

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة 8 ماي 1945 قالمة  
Université 8 Mai 1945 Guelma  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Spécialité/Option: Biodiversité Et Ecologie Des Zones Humides

Département: Ecologie et Génie de l'environnement

---

### Thème

---

**Impact écotoxique du calcium sur la survie, la croissance et la reproduction de *Daphnia magna***

---

Présenté par : Djemmam Asma

Devant la commission composée de :

Président	Yalles, A (MCB)	Université de Guelma
Encadreur	Samraoui, F (Pr)	Université de Guelma
Co-encadreur	Touati, L (MCA)	Université de Constantine
Examineur	Nedjah, R (MCA)	Université de Guelma
Membre	Baaloudj, A (MCB)	Université de Guelma
Membre	Atoussi, S (MCB)	Université de Guelma
Membre	Younsi, M (MCB)	Université de Guelma

21Juin 2017



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

السلام عليكم ورحمة الله وبركاته

## **Remerciement**

*Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Toute ma reconnaissance va vers **Mme. Yalles**, d'avoir accepté de présider le jury. Sa présence me fait un grand honneur.*

*Mes chaleureux remerciements s'étendent également à **Mr. Nedjah**, pour son aide précieuse, ses conseils et ses compétences m'ont permis de mener à bien mes résultats, et malgré leurs nombreuses obligations, a aimablement accepté d'examiner mon travail.*

*Je voudrais adresser toute ma gratitude à l'encadreur de ce mémoire **Mme. Samraoui**, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.*

*J'adresse mes sincères remerciements à notre co-encadrant **Mr. Touati**, pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.*

*Je souhaite exprimer ma profonde gratitude aux membres du Jury : **Mme. Baaloudj, Mr. Atoussi et Mr. Younsi**, d'avoir consacré une partie de leur temps pour évaluer mes travaux,*

*Enfin, je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## **Dédicace**

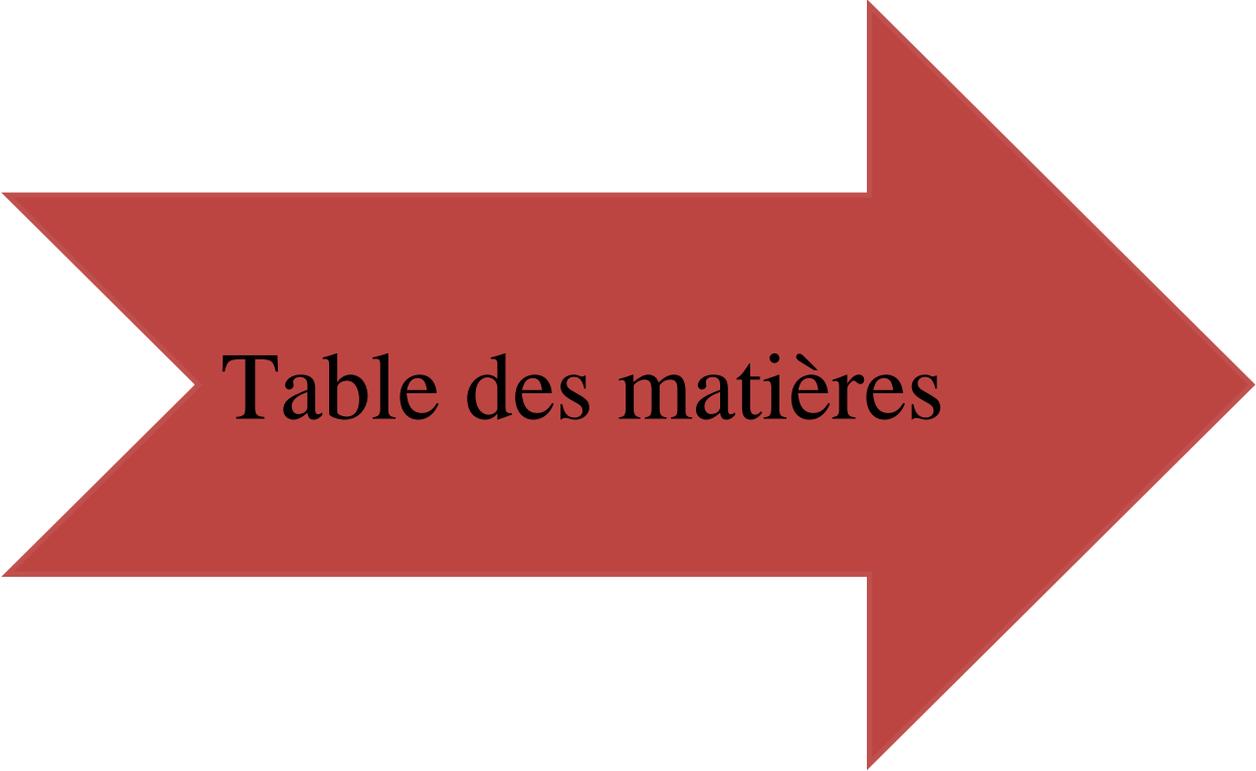
### ***Je dédie ce travail***

***A ma très chère mère :*** Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

***A mon très cher père :*** Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

***A mon cher frère, mes chères sœurs et ma chère tante :*** Je vous exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, et de réussite.

***A notre précieux docteur Touati Laid :*** Vous avez toujours été présent. Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect.



# Table des matières

## Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction .....	01
<b>Chapitre 01 : Biologie de <i>Daphnia magna</i></b>	
1. Un modèle biologique : la daphnie, <i>daphnia magna</i> .....	03
1.1. Description de <i>daphnia magna</i> .....	03
1.2. Biotope.....	03
1.3. Position systématique.....	04
1.4. Morphologie.....	04
1.5. Développement.....	09
1.6. Cycle de vie.....	11
1.7. Longévité.....	12
1.8. Exigences physico-chimiques.....	12
1.9. Répartition.....	13
1.10. Nutrition.....	13
1.11. Dynamique de population.....	13
1.12. Intérêt écotoxicologique.....	13
1.13. Tests standards sur <i>daphnia magna</i> .....	15

## **Chapitre 02 : Introduction au calcium et son importance pour notre modèle biologique**

2.1. Le calcium	
2.1.1. Historique.....	17
2.1.2. Définition.....	17
2.1.3. Propriétés chimiques.....	18
2.1.4. Caractéristiques notables.....	18
2.1.5. Rôle.....	18
2.1.6. Processus de calcification.....	19
2.1.7. Origine de la calcification.....	20
2.1.8. Salinisation.....	20
2.1.8.1. Salinisation naturelle.....	20
2.1.8.2. Salinisation anthropique.....	20
2.2. Le calcium chez <i>Daphnia magna</i> .....	21
2.2.1. Calcification chez <i>Daphnia magna</i> .....	21

## **Chapitre 03 : Matériel et méthodes**

3.1. Matériel biologique (bio indicateur).....	22
3.2. Matériels de laboratoire.....	22
3.3. Méthodes.....	22
3.3.1. Culture de <i>Daphnia magna</i> .....	23
3.3.2. Mode opératoire.....	23
3.3.3. Analyse statistique.....	24

## **Chapitre 04 : Résultats et discussion**

4.1. L'impact du calcium sur les différents paramètres de cycle de vie de <i>Daphnia magna</i> .....	26
--	----

4.1.1. L'âge à la maturation.....	26
4.1.2. L'âge à la première ponte.....	26
4.1.3. La taille des femelles à la première ponte.....	26
4.1.4. La taille des femelles à la deuxième ponte.....	28
4.1.5. La taille des femelles à la première et à la deuxième ponte.....	28
4.1.6. La taille des juvéniles à la première ponte.....	28
4.1.7. La taille des juvéniles à la deuxième ponte.....	30
4.1.8. La taille des juvéniles à la première et à la deuxième ponte.....	30
4.1.9. Le nombre de ponte par femelle.....	30
4.1.10. L'intervalle de ponte.....	32
4.1.11. La grandeur de ponte.....	32
4.1.12. Le nombre total des descendants produit par femelle.....	32
4.1.13. La longévité.....	34
4.1.14. La taille des femelles à la fin de test.....	34
4.1.15. Le poids des femelles à la fin de test.....	34
4.1.16. La survie.....	36
4.1.17. Le sex ratio.....	36
4.2. Discussion .....	37
Conclusion et perspectives.....	39
Références bibliographiques.....	41
Résumé	
Glossaire	
Annexes	

## Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	<i>Daphnia magna</i> .	3
02	Organisation générale d'un cladocère, vue latérale.	7
03	Dimorphisme sexuel chez <i>Daphnia magna</i> , A (mâle), B (femelle). Le rectangle bleu permet d'illustrer les différences au niveau du post-abdomen.	8
04	Femelle de <i>D.magna</i> (A) et mâle de <i>D.magna</i> (B) La différence entre les 2 sexes est visible par la taille de l'antenne primaire (FA : First antennae) qui est grande chez les mâles. Une autre différence réside dans la forme du bord de la carapace (CE : carapace edge) ; les femelles ont des carapaces symétriques par contre, les mâles ont des carapaces asymétriques et terminés par des soies.	8
05	Photos des différents stades de développement embryonnaire chez <i>Daphnia magna</i> .	9
06	Diverses phases de la durée de vie d'une daphnie.	10
07	Cycle de vie de la daphnie.	11
08	Reproduction de la daphnie par parthénogénèse en conditions favorables.	12
09	L'alimentation des daphnies par les gouttes d'épinard.	25
10	Mesure de la taille des daphnies avec un micromètre.	25
11	Variation de l'âge à la maturation chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	26
12	Variation de l'âge à la première ponte chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	27
13	Variation de la taille des femelles à la première ponte chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	27
14	Variation de la taille des femelles à la deuxième ponte chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	28
15	Variation de la taille des femelles à la première et à la deuxième ponte chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	29
16	Variation de la taille des juvéniles à la première ponte chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	29

17	Variation de La taille des juvéniles à la deuxième ponte chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	30
18	Variation de La taille des juvéniles à la première et à la deuxième ponte chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	31
19	Variation de nombre de ponte par femelle chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	31
20	Variation de l'intervalle de ponte chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	32
21	Variation de la grandeur de ponte chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	33
22	Variation de nombre total des descendants produit par femelle chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	33
23	Variation de la longévité chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	34
24	Variation de la taille des femelles à la fin de test chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	35
25	Variation de poids des femelles à la fin de test chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	35
26	L'évolution de la survie en fonction du temps chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	36

## Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	La classification de <i>Daphnia magna</i> .	4
02	Principales caractéristiques d'un bon élevage des daphnies.	15
03	Les propriétés chimiques du calcium.	18
04	Variation de sex ratio total chez <i>Daphnia magna</i> exposée à des différentes concentrations de $\text{Ca}^{2+}$	36

## Liste des abréviations

A1 : Antennule.

A2 : Antenne.

AFNOR : Agence Française de Normalisation.

Ar : Argon.

$A_T$  : L'alcalinité totale.

Ba : Le Baryum

Be : Le béryllium.

Ca : Le calcium.

$\text{Ca}(\text{OH})_2$  : L'hydroxyde de calcium.

$\text{Ca}^{2+}$  : L'ion de calcium.

$\text{CaCO}_3$  : Le carbonate de calcium.

CaO : La chaux (l'oxyde de calcium).

CE : Carapace edge.

CID : Le carbone inorganique dissous.

$\text{CO}_2$  : Le dioxyde de carbone.

$\text{CO}_3^{-2}$  : L'ion carbonate.

*D.magna* : *Daphnia magna*.

EC50 : La concentration induisant 50% d'immobilisation.

FA : First antennae.

$\text{g.cm}^{-3}$  : Gramme par centimètre cube.

$\text{g.mol}^{-1}$  : Gramme par mole.

h : Heur.

$\text{H}_2\text{O}$  : La molécule d'eau.

$\text{H}_3\text{O}^+$  : L'ion oxonium.

$\text{HCO}_3^-$  : Le bicarbonate, ou hydrogénocarbonate.

ISO : Organisation International de Normalisation.

$\text{KJ.mol}^{-1}$  : Kilojoule par mole.

Mg : Le magnésium.

mg : Le milligramme.

mg/l : Milligramme par litre.

mm : Le millilitre.

nm : Nanomètre.

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economiques.

P : Probabilité que l'hypothèse nulle est égale à zéro.

pH : Potentiel de l'hydrogène.

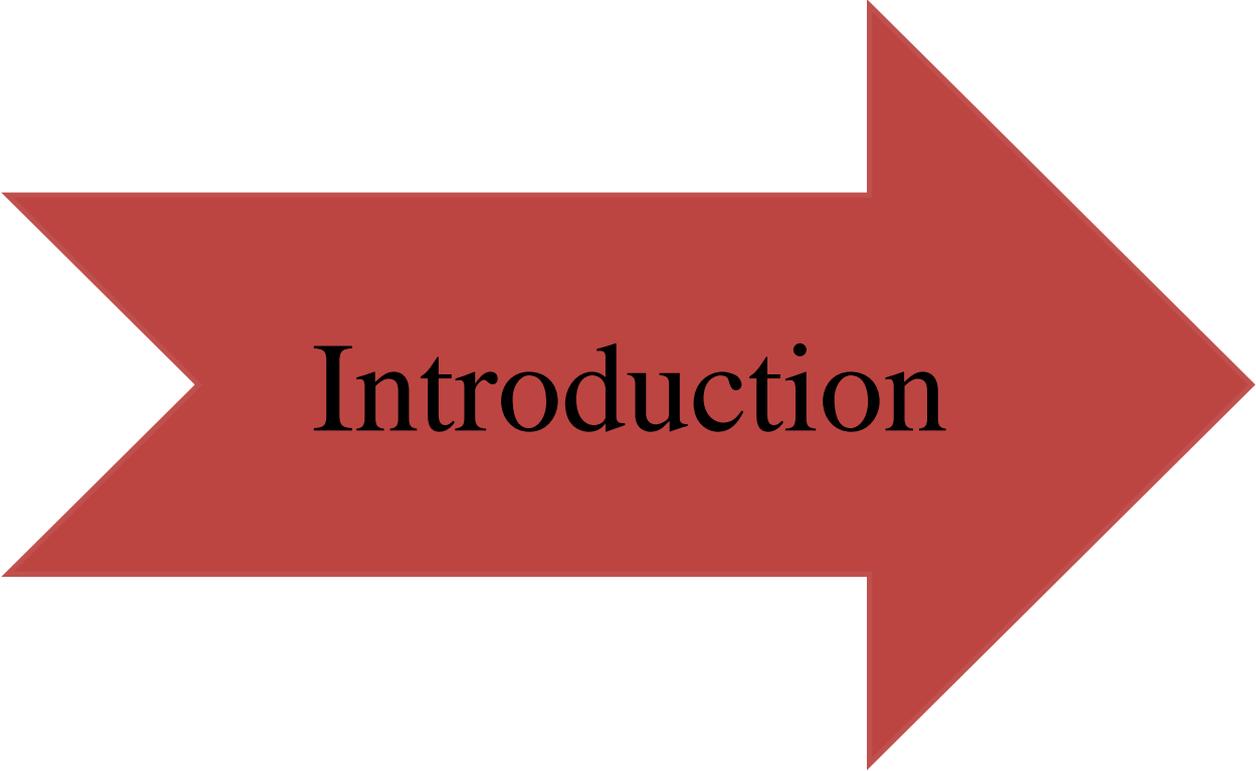
Sr : Le Strontium.

V : Volts.

Wt : Le poids sec.

XX<sup>e</sup> : 20<sup>e</sup> siècle, commence le 1<sup>er</sup> janvier 1901 et finit le 31 décembre 2000.

$\mu\text{.g}$  : Microgramme.



# Introduction

## Introduction

Depuis quelques années de la révolution industrielle, le développement exponentiel des activités humaines a produit la dispersion des plusieurs substances dans l'environnement et notamment la dégradation des écosystèmes aquatiques. Ces substances entraînent des altérations des ressources naturelles et accusent des effets toxiques sur les organismes aquatiques.

La préoccupation concernant la présence et la détection d'agents toxiques dans les écosystèmes a considérablement augmenté ces dernières années, notamment dans le milieu aquatique. La contamination aquatique n'a été évaluée depuis longtemps que par des analyses chimiques spécifiques, mais de nombreuses années d'expérience ont montré l'insuffisance de cette approche. L'utilisation de méthodes biologiques pour l'évaluation de la contamination aquatique montre une alternative importante, notamment dans le cas d'une pollution rapide ou diffuse, des causalités potentielles d'empoisonnements humains aigus. [Biesinger et Christensen, 1972].

La pollution de l'eau est un enjeu majeur en matière de protection de l'environnement. On a vu comment une pollution par des nutriments peut produire une eutrophisation et à terme une destruction du biotope. Un autre type de dégradation est la pollution par les produits chimiques, en particulier les produits phytosanitaires (pesticides, herbicides, ...) destinés à éliminer les "nuisibles", ce qu'ils font plus ou moins bien. Ces produits pénètrent dans le sol et se retrouvent par exemple dans les eaux souterraines. On note aussi une pollution par les métaux lourds (plomb, mercure, arsenic, cadmium, ...) provenant des activités humaines industrielles (fonderies, incinérateurs, ...), ou aux transports. Évidemment, ces molécules et métaux lourds sont toxiques pour les organismes vivants présents dans les écosystèmes aquatiques. Cette pollution conduit à plus ou moins long terme à la disparition d'espèces et à la dégradation de l'écosystème. Parfois, les déchets générés par l'activité humaine sont directement en cause dans la pollution aquatique (quand ils contiennent eux-mêmes des substances toxiques). [1].

