

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Institut des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral**

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDE EN VUE DE L'OBTENTION DU  
DIPLOME D'INGENIEUR D'ETAT EN SCIENCES DE LA MER  
OPTION : AQUACULTURE**

---

**Recherche d'indicateurs biologiques  
d'exposition à des polluants. Approche  
expérimentale.**

**Impact du PbO sur la croissance et la maturité  
sexuelle du Tilapia : *Oreochromis niloticus*.**

---

Présenté par :

N. BOUZID et. S. FARAH

- Président de jury : Mr W. REFES – Chargé de cours (ISMAL) ;
- Examineur : Mr D. E. ZOUAKH – Chargé de cours (USTHB) ;
- Examineur : Mr M. BOUDJENAH – Master Européen (CNDPA) ;
- Rapporteur : Mr M. DJELLALI – Master Européen (CNDPA) ;
- Co-rapporteur : Mlle R. BENMOKHTAR – Ingénieur d'état en Aquaculture (CNDPA).

Juin 2004

---

CNDPA 11Bd, Colonel Amirouche Bou Ismail – W. Tipaza

## Dédicaces

*A la mémoire de mes grand parents.*

*Je dédie ce mémoire à mes parents qui ont su mener mon bateau au quai de la connaissance ... ma mère, mon père , je vous aime.*

*Je dédie également ce travail à ma sœur Amal et mes frères Yacine et Rabie avec qui , malgré la différence d'âge , je suis et je serai toujours complice.*

*Je le dédie aussi à ma belle sœur Mounira , mon beau frère Ferhat et mon petit neveu Rayan .*

*A mon promoteur Mostapha qui a su nous guider vers des horizons nouveaux,*

*A mes amis Malek, Mounir et Abderahim merci .*

*Nassim*

## **REMERCIEMENTS**

*Tout d'abord nous tenons à remercier monsieur M. Hachemane, Directeur du Centre National d'études et de Documentation et pour la Pêche et l'Aquaculture pour avoir permis la réalisation de ce travail au sein de la structure qu'il dirige.*

*Nos plus profonds remerciements vont également à Melle H ADJOUT, pour tout son temps qu'elle nous a consacré et son aide précieuse. Merci également à Melle R BENMOKHTAR qui a su porter conseil.*

*Nos remerciements vont-à :*

*Monsieur W. REFES pour avoir accepté de présider le jury ;*

*Monsieur ZOUAKH et monsieur BOUDJENAH pour avoir accepté d'examiner ce travail ;*

*Une pensée toute particulière pour tout le personnel du CNDPA, sans oublier , Nabil, Dalila, Zohra, Fatima Zohra, et Mustapha, ainsi que les techniciens du laboratoire analytique de l'ISMAL ;*

*Nous présentons toute notre gratitude au Pr SI-AHMED El mehdi de l'hôpital FrantzFanon ;*

*Notre profonde gratitude va à notre promoteur M DJELLALI qui a bien voulu diriger notre travail.*

# SOMMAIRE

|  |    |
|--|----|
| Résumé.....  | 1  |
| Introduction générale .....  | 2  |
| CHAPITRE I : ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE .....   | 6  |
| Introduction :.....  | 6  |
| 1. Définition de l'Ecotoxicologie.....   | 6  |
| 2. Indicateurs biologiques (Bio-indicateurs) :.....  | 8  |
| 3. Caractérisation de l'impact d'un effluent sur les écosystèmes aquatiques :.....               | 12 |
| 3. 1. Approche physico-chimique de l'impact d'un effluent sur les écosystèmes aquatiques : ..... | 12 |
| 3. 2. Approche biologique de l'impact d'un effluent sur les écosystèmes aquatiques : .....       | 12 |
| 3. 3. Approche biologique en conditions contrôlées de l'impact d'un effluent :.....              | 13 |
| CHAPITRE II : GENERALITES SUR LES METAUX LOURDS .....  | 15 |
| 2. La pollution par les métaux lourds .....  | 16 |
| 2. 1. Métaux : sources, caractéristiques et répartition.....                                     | 16 |
| 2. 1. 1. Toxicité du Plomb :.....  | 18 |
| 2. 2. Voies d'exposition des organismes aux métaux.....  | 20 |
| 2. 2. 1. L'eau :.....  | 20 |
| 2. 2. 2. Voie trophique : .....  | 20 |
| CHAPITRE III : CHOIX DU MODELE BIOLOGIQUE.....   | 22 |
| 1. Choix du poisson : .....  | 20 |
| 1. 1. Avantage du modèle poisson .....   | 20 |
| 1. 2. Modèle biologique « Tilapia du Nil » : <i>Oreochromis niloticus</i> .....                  | 21 |
| 1. 2. 1. Systématique.....   | 21 |
| 1. 2. 2. Morphologie.....  | 21 |
| 1. 2. 4. Ecologie .....  | 22 |
| 1. 2. 5. Régime alimentaire .....  | 23 |
| 1. 2. 6. Reproduction : (KESTERMONT P et al., 1989).....   | 24 |
| 1. 2. 7. Gamétogenèse :.....   | 26 |
| CHAPITRE IV : MATERIELS ET METHODES .....  | 28 |
| 1. MATERIELS ET METHODES .....   | 29 |
| 1. 1. paramètres biométriques suivis :.....  | 29 |
| 1. 1. 1. Rapport gonadosomatique (RGS) :.....  | 29 |
| 1. 1. 2. Rapport hépatosomatique (RHS) :.....  | 30 |
| 1. 1. 3. Paramètres métaboliques : azote ammoniacal .....  | 30 |
| 1. 1. 4. Observations histologiques.....   | 30 |
| 2. Préparation de l'aliment :.....   | 31 |
| 3. Conditions expérimentales :.....  | 32 |



## RÉSUMÉ

L'évaluation de l'impact d'une perturbation environnementale sur les principaux paramètres biologiques d'une population ou d'un peuplement implique la connaissance préalable des valeurs normales pour la ou les espèces considérées. Chez les poissons, par exemple, l'établissement de normes écophysiologiques de référence est complexe en raison de la diversité des causes de variations. Les travaux exposés ici ont pour objet de déterminer l'influence d'un xénobiotique (PbO) sur des paramètres écophysiologiques (morphométriques et métaboliques énergétiques) susceptibles d'être considérés comme bio-indicateurs (ou indicateurs biologiques) sur une population de Tilapia : *Oreochromis niloticus*, ainsi que l'établissement d'un protocole expérimental. L'expérience est réalisée dans des conditions contrôlées.

L'impérieuse nécessité d'identifier des organismes-tests et des bio-indicateurs permettant d'évaluer de façon aussi précoce que possible l'impact potentiel d'une pollution des eaux, s'est accompagnée d'un développement croissant des recherches au cours de la dernière décennie par suite de la fréquence, en augmentation continue, de certaines situations d'urgence.

Mots clés : impact, xénobiotique : PbO, bio-indicateurs : morphométriques et métaboliques énergétiques, poisson : Tilapia.

## **INTRODUCTION GENERALE**

## INTRODUCTION GÉNÉRALE

La pollution des milieux aquatiques par les substances toxiques n'est pas facile à mettre en évidence. Si les manifestations spectaculaires (mortalités piscicoles) des rejets accidentels frappent l'opinion publique, l'imprégnation progressive due aux rejets chronique passe le plus souvent inaperçue, alors qu'elle peut avoir de graves conséquences sur le fonctionnement des écosystèmes.

Dans la mise en évidence de situation de pollution, l'utilisation de supports concentrateurs, notamment le sédiment, les êtres vivants (poisson, moule, .) , permet certes de dresser un constat de présence, en particulier pour les métaux lourds (G. Larbaigt et *al.*, 1991). Cependant les tests biologiques de toxicité permettent une évaluation globale de la toxicité d'un effluent ou de sédiment. En effet il ne s'agit plus de détecter la présence d'un nombre limité de substances, mais de mesurer leurs effets, c'est à dire, d'évaluer des potentialités écotoxicologiques vis-à-vis des organismes.

Les analyses biologiques, qui intègrent les interactions entre tous les polluants présents et les organismes, permettent de fournir un diagnostic plus réaliste de l'impact de la pollution sur les organismes qui peuplent les écosystèmes. En écotoxicologie, l'impact d'un stress d'origine anthropique, comme la pollution chimique, sur les écosystèmes peut être mesuré à différents niveaux, qui se distinguent en terme de sensibilité et de pertinence écologique.

L'écotoxicologie aquatique a pris son essor en Amérique du Nord dès les années '1950 avec le développement de tests de toxicité aigue sur les poissons, suite aux atteintes écologiques dues aux substances chimiques déversées par l'agriculture, l'industrie et les agglomérations. Dès les années 1970, des essais de laboratoire avec des invertébrés, des algues et des bactéries, puis des tests multi-espèces ainsi que ceux en microcosmes, mésocosmes et in situ ont été intégrés dans les études, permettant une prédictibilité plus étendue des effets des polluants à court terme et à long terme, et sur plusieurs niveaux biologiques de l'écosystème.

L'écotoxicologie peut intervenir à différents **niveaux d'organisation biologique** : moléculaire, subcellulaire et cellulaire, tissulaire, de l'organisme, de la population et de

l'écosystème. Une des finalités actuelles de l'écotoxicologie est la prévision des effets potentiels de la pollution d'un écosystème donné par un produit chimique, un mélange de produits ou plus largement un processus perturbateur (Ramade F., 1998).

Chez les poissons, les effets sublétaux d'un stress environnemental se traduisent par des réponses hiérarchisées selon le type de perturbation, sa chronicité ou son intensité, et le niveau d'organisation biologique de l'espèce concernée. On considère que la réponse primaire est endocrinienne, elle se concrétise par la libération des catécholamines dans le pool sanguin et la production d'hormones corticostéroïdes (Kumschnabel & Lackner, 1993). La réponse secondaire associe les effets métaboliques des catécholamines et du cortisol (hyperglycémie, altération des réserves glycogéniques, lipolyse ou inhibition de la synthèse protéique, etc.) aux perturbations osmotiques et ioniques et aux effets hématologiques (Roche & Bogé, 1996). Les conséquences de la réponse tertiaire sont plus préoccupantes (Jobling, 1995) ; ce sont des effets clandestins et pernicieux dont les conséquences sont de nature démoécologique qui conduisent souvent à terme, au travers d'un ralentissement de la croissance et/ou d'une discrète mais persistante réduction du potentiel biotique, à un déclin des populations.

Le programme d'étude entrepris au CNDPA portant sur les bioéssais, comporte en particulier et en premier lieu un volet méthodologique : Mise au point d'un protocole expérimental. Ce type de recherche est analogue à celles effectuées et/ou en cours dans diverses zones sensibles (Nord-Ouest de la Méditerranée : Burgeot et al., 1996 ; Mer du Nord : Van der Oost et al., 1996, 1997 ; Michel et al., 1998).

Ce programme présente plus particulièrement comme objectif la définition et la recherche d'indicateurs biologiques, essentiellement fondés sur les manifestations écopysiologiques dû aux stress.

Ainsi la méthodologie entreprise se base sur les réactions à l'échelle de l'individu ou d'un groupe d'individu, pour des raisons de représentativité.

*Ce mémoire présente l'étude d'une approche expérimentale pour la recherche indicateurs biologiques d'exposition à des polluants à l'aide de bioessais. Cette étude consiste à*

*rechercher des conditions expérimentales et des réponses biologiques sous l'effet d'un polluant.*

*L'exposé de cette étude s'articule en différents chapitres. Le chapitre I est consacré à une synthèse bibliographique sur les bioessais, les indicateurs biologiques ainsi les différentes approches pour l'étude de l'impact d'un polluant.*

*Le chapitre II traite sur les métaux lourds, rappelant leurs grandes caractéristiques physico-chimiques, ainsi que les facteurs qui régulent leur biodisponibilité.*

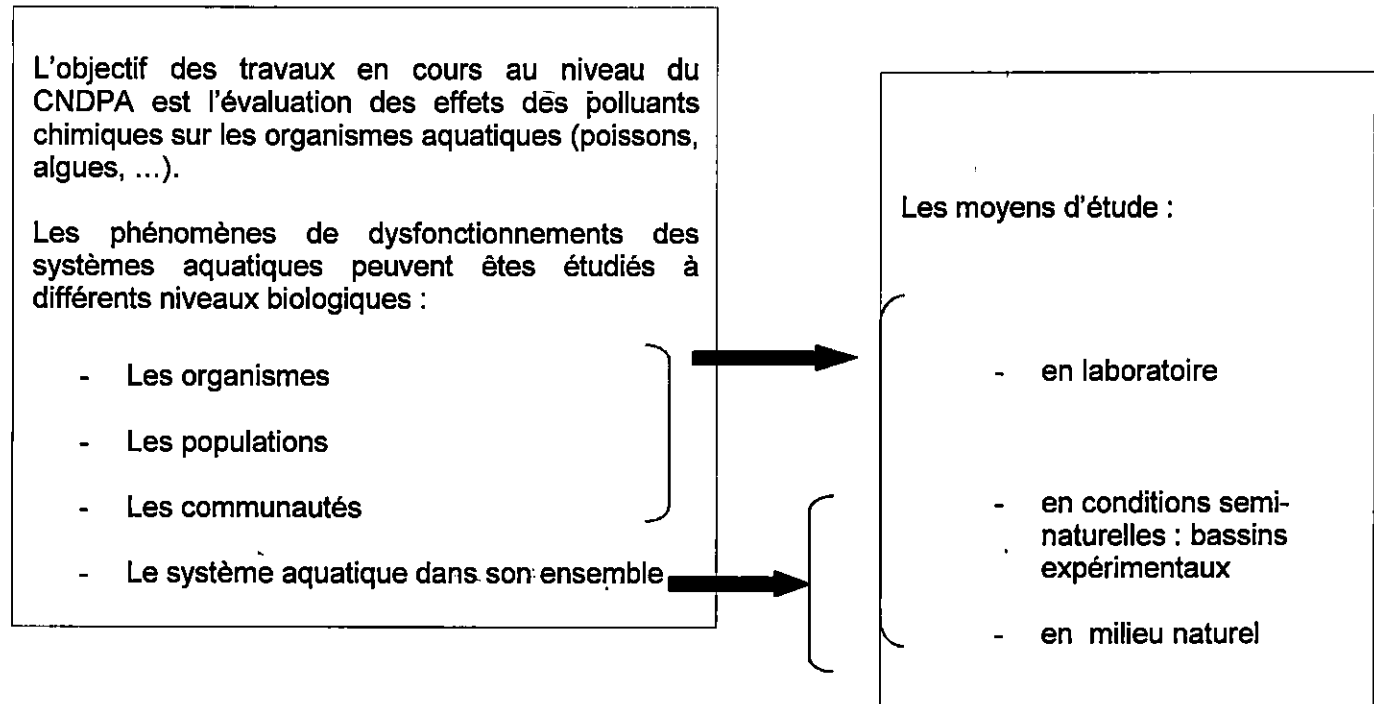
*Le chapitre III présente le matériel biologique utilisé, ainsi que de l'espèce utilisée dans cette étude, le Tilapia : *Oreochromis niloticus*.*

*Le chapitre IV présente la méthode et le matériel mises en œuvre tout au long de ce travail.*

*Enfin, l'ensemble des résultats, détaillés dans le chapitre V, est présenté sous forme de synthèse ainsi qu'une conclusion générale.*

**Impact de polluants sur la faune et la flore aquatique**  
**M. DJELLALI\* , R. BENMOHKTAR et H. ADJOUT**  
**CNDPA 11 Bd Colonel Amirouche – Bou Ismail. W. Tipaza**  
 \* [mostadjellali@yahoo.fr](mailto:mostadjellali@yahoo.fr)

**EFFETS DES POLLUANTS SUR L'ENVIRONNEMENT AQUATIQUE**



**Exemple : Impact du PbO sur la croissance et la maturité sexuelle du Tilapia : *Oreochromis niloticus*.**

Les travaux visent à déterminer les perturbations induites par le Pb à différentes concentrations sur *Oreochromis niloticus*.

Manifestation au niveau de la croissance, de la maturité sexuelle.

**INTERETS ET APPLICATIONS.**

Détermination des variables indicatrices pour différents polluants en microcosme.

Utiliser les variables indicatrices comme outils de détection et d'évaluation de la pollution et de l'état de santé des écosystèmes aquatiques naturels

**Tableau synoptique du projet d'étude - CNDPA**

## **CHAPITRE I : ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE**

## INTRODUCTION :

Compte tenu de la complexité des hydrosystèmes et de la multiplicité des perturbations d'origine anthropique, les paramètres physiques ou chimiques classiquement utilisés pour évaluer la qualité des eaux ne suffisent pas à fournir des indications précises sur le fonctionnement écologique d'un hydrosystème. La prise en compte des variables biologiques (indicateurs biologiques) permet d'évaluer les effets à la fois individuels et cumulatifs de plusieurs sources de perturbations. Ces variables jouent un rôle de système de surveillance et d'alerte. Sans chercher à substituer une méthode ou approche par une autre, les résultats n'ayant pas la même valeur, il est utile de montrer les éventuelles corrélations entre ces approches.

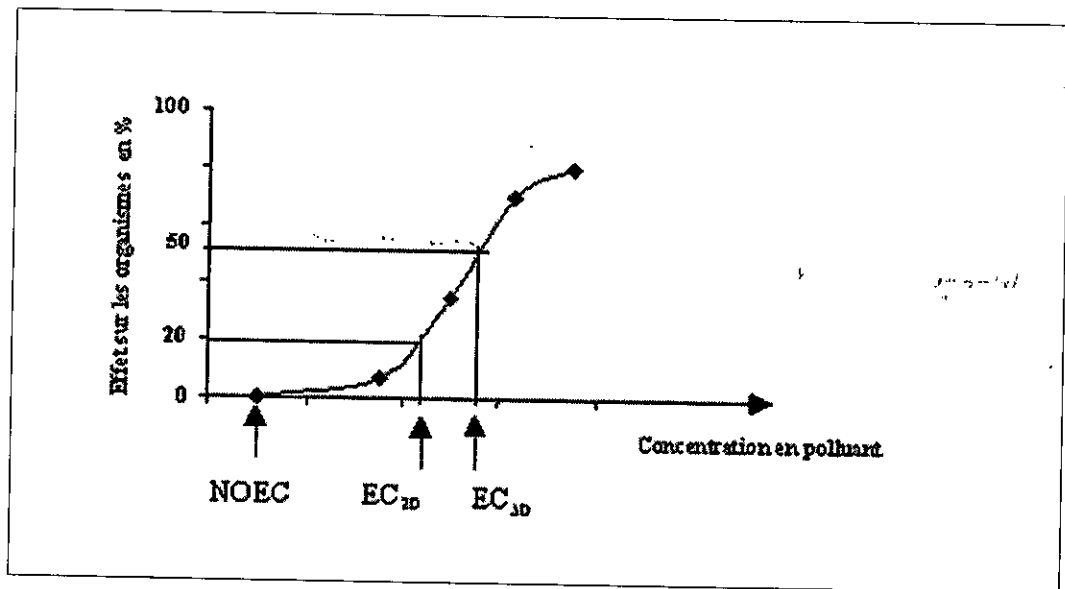
### 1. Définition de l'Ecotoxicologie

Un test écotoxicologique est un essai expérimental déterminant l'effet d'un ou de plusieurs produits sur un groupe d'organismes sélectionnés, dans des conditions bien définies (Keddy et al, 1994 *in* RAMADE F., 1998).

