



HAL
open science

**TOXICITE AIGUË DES NITROPHENOLS VIS-A-VIS
DE DAPHNIA MAGNA Acute toxicity of nitrophenols
to Daphnia magna**

James Devillers

► **To cite this version:**

James Devillers. TOXICITE AIGUË DES NITROPHENOLS VIS-A-VIS DE DAPHNIA MAGNA
Acute toxicity of nitrophenols to Daphnia magna. Vie et Milieu / Life & Environment, 1989, pp.87-91.
hal-03033732

HAL Id: hal-03033732

<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-03033732v1>

Submitted on 1 Dec 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

TOXICITE AIGUE DES NITROPHENOLS VIS-A-VIS DE *DAPHNIA MAGNA*

Acute toxicity of nitrophenols to Daphnia magna

James DEVILLERS

Institut Pasteur de Lyon
77, rue Pasteur
69365 Lyon Cédex 7, France
Nouvelle adresse : CTIS, BP 29,
01500 Ambérieu en Bugey, France

TOXICITE AIGUE
CI50 24 H
PHENOL
NITROPHENOL
STRUCTURE-ACTIVITE
DAPHNIA MAGNA

ACUTE TOXICITY
24-H IC50
PHENOL
NITROPHENOLS
STRUCTURE-ACTIVITY
DAPHNIA MAGNA

RÉSUMÉ — Les effets toxicologiques (CI50 24 heures) du phénol et de six nitrophénols sont étudiés vis-à-vis de *Daphnia magna* Straus, 1820 et comparés aux données de la littérature pour des organismes occupant des niveaux trophiques différents. Les résultats obtenus montrent que la toxicité aiguë des nitrophénols vis-à-vis de ce Crustacé dépend du nombre et de la position des groupements NO₂ sur le noyau phénol ce qui permettrait d'envisager leur modélisation par des études quantitatives de type structure-activité.

ABSTRACT — Toxicological effects (24-h IC50) of phenol and six nitrophenols were determined on *Daphnia magna* Straus, 1820. They are then compared with acute toxicological data concerning organisms occupying different trophic levels. The results obtained show that the acute toxicity of nitrophenols to this Crustacean depends on the number and position of the NO₂ groups on the phenol nucleus. Therefore, the modeling of these aromatic compounds by means of Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) studies could be envisaged.

INTRODUCTION

Le choix des organismes à retenir pour la réalisation d'essais de toxicité en milieu aquatique est difficile du fait de la multiplicité des biotopes naturels et de la complexité de leurs biocénoses (Cabridenc et Bouchinet, 1982). Les espèces retenues sont généralement ubiquistes, à cycle court, génétiquement stables, leur élevage et leur manipulation au laboratoire ne posent pas de problème (Buikema *et al.*, 1982; Levin *et al.*, 1984).

L'emploi de *Daphnia magna* Straus, 1820 comme réactif biologique satisfait ces impératifs. En effet, ce Crustacé, représentatif des milieux dulçaquicoles, appartient au zooplancton filtreur et joue un rôle important dans l'alimentation de nombreuses espèces de Poissons (Crosby et Tucker, 1966). Sa reproduction par parthénogenèse cyclique, lorsque les conditions environnementales sont favorables, permet de disposer régulièrement d'une population

importante de femelles, génétiquement stables. De petite taille et protégée par une carapace bivalve, on peut la manipuler facilement sans précaution particulière (Lundhal, 1974). Dans ces conditions, il nous est apparu intéressant de tester la sensibilité de cet organisme vis-à-vis des nitrophénols qui, du fait de leur grande dispersion dans l'environnement, peuvent représenter un danger pour les écosystèmes aquatiques (Buikema *et al.*, 1979).

MATERIEL ET METHODES

Les conditions d'élevage

Daphnia magna s'adapte physiologiquement aux caractéristiques physico-chimiques du milieu dans lequel elle vit. Dans ces conditions, tout essai écotoxicologique utilisant ce Crustacé doit être

interprété en tenant compte des conditions d'élevage utilisées. De plus, celles-ci doivent être contrôlées afin d'obtenir une production importante et régulière de jeunes Daphnies tout au long de l'année.