Le calcium est un élément essentiel pour les crustacés et d'autres groupes d'animaux avec un exosquelette calcifié. Bien que les demandes de calcium soient facilement satisfaites dans les milieux marins et les lacs d'eau douce, la carence en calcium peut limiter le succès de certaines espèces de zooplancton dans les lacs d'eau douce. Les eaux douces sont caractérisées par de faibles concentrations de calcium, et la distribution et le succès relatif des invertébrés exigeant du calcium pourraient être limités par le faible calcium dans les localités extrêmes

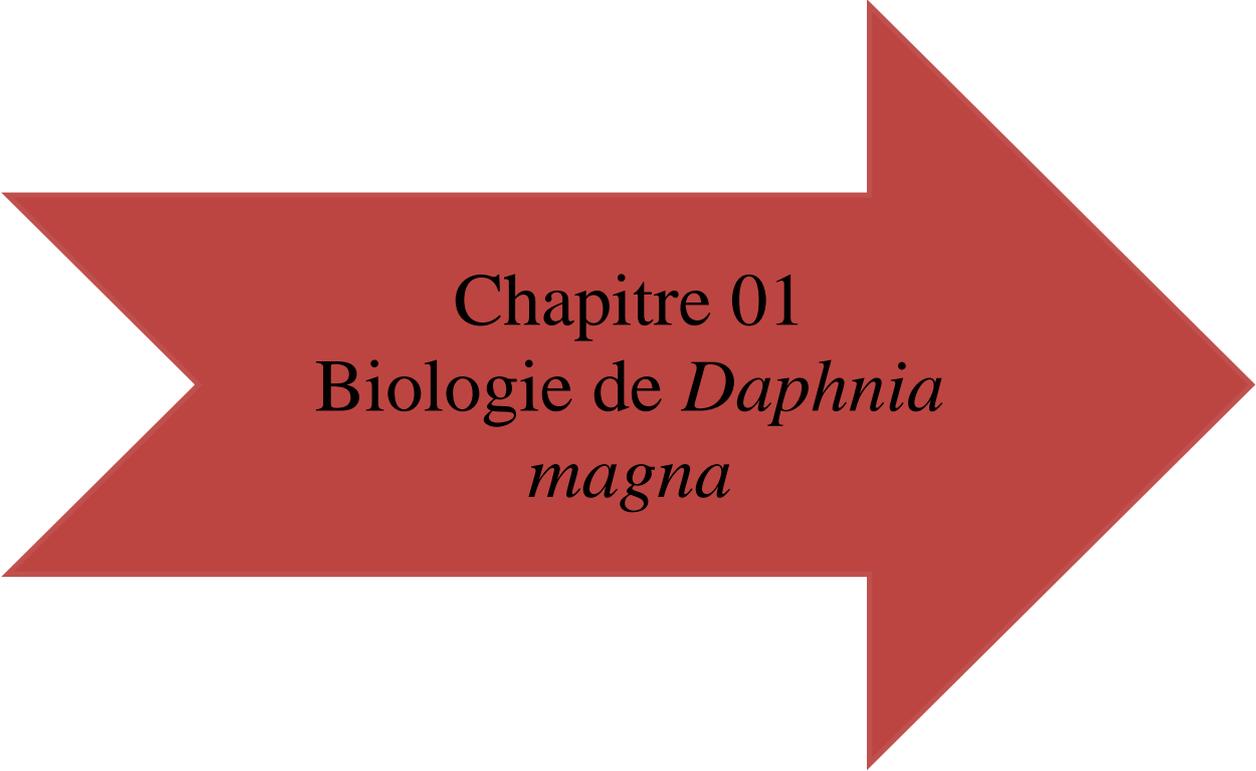
d'eau douce. L'augmentation du calcium provoque une acidification du milieu pourrait donc affecter gravement les crustacés d'eau douce.

La daphnie est l'organisme modèle qui a été le support de notre travail. Il s'agit d'un invertébré clé des écosystèmes aquatiques dulçaquicoles et l'un des trois modèles biologiques les plus utilisés dans le cadre de l'évaluation des risques écotoxiques des substances chimiques [Pereira et al, 2010]. L'essai d'immobilisation sur *Daphnia magna* [ISO 6341, 1996 ; OCDE, 2004] est l'un des tests standardisés les plus fréquemment utilisés pour évaluer la toxicité des produits chimiques et surveiller la qualité de l'eau.

Ce présent travail vise à apporter de nouvelles connaissances relatives à la toxicité du calcium sur les différents paramètres de cycle de vie (la survie, la croissance et la reproduction) d'une espèce représentative des écosystèmes aquatiques d'eau douce, *Daphnia magna*.

Pour répondre à ces objectifs, notre travail de mémoire s'est articulé autour de quatre chapitres :

- ❖ Introduction.
- ❖ Le premier chapitre abordera la biologie de *Daphnia magna*.
- ❖ Le deuxième chapitre présente l'introduction au calcium et son importance pour notre modèle biologique.
- ❖ Le troisième chapitre consacré pour le matériel et les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail.
- ❖ Le quatrième chapitre englobe les résultats que nous discuterons.
- ❖ Conclusion.



Chapitre 01  
Biologie de *Daphnia*  
*magna*

## 1. Un modèle biologique : la daphnie, *Daphnia magna*

La daphnie, *Daphnia magna*, est un microcrustacé d'eau douce, de l'ordre des cladocères. Comme de nombreux invertébrés aquatiques, la daphnie occupe une place importante dans les chaînes alimentaires des écosystèmes aquatiques. Consommatrice d'algues phytoplanctoniques et d'autres petits organismes, elle peut être à son tour, la proie des poissons et de nombreux animaux aquatiques carnivores tels que les larves de demoiselles et de libellules. Cette espèce est très utilisée en tant qu'organisme modèle dans le domaine de la recherche écologique, toxicologique et la biosurveillance des écosystèmes [Parisot, 2015].

### 1.1. Description de *Daphnia magna*

*Daphnia magna* est un zooplancton herbivore ou détritivore [Mulhauser, 1995] de l'ordre des cladocères qui est un groupe des crustacés. Ce Cladocère recommandée en tant que modèle biologique de référence dans différents bioessais standardisés pour l'évaluation des effets toxiques potentiels de substances chimiques [OCDE, 2004 et 2008]. Elle est composée de deux parties : la tête (comporte les yeux, la bouche et deux antennes qui servent à la locomotion) et le corps (Fig 01). Cette référence de modèle biologique est essentiellement tiré du fait que le *D. magna* offre-t-une aisance à la manipulation et à l'étude au laboratoire, compte tenu sa petite taille, son cycle de vie court, son mode de reproduction asexuée et sa fécondité élevée. Aussi ce microcrustacé investi une part prépondérante dans les transferts de matière et d'énergie dans les chaînes trophiques des écosystèmes aquatiques d'eau douce.

Dans la nature les individus n'atteignent fréquemment que 1-2 mm, mais peuvent atteindre 5 mm, le poids sec variant de 50 à 400  $\mu$ .g [Margalef, 1983].



Figure 01 : *Daphnia magna* [Massarin, 2010].

### 1.2. Biotope

Ce cladocère planctonique est largement répandu dans l'eau douce des zones tempérées: dans les étangs et les lacs, les rivières et les ruisseaux, les bassins temporaires ou dans les eaux saumâtres [Chevalier, 2014]. Les populations de *Daphnia magna* sont généralement

rare en hiver et au début du printemps. Mais avec l'augmentation de la température de l'eau (6 à 12 ° C), les populations augmentent leur abondance et atteignent des densités élevées de 200 à 500 individus/l [Pennak, 1989]. La daphnie joue un rôle très important dans l'équilibre écologique des zones pélagiques par l'épuration naturellement de l'eau, la participation au brassage de la colonne d'eau, la régulation de phytoplancton et en étant la proie préférentielle de nombreux organismes aquatiques.

### 1.3.Position systématique

La classification de la daphnie est résumée ci-après (Tableau 01) :

**Tableau 01** : La classification de *Daphnia magna*.

Règne :	Animalia
Embranchement :	Arthropodes
Classe :	Crustacés
Sous-classe :	Branchiopodes
Super-ordre :	Anomopodes
Ordre :	Cladocera
Famille :	Daphniidae
Genre :	<i>Daphnia</i>
Espèces :	<i>Daphnia magna</i>

### 1.4.Morphologie

La morphologie des daphnies peut changer périodiquement au cours des cycles saisonniers et affecter en particulier la forme de la tête et de la carapace, la taille de l'œil composé ainsi que la longueur de l'épine caudale. Ce phénomène nommé cyclomorphose [Amoros, 1984] semble être contrôlé par les conditions du milieu à savoir la température [Yurista, 2000], la turbidité [Jacob, 1962 ; Hazelwood, 1966], la lumière [Jacob, 1962] ainsi que par les kairomones solubles, libérées par certains prédateurs [Tollrian, 1994]. Dans ce dernier cas, il a été montré que la cyclomorphose permet de se défendre contre les prédateurs [Dodson, 1974] puisqu'elle permet aux daphnies de changer de morphologie en développant certains organes afin de disperser les prédateurs.

Chez une daphnie adulte, on distingue deux parties : la tête et le corps (Fig 02).

#### ✚ La carapace :

Le corps de la daphnie est recouvert par une carapace transparente qui se renouvelle à chaque mue marquée par un doublement du volume de l'organisme pendant une minute dû essentiellement à une brusque entrée d'eau dans l'animal [Green, 1956].

#### ✚ L'œil :

C'est l'organe sensitif le plus évident du *Daphnia*. Il est composé de 22 lentilles, et 4 muscles tiennent l'œil en position et le gardent continuellement en mouvement. Les embryons de *Daphnia* ont deux yeux totalement distincts qui se fusionnent graduellement pendant le développement [Green, 1956].

#### ✚ Les membranes thoraciques :

Ils battent en avant et en arrière dans la carapace et créent un courant qui balaye des petites particules d'eau dans l'espace, entre les membranes dotées de poils très fins, et qui filtre dans leur environnement normal. Les petites particules peuvent être des bactéries, des algues, des flagellés,...etc, qui forment la nourriture de *Daphnia magna*. La nourriture s'accumule entre les membranes et passe en avant dans les mandibules, ou elle reçoit une section des glandes labiales, devient compacte, et passe rapidement à travers l'œsophage [Green, 1956].

#### ✚ Les bracts :

Ils sont localisés sur les bords externes des membranes thoraciques qui peuvent aussi être utilisés par leur production de courant pour la respiration. Les bracts ont des parois lisses et fines, et servent comme réservoir d'oxygène [Green, 1956].

#### ✚ Bord dorsal :

Du post abdomen : échancré juste après l'anus, cette échancrure sépare les épines anales en deux série ; épine caudales de longueur variable et carène latérales sur les valves [Green, 1956].

#### ✚ Le système nerveux :

Est caractérisé par un ganglion cérébral, localisé entre l'œil et le début du tube digestif [Amoros, 1984].

#### ✚ Le système circulatoire :

Est lacunaire et le transport de l'oxygène se fait à l'aide d'hémoglobine. Ainsi lorsque le milieu est bien aéré, les daphnies sont de couleur pâle, en revanche lorsque la teneur en dioxygène diminue dans le milieu, les daphnies prennent une couleur rouge à la suite de l'augmentation du taux d'hémoglobine dans le sang [Fox, 1957].

✚ Le cœur :

Le cœur de *Daphnia* est un petit sac musculaire avec deux trous à travers lequel le sang entre, et une sortie principale vers le haut. Il n'y a pas de vaisseaux sanguins, aussi le sang circule librement entre les différents organes. Le cœur du mâle bat plus vite que celui de la femelle et la vitesse des battements des deux sexes peut être altéré par plusieurs facteurs :

- Augmentation de la température.
- Inanition.
- Manque d'oxygène...etc [Green, 1956].

✚ Le tube digestif :

Est simple, de forme tubulaire, visible par transparence et se termine par un anus au niveau de la griffe post-abdominale [Toumi, 2013].

✚ Les ovaires :

Sont disposés de chaque côté du tube digestif, dans la région thoracique [Amoros, 1984].

\* Il y'a un dimorphisme sexuel très net chez les daphnies (**Fig 03**). En effet, les mâles se distinguent des femelles par :

- forme de la tête.
- présence d'antennules.
- la partie antérieure du post-abdomen plus proéminente (située avant la griffe Post-abdominale) plus proéminente [Toumi, 2013].

\* **La différence entre mâle et femelle**

Les mâles sont distingués des femelles par leur plus petite taille, leur large antennules, leur post-abdomen modifié et des griffes qui sont armées avec un crochet solide utilisé dans l'accouplement (**Fig 04**).

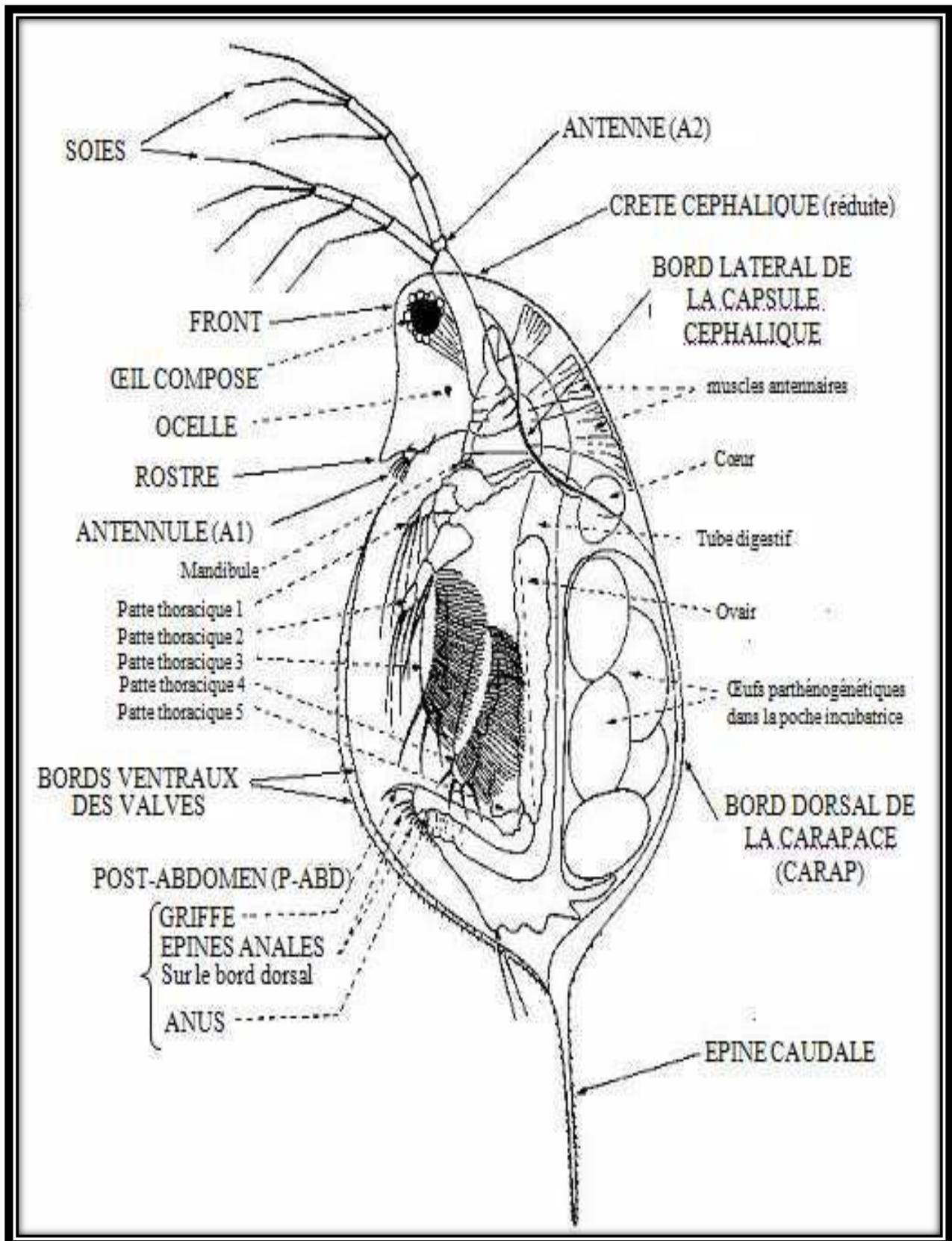
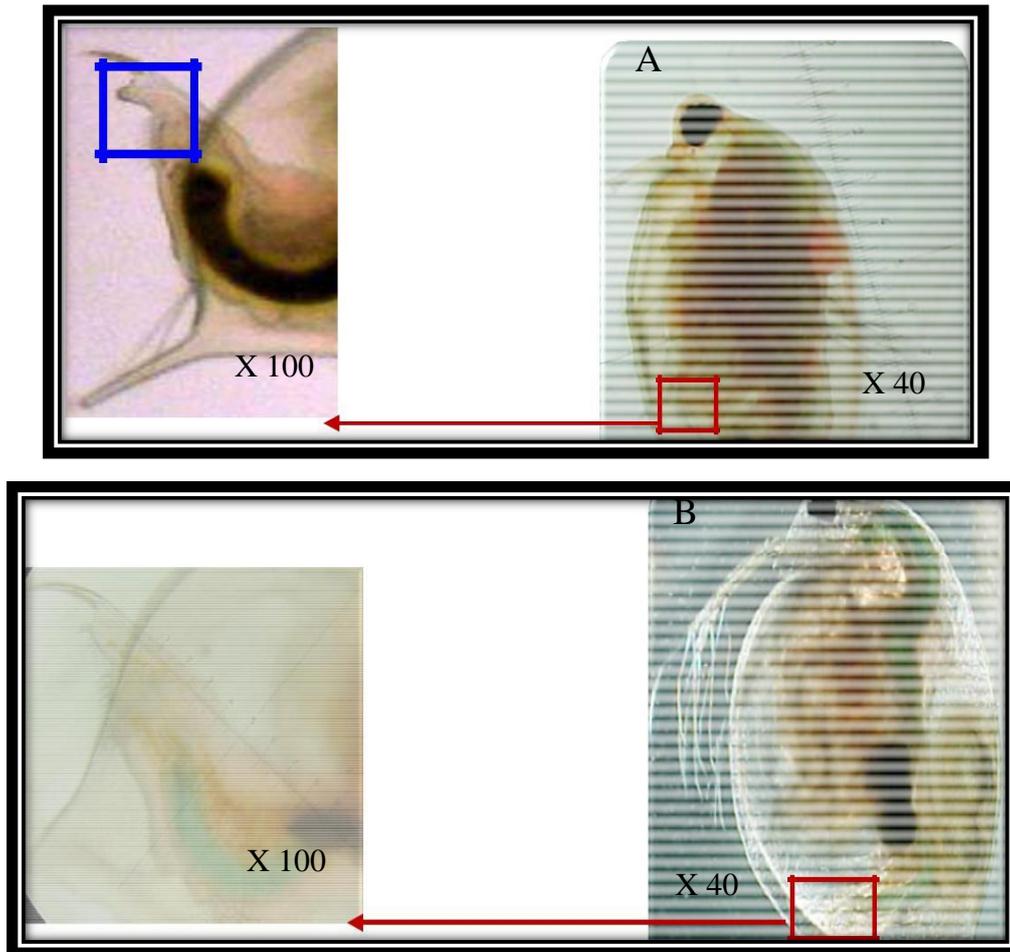
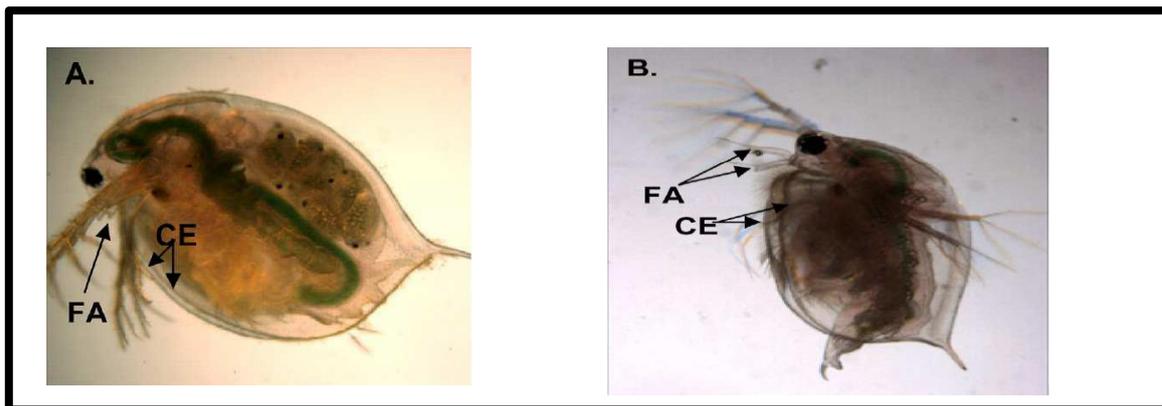