Ces tests utilisent différents moyens pour mesurer la toxicité d'un produit. Le moyen le plus communément utilisé est la mesure de la mortalité ou de la reproduction, mais il y a un intérêt croissant dans l'utilisation de paramètres plus sensibles. Les effets biochimiques, physiologiques, reproductifs et comportementaux peuvent aussi apporter des mesures de la toxicité. La plupart des tests de toxicité apportent une estimation de la dose qui affecte 50% de la population. Ce peut être par exemple la concentration létale moyenne qui tue 50% de la population. Il est aussi possible d'estimer la concentration maximale qui ne provoque aucun effet.

De nombreux termes en relation avec les tests de toxicité ont été définis. Les plus communs sont la LC50, c'est-à-dire la concentration en toxique qui engendre un effet à 50% par rapport aux contrôles, ainsi que la NOEC " No Observed Effect Dose ", la concentration de toxique maximale qui ne cause pas d'effet. Si les tests sont effectués sur des " end points " autre que la mortalité, par exemple sur le poids ou les réserves énergétiques, alors on définit une EC50. La EC50 est la concentration de polluant affectant 50% de la population. En outre, selon le plan expérimental et les concentrations de toxique choisies, d'autres valeurs

peuvent être utilisées, comme la EC<sub>x</sub> (avec x=20 par exemple). Ces termes sont illustrés sur la figure ci-dessous.



Ces tests de toxicité ou bioassais, se distinguent en deux types :

**Les tests de toxicité aiguë :** les tests de toxicité aiguë se réalisent sur une durée très courte (par rapport au temps de génération de l'organisme). Leurs avantages sont leur rapidité et leur faible coût. Ces tests impliquent généralement des concentrations élevées du polluant; de ce fait, les effets à long terme des faibles concentrations ne sont pas mis en évidence. On peut citer par exemple le test d'immobilisation des Daphnies qui dure 24h.

**Les tests de toxicité chronique :** Ces tests se déroulent sur une durée relativement longue par rapport au temps de génération de l'organisme. Ce sont par exemple les tests sur la reproduction. Ils sont plus longs et plus coûteux que les tests aigus, mais ils permettent de mettre en évidence des effets à long terme d'un polluant.

Récemment, la volonté de développer des méthodes plus sensibles et plus rapides que les tests classiques de mortalité ou reproduction a permis la mise en oeuvre du concept de biomarqueurs.

Selon RAMADE F. (1998), un biomarqueur se définit comme " toute réponse biologique à un produit environnemental constatée à un niveau inférieur à celui de l'individu. Cette réponse doit être mesurée dans un organisme ou dans ses produits et indiquer un

changement par rapport à l'état normal. Cette réponse ne peut être détectée chez un organisme sain ".Un biomarqueur représente donc une signature biologique de l'impact ou de la présence du xénobiotique dans l'organisme, et non la mise en évidence directe de celui-ci.

## 2. Indicateurs biologiques (Bio-indicateurs) :

Les indicateurs biologiques renseignent sur l'état des écosystèmes à partir de la compilation de données biologiques qui peuvent être très diverses. Selon P. Blandin (1986) un indicateur biologique (ou bio-indicateur) est un organisme ou un ensemble d'organismes qui par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques permet, de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème ou d'un écosystème et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modifications naturelles ou provoquées.

Il s'agit bien de mesurer des modifications liées aux activités humaines qui détournent les écosystèmes de leur évolution naturelle.

Dans sa revue publiée en 1986 dans le bulletin d'écologie P. Blandin a relevé 690 références sur une période de 22 mois sur le sujet dans la bibliographie internationale, dont 77% concernent les écosystèmes aquatiques. Le nombre important de bio-indicateurs est le reflet de l'immense variabilité biologique des écosystèmes. Plefkin et *al.* (1989) récapitulent les diverses méthodes, indiquant différentes méthodes et avantages des compartiments de la chaîne trophique (Tab. 1).

De plus des indicateurs biologiques cités dans le tableau n°1, le tableau n°2 résume des informations obtenues à partir d'une enquête relevant le type d'essai et les critères de toxicité utilisés. Il ne s'agit pas d'un tableau exhaustif des bioessais existants, mais d'une image des méthodologies les plus fréquemment considérées dans une démarche pratique de contrôle biologique de la qualité des rejets (J. Garric et *al.*, 1992 et J. Garric et *al.*, 1993 in J. Garric 1994).

Tab. 1: avantages des différents compartiments trophiques (Plefkin et al., 1989 in E. Vindimian et J. Garric, 1993).

|  |
|--|
| <p><b>Avantages de l'utilisation des algues :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Indicateurs d'effets à court terme du cycle de vie court ;</li> <li>- Producteurs primaires ;</li> <li>- Echantillonnage très facile et peu coûteux ;</li> <li>- Bien adapté pour la mesure de paramètres fonctionnels (biomasse, dosage de chlorophylle, . )</li> <li>- Sensibles à certains polluants particuliers comme les herbicides.</li> </ul>   |
| <p><b>Avantages de l'utilisation de macro-invertébrés :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bon indicateur de conditions locales car peu mobile ;</li> <li>- Intègre les variations à court terme : les communautés réagissent à long terme mais certains stades sensibles répondent rapidement ;</li> <li>- Facilité de mise en œuvre, l'utilisation de niveaux taxonomiques peu poussés est possible et donne de bonnes indications ;</li> <li>- Echantillonnage facile ;</li> <li>- Abondants dans la plupart des rivières ;</li> <li>- Source de nourriture de nombreux poissons.</li> </ul>  |
| <p><b>Avantages de l'utilisation des poissons :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bon indicateurs d'effets à long terme à cause de leur durée de vie ;</li> <li>- Représentants de différents niveaux trophiques (omnivores, insectivores, herbivores, planctonivores et piscivores)</li> <li>- Situés au sommet de la chaîne trophique et consommés par l'homme ;</li> <li>- Relativement facile à échantillonner et très facile à déterminer au niveau de l'espèce ;</li> <li>- Utilisation pour les usages de l'eau (catégories piscicoles) ;</li> <li>- De nombreux poissons sont considérés comme des espèces menacées.</li> </ul> |

Tab. 2: Résultats de l'enquête internationale sur l'utilisation d'essais de toxicité chronique sur effluent (résumé d'après J. Garric *et al.*, 1993 *in* J. Garric, 1994)

| Organismes          | Effet  | N  |
|---------------------|--|----|
| Bactéries           | Inhibition de la croissance de la population, inhibition de la luminescence        | 8  |
| Protozoaires        | Inhibition de la croissance de la population                                       | 2  |
| Algues              | Inhibition de la croissance de la population, biomasse, ATP                        | 9  |
| Plantes supérieures | Croissance, inhibition de la germination   | 4  |
| Mollusques          | Comportement, croissance, développement de la coquille                             | 6  |
| Oursins             | Taux de fertilisation  | 2  |
| Nématodes           | Survie, croissance, maturation sexuelle  | 1  |
| Crustacés           | Survie, reproduction, croissance, taux de nutrition                                | 15 |
| Insectes            | Comportement (ventilation)   | 1  |
| Poissons            | Taux d'éclosion, survie larvaire, croissance, ATP musculaire, activité enzymatique | 23 |
| Microcosme standard | Croissance des populations   | 1  |

D'autre part, la physiologie des organismes aquatiques est beaucoup utilisée pour des essais de toxicité au laboratoire et parfois sur le terrain. La mesure de paramètres sublétaux conduit à une grande sensibilité et à des réponses rapides. Cela a conduit au développement récent de systèmes d'essai automatisés : Bio-capteurs de toxicité (E. Vindimian et J. Garric, 1993). On distingue plusieurs type de capteurs :

- **Capteurs de rythme respiratoire** : mesure de variation de tension électrique liées aux mouvements des ouies d'un poisson (Morgan et *al.*, 1974 et Fisher et *al.*, 1983 in E. Vindimian et J. Garric, 1993) ;
- **Capteur rhéotaxique** (E. Vindimian et J. Garric, 1993) (Exemple : truitotest) ;
- **Capteur bivalve**, proposé le RIVM de Bilthoven commercialisé par la firme Néerlandaise Delta Consult (E. Vindimian et J. Garric, 1993) ;
- **Capteur impédancemétrique** (Heinis et *al.*, 1986 in E. Vindimian et J. Garric, 1993) ;
- **Bioélectrode algale**, réalisé par des chercheurs du centre des sciences de l'environnement de l'université de Metz (Pandard et *al.*, 1992 in E. Vindimian et J. Garric, 1993)

### 3. Caractérisation de l'impact d'un effluent sur les écosystèmes aquatiques :

L'évaluation de la qualité des milieux aquatiques repose sur des approches tant chimiques que biologiques.

Différentes approches permettent d'évaluer l'impact d'un xénobiotiques ou d'un ensemble de polluants sur le milieu récepteur.

#### 3. 1. APPROCHE PHYSICO-CHIMIQUE DE L'IMPACT D'UN EFFLUENT SUR LES ÉCOSYSTÈMES AQUATIQUES :

Relativement facile à obtenir, les résultats de l'analyse chimique ont traditionnellement servi à l'élaboration de critères de qualité d'eau. Cependant, si la mesure des concentrations de composés dans les différents compartiments de l'environnement aquatique d'évaluer l'exposition des organismes aux polluants, celle-ci ne permet pas d'en prédire les effets. De plus, cette mesure est toujours très *incomplète* par rapport au nombre de polluants présents dans l'environnement.

#### 3. 2. APPROCHE BIOLOGIQUE DE L'IMPACT D'UN EFFLUENT SUR LES ÉCOSYSTÈMES AQUATIQUES :

La biocénose du milieu récepteur peut être étudiée à travers différents niveaux d'organisation biologique : individu, population, communauté. L'étude à travers ces différents niveaux est préconisée par Ramade (1992 *in* A. Kosmala, 1998) pour une approche écotoxicologique complète dans l'étude des effets des toxiques et par Karr (1993 *in* A. Kosmala, 1998) pour mieux appréhender le fonctionnement d'un écosystème.

Dans certain cas on peut constater :

- une modification des peuplements de végétaux ;
- des changement dans la faune des invertébrés benthiques allant parfois jusqu'à la disparition des organismes dans les conditions extrêmes. Le plus souvent on observe une diminution de la diversité spécifique et une prolifération de quelques espèces tolérantes (Kondratieff et Simmon, 1982 ; Pontash et *al.*, 1989 ; Monda et *al.*, 1995 *in* A. Kosmala, 1998 ). Ces changements peuvent être détectés à différents niveaux taxonomiques de la faune benthique. Des changements auraient même été décelés au niveau de groupes fonctionnels

trophiques qui rendent compte de modification dans les modes de nutrition (Birge et *al.*, 1989 ; Wright et *al.*, 1995 in A. Kosmala, 1998) ;

- l'apparition de poissons parasités, hermaphrodites (P. Flammarion et *al.*, 2001) et des modification dans la communauté piscicole et notamment une diminution du nombre d'espèces allant parfois à la disparition totale des poissons (Karr et *al.*, 1995 in A. Kosmala, 1998 ).

### 3. 3. APPROCHE BIOLOGIQUE EN CONDITIONS CONTRÔLÉES DE L'IMPACT D'UN EFFLUENT :

Les bioessais sur effluents brut sont utilisés pour mesurer la toxicité effective de ces effluents et pour estimer les impacts potentiels d'effluents complexes sur les écosystèmes aquatiques.

Ces tests sont relativement faciles à utiliser, reproductibles, standardisés ce qui permet des comparaisons entre les espèces et les effluents et la détermination de relation dose-effet. Depuis les années 80, il est admis sur le plan international que ces essais sont des outils indispensables pour le contrôle de la toxicité de rejets (OCDE, 1987 in A. Kosmala, 1998).

L'intérêt des tests de laboratoire repose sur la possibilité de maîtriser certaines conditions biotiques (sexe, âge, prédation) et abiotique (photopériode, température, composition physico-chimique des milieux) qui autorise une standardisation et donc une comparaison des résultats obtenus sur différentes espèces et par plusieurs laboratoires.

Ces tests se caractérisent aussi par l'échelle de temps durant laquelle l'impact d'un effluent est observé et par le type perturbation suivi. Certains test visent à déterminer les effets à court terme d'un effluent, d'autres s'intéressent à des effets sublétaux à plus long terme ou bien à des effets spécifiques.

Par l'utilisation de tests, il a été montré que les effluents des stations d'épuration (STEP) pouvaient provoquer différents effets biologiques et notamment altérer le patrimoine génétique des organismes testés et avoir un effet mutagène et cancérigène (Rappaport et *al.*, 1979 ; Saxena et Schwartz, 1979 ; Hrubec et *al.*, 1983 ; Meier et Bishop, 1985, Meier et *al.*, 1986 in A. Kosmala, 1998).

Sur les poissons, différentes observations ont été faites :

- Modifier l'activité d'enzymes (Forlin et Hansson, 1982 ; Bucher et Hofer, 1990 in A. Kosmala, 1998) ;
- Avoir des effets oestrogénisants qui peuvent à l'origine de dysfonctionnements de la reproduction (Jobling et Sumpter, 1993 ; Purdom et *al.*, 1994 in A. Kosmala, 1998).

Parmi ces contaminants sont plus particulièrement étudiés les "mimétiques oestrogènes" car ces substances ont, sur les poissons mâles principalement, des effets néfastes du même type que ceux de l'hormone femelle  $17\beta$  oestradiol : Induction de vitellogénine, présence d'ovocytes dans les testicules, baisse de la fécondité, modification du sexe ratio, perturbation des caractères sexuels secondaires mâles (Tyler et Routledge, 1998 in P. Flammarion et *al.*, 2001). Ces substances vont des pesticides organochlorés, aux produits de dégradation de substances industrielles (phtalates, alkylphénols polyéthoxylés . ) en passant par des oestrogènes naturels (phyto- et mycooestrogènes, oestradiol) ou de synthèse (diethylstilbestrol, ethynilestradiol...). On retrouve ces mimétiques oestrogènes dans les rivières à la suite du déversement des effluents industriels ou urbains (Desbrow et *al.*, 1998 in P. Flammarion et *al.*, 2001 ).

- Provoqué des lésions histologiques (Mitz et Giesy, 1985 ; Goede et Barton, 1990 in in A. Kosmala, 1998) ;
- Causer une diminution de leur croissance (Foster et *al.*, 1994 in A. Kosmala, 1998) ;
- Entraîner l'augmentation de leur foie (Grizzle et *al.*, 1988 in A. Kosmala, 1998).

## **CHAPITRE II : GENERALITES SUR LES METAUX LOURDS**

## 1. DEFINITIONS DE LA POLLUTION

Parmi les nombreuses définitions de la pollution, on peut retenir la définition suivante (Encyclopædia Universalis, 1997) :

~ La pollution est une modification défavorable du milieu naturel, qui résulte généralement des activités humaines (notamment industrielles et urbaines). Ces dernières perturbent les équilibres de l'écosystème et retardent ou empêchent la régénération naturelle de la flore, voire de la faune. Ces modifications de la biosphère, qui peuvent s'avérer pratiquement irréversibles, vont toucher à leur tour les espèces vivantes (dont l'homme), du fait de la consommation des produits agroalimentaires et des autres substances naturelles".

### *Environnement :*

Le terme "environnement" désigne l'ensemble des caractéristiques physico-chimiques et biologiques de l'écosystème.

### *Toxicité :*

Elle résulte d'un ensemble de phénomènes complexes mettant en jeu des substances nocives pour le développement normal des organismes vivants dont ils peuvent perturber gravement le métabolisme. La nocivité d'un produit toxique pour l'environnement dépend largement de sa durée de vie, de sa biodégradabilité mais surtout de sa concentration.

### *Biodégradabilité :*

C'est la propriété qu'ont certaines substances à se laisser décomposer par les micro-organismes naturels, après un temps déterminé, de quelques mois à quelques années.

L'action combinée des micro-organismes (bactéries) et d'autres facteurs physico-chimiques provoquent la décomposition de ces produits en substances moins polluantes. Ainsi, pour mieux neutraliser les produits nocifs, on doit connaître l'une de leurs caractéristiques essentielles : la biodégradabilité.

Cependant, de nombreuses substances très toxiques ne peuvent pas être dégradées par les micro-organismes seuls, bien qu'ils constituent d'excellents indicateurs biotiques. Les métaux toxiques (mercure, cadmium, plomb, etc.), ainsi que les pesticides et herbicides font partie des substances difficilement "digestibles".

## 2. LA POLLUTION PAR LES MÉTAUX LOURDS

En 1964, l'Encyclopedia of Chemical Science définit les métaux lourds comme étant les métaux ayant une densité supérieure à 4. Actuellement, la dénomination de métaux lourds est réservée aux métaux formant des sulfures insolubles, ce qui facilite leur séparation des autres métaux.

D'après J. Rainguin (*in* technique de l'ingénieur), on entend par la dénomination de métaux lourds les éléments " en grisé " dans le tableau périodique tel que représenté ci-dessous :

|                |                 |                  |                 |                |                 |                  |      |    |    |    |    |                  |                 |                |                 |                  |    |    |    |
|----------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------|-----------------|------------------|------|----|----|----|----|------------------|-----------------|----------------|-----------------|------------------|----|----|----|
| I <sub>A</sub> |                 |                  |                 |                |                 |                  |      |    |    |    |    |                  |                 |                |                 |                  | O  |    |    |
| H              | II <sub>A</sub> |                  |                 |                |                 |                  |      |    |    |    |    | III <sub>A</sub> | IV <sub>A</sub> | V <sub>A</sub> | VI <sub>A</sub> | VII <sub>A</sub> | He |    |    |
| Li             | Be              |                  |                 |                |                 |                  |      |    |    |    |    | B                | C               | N              | O               | F                | Ne |    |    |
| Na             | Mg              | III <sub>B</sub> | IV <sub>B</sub> | V <sub>B</sub> | VI <sub>B</sub> | VII <sub>B</sub> | VIII |    |    |    |    | I <sub>B</sub>   | II <sub>B</sub> | Al             | Si              | P                | S  | Cl | Ar |
| K              | Ca              | Sc               | Ti              | Y              | Cr              | Mn               | Fe   | Co | Ni | Cu | Zn | Ga               | Ge              | As             | Se              | Br               | Kr |    |    |
| Rb             | Sr              | Y                | Zr              | Nb             | Mo              | Tc               | Ru   | Rh | Pd | Ag | Cd | In               | Sn              | Sb             | Te              | I                | Xe |    |    |
| Cs             | Ba              | La               | Hf              | Ta             | W               | Re               | Os   | Ir | Pt | Au | Hg | Tl               | Pb              | Bi             | Po              | At               | Rn |    |    |
| Fr             | Ra              | Ac               |                 |                |                 |                  |      |    |    |    |    |                  |                 |                |                 |                  |    |    |    |

### 2. 1. Métaux : sources, caractéristiques et répartition

Les métaux proviennent principalement de l'érosion des roches, des sols et des sédiments où ils sont présents à l'état naturel et mais aussi majoritairement des activités humaines.