Dans ce but, notre élevage est réalisé dans une pièce thermostatée à $22^{\circ}\text{C} \pm 0,5$. 2 tubes Mazdafluor Blanc Industrie et 1 tube Sylvania lifeline F40 Wigro, disposés à 35 cm de la surface des bacs de reproduction, fournissent une intensité lumineuse de 1 600 Lux. La photopériode choisie est de 16 h de jour pour 8 h de nuit. 3 bacs d'élevage sont utilisés (L = 30 cm, l = 16 cm, H = 20 cm). Chacun reçoit 4 l d'eau minérale de commerce de marque Volvic. Un léger bullage, assuré par un aérateur de type RENA 301, permet un apport suffisant d'oxygène aux Daphnies. Chaque bac estensemencé avec 100 Daphnies de moins de 72 h. Un décalage de 2 j dans leur mise en route permet d'étaler la production. Celle-ci commence 5 à 6 j après l'ensemencement. Les 3 premières générations sont à chaque fois éliminées (AFNOR, 1974).

Un aquarium fournit un nombre suffisant de Daphnies pour une journée de tests et éventuellement ensemencer un nouveau bac. La filtration des bacs survient avec une périodicité de 3 j. Lorsque les Daphnies sont dans leur phase optimale de reproduction, la filtration se fait au travers de 3 tamis dont les mailles font respectivement 1 600 μm , 800 μm et 600 μm . Le premier retient les bonnes reproductrices, le 2e celles qui doivent être éliminées et le 3e recueille les Daphnies âgées de moins de 72 h, utilisables pour les tests. Les bacs d'élevage sont renouvelés toutes les semaines. L'exploitation d'un aquarium n'excède pas 30 j. Son remplacement est prévu au bout de 20 j.

Les Daphnies sont nourries à l'aide de Chlorelles (*Chlorella vulgaris*). Leur culture est réalisée dans le milieu de Lefevre-Czarda modifié par l'incorporation d'oligo-éléments (AFNOR, 1980). Des repiquages fréquents évitent l'épuisement des milieux et l'utilisation d'Algues en phase sénescence qui diminuent la vitesse de filtration de ces Crustacés. Les solutions algales ne sont pas utilisées directement. En effet, les Algues sont collectées par simple décantation puis diluées dans le l'eau de Volvic. Cette opération permet d'éliminer le milieu oligo-LC qui par sa composition, en particulier en potassium, peut être toxique pour les Daphnies. Elle permet également l'élimination de la chlorelline, substance toxique produite par les Algues (Pratt *et al.*, 1945). La nourriture est apportée de façon quotidienne (10^{+6} Chlorelles/Daphnie/h.).

Choix des molécules à tester

L'étude de la toxicité aiguë des nitrophénols vis-à-vis de *Daphnia magna* est envisagée en tenant compte d'une part de la nécessité de tester avant tout

des polluants appartenant à des listes de toxiques prioritaires (Mestres, 1979, 1980; Chapman *et al.*, 1982) et d'autre part, de l'intérêt que l'on peut tirer de l'analyse de l'influence toxicologique du nombre et de la position des groupements NO_2 sur des molécules aromatiques dans les approches de types QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship).

Dans ces conditions, nous avons testé les composés suivants :

- le phénol (CAS RN : 108-95-2)
- le 2-Nitrophénol (CAS RN : 88-75-5), le 3-Nitrophénol (CAS RN : 554-84-7), le 4-Nitrophénol (CAS RN : 100-02-7), le 2,4-Dinitrophénol (CAS RN : 51-28-5), le 2,5-Dinitrophénol (CAS RN : 329-71-5) et le 2,4,6-Trinitrophénol (CAS RN : 88-89-1) communément appelé acide picrique.

Ces 7 molécules, d'origines commerciales différentes, ont toutes une pureté supérieure à 95 %.