Figure 02 : Organisation générale d'un cladocère, vue latérale [Amoros, 1984].



**Figure 03 :** Dimorphisme sexuel chez *Daphnia magna*, A (mâle), B (femelle). Le rectangle bleu permet d'illustrer les différences au niveau du post-abdomen [Toumi, 2013].

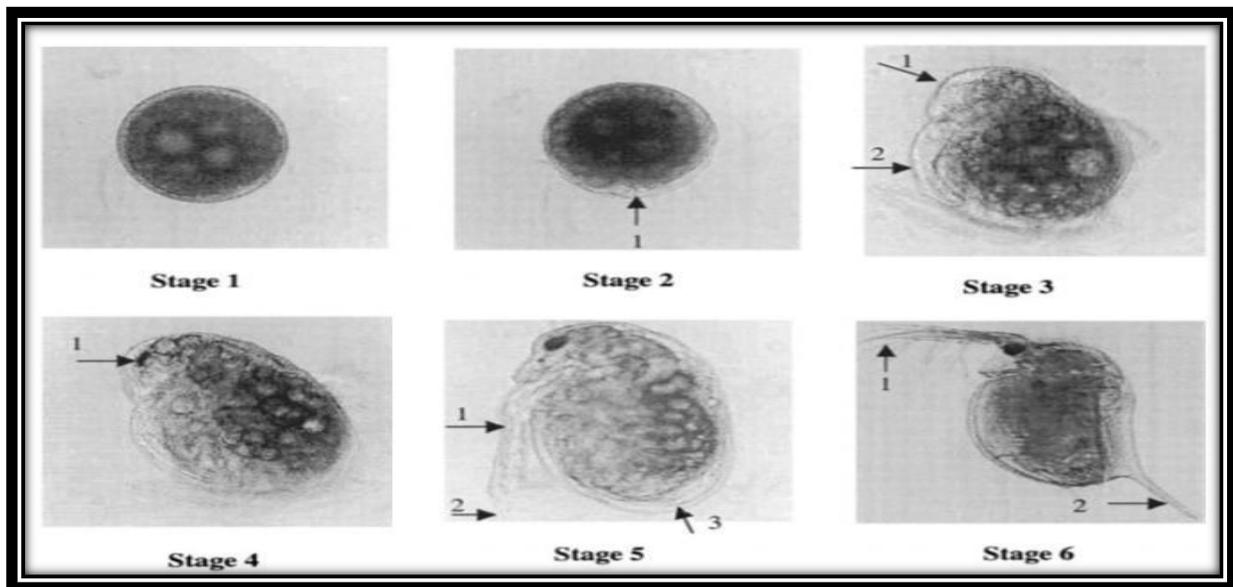


**Figure 04 :** Femelle de *D.magna* (A) et mâle de *D.magna* (B) La différence entre les 2 sexes est visible par la taille de l'antenne primaire (FA : First antennae) qui est grande chez les mâles. Une autre différence réside dans la forme du bord de la carapace (CE : carapace edge) ; les femelles ont des carapaces symétriques par contre, les mâles ont des carapaces asymétriques et terminés par des soies d'après [Olmstead et Leblanc, 2002].

### 1.5.Développement

Les étapes du développement d'un embryon normal chez les daphnies sont divisées en 6 stades distincts [Kast-Hutcheson et al, 2001] (Fig 05) :

- Stade 1 : clivage, l'embryon est parfaitement sphérique, pas de différenciation cellulaire, ce stade se déroule entre 0 et 15 heures.
- Stade 2 : gastrulation, début de la différenciation cellulaire, présence du blastopore et l'embryon devient asymétrique, ce stade se déroule entre 15 et 25 heures.
- Stade 3 : maturation embryonnaire précoce, la tête et l'antenne secondaire sont différenciés, ce stade se déroule entre 25 et 35 heures.
- Stade 4 : maturation embryonnaire moyenne, présence de l'œil pigmentée et développement des antennes qui restent collés à la seconde membrane embryonnaire, ce stade se déroule entre 35 et 45 heures.
- Stade 5 : maturation embryonnaire tardive, rupture de la seconde membrane embryonnaire, extension partielle de l'antenne secondaire et l'épine est pliée sous la carapace, ce stade se déroule entre 45 et 50 heures.
- Stade 6 : développement complet du nouveau-né, développement des antennules et l'épine est bien décollée de la carapace. L'organisme commence à nager.



**Figure 05 :** Photos des différents stades de développement embryonnaire chez *Daphnia magna* (stade 3 : 1 présence de la tête 2 antenne secondaire ; stade 4 : apparition de l'œil ; stade 5 : 1 antenne secondaire partiellement étendue 2 antennules non développées 3 épine collée au corps ; stade 6 : 1 antenne secondaire développée 2 épine totalement étendue) d'après [Kast-Hutcheson et al, 2001].

Quatre périodes distinctes peuvent être reconnues dans l'histoire de la vie de *Daphnia*:

(1) œuf, (2) juvénile, (3) adolescence et (4) adulte [Pennak, 1989].

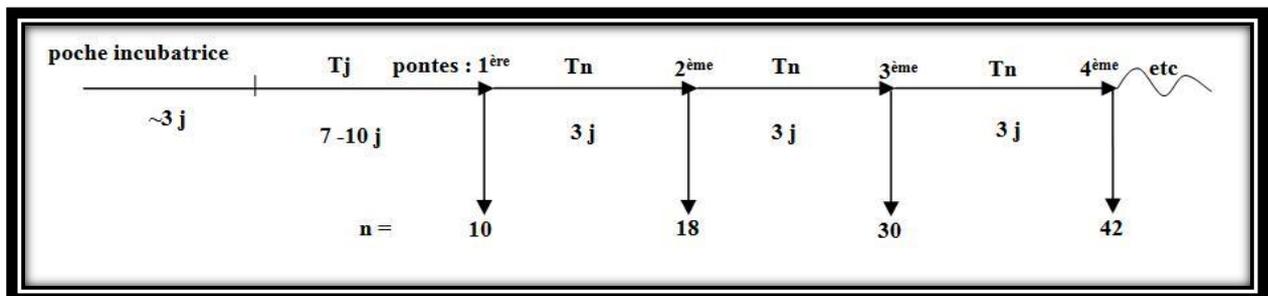
- ❖ Phase œuf : caractérisé par : le dépôt et l'éclosion des œufs sont fait dans la poche incubatrice (de 6 à 12 œufs mais peut atteindre jusqu'à 57 œufs).
- ❖ Phase juvénile : caractérisé par la croissance des organismes.
- ❖ Phase d'adolescence : caractérisé par un seul cycle et de durée très courte.
- ❖ Phase adulte : entre 6 à 22 cycle et le nombre des petits est compris entre 6 à 10 individus mais peut atteindre 30 individus en fonction de la disponibilité de la nourriture et les conditions environnementales.

-la durée des phases change selon les conditions de l'environnement ; lorsque les conditions sont favorables une phase prend 3 jours, et quand les conditions sont détériorées elle peut atteindre une semaine (Fig 06).

-Il y'a quatre évènements après quelques minutes à la fin de chaque phase :

- la ponte des petits.
- la mue.
- l'augmentation de la taille.
- la parution de nouveaux œufs dans la chambre incubatrice.

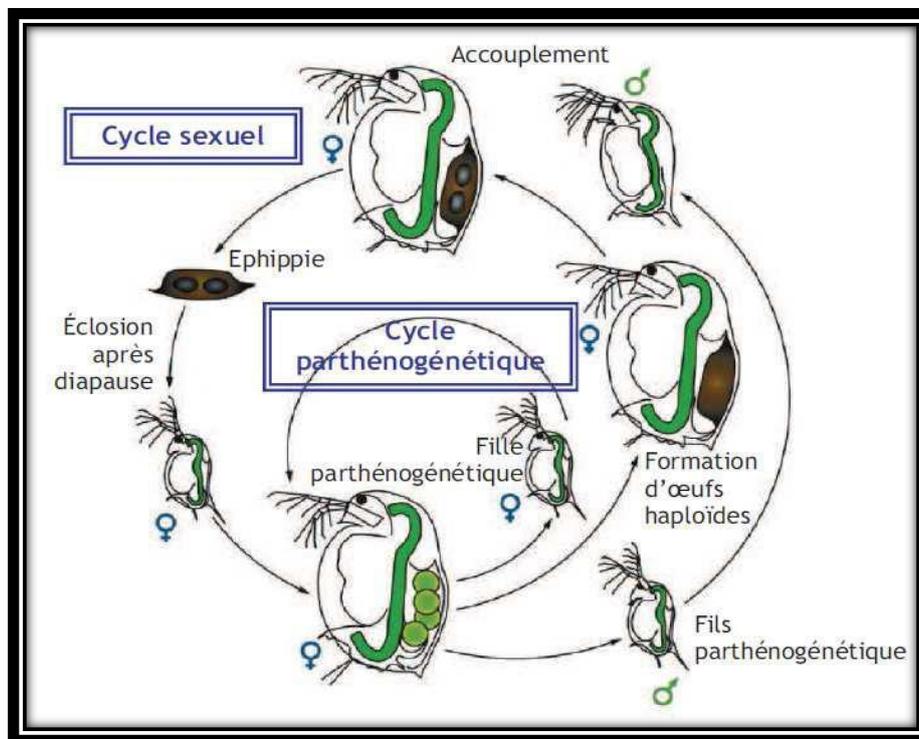
-Une augmentation de taux de survie avec une diminution de la température est causée par la diminution de l'activité métabolique (40 jours à 25 °C et 56 jours à 20 °C).



**Figure 06 :** Diverses phases de la durée de vie d'une daphnie d'après [Soares, 1989].

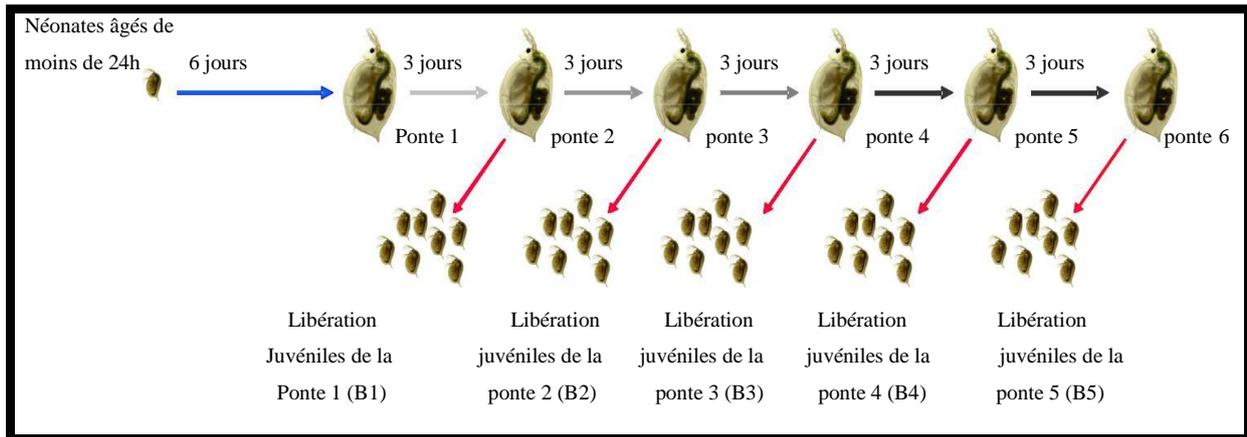
## 1.6. Cycle de vie

Les daphnies peuvent se reproduire par voie sexuée et/ou asexuée selon les conditions environnementales (**Fig 07**).



**Figure 07** : Cycle de vie de la daphnie d'après [Zeman, 2008 ; repris de Ebert, 2005].

En effet, en été, lorsque les conditions environnementales sont favorables, la reproduction se fait par parthénogenèse (**Fig 08**). Les individus femelles matures produisent des œufs qui après éclosion, donneront naissance à des individus génétiquement identiques à la mère. En revanche, dès que les conditions sont défavorables (baisse de la température en automne par exemple), les femelles produisent des œufs contenant un embryon dormant et résistant appelé éphippie. Les œufs donneront naissance, au printemps suivant, à une population génétiquement différente. Ces œufs peuvent aussi rester en dormance pendant plusieurs mois en attendant le retour de conditions plus favorables qui permettront une reprise du cycle parthénogénétique ; et donneront des femelles identiques, génétiquement, à leur mère [Santiago et al, 2002 ; Cauzzi, 2007 ; Boillot, 2008].



**Figure 08 :** Reproduction de la daphnie par parthénogénèse en conditions favorables d'après [Zeman, 2008].

### 1.7. La longévité

La durée de vie de *Daphnia magna* varie avec la température. Cependant, *Daphnia magna* vit environ 108 jours à 8 °C mais également 45 jours à 18 °C et 29 jours seulement à 28 °C [Green, 1954]. L'augmentation de la température cause une augmentation de la vitesse du métabolisme. Ainsi l'animal va épuiser son énergie rapidement et meurt plus tôt [Touati et Samraoui, 2002 ; Chakri, 2007].

### 1.8. Les exigences physico-chimiques

Les daphnies sont des organismes d'eau douce, quelques souches sont trouvées en eau légèrement saumâtre [Chakri, 2007].

#### ➤ La température :

La fourchette des températures n'altérant pas le cycle de vie des daphnies. Elle est très importante puisqu'elle peut varier de 0°C à 30°C selon les espèces. La température optimale se situe entre 18°C et 22°C, *Daphnia magna* supporte mal les températures supérieures à 22°C [Green, 1954].

#### ➤ Les besoins alimentaires :

Les daphnies préfèrent les bactéries, mais elles se nourrissent aussi d'algues uni ou pluricellulaires, de levures, de débris organiques fins dissous, de phytoplancton, de ciliés. Sa sensibilité aux polluants et son taux de reproduction sont affectés par la qualité et la quantité de la nourriture. Mais, en générale les réserves lipidiques sont un bon indicateur des conditions de nutrition chez les daphnies [Holm et Shapiro, 1984 ; Tessier et Goulden, 1982].

### 1.9. La Répartition

La répartition des daphnies est très hétérogène. Les organismes ont tendance à se grouper et à former des « essaims » qui se déplacent verticalement et horizontalement tout au long de la journée. Pendant l'hiver, en l'absence d'un phytoplancton abondant, les daphnies se répartissent sur le fond pour se nourrir à partir de la couche biologique qui se développe à la surface du sédiment. Cette tendance à aller vers le fond, a aussi été observé lorsque les apports en micro-algues sont insuffisants [Green, 1956 ; Amoros, 1984].