Les métaux rencontrés dans l'environnement peuvent être classés selon leur caractère essentiel ou non. Un métal est considéré comme essentiel si des symptômes pathologiques apparaissent lorsque sa teneur diminue ou qu'il est absent et disparaissent lorsqu'il est rajouté. Il faut aussi que les symptômes soient associés à une défecion biochimique (Förstner et Wittmann, 1979 *in* GEFARD O. 2001). Cependant, un élément essentiel peut également être toxique lorsqu'il est présent à de trop fortes concentrations. Suivant ces critères, 17 métaux sont considérés comme essentiels, dont quatre (Na, K, Ca et Mg) sont présents en grande quantité (supérieurs à > 1 mmole kg<sup>-1</sup> de poids frais), alors que les treize autres (As, Cr, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Si, Sn, V et Zn) sont présents à l'état de trace

(0,001 à 1 mmole kg<sup>-1</sup> de poids frais) ou d'ultra-trace (< 1µmol kg<sup>-1</sup> de poids frais ; Mason & Jenkins, 1995 in GEFARD O. 2001).

Les métaux non essentiels n'ont, à l'inverse des précédents, aucun rôle biologique actuellement connu. C'est le cas du Hg, Ag, Cd et Pb (Mason & Jenkins, 1995 in GEFARD O. 2001). Ils sont considérés comme néfastes dès qu'ils sont présents dans le milieu et entraînent des effets biologiques délétères à de très faibles concentrations.

La toxicité des métaux dépend de nombreux facteurs. Wood (1974 ; dans Förstner et Wittmann, 1979 in GEFARD O. 2000) a classé différents métaux et métalloïdes en fonction de leur toxicité (action chez l'organisme vivant) et leur disponibilité dans l'environnement.

Dans la phase soluble, les métaux peuvent être présents sous formes d'ions hydratés, de complexes organiques et inorganiques, ainsi qu'associés à la phase colloïdale (Morrison, 1989).

Dans la phase particulaire, ils peuvent être adsorbés sur l'argile, complexés avec la matière organique, adsorbés et/ou coprécipités avec les hydroxydes de fer et de manganèse, précipités avec les ions sulfures (dans la partie anoxique du sédiment) ; ils peuvent enfin être liés à la matrice cristalline des particules (Morisson, 1989 ; Burgess et Scott, 1992 ; Burton, 1992a ; Förstner et Whitmann, 1979 in GEFARD O., 2001 ; Rybicka *et al.*, 1995 ; Chapman *et al.*, 1998).

On a pu montrer récemment (Di Toro *et al.*, 1990 ; Ankley *et al.*, 1994 ; Hansen *et al.*, 1996 ; Sibley *et al.*, 1996 ; De Witt *et al.*, 1996) que les ions sulfures, provenant de la dégradation bactérienne de la matière organique en milieu anoxique ou de la réduction des sulfates jouent un rôle primordial dans le piégeage des métaux divalent (Cd, Ni, Zn, Cu, Pb). Les principaux sulfures sont le mono-sulfure de fer (FeS), appelé greigite et le bisulfure de fer (la pyrite ; Di Toro *et al.*, 1990).

La forme physico-chimique des métaux (spéciation) conditionne leur mobilité et par suite leur biodisponibilité. En général, la forme libre ou ionique est la plus biodisponible et toxique.

### 2. 1. 1. Toxicité du Plomb :

La toxicité du plomb sur le poisson et les autres organismes aquatiques est très influencé par la qualité de l'eau et dépend de la solubilité des composés contenant le plomb et de la dureté de l'eau (concentration en calcium et en magnésium).

La solubilité des composés du plomb diminue avec l'augmentation de l'alcalinité. Aussi, la toxicité du plomb diminue avec l'augmentation de la dureté. Les concentrations toxiques dans différents types d'eau sont de l'ordre de 1 à 10 mg/l pour les salmonidés et de 10 à 100 mg/l pour les cyprinidés (Svobodova et *al.*, 1993).

Le maximum de toxicité du plomb est initialement caractérisé par des altérations de l'épithélium branchial, les poissons affectés sont tués par suffocation.

Les symptômes caractéristiques de la toxicité chronique au plomb comprennent des changements dans les paramètres sanguins avec de sévères dommages aux érythrocytes et leucocytes, et des changements dégénératifs dans les organes parenchymateux et des altérations du système nerveux (Svobodova et *al.*, 1993).

Les concentrations maximale de Pb admissibles dans l'eau sont de 0,004 à 0,008 mg/l pour les salmonidés et de 0,07 mg/l pour les cyprinidés(Svobodova et *al.*, 1993).

**Tab. 3:** Fiche technique du Pb(Plomb) et PbO (Oxyde de plomb) (INERIS, 2002).

| Paramètres                  | Plomb ou composé | Valeur   | Référence  |
|-----------------------------|------------------|--|--|
| Masse molaire (g/mol)       | Pb               | 207,2  | ATSDR (1993), HSDB (2000), Kirk-Othmer (1981), Lide (1997).  |
|                             | PbO              | 223,21   | HSDB (2000), ATSDR (1999), INRS (1998), Lide (1997).   |
| Densité                     | Pb               | 11,34  | ATSDR (1993), Guide de la chimie (1999), HSDB (2000), MERCK (1996), Prager (1995).                                   |
|                             | PbO              | 9,53   | ATSDR (1993), Guide de la chimie (1999), HSDB (2000), IUCLID (1996), Kirk-Othmer (1981), Lide (1997), Ullman (1990). |
| Solubilité dans l'eau (g/l) | Pb               | Insoluble  |  |
|                             | PbO              | Très peu soluble :<br>17. 10 <sup>-3</sup> à 20 °C<br>50,4. 10 <sup>-3</sup> 25 °C | HSDB (2000), IUCLID (1996), Kirk-Othmer (1990).  |

## 2. 2. Voies d'exposition des organismes aux métaux.

La biodisponibilité des polluants dépend de l'état physico-chimique sous lequel ils sont présents dans les différents compartiments de l'environnement. Dans le milieu naturel, les organismes sont soumis à différentes sources de métaux, qui sont le milieu aqueux et l'alimentation qui comprend une source végétale ou animale selon le régime alimentaire, mais également des débris organiques présents dans les matières en suspension pour les organismes filtreurs, ainsi que dans le sédiment pour les dépositivores.

### 2. 2. 1. L'EAU :

Les complexes métalliques lipo-solubles et les formes ioniques ou faiblement complexées sont considérées comme les plus biodisponibles (Morrison, 1989). Les processus de transfert sont toutefois complètement différents, les premiers pénétrant dans la cellule principalement par diffusion passive, les autres donnant lieu à des phénomènes de transport actif ou facilité (Morrison, 1989). L'entrée des métaux peut également se faire par des phénomènes d'endocytose ou pinocytose (George et Viarengo, 1988 ; Simkiss et Taylor, 1995 in GEFFARD O., 2001)

Un changement des formes physico-chimiques affectant l'équilibre de la concentration en ions libres, même en absence de changement de la concentration totale, pourra affecter le taux de prise de ces derniers par les organismes. Ainsi, une diminution de la salinité entraîne une diminution des chloro-complexes pour des métaux tels que le Cd et le Zn et donc correspond à une augmentation de la disponibilité des ions libres.

### 2. 2. 2. VOIE TROPHIQUE :

L'accumulation des métaux par la nourriture peut représenter une voie importante d'apport de métaux. En effet, les métaux en solution sont considérés comme les plus biodisponibles, mais les concentrations élevées enregistrées au niveau de la nourriture, du sédiment et des particules en suspension font de l'alimentation une source importante de métaux de métaux pour les organismes aquatiques (Langston et Spence, 1995). Cependant, différents facteurs

tels que les formes physico-chimiques, les forces de liaisons des métaux aux aliments, la qualité de ces aliments et la position des espèces dans les chaînes alimentaires interviennent sur la disponibilité des métaux à partir de la nourriture (Langston et Spencer, 1995; Fisher et Reinfelder, 1995).

## **CHAPITRE III : CHOIX DU MODELE BIOLOGIQUE**

## 1. CHOIX DU POISSON :

Les poissons forment un compartiment clé des écosystèmes aquatiques. Des points de vue médiatique, patrimonial ou même naturaliste, ils possèdent une évocatrice plus importante que celle des invertébrés ou des végétaux aquatiques par exemple. Ceci se double d'un intérêt halieutique, ce qui leur confère également une forte valeur économique.

Mais ce sont surtout les caractéristiques biologiques des poissons qui en font de bons indicateurs de l'état des écosystèmes aquatiques. A des échelles de temps et d'espaces très diverses, ils permettent d'apprécier l'intégrité d'un milieu ou d'en évaluer les altérations. Par leur position dans les trophiques, ils sont à même d'intégrer les modifications et les altérations des premiers niveaux de ces réseaux.

Les poissons apparaissent comme de bons indicateurs non seulement de la qualité physico-chimique des écosystèmes aquatiques mais de l'intégrité de l'habitat physique. Cette particularité des peuplements de poissons est la base théorique de nombreuses méthodes d'évaluation de la qualité, que ce soit de manière globale (indice d'intégrité biologique de Karr, 1981 *in* COHEN P. 1992), ou plutôt centrée l'habitat physique offert aux poissons (IMHOF *et al.*, 1996 *in* COHEN P. 1992).

### 1. 1. Avantage du modèle poisson

Les poissons, pris comme modèle expérimental, présentent de nombreux avantages :

- Ces vertébrés sont répandus dans l'ensemble des niches écologiques des eaux marines et continentales ;
- Ce sont de bons représentants de la diversité écologique des milieux aquatiques ;
- Les progrès de l'aquaculture facilitent leur élevage et autorisent leur reproduction toute l'année ;
- L'abondance de leurs œufs et la grande sensibilité de leurs stades embryonnaires facilitent la réalisation de tests significatifs courts (quelques jours) d'un coût réduit;
- Leur tolérance aux variations des facteurs abiotiques du milieu en fait de bons candidats pour le développement de l'écotoxicologie multifactorielle.

## 1. 2. Modèle biologique « Tilapia du Nil » : *Oreochromis niloticus*

Le Tilapia a été choisis pour sa :

- Disponibilité ;
- Période de ponte étalée sur l'année dans des conditions optimales (tous les 45 jours) ;
- Elevage en aquarium possible.

### 1. 2. 1. SYSTÉMATIQUE

Règne : Animal

Embranchement : Métazoaires

Super classe : Gnatostomes

Classe : Poissons

Sous classe : téléostéens

Ordre : Percomorphes

Sous ordre : Perciformes

Super famille : Percoïdes

Famille : Cichlidae

Genre : *Oreochromis* (TREWAVAS E ,1981)

Espèce : *Oreochromis niloticus*

### 1. 2. 2. MORPHOLOGIE

Les espèces de cette famille se reconnaissent aisément par:

- Le tilapia a une forme trapue (fig. 1) ;
- Tête portant une seule narine de chaque côté ;
- Os operculaire non épineux ;
- Corps comprimé latéralement, couvert essentiellement d'écaillés cycloïdes et parfois d'écaillés cténoïdes ;
- Longue nageoire dorsale à partie antérieure épineuse ;

- Nageoire anale avec au moins les 3 premiers rayons épineux ;
- Incubation buccale avec garde uniparentale maternelle.

### 1. 2. 3. Distribution Géographique

Le tilapia est une Espèce Africaine (Fig. 2).

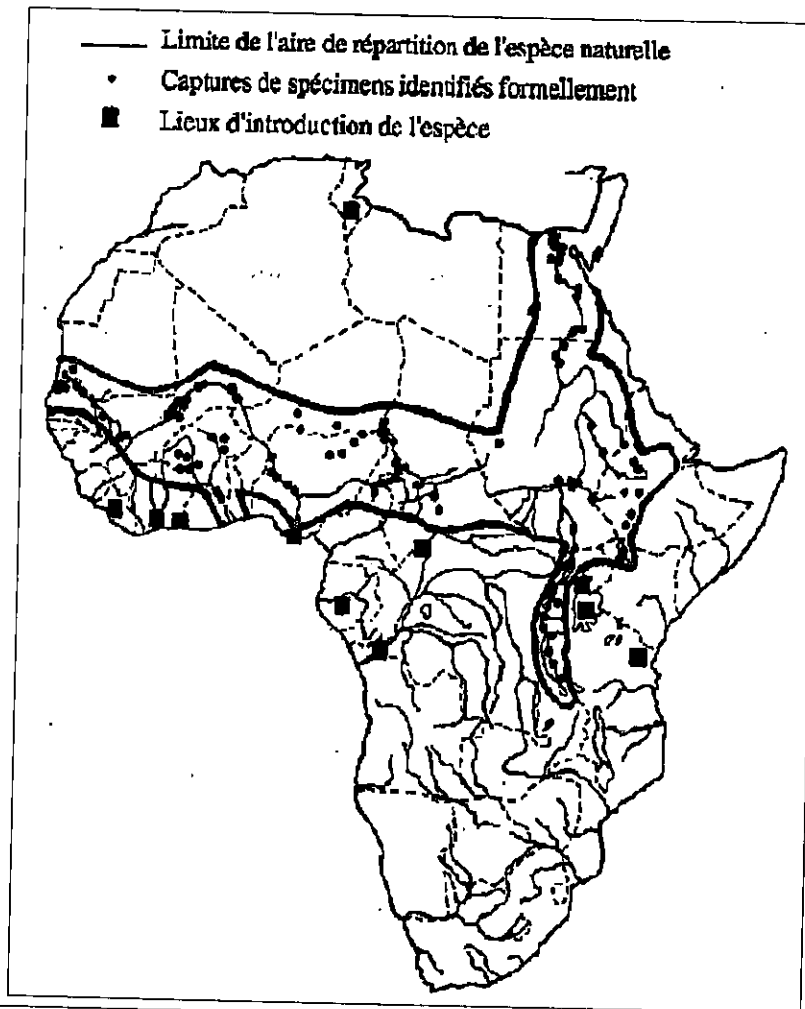


Fig. 2: Répartition géographique originelle et introductions de *T. nilotica* en Afrique (modifié d'après PHILIPPART et RUWET, 1982 in KESTERMONT P. et al., 1989)

### 1. 2. 4. ECOLOGIE

De nombreuses études de terrain et de laboratoire (PULLIN et LOWE-McCONNEL, 1982; FISHELSON et YARON, 1983; PLISNIER *et al*, 1988; etc...) montrent que *T. nilotica* est

une espèce relativement euryèce et eurytope adaptée à de larges variations des facteurs écologiques du milieu aquatique et colonisant des milieux extrêmement variés. *T. nilotica*, espèce thermophile, se rencontre en milieu naturel entre 13.5° et 33°C mais l'intervalle de tolérance thermique observé en laboratoire est plus large: 7 à 41°C pendant plusieurs heures (BALARIN et HATTON, 1979). Quant à la température optimale de reproduction elle se situe entre 26 et 28°C, le minimum requis étant 22°C.

L'euryhalinité de *T. nilotica* est également bien connue car, on le rencontre dans des eaux de salinité comprise entre 0.015 et 30‰. Toutefois au-delà de plus ou moins 20‰ l'espèce subit un stress important qui la rend sensible à une série de maladies, réduisant sa compétitivité par rapport à d'autres espèces (*T. melanotheron*). De plus, la reproduction serait inhibée en eau saumâtre à partir de 15 à 18‰. De même, la tolérance aux variations de pH est très grande puisque l'espèce se rencontre dans des eaux présentant des valeurs de pH de 5 à 11.

Au point de vue concentration en oxygène dissous, cette espèce tolère à la fois de nets déficits et des sursaturations importantes. Ainsi jusqu'à 3 ppm d'oxygène dissous *T. nilotica* ne présente pas de difficulté métabolique particulière mais en-deça de cette valeur, un stress respiratoire se manifeste bien que la mortalité ne survienne qu'après 6 h. d'exposition à des teneurs de 3.0 ppm. Il n'empêche que, grâce à son hémoglobine particulière à haute affinité pour l'oxygène dissous (0.12 ppm), cette espèce peut supporter, sur de courtes périodes, des concentrations aussi faibles que 0.1 ppm d'oxygène dissous. .

### 1. 2. 5. RÉGIME ALIMENTAIRE

Etant donné que les arcs branchiaux de *T. nilotica* disposent de branchiospines fines, longues et nombreuses et de microbranchiospines, l'eau qui y transite est véritablement filtrée de son plancton. Cette espèce est donc, en milieu naturel, essentiellement phytoplanctonophage et consomme de multiples espèces de Chlorophycées, Cyanophycées, Euglenophycées, etc...; ce qui ne l'empêche pas également d'absorber du zooplancton et même des sédiments riches en bactéries et Diatomées.

Mais en milieu artificiel (systèmes de pisciculture) cette espèce est pratiquement omnivore (euryphage) valorisant divers déchets agricoles (tourteaux d'oléagineux, drèches de brasserie, etc...), tirant parti des excréments de porcs ou de volailles, de déchets ménagers,

acceptant facilement des aliments composés sous forme de granulés, etc... Cette capacité d'adaptation à divers aliments et déchets est phénoménale et est à la base de sa haute potentialité pour la pisciculture.