Réalisation des essais

La méthodologie employée pour tester ces 7 polluants, selon un mode statique, vis-à-vis de *Daphnia magna* suit celle préconisée par la norme AFNOR T 90-301 (1974). Ainsi, chaque test se déroule selon les mêmes principes. Après une pesée précise du polluant à étudier, une solution mère est préparée par dissolution du toxique dans de l'eau désionisée (10 $\mu\text{s/cm}$). Des dilutions décimales obtenues à partir de la solution mère et d'eau synthétique AFNOR (1974)(eau dure maintenue à $20^{\circ}\text{C} \pm 1$) permettent de réaliser un essai préliminaire donnant une idée approximative de la toxicité après 24 h d'exposition au polluant étudié. Cet essai est conduit dans des tubes en verre (15 x 160 mm) bouchés après introduction des Daphnies (5 par tube) de 3e génération au moins et âgées de moins de 72 h. Le test se déroule à l'obscurité.

A partir des résultats obtenus, un essai définitif est réalisé selon les mêmes conditions mais sur une gamme de concentrations en progression géométrique de raison 1,3 afin de pouvoir déterminer précisément, sur papier log-probit, la CI50 24 h de chaque produit, c'est-à-dire la concentration qui provoque en 24 h une immobilisation de 50 % dans la population testée.

Chaque polluant étudié est essayé un minimum de 6 fois. Les résultats obtenus sont considérés comme valides si :

- la CI50 24 h du bichromate de potassium (toxique de référence) se situe entre 0,9 et 1,5 mg/l (AFNOR, 1974).
- la teneur en oxygène dissous mesurée en fin d'essai est supérieure ou égale à 25 % de la saturation à 20°C (AFNOR, 1974).
- le pourcentage d'immobilisation observé dans les témoins (eau synthétique) est nul (ISO, 1980).

RESULTATS ET DISCUSSION

Nos résultats suggèrent que le nombre et la position des groupements NO₂ sur les molécules de nitrophénols conditionnent leurs effets toxiques vis-à-vis de *Daphnia magna* (Tabl.I).

Tabl. I. — Toxicité aiguë (en mmol/l) du phénol et des nitrophénols vis-à-vis de *Daphnia magna*.
Acute toxicity (mmol/l) of phenol and nitrophenols on *Daphnia magna*.

Molécule	CI50 24h	Intervalle de confiance à 95 %
Phénol	0,395	(0,352 - 0,437)
2-Nitrophénol	0,313	(0,261 - 0,366)
3-Nitrophénol	0,158	(0,134 - 0,181)
4-Nitrophénol	0,081	(0,076 - 0,087)
2,4-Dinitrophénol	0,039	(0,037 - 0,041)
2,5-Dinitrophénol	0,046	(0,044 - 0,048)
2,4,6-Trinitrophénol	0,431	(0,370 - 0,492)

En effet, les nitrophénols monosubstitués sont plus toxiques que le phénol mais moins réactifs que les dinitrophénols. Les para-isomères ont une toxicité supérieure à celle des ortho- ou méta-isomères. La présence simultanée de groupement NO₂ en position 2 et 6 diminue fortement la toxicité de ces polluants puisque le 2,4,6-Trinitrophénol (acide picrique) présente une toxicité inférieure à celle du phénol. Cependant, lorsqu'on confronte nos résultats à ceux de la littérature, on s'aperçoit que la toxicité aiguë de ces molécules dépend fortement des conditions opératoires (âge des organismes, critère de toxicité, temps d'exposition, pureté des produits, dosage ou non des solutions essayées ...). Ainsi, Leblanc (1980) montre que la toxicité de l'acide picrique vis-à-vis de *D. magna* augmente avec le temps d'exposition (CL50 24 h > 0,960 mmol/l et CL50 48 h = 0,371 mmol/l) alors que celle du 4-Nitrophénol (CL50 24h = 0,173 mmol/l et CL50 48 h = 0,158 mmol/l) ou celle du 2,4-Dinitrophénol (CL50 24 h = 0,024 mmol/l et CL50 48 h = 0,022 mmol/l) n'évoluent pas de façon significative durant cet intervalle de temps. D'autre part, les travaux de Bringmann et Kühn (1977a, 1982) révèlent que la toxicité aiguë du 2-Nitrophénol vis-à-vis de la Daphnie varie selon le protocole expérimental adopté et le critère de toxicité choisi (CL50 24 h = 1,510 mmol/l et CI50 24 h = 0,395 mmol/l) alors que par ex., on ne note aucune variation significative de la nocivité du 3-Nitrophénol vis-à-vis de ce Crustacé (CL50 24 h = 0,280 mmol/l et CI50 24 h = 0,201 mmol/l).