### 1.10. La Nutrition

Les daphnies sont des organismes filtreurs, considérés comme des consommateurs primaires. Elles sont phytophages et bactériophages [Hadas et al, 1983]. Elles apprécient les eaux riches en matières organiques dissoutes ou en suspension et peu polluées par les micropolluants chimiques [Mugel et Férard, 1978]. La nourriture est collectée plus particulièrement à l'aide du 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> pattes thoraciques foliacées, garnies d'un peigne de longues soies [Amoros, 1984], et qui assurent un courant d'eau entre les deux valves de la carapace. Les particules ainsi piégées sont transférées via un sillon alimentaire jusqu'à la bouche. Toutefois, il est important de signaler que la quantité et la qualité de la nourriture jouent un rôle primordial pour la reproduction et influencent nettement la dynamique de population de la daphnie [Lynch et Ennis, 1983 ; Cowgill et al, 1985]. La qualité et la quantité de la nourriture semblent aussi influencer la sensibilité des daphnies aux toxiques [Winner et al, 1977 ; Enserink et al, 1995].

### 1.11. Dynamique de la population

Sauf concurrence pour la nourriture entre les individus, il n'y a aucune hiérarchie sociale parmi l'espèce *Daphnia magna*. La daphnie restait dans des groupes de densité généralement élevée bien que la population Varie fortement en densité par saison [Ebert, 2005].

### 1.12. Intérêt écotoxicologique

L'utilisation d'un organisme dans les tests d'écotoxicologie pour l'évaluation de la qualité de l'environnement suppose qu'il répond à certains critères :

- la pertinence écologique.
- la sensibilité aux contaminants.
- la facilité de manipulation au laboratoire.
- la description détaillée de sa taxonomie.
- la durée du cycle de reproduction qui doit être courte.
- le potentiel de développer des biomarqueurs.

Les cladocères, et spécialement les daphnies, ont été largement utilisés dans la toxicologie aquatique. La sélection des daphnies dans les tests de toxicité a été favorisée par leur sensibilité pour une large gamme de toxiques [Adema, 1978 ; Slooff et al, 1983 ; Kimerle et al, 1985 ; Persoone et Janssen, 1993].

De même, ces espèces présentent un grand intérêt écologique pour les milieux dulçaquicoles à en juger par leur large distribution et leur rôle dans la chaîne trophique. En effet, le genre *Daphnia* est largement répandu dans les eaux douces stagnantes de l'arctique aux tropiques [Fernando et al, 1987 ; Haney et Buchanan, 1987]. La présence de ce genre est rapportée dans les différents états trophiques des cours d'eau et dans les différentes tailles et morphologies des habitats aquatiques en allant des étangs ou des lacs peu profonds à la zone pélagique des grands lacs et des réservoirs [Kasprzak et Schwabe, 1987 ; Benndorf, 1990 ; Flössner, 2000 ; Horn, 2003 ; Jeppesen et al, 2004]. Dans la majorité de ces systèmes, les daphnies dominent la communauté des zooplanctons en termes d'abondance et de biomasse durant certains intervalles de temps. Étant donné que les daphnies jouent un rôle important dans la chaîne trophique des lacs, les scientifiques les ont désignées comme espèces clés dans les systèmes pélagiques [Sterner, 1989 ; Carpenter et Kitchell, 1993]. En comparaison avec les autres zooplanctons, les daphnies peuvent atteindre des taux de filtration élevés [Muck et Lampert, 1984 ; Reynolds, 1984] et un potentiel de consommation de particules dans une gamme de 0.5 à 50 µm. [Geller et Müller, 1981 ; Reynolds, 1984]. Dans les lacs tempérés, la filtration par les daphnies participe à la clarification de la surface de l'eau, et ainsi les daphnies jouent un rôle important dans la structuration spatiale et temporelle de la communauté phytoplanctonique. [Lampert et al, 1986 ; Sommer et al, 1986 ; Horn, 1991]. Si les conditions sont favorables, les daphnies peuvent réaliser une filtration totale du milieu par jour [Thompson et al, 1982 ; Köthe et Benndorf, 1994].

En réalité, cette espèce a été choisie pour diverses raisons, à savoir :

- ✓ visible à l'œil nu.
- ✓ reproduction parthénogénétique et donc faible variabilité génétique.
- ✓ pontes abondantes.
- ✓ manipulation et élevage faciles à réaliser au laboratoire suite à sa taille relativement petite.
- ✓ cycle de vie court, ce qui permet de suivre l'effet des polluants sur plusieurs générations.
- ✓ sensibilité à une large gamme de produits chimiques [Colbourne et al, 2011].

### 1.13. Tests standards sur *Daphnia magna*

Un test d'écotoxicité peut se définir comme l'utilisation de tout ou partie d'un (ou de plusieurs) organisme(s) vivant(s) comme « réactif(s) biologique(s) » pour mettre en évidence un effet écotoxicologique mesurable et interprétable à la suite d'une exposition (par exemple aiguë, chronique,...) à un (ou plusieurs) agent(s) chimique(s) ou physique(s) [Férard, 2013]. Quel que soit le test réalisé, il importe d'avoir un élevage qui produit des daphnies saines (Tableau 02).

**Tableau 02** : Principales caractéristiques d'un bon élevage des daphnies d'après [Toumi, 2013].

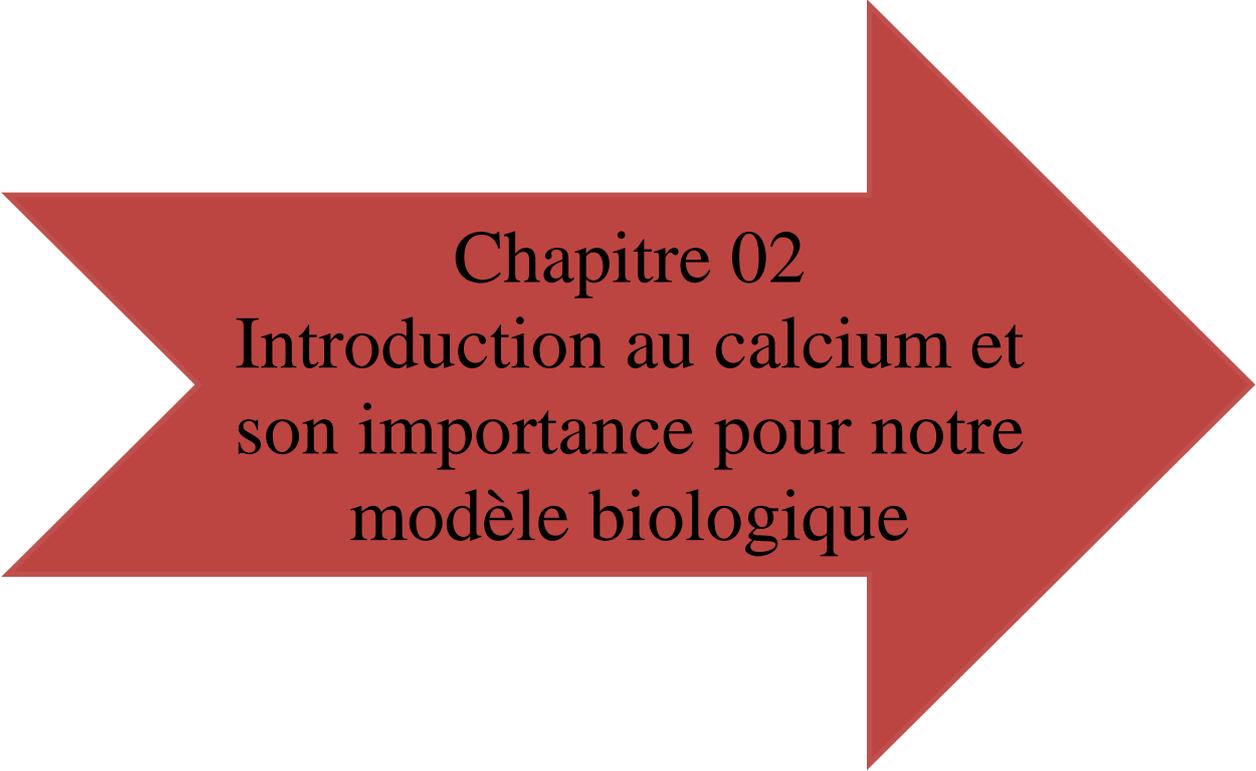
- 1- Absence d'éphippies (œufs de durée) et d'œufs avortés dans les élevages.
- 2- Aspect des organismes (éviter l'absence de couleur ainsi qu'une couleur trop rougeâtre).
- 3- Taille suffisante des organismes adultes (environ 5 mm).
- 4- Production suffisante de jeunes daphnies femelles (environ 100 juvéniles par daphnie mère en 21 jours).
- 5- Jeunes daphnies femelles dépourvues de malformations.
- 6- Absence de parasites ou de champignons (surtout au niveau de la poche incubatrice).

Deux types de tests de toxicité sur *Daphnia magna* peuvent être distingués :

Le test de toxicité **aiguë** sur *Daphnia magna* est réalisé sur une courte période Par rapport à la durée de vie de l'organisme et consiste à observer l'immobilisation à 24 et 48 H d'exposition. Le d'immobilisation sur *Daphnia magna* [ISO 6341, 1996 ; OCDE, 2004] est l'une des méthodes les plus normalisés pour évaluer le danger des produits chimiques et surveiller la qualité de l'eau parce que ce simple, rapide et rentable. La concentration induisant 50% d'immobilisation (EC50) est calculée à partir de la courbe dose-réponse. Cependant, les concentrations produisant des effets aigus sont généralement élevées et dépasser les concentrations environnementales.

Le test de toxicité **chronique** sur *Daphnia magna* [OCDE, 2012] consiste à évaluer les effets des produits chimiques sur la production reproductive de *Daphnia magna*. Ce test est réalisé sur une période relativement longue (21 jours) par rapport à la durée de vie de l'organisme, les effets sont observés sur un critère plus sensible (reproduction) par rapport au critère d'immobilisation du test aigu et fournissent des résultats à long terme. Les nouveau-nés femelles *Daphnia*, âgés de moins de 24 heures au début de l'essai, sont exposés aux

substances d'essai ajoutées à l'eau à une gamme de concentrations. Après 21 jours d'exposition, on évalue le nombre total de progénitures vivantes produites.



**Chapitre 02**  
**Introduction au calcium et**  
**son importance pour notre**  
**modèle biologique**

## 2.1. Le Calcium

### 2.1.1. L'Historique

C'est en 1801 qu'un chimiste suédois du nom de Berzelius a analysé pour la première fois la teneur en calcium et en phosphore des os. En 1840, un physicien suisse a été honoré pour ses études qui démontraient l'importance du calcium dans la croissance normale des pigeons. Au début du XX<sup>e</sup> siècle, les dirigeants de l'industrie minière britannique fournissaient gracieusement du lait à leurs mineurs en raison de l'action protectrice du calcium contre l'empoisonnement au plomb. Un peu plus tard, on découvrira le rôle essentiel du calcium dans les fonctions musculaires et nerveuses. Les scientifiques continuent d'explorer ses nombreux effets sur l'organisme. [2]

### 2.1.2. La Définition

Le calcium appartient au groupe 2 du tableau périodique, avec Be, Mg, Sr et Ba. Il a un nombre atomique de 20, une masse atomique de 40, un état d'oxydation (+2) et six isotopes naturels ( $^{40}\text{Ca}$ ,  $^{42}\text{Ca}$ ,  $^{43}\text{Ca}$ ,  $^{44}\text{Ca}$ ,  $^{46}\text{Ca}$  et  $^{48}\text{Ca}$ ), avec  $^{40}\text{Ca}$  représentant 96,9% et  $^{44}\text{Ca}$  pour 2,1 % De la masse totale [Mittlefehldt, 1999a] in [3]. Le calcium est un métal alcalino-terreux gris doux et est le cinquième élément en masse le plus abondant dans la croûte terrestre. Le calcium est également le cinquième plus grand ion dissous dans l'eau de mer par la molarité et la masse, après le sodium, le chlorure, le magnésium et le sulfate. Le calcium est essentiel pour les organismes vivants, en particulier dans la physiologie cellulaire, où le mouvement de l'ion calcium  $\text{Ca}^{2+}$  dans et hors du cytoplasme fonctionne comme un signal pour de nombreux processus cellulaires. En tant que matériau majeur utilisé dans la minéralisation de l'os, des dents et des coquilles, le calcium est le métal en masse le plus abondant chez beaucoup d'animaux [4].

En termes chimiques, le calcium est réactif et doux pour un métal (bien que plus dur que le plomb, il peut être coupé avec un couteau avec difficulté). C'est un élément métallique argenté qui doit être extrait par électrolyse à partir d'un sel fondu comme le chlorure de calcium. Une fois produit, il forme rapidement un revêtement d'oxyde et de nitrure gris-blanc lorsqu'il est exposé à l'air. Le métal de calcium réagit avec l'eau, générant de l'hydrogène gazeux à une vitesse suffisamment rapide pour être perceptible, mais pas assez rapide à température ambiante pour générer beaucoup de chaleur, ce qui rend utile pour générer de l'hydrogène. Cependant, sous forme de poudre, la réaction avec l'eau est extrêmement rapide, car la surface accrue de la poudre accélère la réaction avec l'eau. Une partie de la raison de la lenteur de la réaction calcium-eau est le résultat du fait que le métal est partiellement protégé par

l'hydroxyde de calcium blanc insoluble. Dans les solutions aqueuses d'acides, où ce sel est soluble, le calcium réagit vigoureusement [4].

### 2.1.3. Les Propriétés chimiques

Les propriétés chimiques du calcium sont résumées dans le tableau suivant (**Tableau 03**) :

**Tableau 03** : Les propriétés chimiques du calcium. [5]

Numéro atomique	20
Masse atomique	40.08 g.mol <sup>-1</sup>
Electronégativité de Pauling	1.0
Masse volumique	1.6 g.cm <sup>-3</sup> à 20°C
Température de Fusion	840°C
Température d'ébullition	1484°C
Rayon atomique (Van der Waals)	0.197 nm
Rayon ionique	0.099 nm
Isotopes	6
Configuration électronique	[Ar]4s <sup>2</sup>
Energie de première ionisation	589.6 kJ.mol <sup>-1</sup>
Energie de deuxième ionisation	1145 kJ.mol <sup>-1</sup>
Potentiel standard	-2.87 V
découverte	Le calcium était déjà connu dans l'antiquité. C'est Davy qui l'isola en 1808 et lui donna son nom.

### 2.1.4. Les Caractéristiques notables

Le calcium peut être produit par électrolyse du fluorure de calcium mais plus couramment par réduction sous vide de la Chaux (CaO) par de la poudre d'aluminium. Il brûle avec une flamme jaune-rouge ; exposé à l'air sec il forme une couche protectrice blanche d'oxyde et de nitrure. Il réagit violemment avec l'eau dont il déplace l'hydrogène et forme alors de l'hydroxyde de calcium Ca(OH)<sub>2</sub>. [Brissand et Ternat, 1998 in Boukhatta et Touahir, 2008].

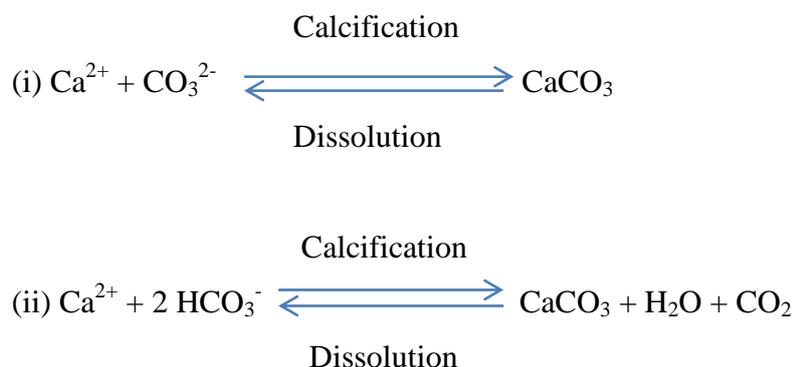
### 2.1.5. Le Rôle

En conjonction avec d'autres éléments, le calcium est le principal constituant des structures squelettiques et des dents. Les tissus osseux fournissent un réservoir de calcium, qui peut être

retiré selon les besoins afin de maintenir des fonctions extra-squelettiques telles que l'équilibre acide alcalin. L'importance du calcium en tant que messager biologique potentiel a été observée par **Ringer, 1883** in [Watts, 1990]. Peu de temps après, il a été déterminé que le calcium est essentiel à la contractilité des muscles cardiaques. On sait maintenant que le calcium est impliqué comme un messager, transmettant des signaux pour cibler les activités dans les cellules à travers des canaux calciques spécifiques [Berridge, 1974]. Les ions de calcium sont essentiels pour l'activation des enzymes nécessaires à la coagulation sanguine normale, à l'activation et à la stabilité de l'enzyme glycolytique et influençant la division et la différenciation cellulaire. Le calcium est également impliqué dans les processus de sécrétion. La libération d'insuline, par exemple, dépend de l'existence d'un calcium adéquat. Le calcium peut stimuler la libération d'insuline également [Ibid, in Watts, 1990].

### 2.1.6. Processus de calcification

Le cycle des carbonates en milieu marin est lié au cycle du carbone. La formation et la dissolution du carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) utilisent des ions  $\text{CO}_3^{2-}$  ou  $\text{HCO}_3^-$  selon les formules suivantes :



Le processus de précipitation du  $\text{CaCO}_3$  est chimiquement contrôlé par l'état de saturation en carbonate de calcium de l'eau de mer  $\Omega$ .

$$\Omega = [\text{Ca}^{2+}] \times [\text{CO}_3^{2-}] / K_{sp}$$

Où  $[\text{Ca}^{2+}]$  est la concentration en ions calcium,  $[\text{CO}_3^{2-}]$  est la concentration en ions carbonate et  $K_{sp}$  est une constante stoechiométrique relative à la forme de  $\text{CaCO}_3$  variant avec la température, la salinité et la pression.

Une sursaturation de l'eau de mer en  $\text{CaCO}_3$  ( $\Omega > 1$ ) favorise sa précipitation alors qu'une sous saturation de l'eau de mer ( $\Omega < 1$ ) la rend "corrosive" et favorise le processus de dissolution [Feely et al, 2008].