#### 1. 2. 6. REPRODUCTION : (KESTERMONT P *et al.*, 1989)

- Ratio de 1 mâle pour 3-4 femelles ;
- Elle est fonction des espèces, des conditions de milieu et de la densité des individus. La maturité sexuelle peut intervenir dès 3-4 mois dans certains élevages, plutôt vers 6 mois en moyenne, et souvent à plus d'un an dans le milieu naturel. Des individus de 30 g peuvent se reproduire. Des conditions défavorables accélèrent la maturité ;
- Une température d'au moins 20°C est nécessaire à la reproduction et à l'incubation des œufs ;
- Le dimorphisme sexuel apparaît principalement au niveau de la papille génitale (Fig. 3), pour des individus de 25-30 g et 10 cm de long, ce qui permet un sexage précoce en élevage ;
- Au moment de la reproduction, les mâles se réunissent sur une zone de nidification de faible profondeur, au substrat meuble - gravier, sable, argile - dans lequel ils aménagent chacun un nid qu'ils défendent et dans lequel ils tentent d'attirer une femelle ;
- Dans le cas des *Oreochromis*, après une parade sexuelle, la femelle dépose un lot d'ovules aussitôt fécondés par le mâle. La femelle reprend les œufs dans sa bouche et les y garde pendant la durée d'incubation, soit 4 à 5 jours, et de la résorption de la vésicule vitelline, étape durant de 7 à 12 jours ;
- Les alevins s'échappent alors de la bouche de la mère, dans laquelle ils vont se réfugier en cas de danger. Ils deviennent indépendants au bout d'une quinzaine de jours, à la taille de 11 mm, alors qu'ils mesuraient 4 à 5 mm à la naissance. Les alevins sont phyto et zooplanctonophages ;

- Une femelle en bonne condition se reproduit toutes les 6 à 8 semaines, ce qui, à raison de 800 à 1 000 oeufs en moyenne pour une femelle de 250 g, risque de conduire rapidement au surpeuplement et au nanisme en milieu mal contrôlé.

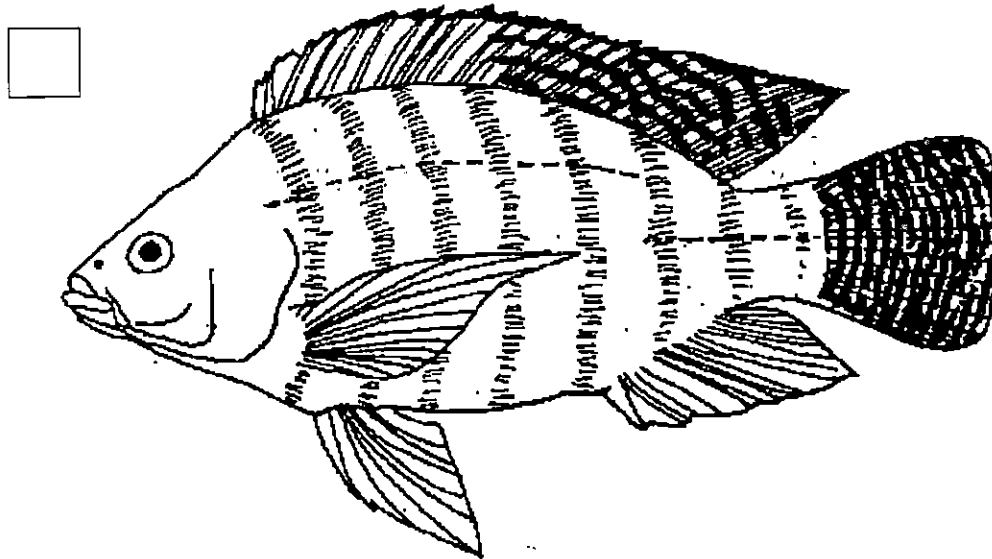


Fig. 1: Caractéristiques morphologiques spécifiques de *Tilapia nilotica* adulte avec des barres verticales noires typiques sur la nageoire caudale (MELARD Ch. FAO 2002)

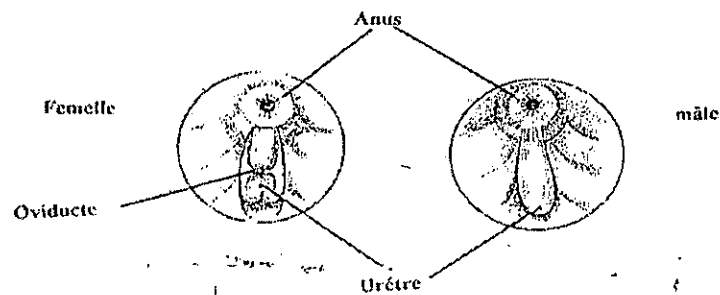


Fig. 3: Différenciation sexuelle chez le Tilapia *Oreochromis niloticus* (in H. Adjout et N. Meziane, 2002).

### 1. 2. 7. GAMÉTOGÈNESE :

Les ovocytes produits par les tilapias, ont une forme ovoïdes contrastant avec la forme sphérique des œufs matures de la plupart des Téléostéens.

La durée et le rythme de la gamétogenèse ont été bien étudiés chez les tilapias. Les femelles prises individuellement effectuent plusieurs pontes à quelques semaines d'intervalle, que la reproduction soit continue, ou saisonnières. L'existence de ces vagues successives de gamétogenèse a été démontrée, tant pour les mâles que pour les femelles (MOREAU, 1979).

Chez la femelle, le stade à partir duquel la nouvelle génération d'ovocytes se développe après la ponte est controversé ; pour certains auteurs (HYDER, 1979), cette nouvelle vague d'ovocytes, se trouve déjà en phase de vitellogénèse active après la ponte, alors que d'autres travaux semblent montrer un redémarrage de gamétogenèse à partir d'un stock d'ovocyte en prévitellogénèse (SILVERMAN, 1978). Ce point douteux peut résulter de différence entre les espèces ou des conditions de l'environnement ou encore, d'imprécision dans la définition exacte de la phase vitellogénèse active.

### 1. 2. 8. Comportement de reproduction

Le comportement reproductif chez *Oreochromis* à été rapporté, par plusieurs auteurs. Turner (1986) montre que le comportement reproductif est profondément influencé par le système d'accouplement.

Le système d'accouplement a été décrit par KELLOGG et al. (1995); LOWE (1956); McKAYE (1991) et NELSON (1995). Ce dernier a découvert que les femelles préfèrent s'accoupler avec des mâles dont est le nid est le plus large.

A l'état naturel, les territoires de parade nuptial sont établis et défendus par les mâles et les combats entre eux sont rares (LOWE, 1956 personal observation).

En aquarium, les mâles préfèrent les territoires proche de la surface. En plus, les mâles captifs se livrent des combats circulaires de courtes durée et de petite intensité (Turner, 1986). Des "mouvements expressifs" opposent 2 mâles lors de l'acquisition, puis lors du maintien des territoires.

Ces "mouvements expressifs" qui consistent notamment en "menace" en "coup de queue" en "présentation parallèle" en "combat de bouches" constituent en quelque sorte un langage instinctif. (VOSS J., 2001). Ca sert probablement à évaluer la force d'un autre mâle, et à l'établissement du territoire (Turner, 1986)

Le comportement territorial a été étudié par Baerends et Baerends-van Roon (1950) ; Neil (1964).

L'introduction d'une femelle prête à pondre dans un aquarium où se trouve un mâle territorial est tout aussi intéressante, mais, ici aussi, il faut se méfier de l'agressivité du mâle. Après une courte phase agressive de la part de celui-ci, les mouvements changent cependant totalement et on assiste à la parade faite de mouvements dits de "tremblement", à des "cercles" etc...(VOSS J., 2001).

## **CHAPITRE IV : MATERIELS ET METHODES**

# 1. MATERIELS ET METHODES

En écotoxicologie, on distingue plusieurs types de dispositifs expérimentaux ou écosystèmes contrôlés (LACAZE, 1974, 1978; LACAZE *et al.* 1969, 1976, 1992 *in* J. C. LACAZE, 1996). Odum (1984) (*in* J. C. LACAZE, 1996) a proposé le terme de mésocosme pour désigner ces unités expérimentales délimitées spatialement, situées en conditions environnementales naturelles et qui simulent de façon réaliste les écosystèmes réels.

## 1. 1. paramètres biométriques suivis :

Des informations significatives de la « condition » des poissons sont données par des mesures biométriques : poids, taille, indices hépatosomatique (RHS), gonadosomatique (RGS) correspondant au rapport du poids des organes sur la masse corporelle.

### 1. 1. 1. RAPPORT GONADOSOMATIQUE (RGS) :

Le rapport gonadosomatique ( $RGS = \text{poids des gonades} / \text{poids total} \times 100$ ) exprimé en pourcentage (BOUGIS, 1952) nous permet d'estimer l'état de maturité globale des poissons même si en toute rigueur cet indice n'est pas très précis lorsqu'on se situe à la limite de la période de reproduction. Il serait alors nécessaire de procéder à une analyse histologique afin de déterminer l'évolution ovocytaire (Kestemont, 1987).

Ce rapport à un inconvénient majeur il dépend étroitement du poids du poisson lequel présente des fluctuations dues essentiellement aux phénomènes d'engraissement, de ponte en plus des variations individuelles. En effet, certains poissons du même âge sont plus gros, d'autres plus minces. Certains conseillent alors de travailler avec le poids éviscéré (Poids des gonades/poids éviscéré).

### **1. 1. 2. RAPPORT HÉPATOSOMATIQUE (RHS) :**

Le RHS ou rapport hépatosomatique est le rapport entre le poids du foie et le poids total du poisson exprimé en pourcentage (BOUGIS, 1952).

L'évolution du RHS renseigne sur l'éventuelle participation du foie dans la maturation des gonades. Chez les poissons maigres le foie accumule les lipides qui passent ensuite dans les gonades. En revanche, chez les poissons gras l'organe hépatique n'intervient pas dans le développement des gonades.

Selon d'autres auteurs, le RHS donne des indications sur une éventuelle altération des cellules hépatiques (Sloof *et al.*, 1983) ou sur le statut nutritionnel général (Levine *et al.*, 1995).

### **1. 1. 3. PARAMÈTRES MÉTABOLIQUES : azote ammoniacal**

Chez les poissons téléostéens, l'ammoniaque est le sous produit principal du métabolisme des protéines. Il peut représenter jusqu'à 90% de l'azote total excrété. L'excrétion d'ammoniaque fluctue fortement avec le poids.

En solution dans l'eau, l'ion ammonium  $\text{NH}_4^+$  est en équilibre avec la forme non dissociée  $\text{NH}_3$  et cette dernière est, de loin, la plus toxique pour les organismes aquatique (BALLAY, 1992 in J. C. LACAZE, 1996). L'équilibre entre  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{NH}_3$  étant principalement régi par le pH et la température, on conçoit facilement qu'une même concentration d'azote ammoniacal aura des effets très différents dans une rivière froide et acide ou dans une rivière aux eaux plus chaudes et alcalines.

### **1. 1. 4. OBSERVATIONS HISTOLOGIQUES**

Les différentes étapes de la dissection et de la préparation des gonades femelles en vue de l'analyse histologique sont présentés ci-dessous (le protocole expérimental est donné en Annexe 1) :

1. Enregistrement et identification des prélèvements
2. Recoupe des prélèvements
3. fixation au Bouin.
4. Inclusion en paraffine et mise en blocs

5. Coupe à 7 microns.
6. Déparaffinage, réhydratation
7. Coloration par une batterie de bains spécifiques pour une coloration classique en Mann Dominici. Même temps de coloration pour chaque lame.
8. Montage en résine
9. Stockage à l'abri de la lumière et à température ambiante

Enfin les paramètres physico-chimiques  $pH$ , dureté,  $T^{\circ}c$  et  $NH_4^+$  sont mesurés par les méthodes données en **Annexe 2**.

## **2. Préparation de l'aliment :**

La formulation et la préparation de l'aliment à été réalisé au CNDPA dont les ingrédients de base sont donnés ci-dessous :

- 2 Kg de pomme de terre
- 2 Kg d'épinard
- 2 Kg de carottes

Ces ingrédients sont bouillis puis mixés. Au mélange obtenu, on rajoute 2 Kg de farine de poisson et 3,5 Kg d'aliment de volaille à 22 % protéines. Les analyses de cet aliment, réaliser aux laboratoires de l'ONAB sont présenté en **Annexe 3**.

### 3. CONDITIONS EXPÉRIMENTALES :

L'expérience a été réalisée au niveau des laboratoires du CNDPA (Bou-Ismaïl). Les tilapias au nombre de 35 (individus femelles) (Tab.4) prévus pour l'expérience ont été répartis en 7 lots de 5 individus chacun. Chaque lot est placé dans un aquarium contenant 40 litres d'eau.

Les sept aquariums sont soumis aux mêmes conditions physico-chimiques (température, oxygène dissous, pH et de dureté de l'eau..). Le seul paramètre variable étant la concentration en contaminant (Le Plomb) (Tab.5).

Les conditions d'alimentation sont également identiques ; le taux de nourrissage est de 4% du poids corporel des individus.

Les poissons de tous les aquariums sont nourris de la même façon, c'est à dire en rations journalières, une le matin et l'autre l'après-midi, espacées de cinq heures.

La ration alimentaire ( $Ra$ ) est calculée comme suit :  $Ra = [(P.4)/100.n]$

Avec  $P$  : Poids moyen en gramme et  $n$  nombre d'individus.

Le  $Ra$  est recalculé en fonction du gain de poids  $P$ .

Pour toute la durée de l'expérience, nous avons utilisé un dispositif expérimental composé d'aquariums équipés. Dans ces aquariums, en verre d'une capacité de 50 litres, ont été mis les poissons à raison de cinq femelles dans 40 litres d'eau.

Cette phase débute le quatorzième jour de la phase d'adaptation, ce jour sera considéré comme étant  $J_0$ . La durée d'observation et de suivi a été fixée à 60 jours de contamination, durée pendant laquelle les conditions d'élevage (physico-chimie de l'eau et alimentation) seront contrôlées.

#### Remarque :

Si nous avons choisi les femelles dans cette étude, c'est parce que dès le début de l'expérience et après avoir mis des mâles dans chaque aquarium en respectant le sexe ratio

à raison de 1/4, nous avons constaté un comportement de cannibalisme avec un taux de mortalité très important. Ce qui nous a contraint de revoir les conditions expérimentales

**Tab. 4** : Caractéristiques initiales des tilapias femelles stockés au jour J<sub>0</sub> (29/12/2003)

| Poissons stockés à J <sub>0</sub> | Tilapia (Aqua.1) | Tilapia (Aqua.2) | Tilapia (Aqua.3) | Tilapia (Aqua.4) | Tilapia (Aqua.5) | Tilapia (Aqua.6) | Tilapia (Aqua.7 - témoin) |
|-----------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|---------------------------|
| Nombre par aquarium               | 5                | 5                | 5                | 5                | 5                | 5                | 5                         |
| Poids moyen : P (g)               | 32,667±<br>4,115 | 33,059±<br>4,471 | 32,96±<br>3,108  | 33,878±<br>6,065 | 33,23±<br>5,056  | 33,31±<br>3,808  | 33,79±<br>5,47            |
| Taille moyenne : L (cm)           | 12,3±<br>0,587   | 12,5±<br>0,99    | 12,08±<br>0,13   | 12,58±<br>1,075  | 12,34±<br>0,82   | 12,22 ±<br>0,516 | 12,4±<br>0,65             |
| Biomasse (g/aquarium)             | 163,336          | 165,295          | 164,803          | 169,392          | 166,537          | 166,537          | 168,969                   |

**Tab.5**: Concentration en Pb administré après chaque renouvellement d'eau

| C (mg/l) de Pb | J0<br>(29/12/03) | R1<br>(07/01/04) | R2<br>(14/01/04) | R3<br>(27/01/04) | R4<br>(04/02/04) | R5<br>(14/02/04) | R6<br>(23/02/04) |
|----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Aquarium n° 1  | 0,052            | 0,050            | 0,050            | 0,049            | 0,052            | 0,050            | 0,048            |
| Aquarium n° 2  | 0,052            | 0,049            | 0,050            | 0,048            | 0,054            | 0,052            | 0,051            |
| Aquarium n° 3  | 0,482            | 0,496            | 0,490            | 0,484            | 0,495            | 0,495            | 0,494            |
| Aquarium n° 4  | 0,481            | 0,498            | 0,491            | 0,485            | 0,491            | 0,496            | 0,493            |
| Aquarium n° 5  | 0,983            | 1,019            | 0,979            | 0,959            | 0,973            | 0,983            | 0,988            |
| Aquarium n° 6  | 1,001            | 1,012            | 0,981            | 0,959            | 0,974            | 0,985            | 0,981            |

**R** : jour de Renouvellement de la totalité de l'eau avec re-contamination.

## **CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS**

## 1. ETUDE DE LA CROISSANCE :

Le tableau ci-dessous présente les caractéristiques des individus « test » à la fin de l'expérience.

**Tab.6** : Caractéristiques finales des tilapias femelles au jour (03/03/2004) sont les suivantes :

| Poissons Fin de l'expérience | Tilapia (Aqua.1) | Tilapia (Aqua.2) | Tilapia (Aqua.3) | Tilapia (Aqua.4) | Tilapia (Aqua.5) | Tilapia (Aqua.6) | Tilapia (Aqua.7 - témoin) |
|------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|---------------------------|
| Nombre par aquarium          | 5                | 5                | 4                | 5                | 5                | 1                | 5                         |
| Poids moyen : P (g)          | 47,120±<br>7,487 | 48,793±<br>9,034 | 51,950±<br>10,08 | 47,243±<br>7,042 | 47,42±<br>5,59   | 66,616±<br>-     | 47,822±<br>9,345          |
| Taille moyenne : L (cm)      | 14,22±<br>0,716  | 14,42±<br>0,99   | 14,625±<br>1,031 | 14,48±<br>0,968  | 14,24±<br>0,456  | 16,000 ±<br>-    | 14,822±<br>0,719          |
| Biomasse (g/aquarium)        | 235,603          | 243,965          | 207,797          | 236,215          | 237,100          | 66,616           | 239,11                    |

**Tab. 7: Indice de croissance journalière** : D'après MULLER-FEUGA, 1990

| Aquarium             | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6 | 7 (Témoin) |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|---|------------|
| Indice de croissance | 0,221 | 0,249 | 0,301 | 0,212 | 0,225 | - | 0,222      |

**ICJ=gain de poids/T** : T est la durée de l'exposition, **Gain de poids** = (Poids final - Poids initial).

L'étude de la croissance des organismes tests pour les différentes concentrations en Pb ne révèle aucune différence importante (**Annexe 4**). La figure 3 représente l'évolution de la masse corporelle (moyenne / aquarium) en fonction du temps, la figure 4 représente l'évolution de la masse corporelle individuelle en fonction de la taille. Ces dernières montrent une bonne corrélation (**R% = 0,9633**) entre ces deux paramètres. La croissance linéaire est identique pour tous les lots. Dû à la mortalité de quatre individus de l'aquarium 6, la croissance linéaire de l'individu restant a augmenté considérablement (Fig. 7).

L'application d'un modèle de croissance peut s'avérer hasardeuse vu le nombre réduit d'individus (qui est de 35 individus) ainsi que les conditions de culture (en aquarium). En effet, comparativement en milieu naturel le tilapia présente une croissance plus importante.

Enfin notre étude se base uniquement sur les éventuels impacts du Pb sur la croissance du tilapia à différentes concentrations.