La comparaison de nos résultats à ceux de la littérature permet également de voir que le com-

portement toxicologique des nitrophénols dépend des organismes choisis pour réaliser les essais. Ainsi, selon les critères de toxicité utilisés (seuils de toxicité, concentrations efficaces ou létales 50 %), le 2,4-Dinitrophénol est plus toxique que le 4-Nitrophénol vis-à-vis de *Microcystis aeruginosa* (Bringmann et Kühn, 1978), *Photobacterium phosphoreum* (Indorato et al., 1984), *Chilomonas paramecium* (Bringmann et al., 1980), *Uronema parduczi* (Bringmann et Kühn, 1980), *Daphnia magna* (Kopperman et al., 1974; Bringmann et Kühn, 1977a, 1982; LeBlanc, 1980; notre étude), *Brachydanio rerio* (Devillers, 1985), *Lepomis macrochirus* (Buccafusco et al., 1981; Janardan et al., 1984) et *Pimephales promelas* (Phipps et al., 1981; Hall et Kier, 1984; Janardan et al., 1984). A l'inverse, le 4-Nitrophénol est plus toxique que le 2,4-Dinitrophénol pour *Pseudomonas putida* (Bringmann et Kühn, 1977b), *Scenedesmus quadricauda* (Bringmann et Kühn, 1977b), *Tetrahymena pyriformis* (Schultz et al., 1986) et pour *Entosiphon sulcatum* (Bringmann, 1978).

D'autre part, l'étude de l'influence de la position des groupements NO₂ sur la toxicité des nitrophénols monosubstitués montre que la 4-Nitrophénol présente la nocivité la plus importante pour *Chlorella pyrenoidosa* (Huang et Glyona, 1968), *Uronema parduczi* (Bringmann et Kühn, 1980), *Tetrahymena pyriformis* (Yoshioka et al., 1985) et pour *Daphnia magna* (Bringmann et Kühn, 1977a, 1982; notre étude). Le 2-Nitrophénol est l'isomère le plus toxique pour *Pseudomonas putida* (Bringmann et Kühn, 1977b), *Scenedesmus quadricauda* (Bringmann et Kühn, 1977b), *Entosiphon sulcatum* (Bringmann, 1978) et *Chilomonas paramecium* (Bringmann et al., 1980). Enfin, le 3-Nitrophénol est plus toxique vis-à-vis de *Microcystis aeruginosa* que le 2-Nitrophénol et le 4-Nitrophénol (Bringmann et Kühn, 1978).

Les données bibliographiques relatives à l'effet de la position des groupements NO₂ sur la toxicité aiguë des dinitrophénols sont beaucoup plus rares. Cependant, Schultz (1987) montre que la toxicité du 2,4-Dinitrophénol vis-à-vis de *Tetrahymena pyriformis* est plus importante que celle du 2,5-Dinitrophénol ce qui est en accord avec nos résultats sur la Daphnie.

Enfin, il est intéressant de noter que la faible nocivité relevée pour le 2,4,6-Trinitrophénol vis-à-vis de *D. magna* est confirmée par d'autres études réalisées sur ce Crustacé (Bringmann et Kühn, 1977a; 1982; LeBlanc, 1980) et par des résultats de toxicité concernant des organismes occupant des niveaux trophiques différents. Ainsi, les seuils de toxicité de ce polluant, déterminés selon des conditions opératoires précises, vis-à-vis de *Microcystis aeruginosa* (Bringmann et Kühn, 1978), de *Chilomonas paramecium* (Bringmann et al., 1980), d'*Entosiphon sulcatum* (Bringmann, 1978) et d'*Uronema parduczi* (Bringmann et Kühn, 1980) sont respecti-

vement de 0,175, 2,479, 2,889 et 0,113 mmol/l. Ils sont le plus souvent très nettement supérieurs à ceux proposés pour les autres nitrophenols et même, dans la plupart des cas, à celui du phénol. D'autre part, Buccafusco *et al.* (1981) trouvent que la CL50 96h du 2,4,6-Trinitrophenol vis-à-vis de *Lepomis macrochirus* est égale à 0,742 mmol/l. Enfin, les travaux de Goodfellow *et al.* (1983) montrent que la toxicité aiguë de l'acide picrique est peu importante vis-à-vis de *Crassostrea virginica* (CE50 144h = 0,613 mmol/l) et de *Salmo gairdneri* (CL50 48 h = 0,586 mmol/l). Ils soulignent également que la nocivité du 2,4,6-Trinitrophenol augmente avec le temps d'exposition ce qui confirme les résultats obtenus par de nombreux auteurs (LeBlanc, 1980; Buccafusco *et al.*, 1981).

