, R.D. & SOTO, C.G. (1998). — The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 29 : 89-101.
- MCAULIFFE, C.D. (1987). — Organism exposure to volatile/soluble hydrocarbons from crude oil-spills — A field and laboratory comparison. *Proceedings of the 1987 International Oil Spill Conference* : 175-188.
- MANE, U.H., KACHOLE, M.S. & PAWAR, S.S. (1979). — Effects of pesticides and narcotants on bivalve molluscs. *Malacologia*, 18 : 347-360.
- MUNDAY, P.L. & Wilson, S.K. (1997). — Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *Pomacentrus amboinensis*, a coral reef fish. *J. Fish Biology*, 51 : 931-938.
- SOTO, C.G. & BURHANUDDIN. (1995). — Clove oil as a fish anaesthetic for measuring and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). *Aquaculture*, 135 : 149-152.
- TAYLOR, P.W. & ROBERTS, S.D. (1999). — Clove oil : an alternative anaesthetic for aquaculture. *North American Journal of Aquaculture*, 61 : 150-155.