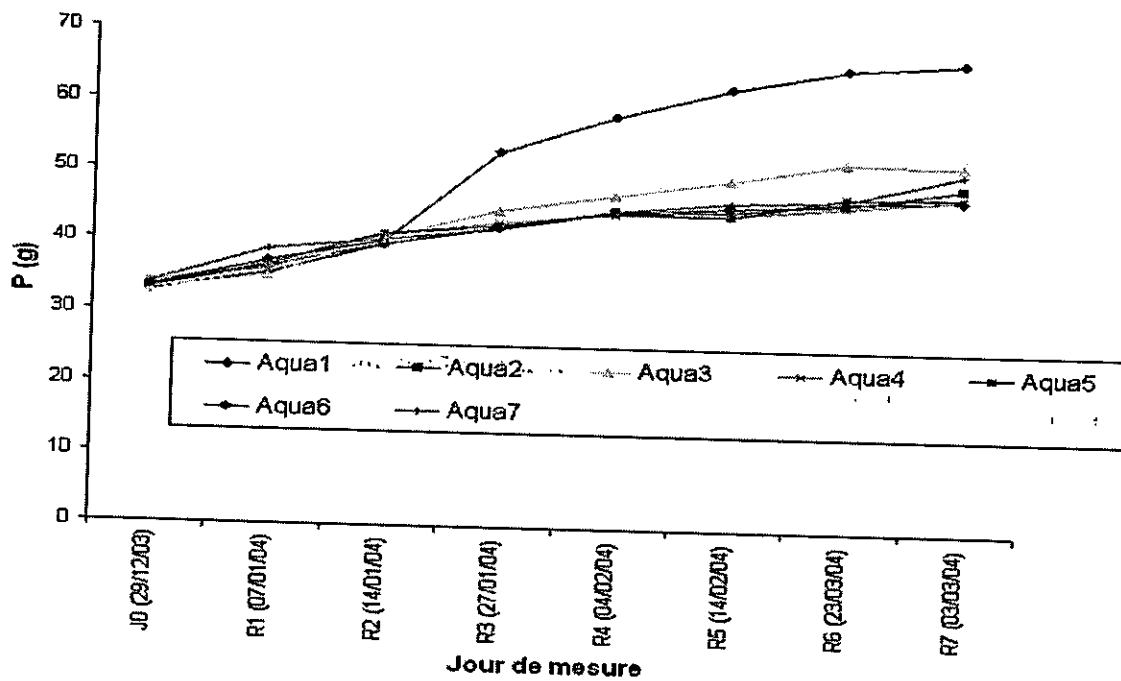


Fig. 3 : Suivi de la croissance linéaire des individus par aquarium.

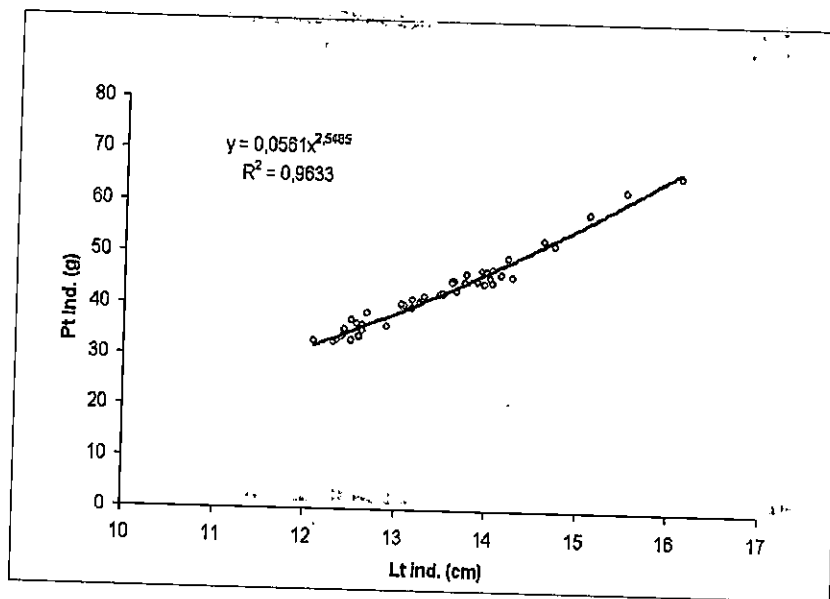


Fig. 4 : Relations longueur (Lt ind) - poids (Pt ind) des tilapias (*O. niloticus*).  
 Pt ind. : poids individuel ; Lt ind. : longueur individuelle.

## 2. ETUDE DE LA TENEURE EN AMMONIUM « $\text{NH}_4^+$ »:

L'allure générale des courbes de  $\text{NH}_4^+$  (Fig. 5 et 6, **Annexe 5**) augmente en fonction du temps à partir de la 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> dizaine de jour d'exposition. Ceci pourrait être dû à différents facteurs notamment :

- Augmentation de la ration alimentaire;
- Dégradation des rejets du métabolisme et du refus alimentaire (aliment non ingéré);
- Modification des conditions physico-chimiques, notamment le pH (Fig. 7 et 8) ;
- Augmentation de la température de l'eau (passant en moyenne de 23 à 27 °C) dans tous les aquariums;

Au-delà de cette période les teneurs en ammonium diminues ceci pourrait s'expliquer par :

- L'augmentation de la masse corporelle par individu (augmentation de la biomasse totale par aquarium) qui correspond à une meilleure ingestion;
- A l'augmentation du pH à cette période précise ( Fig. 7 et 8).

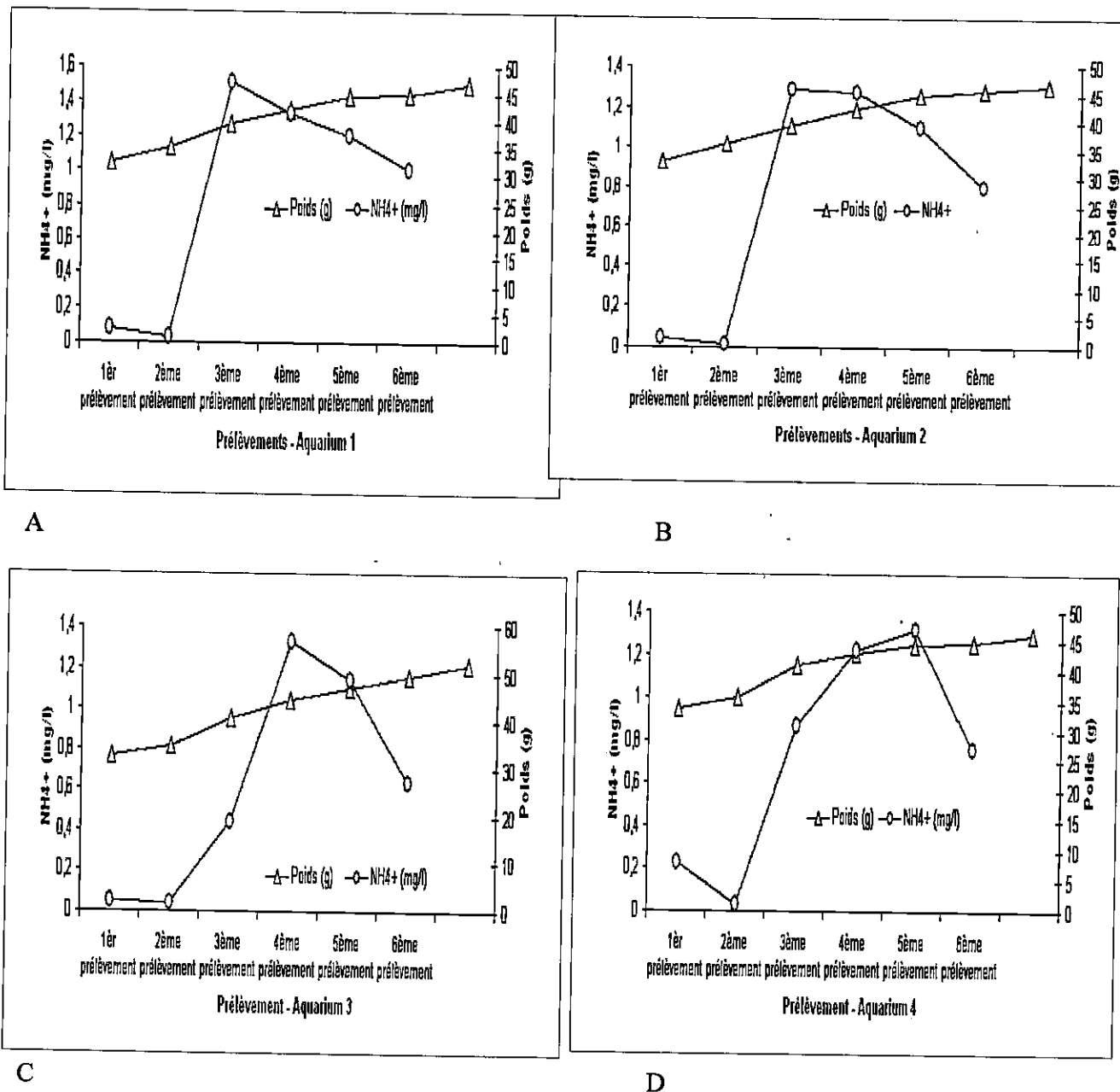


Fig. 5 : Les courbes de croissance et d'ammonium par aquarium en fonction du temps

Poids : poids moyen par aquarium (g)

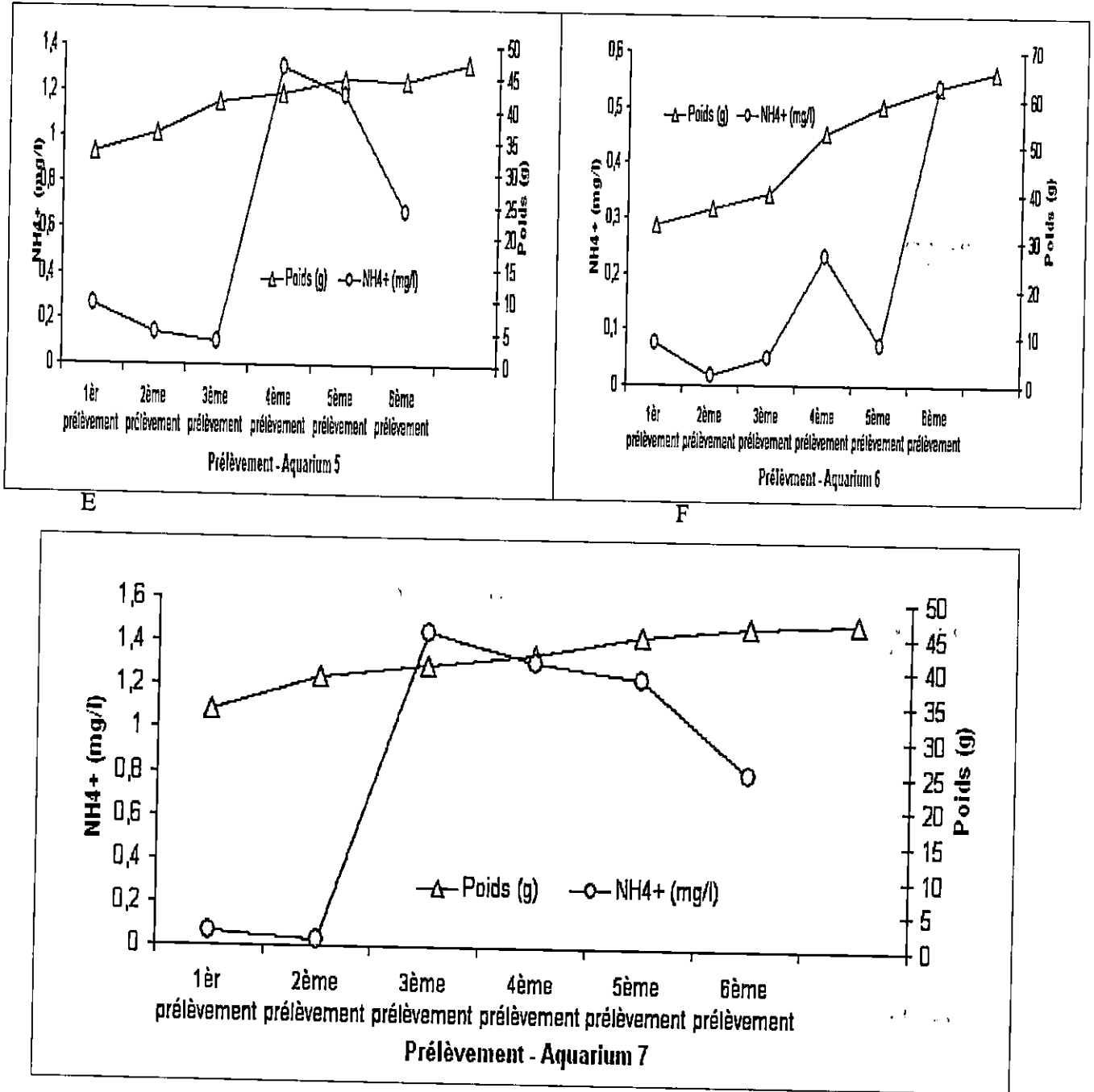


Fig. 6: Les courbes de croissance et d'ammonium par aquarium en fonction du temps  
 Poids : poids moyen par aquarium (g)

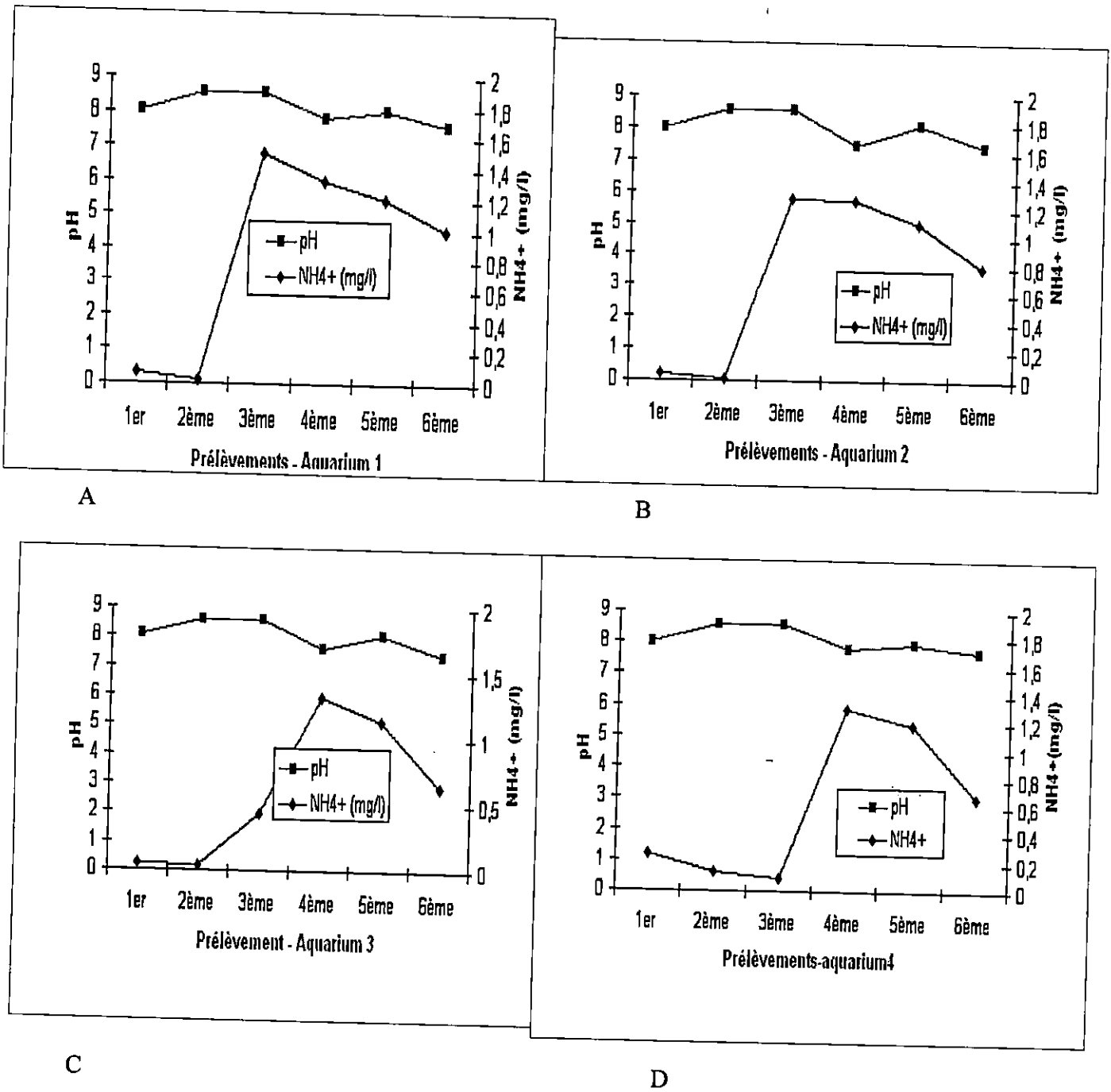


Fig. 7: Evolution des teneurs en ammonium et du pH en fonction du temps par aquarium  
 Poids : poids moyen par aquarium (g)

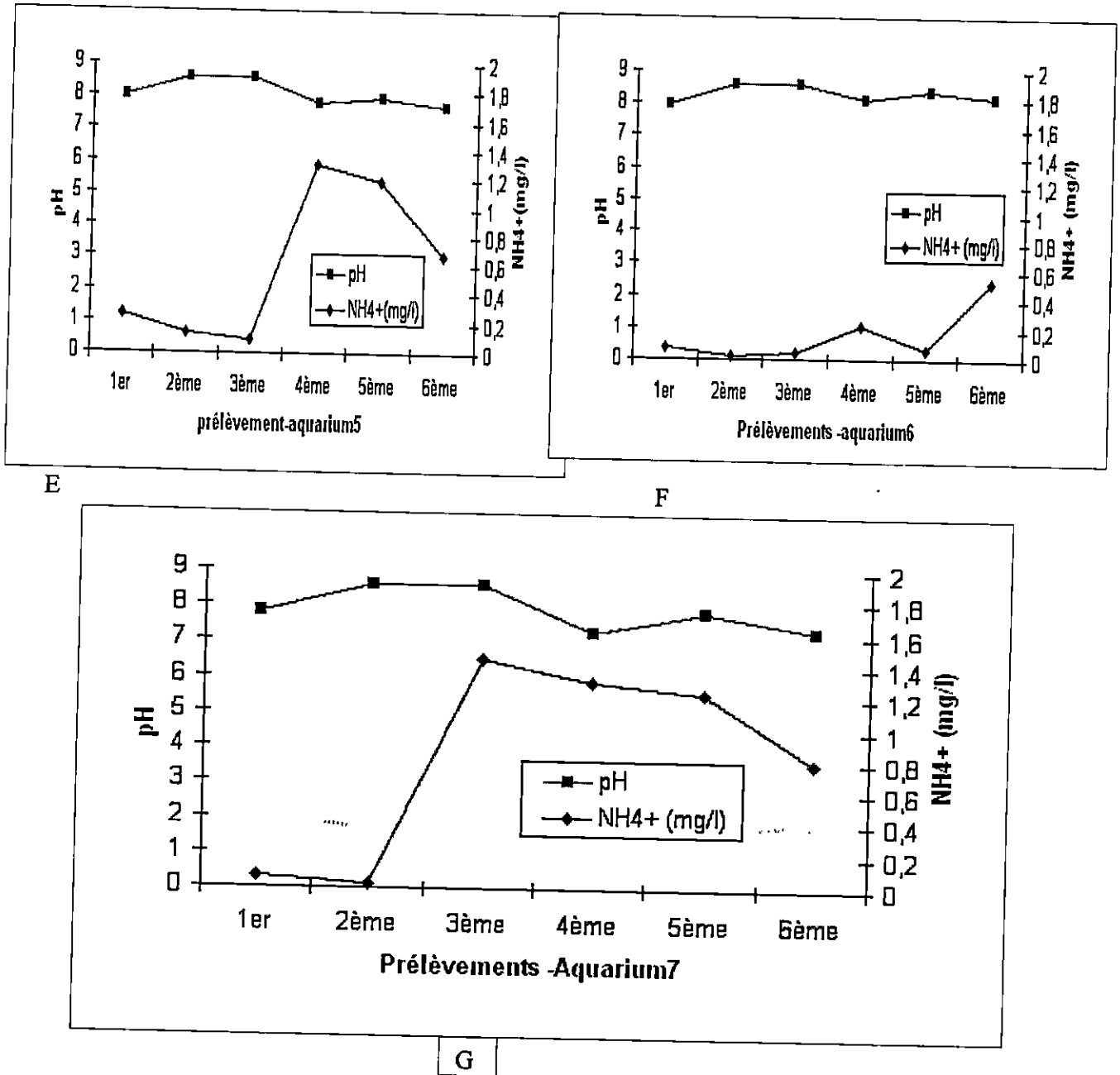


Fig. 8 : Evolution des teneurs en ammonium et du pH en fonction du temps par aquarium  
 ..... Poids : poids moyen par aquarium (g) ..