Notre étude montre que la toxicité aiguë des nitrophenols vis-à-vis de *Daphnia magna* dépend du degré de substitution des molécules et de la position des substituants sur le noyau phénol. Cette approche qualitative de type structure-toxicité, réalisée selon des conditions opératoires précises, révèle donc qu'il serait possible de prédire la nocivité de ces molécules vis-à-vis de ce Crustacé par des modèles quantitatifs de type QSAR.

BIBLIOGRAPHIE

- AFNOR, 1974. Détermination de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (Crustacé, Cladocère). Norme expérimentale T 90-301 : 12 p.
- AFNOR, 1980. Détermination de l'inhibition de croissance de *Scenedesmus subspicatus* par une substance. Norme expérimentale T 90-304 : 6 p.
- BRINGMANN G., 1978. Bestimmung der biologischen Schädigung wassergefährdender Stoffe gegen Protozoen. I. Bakterienfressende Flagellaten (Modellorganismus : *Entosiphon sulcatum* Stein). *Z. Wasser Abwasser Forsch.*, 11 : 210-215.
- BRINGMANN G. & R. KÜHN, 1977a. Befunde der Schädigung wassergefährdender Stoffe gegen *Daphnia magna*. *Z. Wasser Abwasser Forsch.*, 10 : 161-166.
- BRINGMANN G. & R. KÜHN, 1977b. Grenzwerte der Schädigung wassergefährdender Stoffe gegen Bakterien (*Pseudomonas putida*) und Grünalgen (*Scenedesmus quadricauda*) im Zellvermehrungshemmtest. *Z. Wasser Abwasser Forsch.*, 10 : 87-98.
- BRINGMANN G. & R. KÜHN, 1978. Grenzwerte der Schädigung wassergefährdender Stoffe gegen Blaualgen (*Microcystis aeruginosa*) und Grünalgen (*Scenedesmus quadricauda*) im Zellvermehrungshemmtest. *Vom Wasser*, 50 : 45-60.
- BRINGMANN G. & R. KÜHN, 1980. Bestimmung der Biologischen Schädigung wassergefährdender Stoffe gegen Protozoen. II. Bakterienfressende Ciliaten. *Z. Wasser Abwasser Forsch.*, 13 : 26-31.
- BRINGMANN G. & R. KÜHN, 1982. Ergebnisse der Schädigung wassergefährdender Stoffe gegen *Daphnia magna* in einem weiterentwickelten standardisierten Testverfahren. *Z. Wasser Abwasser Forsch.*, 15 : 1-6.
- BRINGMANN G., R. KÜHN & A. WINTER, 1980. Bestimmung der biologischen Schädigung wassergefährdender Stoffe gegen Protozoen. III. Saprozoische Flagellaten. *Z. Wasser Abwasser Forsch.*, 13 : 170-173.
- BUCCAFUSCO R.J., S.J. ELLS & G.A. LEBLANC, 1981. Acute toxicity of priority pollutants to bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 26 : 446-452.
- BUKEMA A.L., M.J. MCGINNISS & J. CAIRNS, 1979. Phenolics in aquatic ecosystems : A selected review of recent literature. *Marine Environm. Res.*, 2 : 87-181.
- BUKEMA A.L., B.R. NIEDERLEHNER & J. CAIRNS, 1982. Biological monitoring. Part IV-Toxicity testing. *Water Res.*, 16 : 239-262.
- CABRIDENC R. & J. BOUCHINET, 1982. Représentativité et signification des espèces retenues au stade laboratoire pour évaluer les effets d'une substance chimique dans l'environnement aquatique. In : Principes for the interpretation of the results of testing procedures in ecotoxicology, Rapport EUR 7549, 307-318.
- CHAPMAN P.M., G.M. ROMBERG & G.A. VIGERS, 1982. Design of monitoring studies for priority pollutants. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 54 : 292-297.
- CROSBY D.G. & A.K. TUCKER, 1966. Toxicity of aquatic herbicides to *Daphnia magna*. *Science*, 154 : 289-291.
- DEVILLERS J., 1985. Utilisation de bioindicateurs de toxicité pour détecter les pollutions des eaux destinées à la consommation humaine. Contrat du Ministère des Affaires Sociales et de la Solidarité Nationale (Santé), 68 p.
- GOODFELLOW W.L., D.T. BURTON, W.C. GRAVES, L.W. HALL & K.R. COOPER, 1983. Acute toxicity of picric acid and picramic acid to rainbow trout *Salmo gairdneri* and american oyster, *Crassostrea virginica*. *Water Res. Bull.*, 19 : 641-648.
- HALL L.H. & L.B. KIER, 1984. Molecular connectivity of phenols and their toxicity to fish. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 32 : 354-362.
- HUANG J.C. & E.F. GLOYNA, 1968. Effect of organic compounds on photosynthetic oxygenation. I. Chlorophyll destruction and suppression of photosynthetic oxygen production. *Water Res.*, 2 : 347-366.
- INDORATO A.M., K.B. SNYDER & P.J. USINOWICZ, 1984. Toxicity screening using Microtox analyser. In Toxicity screening procedures using bacterial systems. D. Liu and B.J. Dutka Eds., Marcel Dekker, Inc. : 37-53
- ISO, 1980. Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). Norme internationale ISO/6341 : 15 p.
- JANARDAN S.K., C.S. OLSON & D.J. SCHAEFFER, 1984. Quantitative comparisons of acute toxicity of organic chemicals to rat and fish. *Ecotoxicol. Environm. Saf.*, 8 : 531-539.
- KOPPERMAN H.L., R.M. CARLSON & R. CAPLE, 1974. Aqueous chlorination and ozonation studies. I. Structure-toxicity correlations of phenolic compounds to *Daphnia magna*. *Chem. Biol. Interac.*, 9 : 245-251.
- LEBLANC G.A., 1980. Acute toxicity of priority pollutants to water flea (*Daphnia magna*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 24 : 684-691.
- LEVIN S.A., K.D. KIMBALL, W.H. McDOWELL & S.F. KIMBAL, 1984. New perspectives in ecotoxicology. *Environ. Manage.*, 8 : 375-442.