### 2.1.7. L'Origine de la calcification

Ces processus de calcification et de dissolution peuvent être d'origine chimique ou biologique. Ils régissent la contre-pompe des carbonates et impactent à la fois les quantités de CID (le carbone inorganique dissous) mais aussi l'alcalinité totale ( $A_T$ ) de l'eau de mer définie comme la capacité de l'eau de mer à neutraliser les acides [Dickson et al, 2003]. Pour chaque mole de  $\text{CaCO}_3$  précipitée,  $A_T$  augmente de 2 équivalents [Smith et Key, 1975].

### 2.1.8. La salinisation

Le terme de « salinisation des eaux » est utilisé pour décrire l'augmentation de la teneur en sels dissous des eaux superficielles. Malgré la variété des mécanismes impliqués dans ces processus, il est possible de les classer en deux catégories, la salinisation naturelle, aussi appelée « salinisation primaire », et la salinisation anthropique ou « salinisation secondaire » [Williams, 1987].

#### 2.1.8.1. La salinisation naturelle

Le calcium est le cation le plus commun trouvé dans les eaux de surface européennes, son origine est principalement géologique, en particulier lorsqu'il y a des dépôts de carbonates ou de gypse présents [Meybeck et Helmer, 1989]. Mais dans les régions arides et semi-arides de la planète, l'évapotranspiration produit une hausse de la teneur en sels des eaux de surface qui engendre une augmentation des concentrations de sodium et de calcium [Williams, 1987]. Ce phénomène est amplifié par des températures et une irradiation importante qui entraîne une remonté des nappes aquifères et des sels minéraux contenus dans les sols. Sodium et calcium peuvent alors devenir les cations majoritaires [Williams, 1987].

#### 2.1.8.2. La salinisation anthropique

La « salinisation secondaire » est principalement due à trois facteurs anthropiques. Les pratiques agricoles, et en particulier une irrigation associée à un mauvais système de drainage [Silva et Davies, 1997, 1999], sont souvent mises en cause [Williams, 1987], car en favorisant l'évaporation de l'eau dans les zones arides, elles engendrent la précipitation de cristaux de sel en surface. L'irrigation provoque une diminution des flux d'eau sans diminuer les flux de sels. Le deuxième grand facteur anthropique est la demande croissante d'eau souterraine qui est à l'origine d'intrusion d'eau de mer et de la salinisation des aquifères côtiers. Une troisième catégorie de facteurs anthropiques de salinisation regroupe des phénomènes qui peuvent être classés comme marginaux à l'échelle de la planète mais peuvent avoir une grande importance au niveau local. Il s'agit par exemple de l'utilisation de sels de déneigement sur les routes [Williams et al, 1999]. Il s'agit aussi de rejets salins industriels

tels que les effluents des industries chimiques et pétrochimiques, de la production de gaz et des eaux d'exhaures acides [Pringle et al, 1981].

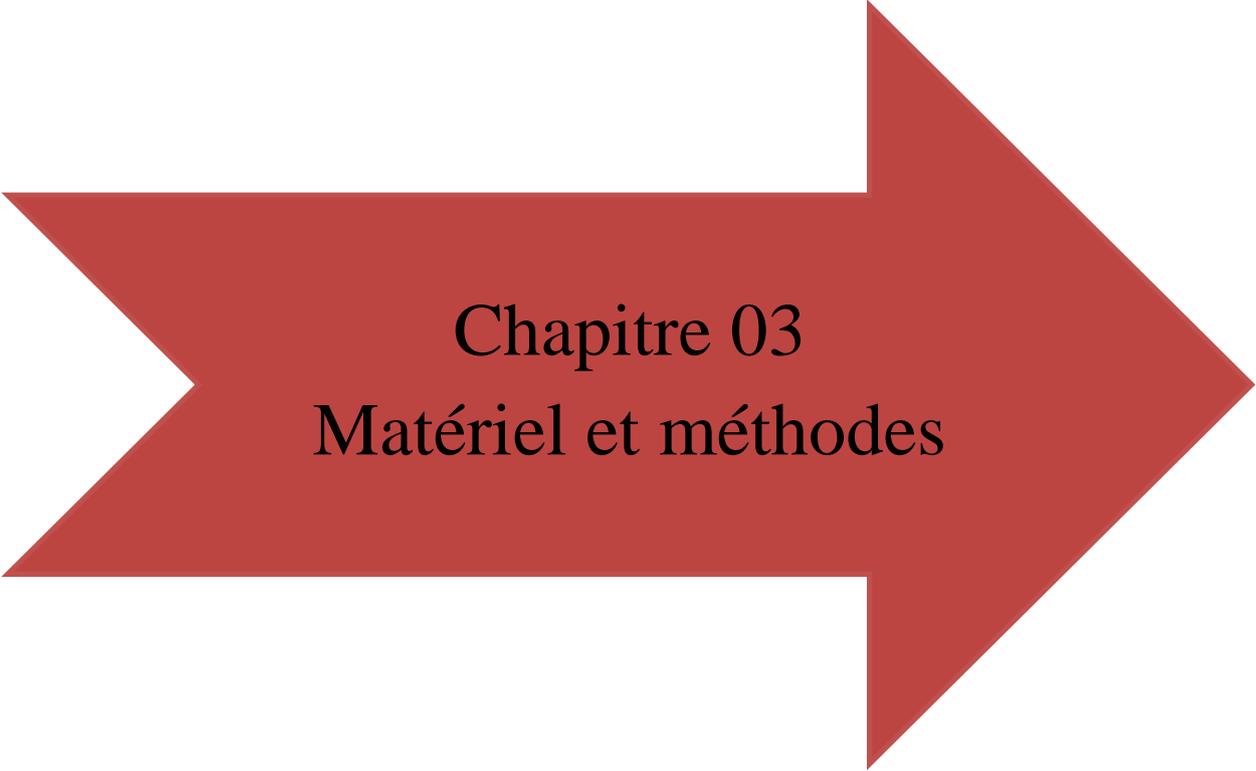
## 2.2. Le calcium chez *Daphnia magna*.

Les espèces de *Daphnia* ont une teneur accrue en calcium (2-8% en poids sec [wt]) [Wærvågen et al, 2002 ; Jeziorski and Yan, 2006]. *Daphnia magna* est l'une des espèces de *Daphnia* avec la plus grande teneur en Ca [Wærvågen et al, 2002]. La teneur en Ca de *Daphnia* augmente avec l'élévation des concentrations de Ca dans l'eau.

### 2.2.1. La calcification chez *Daphnia magna*

Le processus de calcification de *D. magna* est complété peu de temps après la mue (c'est-à-dire dans les 24 à 48 h) [Alstad et al, 1999]. Il semble irréaliste que les daphnies incorporent suffisamment de Ca par ingestion de nourriture pour répondre à la demande de Ca pour la calcification. Il est raisonnable de penser que l'absorption du Ca de l'eau doit entraîner une calcification rapide. En effet, Cowgill et al, 1986 ont montré que la teneur en Ca des daphnies dépend des concentrations de Ca dans l'eau plutôt que dans leurs aliments, ce qui indique que le Ca provient principalement de l'eau. Cependant, l'importance relative du Ca alimentaire et hydrique n'a pas été quantifiée et l'importance du Ca alimentaire dans des conditions déficientes en Ca n'a pas été étudiée. La plupart du Ca est probablement associé à des minéraux carbonés et phosphatés dans la carapace [Stevenson, 1985 in Bliss et Mantel, 2012].

Chez *D. magna*, la calcification est fortement affectée lorsque le Ca est inférieur à 5 mg /l [Alstad et al, 1999]. Lorsque Ca est inférieur à 10 mg /l, la production d'œufs par *D.magna* est fortement réduite [Hessen et al, 2000]. Les daphnies juvéniles sont plus sensibles à la limite du Ca que les adultes [Hessen et al, 2000 ; Rukke, 2002], bien que le mécanisme sous-jacent pour cette susceptibilité ne soit pas clair.



**Chapitre 03**  
**Matériel et méthodes**

### 3.1. Matériel biologique (bio indicateur)

Dans le cadre de cette étude, l'espèce la plus utilisée est *Daphnia magna* qui fait l'objet d'un test normalisé par l'AFNOR. Ce microcrustacé été recommandé en tant qu'espèce modèle dans différents bioessais standardisés pour évaluer les risques chimiques [ISO 6341, 1996]. Lorsque les conditions sont favorables la population des daphnies compose uniquement de femelles qui pondent des œufs parthénogénétiques et on constate que l'apparition d'éphippies (reproduction par voie sexuée) quand les conditions deviennent défavorables. Ce modèle biologique a été choisi pour les tests écotoxicologiques parce qu'elle présente plusieurs vertus :

- Leur mode de reproduction (par parthénogenèse) assure une population stable génétiquement.
- L'élevage de la population de *Daphnia magna* est facile.
- Fécondité régulière et importante de juvéniles utilisés pour les tests.
- Leur taille est relativement petite.
- Joue un rôle très important dans l'écosystème aquatique (consommateurs primaires).

### 3.2. Matériels de laboratoire

- Aquarium en verre.
- Un microscope.
- Pompe et diffuseur d'oxygène.
- Tubes à essais.
- Boîtes de pétrie.
- Portoirs.
- Pipette.
- Un micromètre.
- Bécher 100ml.
- Lames

### 3.3. Méthodes

Cette étude a été réalisée dans le Laboratoire de conservation des zones humides (LCZH). Elle consiste à étudier l'impact écotoxicologique du calcium sur les différents paramètres du cycle de vie de *daphnia magna* pour une période de 21 jours (test chronique). Nous avons mis en place à un élevage du matériel biologique puis aux expérimentations.

### 3.3.1. Culture de *Daphnia magna*

L'élevage de la population a été initié par des daphnies prélevées à partir de la mare Boukhadra (Annaba) mises dans un aquarium remplis au 2/3 de leur hauteur avec une eau de canalisation déchlorinée et oxygénée. L'aquarium est équipé par une pompe qui diffuse l'oxygène nécessaire pour la croissance de ces daphnies. Comme nourriture nous avons utilisé : la levure (*Saccharomyces cerevisiae*) qui présente une taille facilement absorbable par les daphnies et l'extrait de l'épinard (*Beta vulgaris maritima*), pour la réussite de la culture, ces derniers doivent être distribués avec parcimonie très régulièrement (chaque deux jour). [Touati et Samraoui, 2002].

#### ❖ Préparation de l'extrait de l'épinard

Un kilogramme de *Beta vulgaris maritima* est lavé, haché puis bouillit dans un litre d'eau de robinet. Le contenu est mixé, homogénéisé puis filtré. L'homogénat est conservé dans le réfrigérateur à 4°C et utilisé ultérieurement [Chakri et Samraoui, 2015].

### 3.3.2. Mode opératoire

Le but de cette présente étude est d'étudier l'impact de la toxicité du calcium sur les différents paramètres de cycle de vie de *Daphnia magna* (la survie, la croissance et la reproduction). On s'intéresse également à utiliser *Daphnia magna* comme une espèce bio-indicatrice pour évaluer l'impact de  $\text{Ca}^{2+}$  sur les écosystèmes aquatiques.

C'est un test de toxicité à long terme (21 jours) normalisé qui consiste à évaluer l'effet de calcium sur la capacité reproductive de *Daphnia magna* [OECD, 1998]. Les jeunes femelles de *Daphnia magna* âgées de moins de 24 heures au début de l'essai sont exposées à une gamme de concentrations du Calcium (0.5, 5, 10, 20 et 25 mg/l).

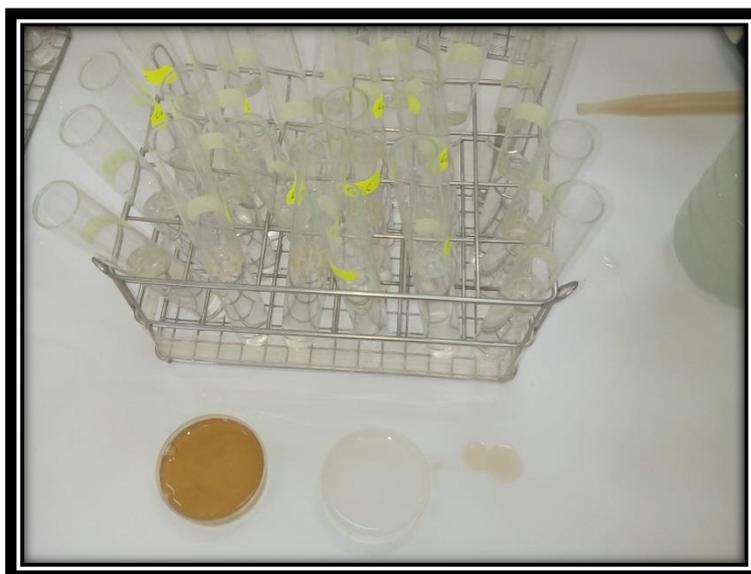
Les néonates sont placés individuellement dans des tubes à essais en verre de 30 ml, contenant de solution constitué de l'eau dichlorinée, de la nourriture (pour les témoins) et de la concentration désirée du Calcium (pour les autres échantillons). Les daphnies sont nourries chaque deux jour par les gouttes d'épinard et de la levure, le milieu est renouvelé chaque 2 jours. On a utilisé 10 répliquas par concentration et 10 aussi pour le témoin. Les daphnies sont incubées dans les mêmes conditions que celle les cultures mères. Les daphnies obtenues pendant le test sont observées et mesurés. Le sexe et la morphologie des nouveau-nées sont observés par microscope. La longueur des daphnies est mesurée par un micromètre (du haut de la tête jusqu'à la base de son épine apicale). Le sexe ratio est défini comme le pourcentage du nombre total des mâles divisé par le nombre total des néonates. Le poids des femelles adultes est mesuré à la fin de test (21 jours).

Les paramètres exploités sont :

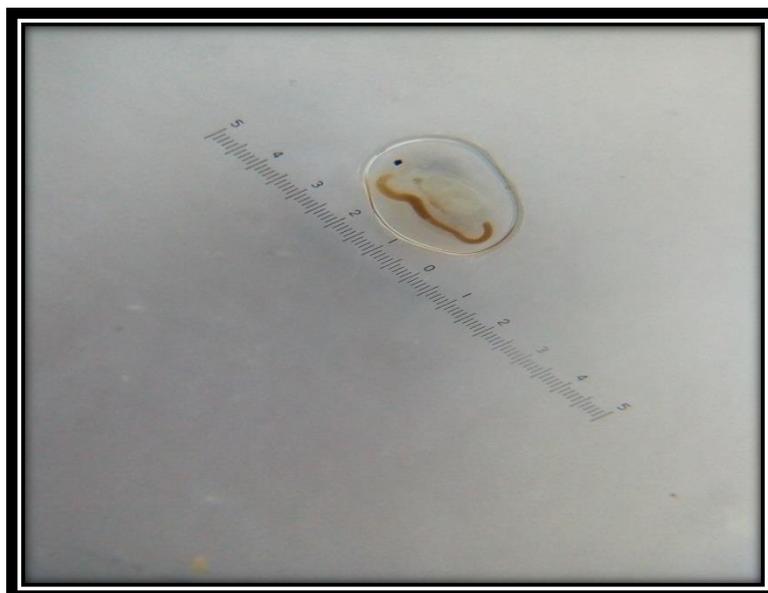
- ✚ Taille des femelles adultes à la 1<sup>ère</sup> reproduction (les mères) en mm.
- ✚ Taille des juvéniles à la 1<sup>ère</sup> reproduction (nouveau-nés) en mm.
- ✚ Taille des femelles adultes à la 2<sup>ème</sup> reproduction (les mères) en mm.
- ✚ Taille des juvéniles à la 2<sup>ème</sup> reproduction (nouveau-nés) en mm.
- ✚ Âge à la maturation.
- ✚ Âge des femelles à la première ponte.
- ✚ L'intervalle de ponte (moyenne) en jours.
- ✚ La grandeur ou taille de ponte (nombre moyen des petits cumulé par mère à la fin du test).
- ✚ La longévité (la moyenne en nombre des jours pendant laquelle les mères sont restées en vie sur la durée de test).
- ✚ Le nombre total des descendants produit par animal parent (moyenne des petits cumulé par mère à la durée de test).
- ✚ Le nombre de ponte par femelle durant le test de 21 jours.
- ✚ Le poids des femelles à la fin de test.
- ✚ La taille des femelles à la fin de test.
- ✚ La survie.
- ✚ Le sexe ratio (pourcentage des mâles dans la descendance).

### 3.3.3. Analyse statistique

Nous avons calculé la moyenne et l'écart type pour chaque paramètre en utilisant Microsoft office excel 2010, et nous avons utilisé l'analyse de la variance en utilisant Biostat 2007 à un facteur ou l'ordre 1 pour tester l'impact écotoxique du calcium sur les différents paramètres du cycle de vie de *Daphnia magna*. La différence significative est établie à  $P < 0,05$ .