### 3. ETUDE DES RGS ET DU RHS:

L'étude du **RGS** montre une différence entre les individus témoins et ceux soumis au Pb. Ainsi, les individus témoin présentent le plus grand **RGS** (Fig ;8, Tab. 8).

Le **RHS** est souvent corrélé avec le degré de pollution. Tant que les poissons sont capables de s'alimenter, cet indice augmente, en même temps que l'activité des systèmes de détoxification (H. ROCHE et *al.* 2003). KOSMALA A. (1998) dans son étude a constaté les mêmes observations sur des chevaines (poisson d'eau douce) issu de zones polluées.

Dans notre étude seuls les individus de l'aquarium 4 montre le même symptôme(Fig. 9, Tab.9). En effet leurs **RHS** est supérieurs au **RHS** des individus témoins ainsi qu'aux individus soumis au stress du plomb.

Cette différence de réponse au stress (concentration en Pb) peut être due à l'hétérogénéité des paramètres biométriques (taille, poids) comparativement aux individus soumis à la même concentration (0,5 mg/l de Pb) et ceux soumis à une concentration supérieure (1 mg/l de Pb).

Tab.8: Valeurs du **RGS**

|              | ♀1           | ♀2           | ♀3           | ♀3           | ♀5           | Moyenne      | Ecart type   |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| aqua1        | 2,572        | 2,933        | 0,931        | 4,629        | 5,641        | 3,341        | 1,838        |
| aqua2        | 1,544        | 4,366        | 4,179        | 5,858        | 2,958        | 3,781        | 1,620        |
| aqua3        | 4,280        | 1,183        | 5,045        | 3,003        |              | 3,378        | 1,688        |
| <b>aqua4</b> | <b>1,661</b> | <b>2,947</b> | <b>2,675</b> | <b>2,388</b> | <b>4,247</b> | <b>2,783</b> | <b>0,948</b> |
| aqua5        | 3,514        | 1,241        | 4,276        | 7,918        | 2,636        | 3,917        | 2,505        |
| aqua6        | 2,851        | -            | -            | -            | -            | 2,851        | -            |
| aqua7        | 4,927        | 5,611        | 1,972        | 7,324        | 4,941        | 4,955        | 1,933        |

Tab.9 : Valeurs du **RHS**

|              | ♀1           | ♀2           | ♀3           | ♀3           | ♀5           | Moyenne      | Ecart type   |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| aqua1        | 2,131        | 1,895        | 1,857        | 1,587        | 1,569        | 1,808        | 0,235        |
| aqua2        | 1,102        | 2,914        | 3,392        | 1,746        | 2,767        | 2,384        | 0,935        |
| aqua3        | 2,459        | 2,058        | 2,248        | 1,283        |              | 2,012        | 0,513        |
| <b>aqua4</b> | <b>1,800</b> | <b>4,032</b> | <b>3,381</b> | <b>3,461</b> | <b>2,508</b> | <b>3,037</b> | <b>0,880</b> |
| aqua5        | 2,253        | 1,782        | 1,559        | 1,956        | 1,729        | 1,856        | 0,263        |
| aqua6        | 2,159        | -            | -            | -            | -            | 2,159        | -            |
| aqua7        | 1,813        | 2,261        | 2,088        | 2,660        | 2,593        | 2,283        | 0,353        |

| RGS     |            | RHS     |            |
|---------|------------|---------|------------|
| Moyenne | Ecart type | Moyenne | Ecart type |
| 2,783   | 0,948      | 4,955   | 1,933      |
| RHS     |            | RGS     |            |
| 3,037   | 0,880      | 2,283   | 0,353      |

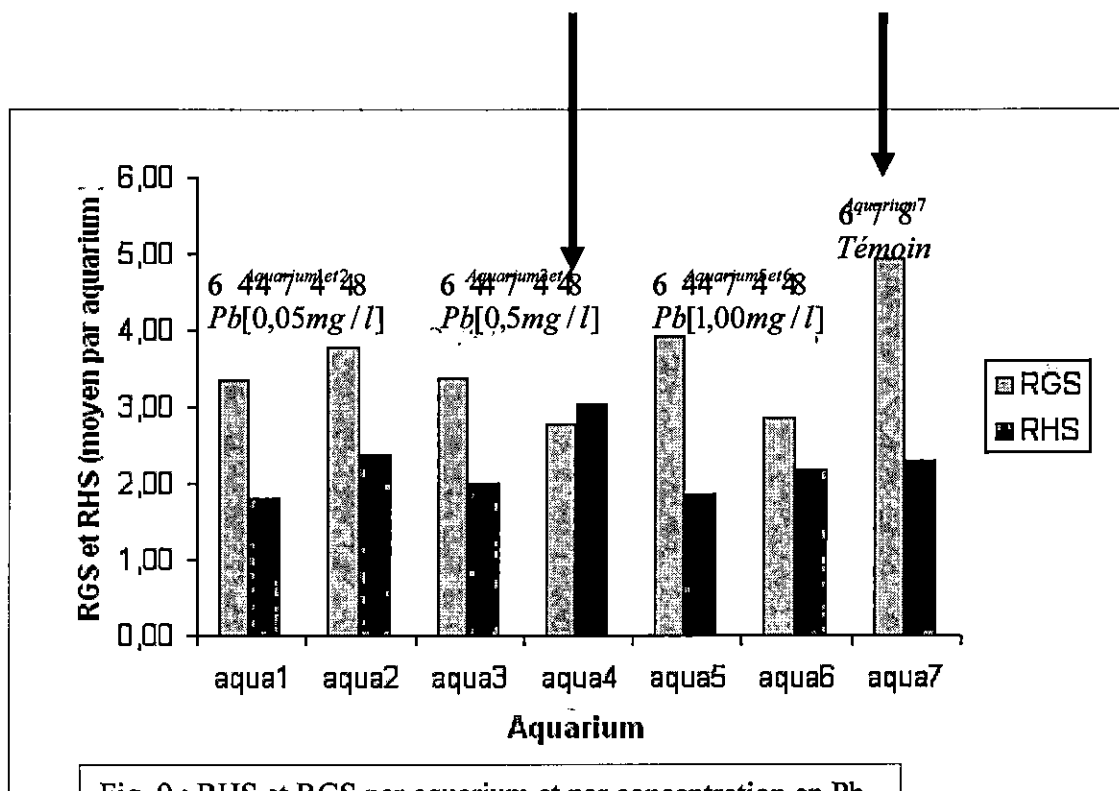


Fig. 9 : RHS et RGS par aquarium et par concentration en Pb.

#### 4. ETUDE DES COUPES HISTOLOGIQUES:

La lecture des coupes histologique réalisées s'est avérée impossible et aucune différence significative n'a été observée entre les individus soumis au PbO et le témoin (Fig.10).

L'handicap majeur qui nous a contraint à abandonner cette lecture tout on se basant sur un certain nombre d'hypothèses :

- Déchirure de la membrane cytoplasmique (Fig.11) ;
- Vitellus détaché ;
- Pas un follicule ovarien intact, coupes déchirées ;
- Plages entières vides dans l'ovaire, sûrement du fait du détachement du vitellus.

Ceci est très certainement dû au fait qu'à des stades ovariens avancés (stade préponte et ponte) les ovocytes (le follicule vitellogénique plus précisément) sont remplis de vitellus et donc de grande taille ce qui, au moment des coupes, a provoqué un déchirement du follicule vitellogénique pour donner des plages vides dans le follicule ovarien, à maturation avancée les coupes sont difficiles.

##### Recommandations :

- Effectuer, dans le futur, des coupes histologiques sur des stades ovariens moins avancés.
- Colorer au trichrome en un temps pour des observations topographiques.
- Revoir le Bouin et l'inclusion à la paraffine.
- Faire des coupes chez un témoin mature plus un autre témoin à un stade immature.
- Les tailles et les poids doivent êtres plus homogènes, c'est à dire avec des écart-types réduit ;
- Revoir le choix des concentrations (Svobodova et al ; 1993)
- Revoir le choix de la durée (Svobodova et al ; 1993)
- Revoir le choix de la forme la plus soluble et « donc » la plus biodisponible.
- Le choix des paramètres mesurés (les variables physico-chimiques, dureté)

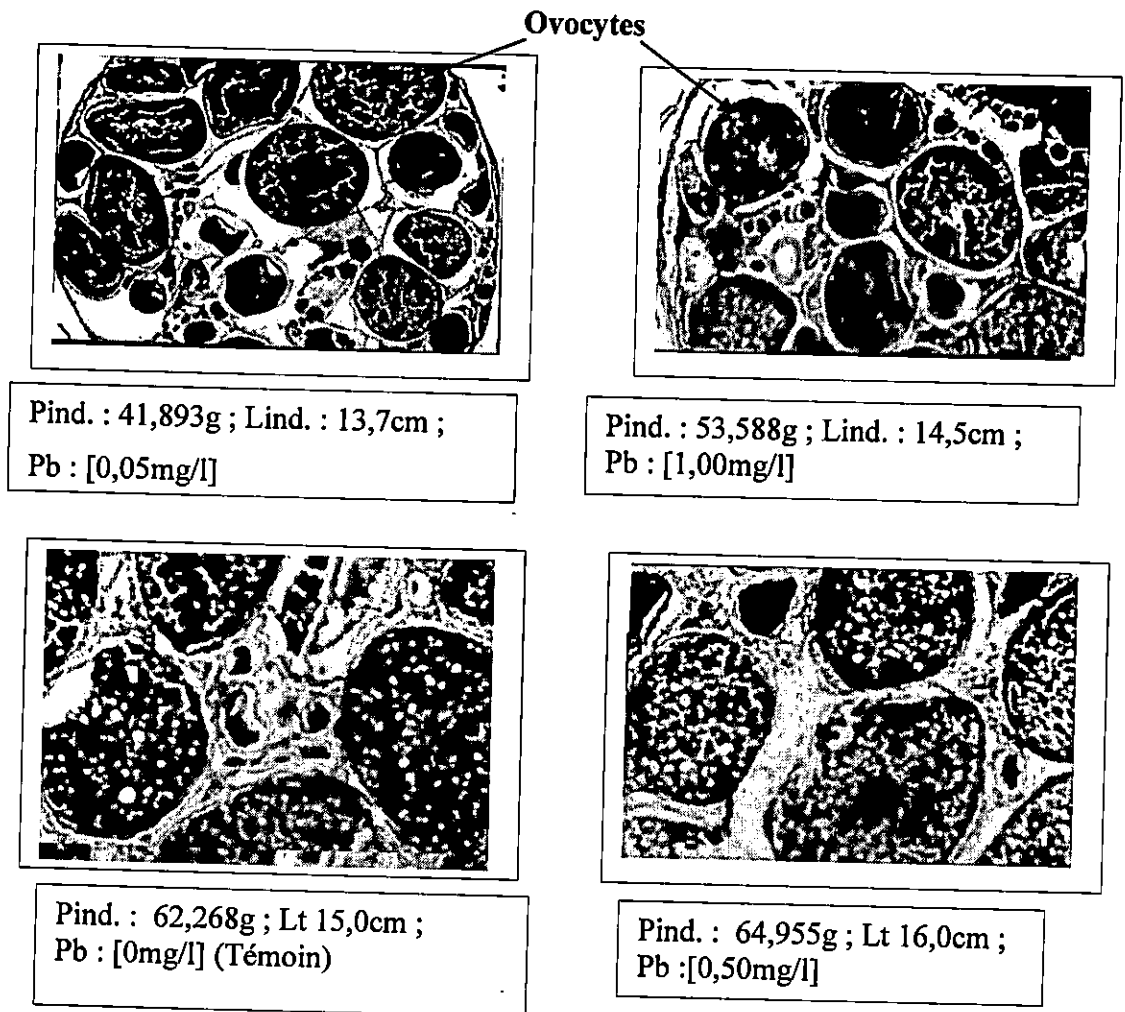


Fig. 10: Comparaison des coupes histologiques (même grossissement) de différents individus pour les concentrations utilisées. Coloration MANN DOMINICI, objectif-Gr x 10.

**P ind.** : poids individuel ; **L ind.** : longueur individuelle.

Remarques :

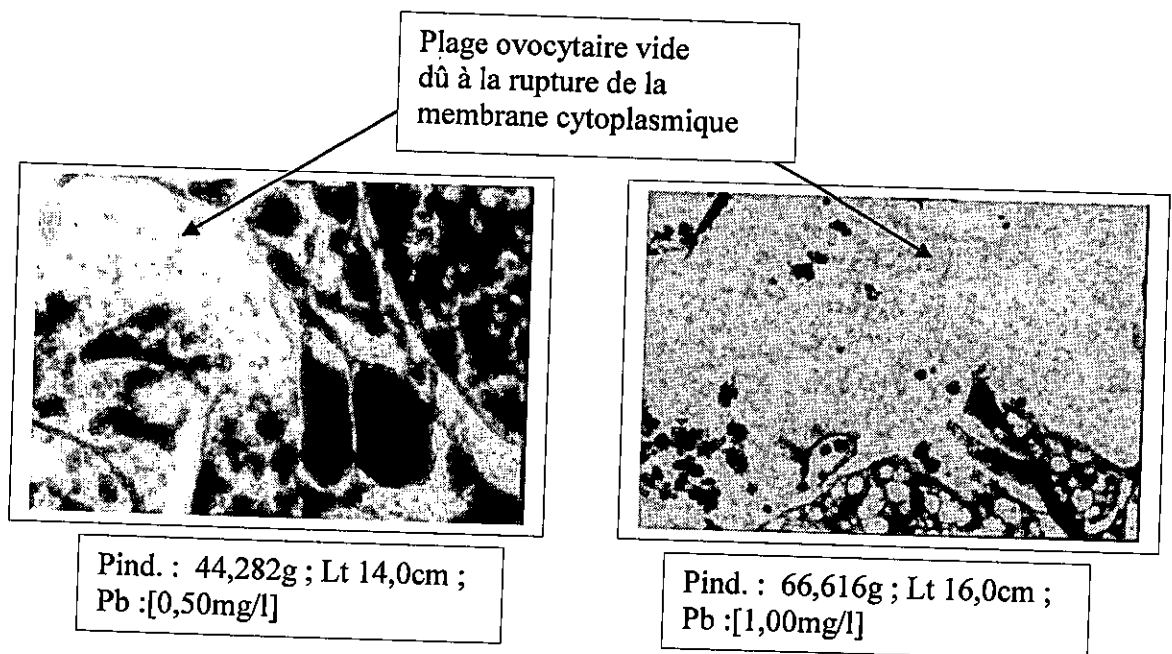


Fig. 11: Comparaison des coupes histologiques (même grossissement) de différents individus pour les concentrations utilisées. Coloration MANN-DOMINICI, objectif Gr x 25.

**P ind.** : poids individuel ; **L ind.** : longueur individuelle.

## **CONCLUSION GENERALE**

## CONCLUSION GENERALE :

Le développement démographique ainsi que la diversification et l'intensification des activités industrielles, ont entraîné la pollution et la dégradation des cours d'eau et des sédiments des zones urbaines.

L'écotoxicologie peut se définir, de la façon la plus simple comme l'étude des conséquences écologiques de la pollution de l'environnement par les substances toxiques.

Le but de l'expérience étant donc la recherche des indicateurs biologiques d'exposition au polluants, pour étudier l'effet d'un élément toxique qui est le Plomb sur un organisme test le Tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*) en effectuant, donc, un test toxicité chronique.

Le but est de mettre en place les moyens permettant la mise en évidence chez ce poisson des réponses biologiques précoces dues au Pb, développer un outil pour la bioindication, mesurer les effets des contaminants au niveau de l'écosystème, d'identifier les effets sur le Tilapia et établir des ponts entre différents paramètres mesurés grâce au traitement statistique des données.

Dans ce sens, le Tilapia, a donc été soumis à trois concentrations différentes de PbO. Aucun effet remarquable n'a été observé. En effet la bioaccumulation au niveau de l'organisme est tributaire de nombreux facteurs, notamment la nature du composé métallique, sa biodisponibilité et suivant qu'il ait un rôle biologique ou non, et qu'il soit régulé ou non par l'organisme (Amiard et al., 1987).

Notre étude nous a amenée à étudier le métabolisme à travers la mesure de l'ammonium «  $\text{NH}_4^+$  » en fonction du temps. L'allure des courbes montre qu'il y a eu un ralentissement du métabolisme dans les fortes concentrations qui peut s'expliquer par la présence du polluant.