- LUNDAHL P., 1974. Contribution à l'étude de la pollution des eaux par les substances toxiques. Propriétés biologiques de quelques agents de surface anioniques. Thèse Doc. Ing., Univ. Paris VI, 184 p.
- MESTRES R., 1979-1980. Rapport sur la classification pratique des substances de la liste I. Directive 76/464/CEE, 103 p.
- PHIPPS G.L., G.W. HOLCOMBE & J.T. FIANDT, 1981. Acute toxicity of phenol and substituted phenols to the fathead minnow. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 26 : 585-593.
- PRATT R., J.F. ONETO & J. PRATT, 1945. Studies on *Chlorella vulgaris*. X. Influence of the age of the culture on the accumulation of chlorellin. *Amer. J. Bot.*, 32 : 405-408.
- SCHULTZ T.W., 1987. The use of the ionization constant (pKa) in selecting models of toxicity in phenols. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 14 : 178-183.
- SCHULTZ T.W., G.W. HOLCOMBE & G.L. PHIPPS, 1986. Relationships of Quantitative Structure-Activity to comparative toxicity of selected phenols in the *Pimephales promelas* and *Tetrahymena pyriformis* test systems. *Ecotoxicol. Environm. Saf.*, 12 : 146-153.
- YOSHIOKA Y., Y. OSE & T. SATO, 1985. Testing for the toxicity of chemicals with *Tetrahymena pyriformis*. *Sci. Total Environm.*, 43 : 149-157.

Reçu le 19 février 1988; received February 19, 1988
Accepté le 7 novembre 1988; accepted November 7, 1988