**Figure 09** : L'alimentation des daphnies par les gouttes d'épinard.



**Figure 10** : Mesure de la taille des daphnies avec un micromètre.



**Chapitre 04**  
**Résultats et discussion**

#### 4.1. L'impact du calcium sur les différents paramètres de cycle de vie de *Daphnia magna*

##### 4.1.1. L'âge à la maturation

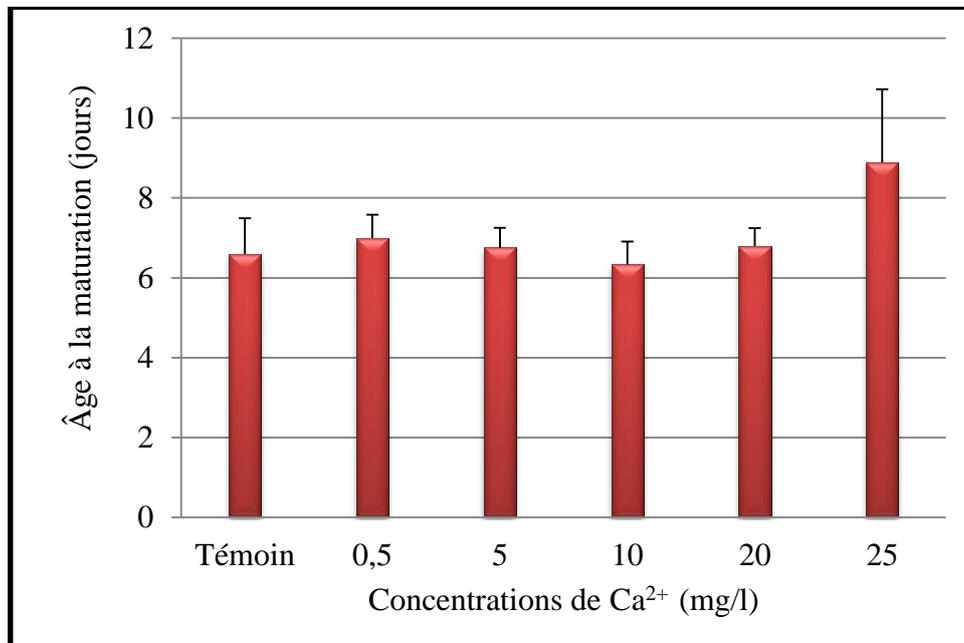
Les résultats ainsi obtenus (**Fig 11**) montrent que l'âge moyen à la maturation est 6.6 jours dans le témoin, en occurrence les nouveau-nés vont mettre entre 6 à 7 jours pour arriver au stade de maturation dans les concentrations (0.5-5-10-20 mg/l) de  $\text{Ca}^{2+}$  et plus de 8 jours dans la concentration (25 mg/l). Les résultats statistiques montrent l'existence de différences significatives dans la concentration (25 mg/l), ( $p < 0.05$ ).

##### 4.1.2. L'âge à la première ponte

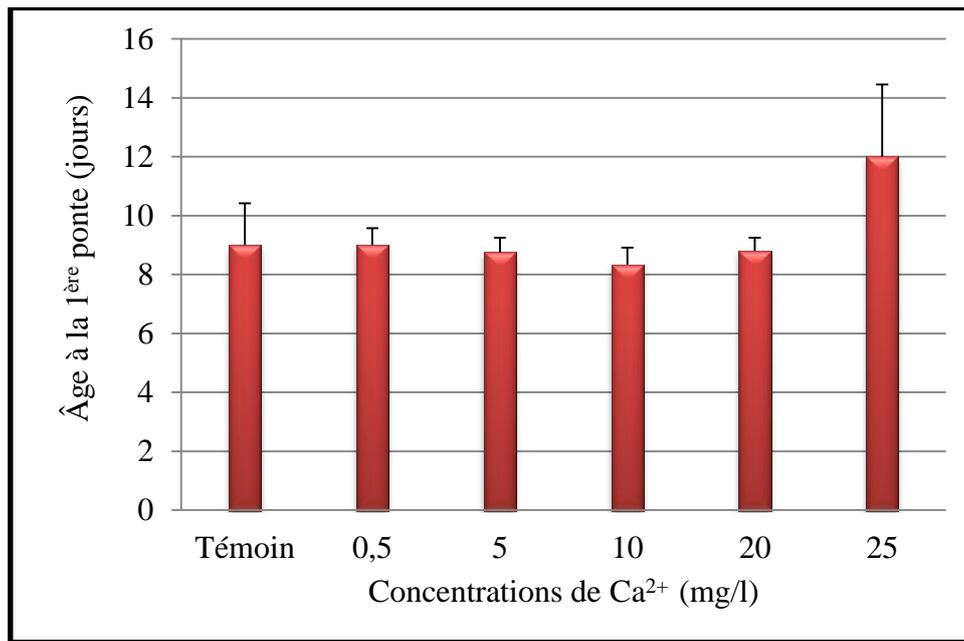
Les résultats recueillis (**Fig 12**) ont montré que l'âge moyen des nouveau-nés à la première ponte est 9 jours pour le témoin et pour la concentration (0.5 mg/l) de  $\text{Ca}^{2+}$ , mais légèrement réduit pour les concentrations (5-10-20 mg/l) sauf à la concentration (25 mg/l) il est élevé au 12<sup>ème</sup> jour. Les analyses statistiques dévoilent une différence significative dans la concentration (25 mg/l), ( $p < 0.05$ ).

##### 4.1.3. La taille des femelles à la première ponte

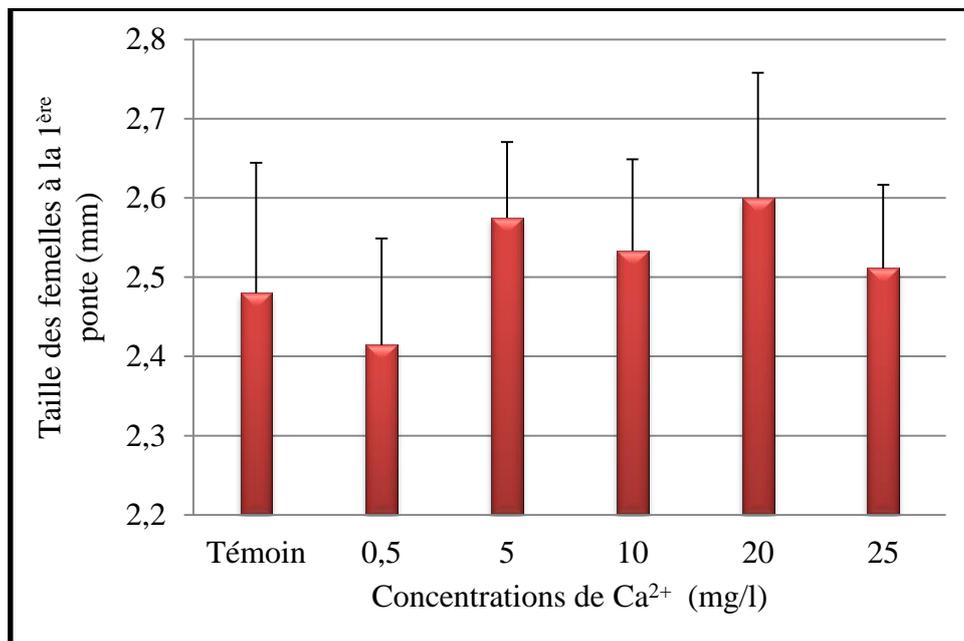
A la lumière des résultats collectés (**Fig 13**), la taille moyenne des femelles à la première ponte est légèrement réduite chez *D.magna* traitée par une concentration de (0.5 mg/l) de  $\text{Ca}^{2+}$  par rapport au témoin et aux autres concentrations. Les analyses statistiques ne révèlent aucune différence significative ( $p > 0.05$ ).



**Figure 11 :** Variation de l'âge à la maturation chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de  $\text{Ca}^{2+}$



**Figure 12 :** Variation de l'âge à la première ponte chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de Ca<sup>2+</sup>



**Figure 13 :** Variation de la taille des femelles à la première ponte chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de Ca<sup>2+</sup>

#### 4.1.4. La taille des femelles à la deuxième ponte

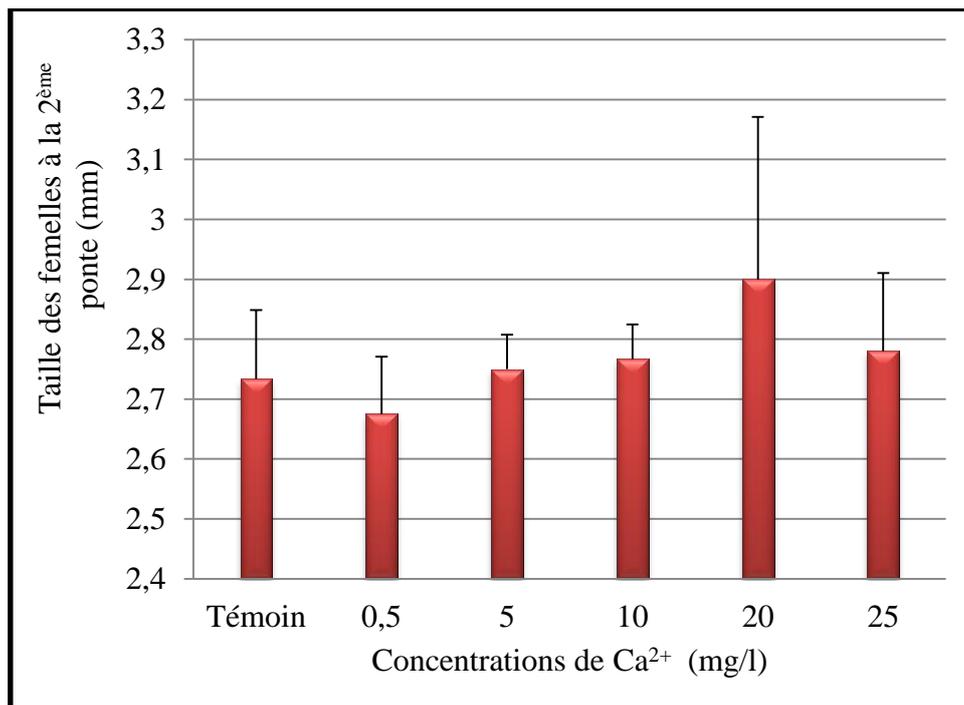
La taille moyenne des femelles à la deuxième ponte est également élevée dans la concentration (20mg/l) de  $\text{Ca}^{2+}$  en comparaison avec le témoin et aux autres concentrations (Fig 14). Les analyses statistiques ne dévoilent aucun impact significatif ( $p>0.05$ ).

#### 4.1.5. La taille des femelles à la première et à la deuxième ponte

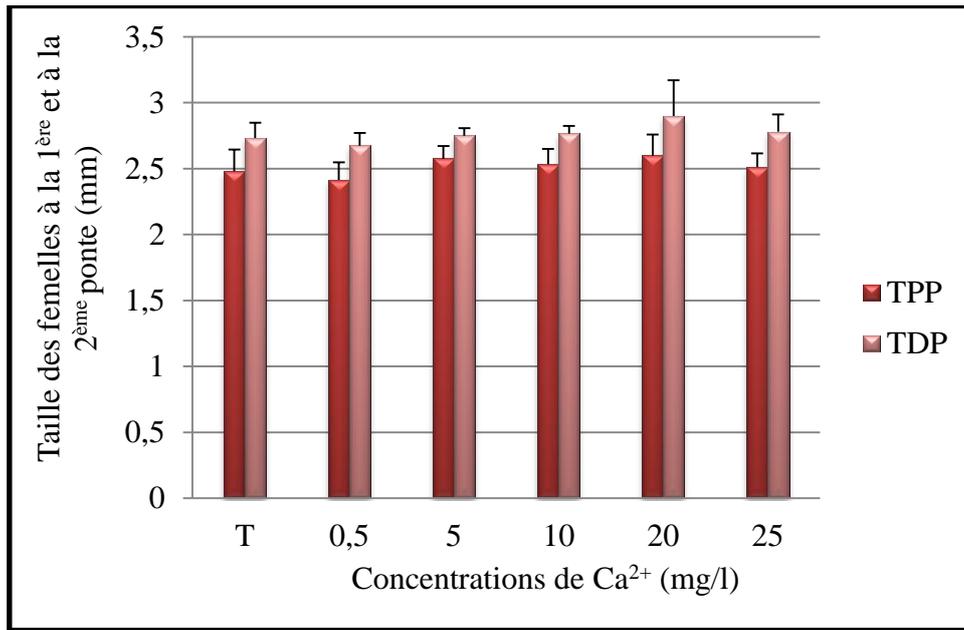
Les résultats montrent clairement que la taille des femelles à la deuxième ponte est supérieure à celle de la première ponte (Fig 15).

#### 4.1.6. La taille des juvéniles à la première ponte

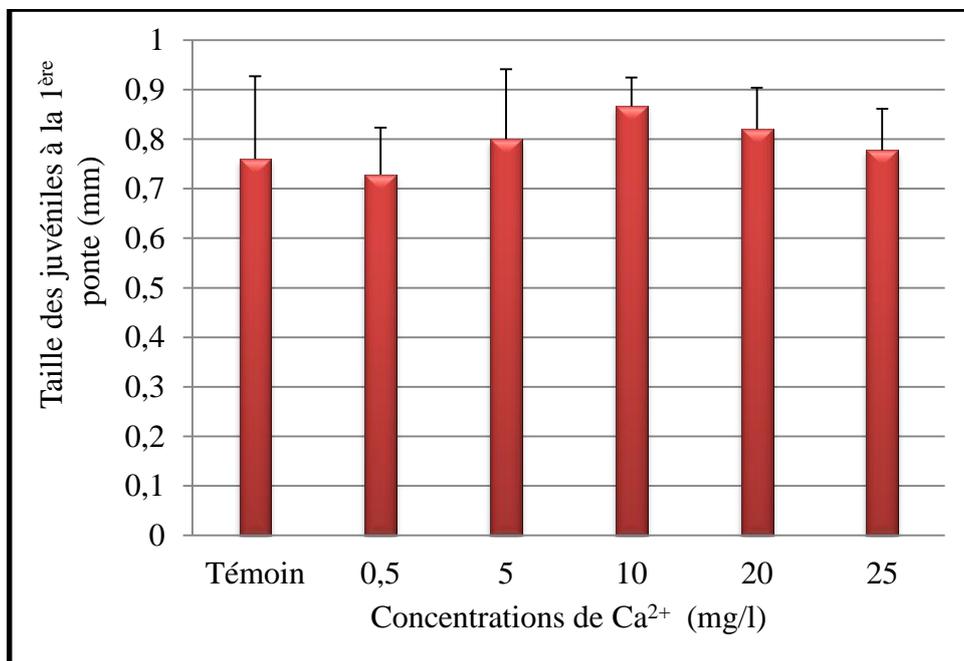
Les résultats obtenus dans les différents bioessais en utilisant *D.magna*, montrent que la taille moyenne des juvéniles à la première ponte est un peu élevée dans la concentration (10 mg/l) de  $\text{Ca}^{2+}$  en comparaison au témoin et aux autres concentrations (Fig 16). La comparaison des valeurs moyennes montre que les différences ne sont pas significatives ( $p>0.05$ ).



**Figure 14 :** Variation de la taille des femelles à la deuxième ponte chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de  $\text{Ca}^{2+}$



**Figure 15 :** Variation de la taille des femelles à la première et à la deuxième ponte chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de Ca<sup>2+</sup>



**Figure 16 :** Variation de la taille des juvéniles à la première ponte chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de Ca<sup>2+</sup>

#### 4.1.7. La taille des juvéniles à la deuxième ponte

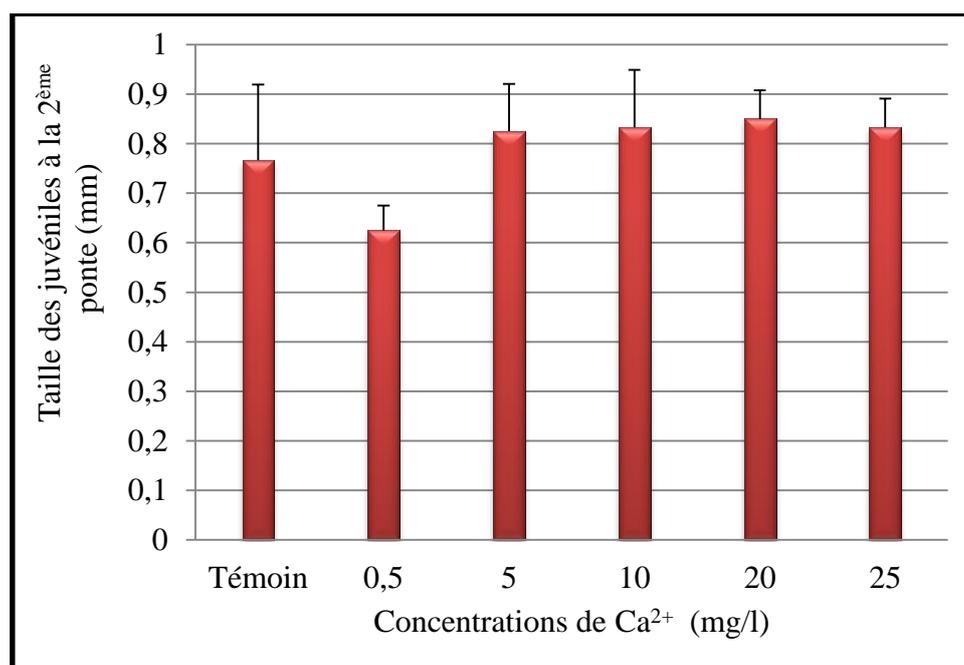
La figure 17 montre que la taille moyenne des juvéniles à la deuxième ponte est considérablement restreinte au niveau de concentration (0.5 mg/l) de  $\text{Ca}^{2+}$ , et légèrement réduite pour le témoin par rapport aux autres concentrations. Les différences ne sont pas significatives ( $p > 0.05$ ).