Ceci dit, ces résultats ne peuvent ni confirmer ni infirmer l'effet du PbO, car ils ne semblent pas avoir un effet apparent sur les paramètres pris en compte, corrélés au choix du

polluant. En effet la forme inorganique du plomb  $PbO$  est peu soluble ou quasi insolubles dans l'eau contrairement au  $Pb(NO_3)_2$  et  $Pb(CH_3-COO)_2$ , ( composés organiques du plomb : très soluble dans l'eau).

Il serait donc intéressant voir important de reprendre l'expérience avec un nombre de variables plus important en plus de ceux qui ont été étudiés. Par exemple, le RVS ou rapport viscéro-somatique.

Enfin, les paramètres écophysiologiques et notamment le RHS qui peut, selon l'étude de KOSMALA A. (1998) ainsi que celle ROCHE H. *et al.* (2003) reflètent l'activité hépatique en tant que réservoir de détoxification, est peut être un bon outil de mesure de l'action d'un quelconque polluant.

Vu l'importance d'une telle entreprise, il serait intéressant de reprendre l'expérience pour aboutir à la mise au point de méthodes de surveillance des écosystèmes aquatiques et donner un outil supplémentaire aux gestionnaires de l'environnement.

## **BIBLIOGRAPHIE**

## BIBLIOGRAPHIE

ADJOUT H et MEZIANE N., 2002. Etude technico-economique d'une ferme aquacole de production intensive de TILAPIA Nilotica integree a l'agriculture dans la region d'ADRAR au sud de l'ALGERIE , Master Européen Aménagement et Gestion des Productions Aquatiques, Université Montpellier II science et technique de lanquedoc , 61 p.

AÏT-AÏSSA, S., PILLON, A. and PORCHER, J-M. (2003) Utilisation de modèles *in vitro* pour l'étude de substances chimiques et des mélanges complexes : cas des perturbateurs endocriniens. INERIS, Rapport intermédiaire, BCRD 01-111. 30 p.

AMIARD J.C., AMIARD-TRIQUET C., BERTHET B. et METAYER C., 1987- Comparative study of patterns of bioaccumulation of essential ( Cu, Zn) and non essential (Cd, Pb) trace metals in various estuarine and coastal organisms. *J. exp. Mar. Bio. Ecol.*, 106, 73-89.

AMINOT A., CHAUSSEPIED M., 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. CNEXO. 395 p.

ANKLEY GT, THOMAS NA, DI TORO DM, HANSEN DJ, MAHONY JD, BERRY WJ, SWARTZ RC, HOKE RA, GARRISON AW, ALLEN HE, ZARBA CS. 1994. Assessing potential bioavailability of metals in sediments: A proposed approach *Environ Management* 8:331-337.

BAERENDS, G.P. and BAERENDS-VAN ROON, J.M. (1950) An introduction to the ethology of the cichlids fishes. *Behaviour* 1( Supplement), 1-242.

BALARIN J.D. et HATTON J.D., 1979. Tilapia: A guide to their biology and culture in Africa. Unit of Aquatic Pathobiology, Stirling University, 174 p.

BATLEY GE. 1989. Physicochemical separation methods for trace element speciation in aquatic samples. *In* Batley GE (ed). Trace element speciation: analytical methods and problems. CRC Press. Boca Raton. 25-41. 43-76.

BLANDIN P. 1986. bioindicateur et diagnostic des systèmes écologiques. *Bull. Ecol.* 17, 215-307.

BONNET C. 2000. Développement de bioéssais sur sédiments et application à l'étude, en laboratoire de la toxicité de sédiments dulçaquicoles contaminés. Thèse de Doctorat. Univ. Metz. 326 p.

BOUGIS P., 1952 N Recherche biométriques sur les rougets (*Mullus surmuletus L.*)  
Burgess RM, Scott KJ. 1992. The Significance of In-Place Contaminated Marine Sediments on the Water Column : Processes and Effects. *In* Burton, GAJ (Eds). *Sediment Toxicity Assessment*, Lewis, Chelsea, MI, USA. 129-165.

- BURTON GA, 1992. Sediment toxicity assessment. Lewis Publishers, London, 211p.
- CHAPMAN PM, WANG F, JANSSEN C, PERSOONE G, ALLEN HE. 1998. Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation. *Can J fish Aquat. Sci.* 55 : 2212-2243.
- COHEN P. 1992. Régionalisation de l'habitat physique du poisson. Approche multi-scalaire et application au bassin de la Loire, France. Thèse de Doctorat. Univ. Claude-Bernard Lyon I. 251 p.
- DEPLEDGE, M.H. 1992. Conceptual paradigms in marine ecotoxicology. In Bjornstad, E., Hagerman, L & K. Jensen eds. Proceedings of the 12th Baltic marine Biologists Symposium. pp. 47-52. Fredensborg, Denmark: Olsen & Olsen.
- DEWITT TH, SWARTZ RC, HANSEN DJ, MCGOVERN D, BERRY WJ. 1996. Bioavailability and chronic toxicity of cadmium in sediment to the estuarine amphipod *Leptocheirus plumulosus*. *Environ. Toxicol. Chem.* 15:2095-2101.
- DI TORO DM, MAHONY JD, HANSEN DJ, SCOTT KJ, HICKS MB, MAYR SM, REDMOND MS. 1990. Toxicity of cadmium in sediments : the role of acid volatile sulfide. *Environ. Toxicol. Chem.* 9:1487-1502.
- FISHELSON, L. et YARON, Z., 1983. The First International Symposium on tilapia in aquaculture, Nazareth, Israel, 8-13 May 1983. Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel, 624p.
- FLAMMARION P., NOURY P., BRION F., GARRIC J., BABUT M., PALAZZI X. Anomalies histologiques dans les gonades de poissons d'eau douce mâles dans le Rhône à l'aval de Lyon. CEMAGREF, étude exécutée par l'Agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse. 34 pages.
- GARRIC J. 1994; Les tests de toxicité précoce. Etat de santé des écosystèmes aquatiques. Les variables biologiques comme indicateurs. Acte du séminaire national. Paris 2-3 Novembre 1994. pp. 127-139.
- GEFFARD A. 2001. Réponses du biota à la contamination polymétallique d'un milieu estuarien, la Gironde, FR : Exposition, imprégnation, induction d'une protéine de détoxification, la métallothionéine, impact au niveau individuel et populationnel. Thèse de Doctorat. Faculté de pharmacie. Univ. Nantes. 252 p.
- GEFFARD O. 2001. Toxicité potentielle des sédiments marins et estuariens contaminés : évaluation chimique et biologique, biodisponibilité des contaminants sédimentaires. Thèse de Doctorat. Univ. BORDEAUX I. 376 p.
- HANSEN DJ, BERRY WJ, MAHONY JD, BOOTHMAN WS, DITORO DM, ROBSON DL, ANKLEY DGT, MA D, YAN Q, PESH CE. 1996. Predicting the toxicity of metal-

contaminated field sediments using interstitial concentrations of metals and acid-volatile sulfide normalizations. *Environ Toxicol Chem* 15:2080-2094.

HUGGET, R., KIMERLE, R., MEHRLE, P. and BERGMAN, H.(1992) Biomarkers: biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. Boca Raton, FL, Lewis.

HYDER M., SHAH A. V. et STOCKELL-HARTREE A., 1979. Methallibure studies on tilapia. III. Effects of tilapia partially purified gonadotrophic fractions on the testes of methallibure treated *Sarotherodon spiralus* (tilapia nigra). *Gen. Comp. Endocrinol*, 39 : 475-480.

INERIS 2002, Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Plomb et ses dérivés. Version n°2. 83 p.

KAMMENGA, J. E., DALLINGER, R., DONKER, M.H., KOHLER, H.R., SIMONSEN, V., TRIESKOM, R. And WEEKS, J.M. (2000) *Biomarkers in terrestrial invertebrates for ecotoxicological soil risk assessment. In reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol 164. G. W. Ware (Eds). 175 Fifth Ave/New York/NY 10010/USA, Springer-Verlag.93-147.

KELLOGG, K.A., MARKERT, J.A., STAUFFER, J.R. and KOCHER, J.D. (1995) Microsatellite variation demonstrates multiple paternity in lekking cichlid fishes from lake Malawi, Africa. *Proc, Roy Soc. Lond. B* .260, 79-84.

KESTERMONT P. (1987) Etude du cycle reproducteur du goujon, *Gobio gobio* L. 1. Variations saisonnières dans l'histologie de l'ovaire. *Journal of applied Ichthyology*, 3 : 145-157.

KESTERMONT P., MICHA J.C. et FALTER U., 1989. Les méthodes de production d'alevins de *Tilapia nilotica*. Doc. FAO.

KOSMALA A. 1998. Evaluation écotoxicologique de l'impact des effluents de stations d'épuration sur les cours d'eau : intérêt d'une approche intégrée. Thèse de Doctorat. Univ. Metz. 189 p.

LACAZE J.C. 1996. L'eutrophisation des eaux marines et continentales, causes, manifestations, conséquences et moyens de lutte. Edt. Ellipses. 191p.

LAGADIC, L., CAQUET, T., AMIARD, J-C. and RAMADE, F.(1997) Biomarqueur en écotoxicologie. Aspects fondamentaux. Paris, Masson. 419p.

LEVINE S. L., ORIS J. T. Et WISSING T. E. (1995) Influence of environmental factors on the physiological conditions and hepatic ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity

- of gizzard shad (*Dorosoma cepedianum*). *Environmental toxicology and chemistry*, 14(1): 123-128.
- LOWE, R.H. (1956) The breeding behaviour of *Tilapia* species (Pisces; Cichlidae) in natural waters: Observations on *T.karomo* Poll and *T.variabilis* Boulenger. *Behaviour* **IX**, 2-3.
- MCKAY, K.R. (1991) Sexual selection and the evolution of the cichlid fishes of lake Malawi, Africa, in *Cichlid fishes* (ed. M.H.A. Keenleyside), Chapman and Hall, London, pp. 241-257.
- MELARD Ch. 2002. Technologie de l'élevage intensif du Tilapia. FAO ? p.
- MOREAU J., 1979. Biologie et évolution des peuplements de Cichlides (Pisces) introduits dans les lacs malgaches d'altitude. Thèse de Doctorat d'Etat n°38, Institut Polytechnique de Toulouse, 301p.
- MORISSON GMP, 1989. Trace element speciation and its relationship to bioavailability and toxicity in natural waters. In : Batley GE (ed). Trace element speciation : analytical methods and problems. CRC Press. Boca Raton. 25-41.
- MULLER-FEUGA A., 1992. Estimating requirements of rainbow trout. *Aquaculture*, 100, P. 177-189.
- NEIL, EOH. (1964) An analysis of color changes and social behavior in *Tilapia mossambica*. *Univ. Calif. Publ. Zool.* 75, 1-58.
- NELSON, C.M.O (1995) Male size, spawning pit size and female mate choice in a lekking cichlid fish. *Anim Behav.* 50, 1587-1599.
- PLEFKIN J.C., BARBOUR M.T., PORTER K.D., GROSS S.K. and HUGHES R.M. 1989. Rapid bioassessment protocols for use in streams and rivers. U.S. EPA/ 444/ 4-89/00/.
- PLISNIER, P.D., MICHA, J.C1. et FRANK, V., 1988. Biologie et exploitation des poissons du lac Ihema (Bassin de l'Akagera, Rwanda). Presses Universitaires de Namur, Namur, Belgique, 212p.
- PULLIN, R.S.V. et LOWE Me CONNELL, R.H., 1982. The biology and culture of tilapias. ICLARM Conference Proceedings, 7 Manila, Philippines, 432p
- RAINGUIN J., Techniques de dépollution des rejets atmosphériques industriels, Techniques de l'ingénieur, Traité Génie des procédés, J3920.
- RAMADE F. 1998. Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau. Ediscience Paris, FRA. 785 p.

- ROCHE H., BUET A. et RAMADE F. 2003. Caractéristiques écophysiological d'une population d'anguilles de Camargue exposée à une population clandestine par des polluants persistants. *Rev. Ecol. (Terre vie)*, vol. 58, 2003.
- RODIER J., BAZIN C., BROUTIN J. P., CHAMBON P., CHAMPSAUR H., RODI L. 1996. L'analyse de l'eau. Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. DUNOD, 1383 p.
- RYBICKA EH, CALMANO W, BREEGER A. 1995. Heavy metals sorption/desorption on competing clay minerals ; an experimental study. *Applied Clay Science* 9:369-381.
- SIBLEY PK, ANKLEY GT, COTTER AM, LEONARD EN. 1996. Predicting chronic toxicity of sediments spiked with zinc : an evaluation of the acid-volatile sulfide model using life-cycle test with the midge, *Chironomus tentans*. *Environ Toxicol Chem* 15:2102-2112.
- SILVERMAN H. I., 1978. Effects of different levels of sensory contacts upon reproductive activity of male and female *Sarothodon (Tilapia) mossambicus* Peter. A Pisces, Cichlidae. *Anim. Behav.*, 26 : 1081-1090.
- SLOOFF W., VAN KREIJL C . F. Et BAARS A-J. (1983) relative liver weights and xenobiotic-metabolizing enzymes of fish from polluted surface waters in the Netherlands. *Aquatic Toxicology* , 4, 1-14.
- SUMPTER, J.P. and JOBLING, S. (1995) Vitellogenesis as a biomarker of oestrogenic contamination of the aquatic environment. *Environ. Health Perspect.* 103: 173-178.
- SVOBODOVA, Z. ; LLOYD, R. ; MACHOVA, J. ; VYKUSOVA, B ; Water and fish health, EIFAC technical paper. N° 54. Rome, FAO. 1993. 59 p.
- TREWAVAS E., 1981. Nomenclature of Tilapia of southern Africa. *J.Limnol. Soc. Sth. Afr.* (1) 42 p.
- TURNER, G.F. (1986) Territory dynamics and the cost of reproduction in a captive population of the colonial nesting mouthbrooder *Oreochromis mossambicus* (Peters). *J. Fish Biol.* 29, 573-587.
- TURNER, G.F. (1986). Teleost mating systems and strategies, in *The Behaviour of Teleost Fishes* (ed. T.J. Pitcher), Croom Helm, Beckenham, pp. 253-274.
- VINDIMIAN E. et GARRIC J. 1993. Bioéssais et bioindicateurs de toxicité dans le milieu naturel. Agences de l'eau. Ministère de l'environnement. CEMAGREF LYON. 54 p.
- VOSS J., Aquarium de l'université de Liège 2001. [www.angelicus-terraqua.com](http://www.angelicus-terraqua.com).

## SITES WEB CONSULTÉS :

|  |   |
|--|---|
| Indices biotiques 1  | <a href="http://www.ac-montpellier.fr/svt/St_martia_l/indicebiotique.htm">http://www.ac-montpellier.fr/svt/St_martia_l/indicebiotique.htm</a>                                       |
| TP Hydrobiologie   | <a href="http://www.ac-reunion.fr/pedagogie/svt/hydrobio/TPHYDROB.html">http://www.ac-reunion.fr/pedagogie/svt/hydrobio/TPHYDROB.html</a>   |
| Qualité des eaux superficielles : DRIRE Auvergne                       | <a href="http://www.silogic.fr/svhauvergne/meth_quali.html">http://www.silogic.fr/svhauvergne/meth_quali.html</a>   |
| Indicateurs de qualité des eaux CEMAGREF                               | <a href="http://www.cemagref.fr/Informations/Ex-rechr/systemes-aqua/coste/CoSte-exemple.htm">http://www.cemagref.fr/Informations/Ex-rechr/systemes-aqua/coste/CoSte-exemple.htm</a> |
| Indices diatomiques  | <a href="http://perso.club-internet.fr/clci/TBD_Budapest.HTM">http://perso.club-internet.fr/clci/TBD_Budapest.HTM</a>   |
| Indices biotiques 2  | <a href="http://www.cig.ensmp.fr/~hhgg/gest/fibiotiq.htm">http://www.cig.ensmp.fr/~hhgg/gest/fibiotiq.htm</a>   |
| ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES BIOINDICATEURS DE L'ÉTAT DU MILIEU MARIN | <a href="http://www.61.com/fiches/litt/99litt21.htm">http://www.61.com/fiches/litt/99litt21.htm</a>   |
| Méthodes et outils de mesure (MESU)                                    | <a href="http://www.61.com/fiches/mesu/som_mesu.htm">http://www.61.com/fiches/mesu/som_mesu.htm</a>   |
| Lichens bioindicateurs de pollution atmosphérique                      | <a href="http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biologie/ress/environnement/lichen.html">http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biologie/ress/environnement/lichen.html</a>                       |
| Connaitre les lichens bioindicateurs                                   | <a href="http://www2.ac-lille.fr/lichen/default.htm">http://www2.ac-lille.fr/lichen/default.htm</a>   |
| Enquête bactériologique  | <a href="http://www.oieau.fr/ReFEA/fiches/AnalyseEau/Enquete_bacterio_PresGen.pdf">www.oieau.fr/ReFEA/fiches/AnalyseEau/Enquete_bacterio_PresGen.pdf</a>                            |
| Plantes et pollution de l'air des aéroports                            | <a href="http://www.apesa.asso.fr/lettre7.htm">http://www.apesa.asso.fr/lettre7.htm</a>   |
| Indices biotiques 3 : site IUT Bordeaux1                               | <a href="http://hse.iut.u-bordeaux1.fr/lesbats/indicesbiotiques/">http://hse.iut.u-bordeaux1.fr/lesbats/indicesbiotiques/</a>   |
| Habitats piscicoles thèse CEMAGREF                                     | <a href="http://www.lyon.cemagref.fr/doc/these/cohen/cohen1.pdf">http://www.lyon.cemagref.fr/doc/these/cohen/cohen1.pdf</a>   |
| Données spatio-temporelles en Ecologie...                              | <a href="http://biomserv.univ-lyon1.fr/txtdoc/THESES/BLANC2/TheseBLA2.pdf">http://biomserv.univ-lyon1.fr/txtdoc/THESES/BLANC2/TheseBLA2.pdf</a>                                     |
| Lichens et pollusensibilité : Site Belge (BE)                          | <a href="http://users.skynet.be/laroseraie/lichens/accueil.htm">http://users.skynet.be/laroseraie/lichens/accueil.htm</a>   |
| Lichens détermination : Site Belge (BE)                                | <a href="http://users.pandora.be/pivo/lichenes/">http://users.pandora.be/pivo/lichenes/</a>   |