#### 4.1.8. La taille des juvéniles à la première et à la deuxième ponte

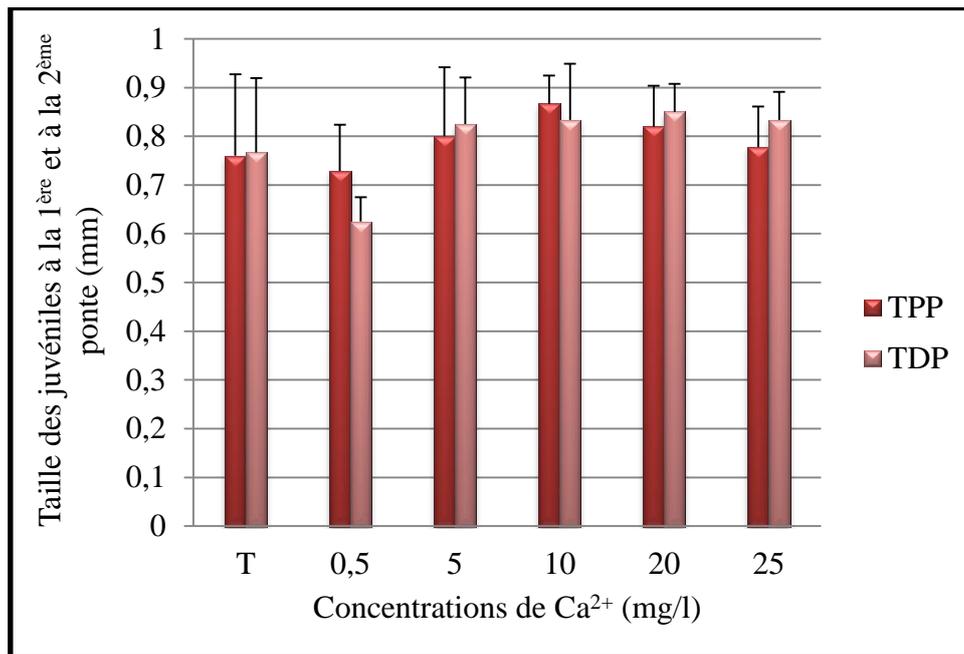
Les résultats montrent qu'il y a une petite différence (diminution) de la taille des juvéniles à la deuxième ponte en comparaison à la première ponte (**Fig 18**).

#### 4.1.9. Le nombre de ponte par femelle

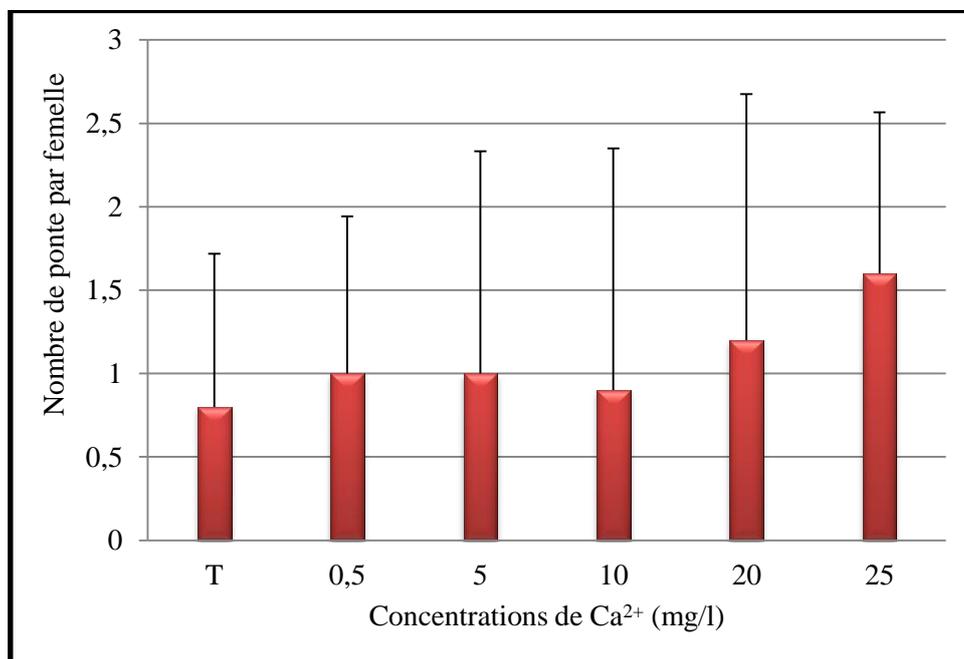
Les résultats signalent que le nombre moyen de ponte par femelle est très élevé dans la concentration (25 mg/l) de  $\text{Ca}^{2+}$  (**Fig 19**), et est un peu haussé dans la concentration (20 mg/l) comparativement avec le témoin et les concentrations (0.5-5-10 mg/l). Les analyses statistiques ne révèlent aucune différence significative ( $p > 0.05$ ).



**Figure 17** : Variation de la taille des juvéniles à la deuxième ponte chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de  $\text{Ca}^{2+}$



**Figure 18 :** Variation de la taille des juvéniles à la première et à la deuxième ponte chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de Ca<sup>2+</sup>



**Figure 19 :** Variation de nombre de ponte par femelle chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de Ca<sup>2+</sup>

#### 4.1.10. L'intervalle de ponte

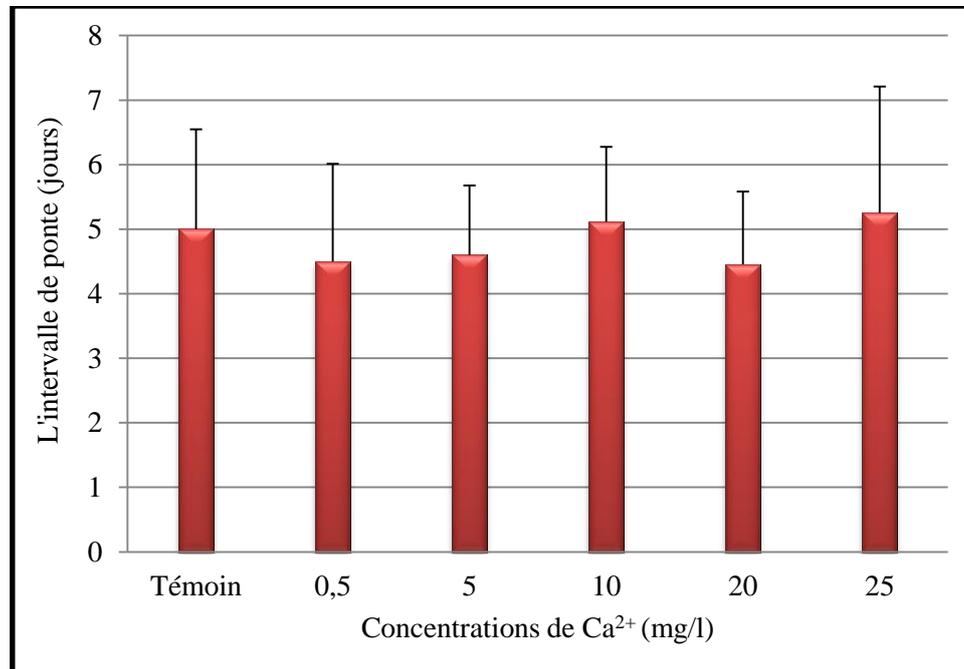
Les résultats obtenus montrent que l'intervalle de ponte moyen est légèrement élevé dans le témoin et les concentrations (10-25 mg/l) de  $\text{Ca}^{2+}$  comparativement aux autres concentrations (Fig 20). Les analyses statistiques ne sont pas significatives ( $p>0.05$ ).

#### 4.1.11. La grandeur de ponte

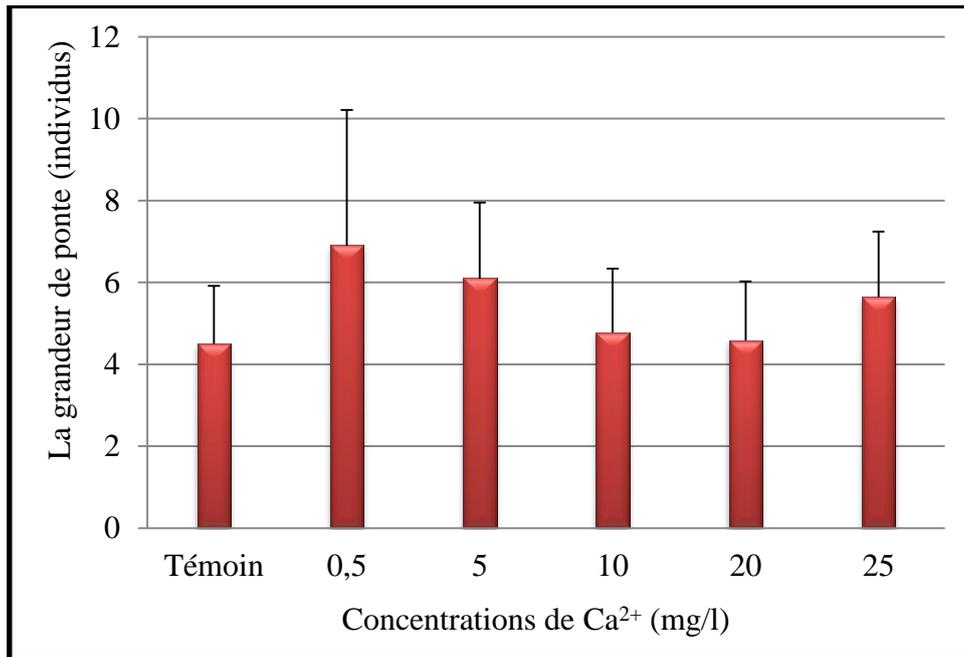
La figure 21 présente la grandeur moyenne de ponte, elle est élevée dans les concentrations (5 – 25 mg/l) de  $\text{Ca}^{2+}$ , et est la même pour le témoin et les concentrations (10-20 mg/l), cependant elle est très élevée au niveau de la concentration (0.5 mg/l). Les analyses statistiques ne dévoilent aucun impact écotoxique du calcium sur la grandeur de ponte ( $p>0.05$ ).

#### 4.1.12. Le nombre total des descendants produit par femelle

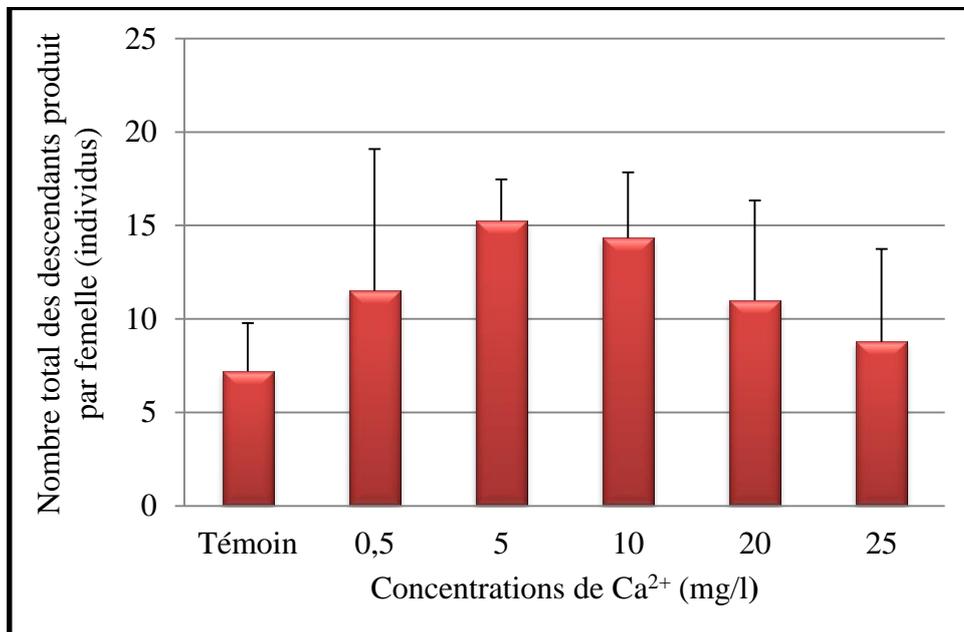
Les résultats recueillis ont montré que le nombre total des descendants produit par femelle est considérablement élevé au niveau de la concentration (5 mg/l) de  $\text{Ca}^{2+}$  (plus de 15 individus) en comparaison avec les autres concentrations (Fig 22), par contre au niveau du témoin est très réduit (environ 7 individus). Les résultats statistiques montrent l'existence des différences significatives dans les concentrations (5 – 10 mg/l), ( $p<0.05$ ).



**Figure 20 :** Variation de l'intervalle de ponte chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de  $\text{Ca}^{2+}$



**Figure 21 :** Variation de la grandeur de ponte chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de Ca<sup>2+</sup>



**Figure 22 :** Variation de nombre total moyen des descendants produit par femelle chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de Ca<sup>2+</sup>

#### 4.1.13. La longévité

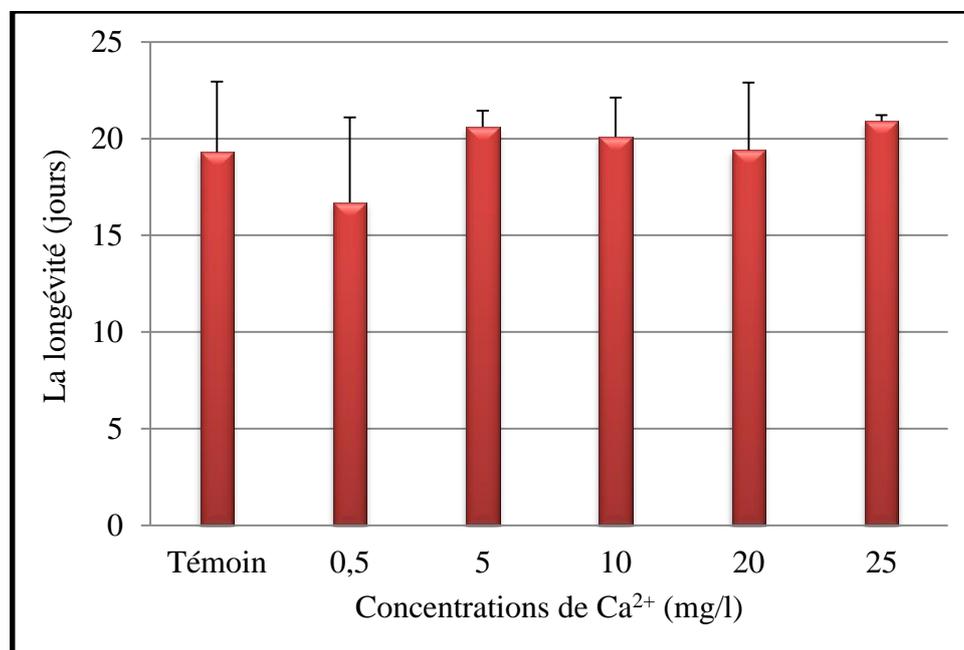
A la lumière des résultats collectés (**Fig 23**), les valeurs moyennes de la longévité des daphnies sont les même dans le témoin et la concentration (20 mg/l) de  $\text{Ca}^{2+}$ , et aussi sont plus proches dans les concentrations (5-10 mg/l) ; alors qu'ils sont très réduites dans la concentration (0.5 mg/l) par contre qu'ils sont forcément élevées dans la concentration (25 mg/l). Les analyses statistiques ne dévoilent aucune différence significative ( $p>0.05$ ).

#### 4.1.14. La taille des femelles à la fin de test

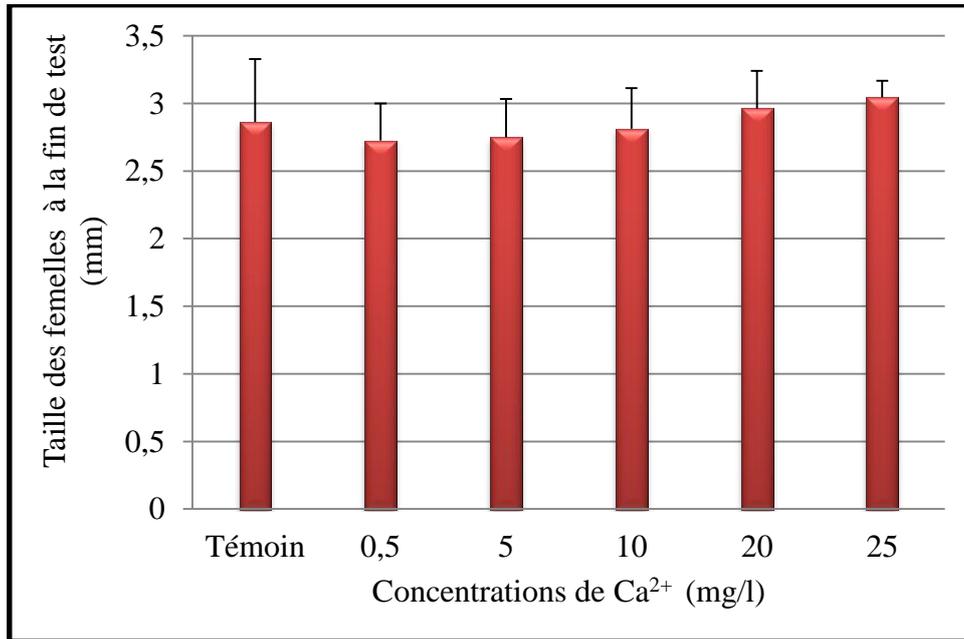
Les valeurs moyennes de la taille des femelles à la fin de test sont connues une augmentation au niveau des concentrations (20-25 mg/l) de  $\text{Ca}^{2+}$ , tandis que les valeurs au niveau des concentrations (0.5-5 mg/l) sont assez réduites par rapport au témoin (**Fig 24**). Mais cette différence est également non significative ( $p>0.05$ ).