|   |   |
|---|---|
| Indicateurs lagunaires d'eutrophisation   | <a href="http://www.ifremer.fr/delst/etudes_recherches/indicateurstrophiques.htm">http://www.ifremer.fr/delst/etudes_recherches/indicateurstrophiques.htm</a>                                       |
| Indice Oligochète de Bioindication des Sédiments (IOBS)- Guide méthodologique-CEMAGREF Lyon (gros fichier)  | <a href="http://213.186.39.110/eaufrance/francais/etudes/pdf/etude_88.pdf">http://213.186.39.110/eaufrance/francais/etudes/pdf/etude_88.pdf</a>   |
| Indicateurs diatomiques IPS et IBD  | <a href="http://membres.lycos.fr/diatomees/IPS%20et%20IBD.htm">http://membres.lycos.fr/diatomees/IPS%20et%20IBD.htm</a>   |
| Indice "Diatomées"  | <a href="http://perso.club-internet.fr/clci/IBD_Budapest.HTM">http://perso.club-internet.fr/clci/IBD_Budapest.HTM</a>   |
| L'indice poisson  | <a href="http://www.sea-river.com/85_4.php">http://www.sea-river.com/85_4.php</a>   |
| Quelle eau ? L'indice poisson   | <a href="http://www2.ac-rennes.fr/cst/doc/Dossiers/environnement/quelleau/poisson.htm">http://www2.ac-rennes.fr/cst/doc/Dossiers/environnement/quelleau/poisson.htm</a>                             |
| PEUPELEMENTS DE POISSONS ET ANTHROPISEMENT DU MILIEU : LE CAS DES SYSTÈMES POTAMIQUES DU BASSIN DE LA LOIRE | <a href="http://www.eaurmc.fr/lyon-fleuves-2001/atelier%2004%20html/TA406%20VIGNERON%20OBERDORF.htm">http://www.eaurmc.fr/lyon-fleuves-2001/atelier%2004%20html/TA406%20VIGNERON%20OBERDORF.htm</a> |
| Les poissons, indices de la qualité des cours d'eau en France   | <a href="http://www.csp.environnement.gouv.fr/pages/milieux/lespoissons.htm">http://www.csp.environnement.gouv.fr/pages/milieux/lespoissons.htm</a>   |
| Indice poisson  | <a href="http://www.cnrs.fr/Cnrspresse/eau/pdf/eau09.pdf">http://www.cnrs.fr/Cnrspresse/eau/pdf/eau09.pdf</a>   |
| L'indice diatomées- L'indice biologique Diatomées (IBD) norme NF T 90 354                                   | <a href="http://www2.ac-rennes.fr/cst/doc/Dossiers/environnement/quelleau/diatom.htm">http://www2.ac-rennes.fr/cst/doc/Dossiers/environnement/quelleau/diatom.htm</a>                               |
| Quelles variables biologiques pour quels outils de gestion : EDF/CEMAGREF                                   | <a href="http://www.lyon.cemagref.fr/bea/lhq/dossiers.pdf/variables_bio2.pdf">http://www.lyon.cemagref.fr/bea/lhq/dossiers.pdf/variables_bio2.pdf</a>   |
| Mesurons les pollutions (les effets) -MAG Symbioses   | <a href="http://www.reseau-idee.be/symbioses/symbioses48.htm">http://www.reseau-idee.be/symbioses/symbioses48.htm</a>   |
| Les méthodes d'inventaires et d'analyse de la biocénose.  | <a href="http://perso.wanadoo.fr/stephane.guibert/ecologie/inventaires/accueil.htm">http://perso.wanadoo.fr/stephane.guibert/ecologie/inventaires/accueil.htm</a>                                   |

<http://membres.lycos.fr/danouille/index.htm>

[www.gtz.de](http://www.gtz.de)

[www.fao.org](http://www.fao.org)

## GLOSSAIRE

|                    |   |
|--------------------|---|
| Biotope            | Faciès, milieu défini, où vit une espèce.   |
| Cyloïde (écaille)  | Écaille circulaire.   |
| Cténoïde (écaille) | Écaille pourvue d'aspérités dans sa partie postérieure.   |
| Euryèce            | Se dit des espèces ayant une grande amplitude écologique.   |
| Euryhalin          | Se dit des espèces capables de résister à des changements importants de salinité.   |
| Eurytipe           | Se dit des espèces vivant dans des biotopes très différents.  |
| Ovogenèse          | Formation de l'ovule haploïde mûr et fécondable à partir d'un ovocyte de premier ordre, diploïde, par le processus de la méiose.  |
| Somatique          | Qui concerne le corps.  |
| Spermatogenèse     | Formation des spermatozoïdes à partir des spermatogonies.   |
| Stéroïde           | Se dit de substances dérivées d'un stérol. De nombreuses hormones sexuelles (progestérone, testostérone, oestrogènes,...) sont des stéroïdes.   |
| Thermophile        | Se dit de tout organisme qui recherche la chaleur   |
| Bioindicateur      | Un bioindicateur désigne des espèces biologiques ou animales qui, du fait de leurs particularités écologiques, constituent l'indice précoce de modifications biotiques ou abiotiques de l'environnement dues à des activités humaines (ex: lichen).     |
| Biomarqueur        | Un biomarqueur est un paramètre (bio)chimique dont la mesure reflète l'interaction entre un système biologique et un agent environnemental.   |
| LC50               | concentration ayant causé la mort de 50% de la population testée  |
| LOEC               | " Low Observed Effect Concentration " ou concentration avec un très faible effet observable. Il s'agit de la plus basse concentration pour laquelle l'effet est différent de celui des contrôles. C'est la première concentration testée après la NOEC. |
| NOEC               | "No Observed Effect Concentration" ou concentration sans effet observable. Il s'agit de la plus haute concentration testée pour laquelle l'effet n'est significativement pas différent des contrôles  |
| Toxicité           | Capacité propre d'une substance à provoquer des effets nocifs chez les organismes vivants   |
| ISO                | Organisation internationale de normalisation  |
| IC50               | " Inhibition Concentration 50% " ou concentration inhibant de 50% un paramètre comme la croissance ou la luminescence par rapport au contrôle   |

|                   |   |
|-------------------|---|
| LC <sub>x</sub>   | concentration ayant causé la mort de X% de la population testée par rapport au contrôle   |
| EC <sub>x</sub>   | concentration ayant causé un effet sur X% de la population testée par rapport au contrôle   |
| Bioessais         | Expérimentation, effectuée en laboratoire, sur divers types d'êtres vivants afin de caractériser les activités biocides ou les particularités toxicologiques de produits chimiques ou de milieux contaminés |
| Xénobiotique      | Se dit d'une substance étrangère à l'organisme vivant   |
| Facteur de stress | Terme générique pour décrire tous les dangers potentiels menaçant les écosystèmes (substance chimique, changement climatique, modification des paysage, . )   |

## **ANNEXES**

## ANNEXE 1 : Protocole expérimental des coupes histologique

### Prélèvement de l'organe:

Prévoir l'étiquette (au crayon sur bristol blanc en indiquant la date, le sexe, nature du prélèvement (gonade)).

Disséquer la gonade: la dégager de tout tissu adipeux, la plonger dans le flacon contenant le fixateur et l'étiquette. La fixation se fait au Bouin pendant au moins trois jours.

### Technique d'inclusion à la paraffine:

#### Rinçage des gonades:

La gonade passe par un bain d'eau courante pendant 24 heures. Cette opération à pour but de rincer la gonade du Bouin.

#### Déshydratation par les alcools:

L'organe fixé est immergé dans des bains d'alcool éthylique de concentration croissante jusqu'à disparition totale de l'eau.

#### Tableau de déshydratation:

|                |                |                |                |                 |                 |                                       |
|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|---------------------------------------|
| Ethanol<br>70° | Ethanol<br>70° | Ethanol<br>95° | Ethanol<br>95° | Ethanol<br>100° | Ethanol<br>100° | Butanol 50%+<br>Ethanol absolu<br>50% |
| 1heure         | 1heure         | 1heure         | 1heure         | 1heure          | 1heure          | Heure 1                               |

#### L'éclaircissement:

Consiste à éliminer l'alcool à 100° par un solvant de la paraffine, ici le butanol. Les échantillons sont conservés dans le butanol durant 24 heures.

#### l'emparaffinage:

Consiste à éliminer le butanol et son remplacement par la paraffine. La gonade est placée successivement dans trois bains de une heure à l'étuve à 58°C: le premier bain est formé de butanol-paraffine en quantité égale, le second et le troisième bain sont formés de paraffine pure.

#### Confection des blocs:

On utilise des "barres de Leuckart" que l'on pose sur une plaque en verre formant un moule à la dimension de la gonade.

Le moule est rempli de paraffine filtrée et chaude, la gonade t est placée et orientée à l'aide d'une pince chauffée. L'étiquette est fixée au bloc, au niveau opposé à celui où s'effectuera la coupe.

Les barres de Leuckart se détachent facilement après avoir immergé le bloc durci dans de l'eau froide.

### **Confection des coupes:**

Les blocs sont taillés au scalpel de manière à former un prisme présentant une surface aux côtés parallèles.

Fixer le bloc par sa grande surface sur le porte-objet préalablement chauffé, l'ensemble bloc et porte-objet est fixé sur le porte-objet du microtome.

Placer le rasoir et débiter le bloc en coupes sériées de 7  $\mu\text{m}$  suivant un angle d'attaque de 15 à 19°.

Recueillir le ruban de coupe dans une boîte plate à l'aide de deux pinceaux, récupérer la paraffine.

### **Étalement et collage des coupes:**

#### **Préparer le liquide d'étalement:**

Dissoudre à chaud 0.4 g de gélatine dans 100 ml d'eau distillée (la solution ne peut être gardée plus de 48 heures).

### **Étalement et collage:**

Verser sur la lame quelques gouttes du liquide d'étalement à l'aide d'un compte-gouttes. Étaler ces gouttes sur toute la surface de la lame. Placer un ruban de coupe de longueur inférieure à celle de la lame. Placer l'ensemble sur la platine chauffante et faciliter l'étalement avec deux montées. Egoutter la lame, l'essorer dans du papier Joseph.

### **Coloration des coupes:**

#### **Déparaffinage et hydratation des coupes:**

Placer la lame à colorer sur une platine chauffante: lorsque la paraffine commence à fondre, placer la lame dans deux bains de Toluène successifs de deux minutes chacun. Le troisième bain (alcool 100°) élimine le Toluène. L'hydratation s'effectue par des passages successifs dans l'alcool à 95°, l'alcool 70° de deux minutes chacun, et enfin un bain de 5 minutes dans l'eau distillée.

NB: les bains successifs s'effectuent dans des Borel; égoutter la lame entre chaque passage.

**Coloration au Mann Dominici:**

- Un bain d'érythrosine Orange G pendant 7 minutes ;
- Rinçage à l'eau distillée ;
- Un bain de Bleu de Toluidine pendant 30 secondes ;
- Un bain d'eau acétifiée.

**Montage:**

Placer sur la lame après séchage sur la plaque chauffante, une goutte de Baume de Canada. Recouvrir de la lamelle. Une légère pression sur la lamelle permet de casser les bulles d'air. La lame est mise à sécher dans une étuve à 35°C avant d'observer penser à nettoyer la lame au Toluène.

**ANNEXE 2 : Méthodes et appareils de mesure utilisés.**

| Paramètre                           | Méthodes de mesure   |
|-------------------------------------|--|
| pH                                  | WTW multi 340i;<br>HANNA instruments HI 8314 membrane pHmeter;<br>- TESTO 230.     |
| O <sub>2</sub> dissous              | WTW multi 340i, HANNA HI9142   |
| T°(C°)                              | WTW multi 340i;<br>WTW pHmeter pH192,  |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L) | Méthode CNEXO (Amiard et Chaussepied ; 1983)et<br>Analyse de l'eau (RODIER ;1996). |
| Dureté(m-mole/L)                    | Analyse de l'eau (RODIER ;1996).   |
| Poids(g)                            | Balance électronique ( Denver Instruments Company TR-403) de précision d=0,001g    |
| Taille(cm)                          | Ichtyomètre.   |
| Salinité                            | WTW multi 340i, WTW Cond 330i.   |
| Aquarium                            | Capacité : 50 Litres   |
| Thermostats                         | Puissance : 250W-300W (VISI-THERM)   |
| filtres                             | RENA FILSTAR IV1<br>Capacité : 220L/Heure et 300L/Heure.                           |

ENTREPRISE PUBLIQUE ECONOMIQUE "ONAB" SPA  
au capital social de 4.800.000.000,00 DA

Unité LABORATOIRE CENTRAL

Ref : N° 3102 /2004

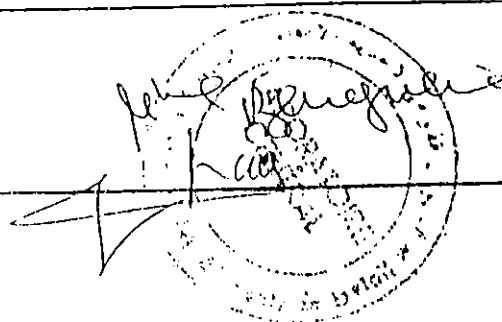
**BULLETIN D'ANALYSE**

|  |  |                   |
|--|--|-------------------|
| Date de reception : 7/01/04            | Origine du Produit :<br>CNDPA          | LABO /7501-02     |
| Nature du produit : Aliment<br>Poisson | Demandeur : DNA                        | Date peremption : |
| Date de Prélèvement:                   | Analyses demandées : Physico-chimiques |                   |

| ANALYSE                   | ECH 1 | ECH 2 | ECH 3 | NORME DE LA METHODE<br>D'ANALYSE |
|---------------------------|-------|-------|-------|----------------------------------|
| Humidité                  | 4,65  |       |       |                                  |
| Matières Minérales %      | 9,62  |       |       | NA 650-1994                      |
| Matières Grasses %        | 3,81  |       |       | NA 654-1992                      |
| Protéines brutes %        | 36,79 |       |       | NA 652-1992                      |
| Calcium %                 | 2,27  |       |       | NA 653-1992                      |
| Phosphore %               | 1,19  |       |       | NA 657-1992                      |
| Insolubles chlorhydriques | -     |       |       | NA 651-1992                      |
| Cellulose                 | 2,17  |       |       | NA 1620-1994                     |
| Chlorure                  | -     |       |       |                                  |
|                           |       |       |       |                                  |

Date d'effet

21 JAN. 2004



**ANNEXE 4 : Poids moyen (g) et Taille moyenne (cm) avant chaque renouvellement d'eau**

|   | Aqua1  | Aqua2  | Aqua3  | Aqua4  | Aqua5  | Aqua6  | Aqua7  |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| <b>J0</b>                                     |        |        |        |        |        |        |        |
| <b>Poids moyen initial</b>                    | 32,667 | 33,059 | 32,96  | 33,874 | 33,229 | 33,307 | 33,79  |
| <b>Taille moyenne initiale<br/>(29/12/03)</b> | 12,3   | 12,5   | 12,08  | 12,58  | 12,36  | 12,22  | 12,4   |
| <b>R1</b>                                     |        |        |        |        |        |        |        |
| <b>Poids moyen</b>                            | 35,249 | 36,18  | 34,992 | 35,876 | 36,38  | 37,016 | 38,586 |
| <b>Taille moyenne<br/>(07/01/04)</b>          | 12,42  | 12,62  | 12,62  | 12,88  | 12,56  | 12,5   | 12,66  |
| <b>R2</b>                                     |        |        |        |        |        |        |        |
| <b>Poids moyen</b>                            | 39,615 | 39,584 | 40,799 | 40,932 | 41,171 | 40,04  | 40,336 |
| <b>Taille moyenne<br/>(14/01/04)</b>          | 13,06  | 13,16  | 13,04  | 13,28  | 13,16  | 13,075 | 13,04  |
| <b>R3</b>                                     |        |        |        |        |        |        |        |
| <b>Poids moyen</b>                            | 42,324 | 42,467 | 44,734 | 43,123 | 42,748 | 52,923 | 42,062 |
| <b>Taille moyenne<br/>(27/01/04)</b>          | 13,5   | 13,46  | 13,725 | 13,64  | 13,5   | 14,6   | 13,3   |
| <b>R4</b>                                     |        |        |        |        |        |        |        |
| <b>Poids moyen</b>                            | 44,873 | 44,94  | 47,047 | 44,49  | 44,766 | 58,424 | 44,823 |
| <b>Taille moyenne<br/>(04/02/04)</b>          | 13,6   | 13,62  | 13,925 | 13,96  | 13,74  | 15,1   | 13,6   |
| <b>R5</b>                                     |        |        |        |        |        |        |        |
| <b>Poids moyen</b>                            | 45,035 | 45,674 | 49,558 | 44,782 | 44,472 | 62,68  | 46,316 |
| <b>Taille moyenne<br/>(14/02/04)</b>          | 13,88  | 14,02  | 14,425 | 14,12  | 13,96  | 15,5   | 13,76  |
| <b>R6</b>                                     |        |        |        |        |        |        |        |
| <b>Poids moyen</b>                            | 46,751 | 46,444 | 52,095 | 45,965 | 47,224 | 65,596 | 46,946 |
| <b>Taille moyenne<br/>(23/02/04)</b>          | 13,98  | 4,14   | 14,725 | 14,26  | 14,06  | 16,1   | 13,92  |
| <b>Fin de l'expérience</b>                    |        |        |        |        |        |        |        |
| <b>Poids moyen</b>                            | 47,134 | 48,793 | 51,934 | 47,243 | 47,42  | 66,616 | 50,703 |
| <b>Taille moyen<br/>(03/03/04)</b>            | 14,22  | 14,42  | 14,625 | 14,48  | 14,24  | 16     | 14,22  |

**ANNEXE 5 : Concentration en  $\text{NH}_4^+$  (mg/l) avant chaque renouvellement d'eau**

|  | Aqua1 | Aqua2 | Aqua3 | Aqua4 | Aqua5 | Aqua6 | Aqua7 |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| $\text{NH}_4^+$ (mg/l) initiale (29/12/03) | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| $\text{NH}_4^+$ (mg/l) R1 (07/01/04)       | 0,076 | 0,045 | 0,047 | 0,227 | 0,262 | 0,076 | 0,067 |
| $\text{NH}_4^+$ (mg/l) R2 (14/01/04)       | 0,027 | 0,016 | 0,038 | 0,035 | 0,141 | 0,018 | 0,028 |
| $\text{NH}_4^+$ (mg/l) R3 (27/01/04)       | 1,508 | 1,288 | 0,442 | 0,870 | 0,096 | 0,050 | 1,448 |
| $\text{NH}_4^+$ (mg/l) R4 (04/02/04)       | 1,334 | 1,275 | 1,322 | 1,218 | 1,306 | 0,230 | 1,306 |
| $\text{NH}_4^+$ (mg/l) R5 (14/02/04)       | 1,206 | 1,102 | 1,138 | 1,313 | 1,185 | 0,071 | 1,236 |
| $\text{NH}_4^+$ (mg/L) R6 (23/02/04)       | 1,001 | 0,797 | 0,637 | 0,760 | 0,676 | 0,536 | 0,801 |