#### 4.1.15. Le poids des femelles à la fin de test

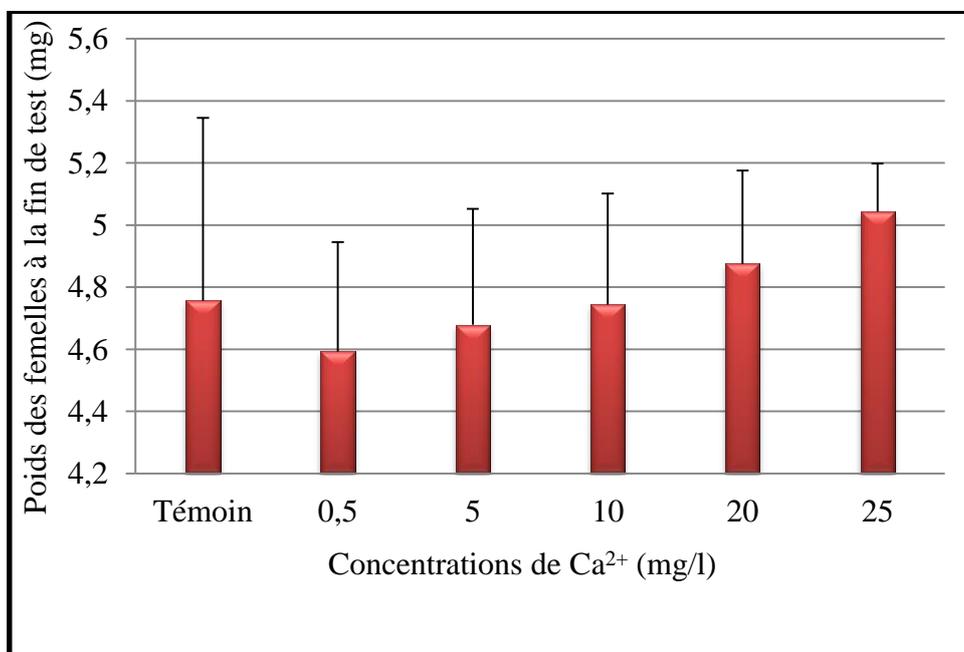
Les résultats ainsi obtenus (**Fig 25**), signalent que le poids moyen des femelles à la fin de test est élevé pour la concentration (25 mg/l) de  $\text{Ca}^{2+}$  comparativement au témoin, cependant dans les concentrations (0.5-5-10 mg/l) est légèrement restreint par rapport au témoin. Les résultats statistiques ne sont pas significatives ( $p>0.05$ ).



**Figure 23 :** Variation de la longévité chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de  $\text{Ca}^{2+}$



**Figure 24 :** Variation de la taille des femelles à la fin de test chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de Ca<sup>2+</sup>



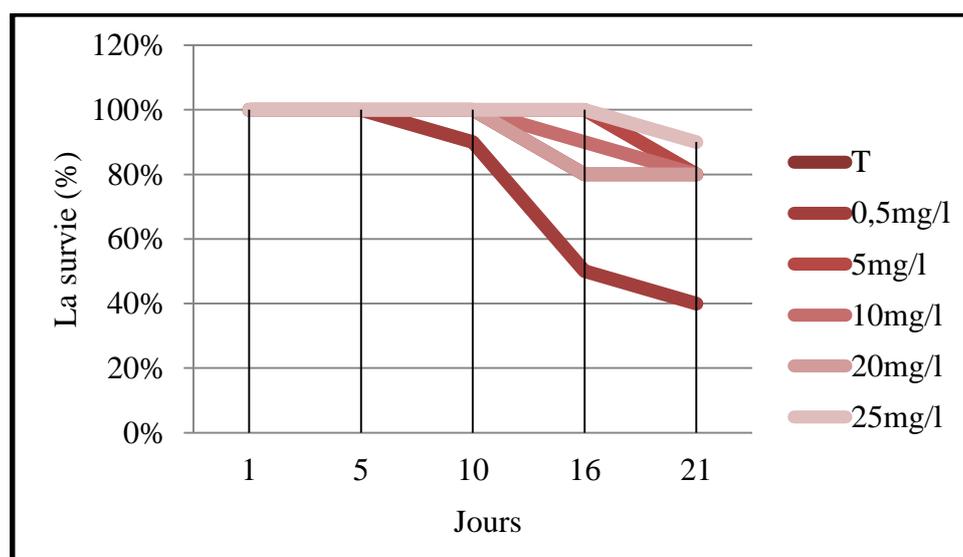
**Figure 25 :** Variation de poids des femelles à la fin de test chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de Ca<sup>2+</sup>

#### 4.1.16. La survie

Les résultats recueillis (**Fig 26**), indiquent que le pourcentage de survie des daphnies est le même chez le témoin et les concentrations (5-10-20 mg/l) de  $\text{Ca}^{2+}$  (80 %). Alors que dans la concentration (0.5 mg/l) est très réduit (40 %) par contre à la concentration (25 mg/l) il est élevé (90 %). Les analyses statistiques ne révèlent aucune différence significative ( $p>0.05$ ).

#### 4.1.17. Le sex ratio

Les résultats obtenus montrent qu'il y a 4 individus mâles au niveau de la concentration (5 mg/l) de  $\text{Ca}^{2+}$ , et 12 individus mâles au niveau de la concentration (25 mg/l). (**Tableau 04**).



**Figure 26 :** L'évolution de la survie en fonction du temps chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de  $\text{Ca}^{2+}$

**Tableau 04 :** Variation de sex ratio total chez *Daphnia magna* exposée à des différentes concentrations de  $\text{Ca}^{2+}$

Concentrations de $\text{Ca}^{2+}$ (mg/l)	Pourcentage des mâles (%)
Témoin	0
0.5	0
5	6.55
10	0
20	0
25	14.81

## 4.2. Discussion

Les zooplanctons comme *Daphnia magna* sont un lien important dans les chaînes alimentaires des écosystèmes aquatiques et leur disparition ou la baisse de la densité affecte considérablement les relations trophiques.

Lors du test chronique, *D.magna* a été exposée aux concentrations de calcium suivantes : (0.5 – 5 – 10 – 20 – 25 mg/l) pendant 21 jours.

Dans notre travail l'âge à la maturation et l'âge à la première ponte sont clairement retardés dans la concentration 25 mg/l de  $\text{Ca}^{2+}$  par rapport au témoin, c'est à cause des conditions défavorables du milieu, qui représente une stratégie d'adaptation à ce milieu.

La taille des femelles à la première ponte dans toutes les concentrations est plus proche à celle du témoin, ces résultats sont accord avec les travaux antérieures de [Touati et Samraoui, 2002 ; Chakri, 2007 ; Manar, 2008].

La taille des femelles à la deuxième ponte est supérieure à celle de la première ponte [Touati et Samraoui, 2002 ; Chakri, 2007].

La taille des juvéniles dans la concentration 0.5 mg/l de  $\text{Ca}^{2+}$  est réduite sous l'effet de la pression exercée sur les individus, l'accélération de la maturité tout en diminuant la taille devient un avantage pour *Daphnia magna* qui se reproduit alors avant d'atteindre la taille où elle devient plus vulnérable pour les prédateurs. Donc la diminution de la taille est une réponse adaptative de *Daphnia magna* lui permettant la survie en présence de substances chimiques (le calcium).

Le nombre de ponte moyen par femelle est réduit au niveau du témoin par rapport aux daphnies traitées avec des différentes concentrations de calcium, il est clair que les daphnies traitées avec les concentrations de calcium sont favorables pour leur reproduction. On remarque aussi qu'il y a des femelles adultes donnent une seul ponte pendant 21 jours.

Le nombre total des descendants produit par femelle est fortement élevé chez les daphnies traitées avec des différentes concentrations de calcium comparativement au témoin, cette élévation peut être due à la composition du milieu (richesse du milieu en oxygène dissous,...).

La grandeur de ponte est réduite dans le témoin en comparaison aux autres concentrations de  $\text{Ca}^{2+}$ . *Daphnia magna* a augmenté le nombre d'individus par ponte dans les différentes concentrations pour élever la taille de population, en raison de s'adapter aux nouveaux conditions défavorables du milieu.

La longévité et le pourcentage de survie sont sensiblement réduits dans la concentration 0.5 mg/l de  $\text{Ca}^{2+}$ . Cela est attribué à la carence en calcium qui peut limiter le succès de survie des daphnies.

Les résultats moyens de l'intervalle de ponte dans les concentrations 0.5 – 5 – 20 mg/l de  $\text{Ca}^{2+}$  sont réduites en comparaison au témoin, cet intervalle est élevé soit pour le témoin ou pour les autres concentrations par rapport aux travaux de [Touati et Samraoui, 2002 ; Chakri, 2007] où il n'est que de l'ordre de 2-4 jours. Des résultats portant sur l'effet des effluents hospitaliers sur *Daphnia magna* et dont l'ensemble de ces eaux est rejeté dans l'Oued Seybouse a montré un intervalle de ponte plus large 6-8 jours [Bougueffa et Boutalbi, 2008] en comparaison à notre étude dont les résultats sont intermédiaires 4-6 jours.

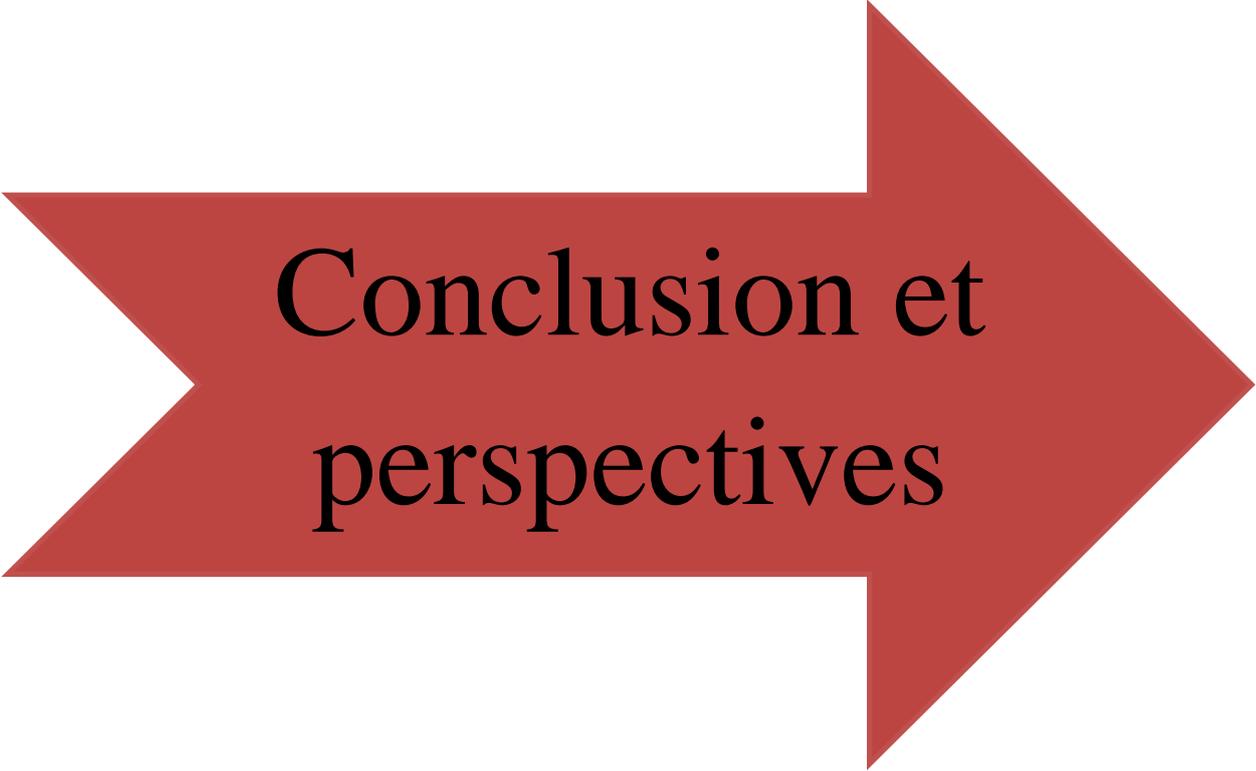
La taille et le poids des femelles à la fin de test dans les différentes concentrations de  $\text{Ca}^{2+}$  sont plus proches à celle de témoin, donc le calcium est un élément essentiel pour les daphnies.

Les résultats du sex ratio montrent qu'il y a quatre individus mâles au niveau de concentration 5 mg/l de  $\text{Ca}^{2+}$  (10 répliquas), et 12 individus mâles dans la concentration 25 mg/l de  $\text{Ca}^{2+}$  (10 répliquas). Cela est attribué à la formation des éphippies à cause des conditions qui deviennent défavorables.

On a remarqué aussi qu'il n'y a aucune malformation au niveau du témoin, ainsi qu'au niveau des échantillons expérimentés.

Enfin, l'utilisation de *Daphnia magna* comme indicateur de la qualité de l'eau, nous permet la mise en évidence de l'effet de calcium sur les paramètres du cycle de vie cités au préalable, afin de connaître les perturbations survenues enregistrées par ce biomarqueur sentinelle qui ouvre des perspectives dans la gestion et la biosurveillance des zones humides en déclenchant le signal d'alarme.

Ce présent travail mérite d'être approfondi et un suivi à long terme dans le but d'évaluer ces marqueurs biologiques de nos zones humides.



Conclusion et  
perspectives

## Conclusion

Ce travail a pour objectif d'évaluer l'impact écotoxique du calcium sur la survie, la croissance et la reproduction d'une espèce représentative des écosystèmes aquatiques d'eau douce, *Daphnia magna*.

Nos résultats ont montré que le comportement de l'invertébré d'eau douce *Daphnia magna* répond rapidement à la toxicité et par conséquent est un indicateur sensible pour le stress toxique.

Les principales conclusions obtenues à partir de ces résultats sont les suivantes :

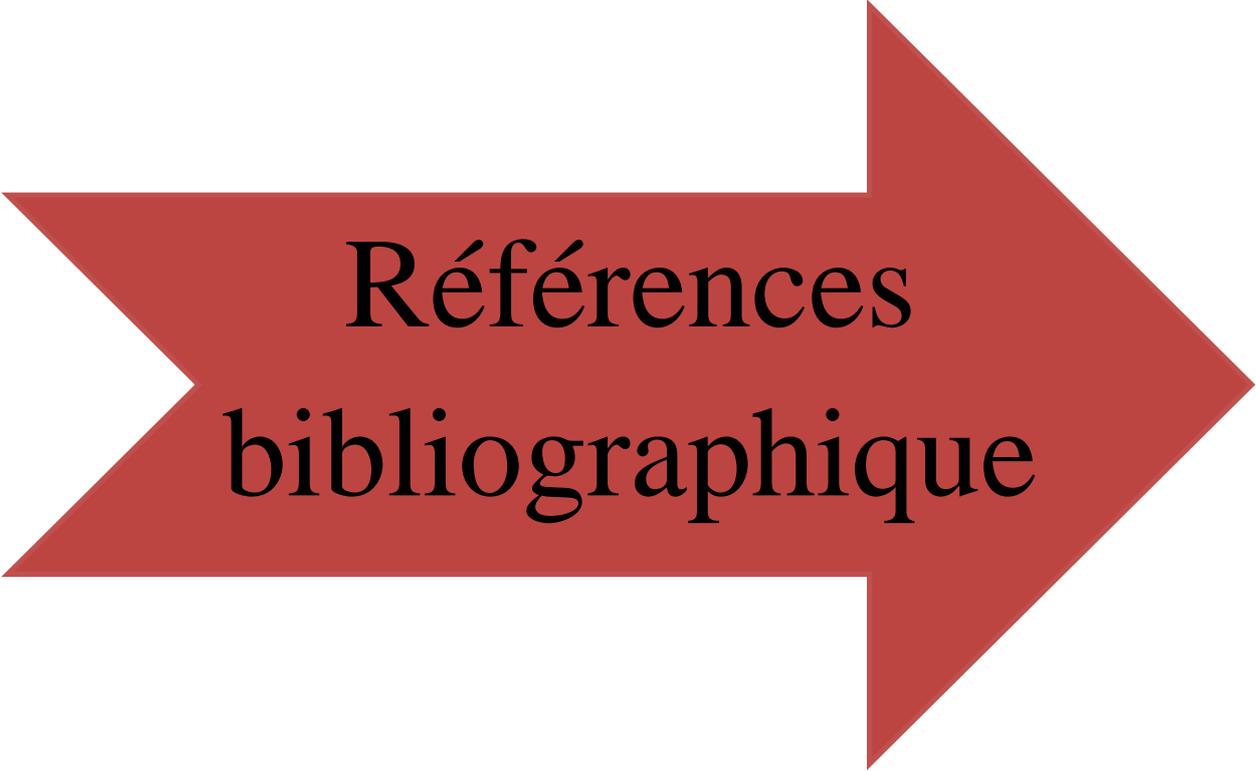
- ✓ L'âge à la maturation et l'âge à la première ponte ont été retardé chez les individus traités par la concentration 25 mg/l de  $\text{Ca}^{2+}$  par rapport au témoin et aux autres concentrations.
- ✓ La taille des femelles à la deuxième ponte est supérieure à celle de la première ponte.
- ✓ En outre, on peut signaler que la longévité et la survie ont subi aussi une diminution dans la concentration 0.5 mg/l contrairement à celui de témoin et d'autres concentrations.
- ✓ Il vaut la peine de mentionner que le nombre total des descendants par femelles est considérablement raccourci au niveau de témoin et à la concentration 25 mg/l en comparaison avec celle des autres concentrations.
- ✓ On note également une production des individus mâles dans les concentrations (5 – 25 mg/l) contrairement au témoin et aux autres concentrations qui renferment seulement des individus femelles.

L'espèce *D. magna* a montré une réelle capacité à révéler les plus faibles concentrations à partir desquelles des effets néfastes sont observés, et par suite confirme les soupçons relatifs à l'impact écotoxique de calcium une fois disséminés dans l'environnement.

**Perspectives**

Les résultats obtenus dans ce mémoire ont abouti à plusieurs conclusions majeures qui ouvrent des multiples pistes et perspectives pour les études futures notamment celles en relation avec la contamination et la toxicité par le calcium dans les écosystèmes aquatiques.

Il est bien de tester les interactions du calcium avec d'autres paramètres physico-chimiques comme la température, le pH, la luminosité et la salinité de l'eau.

A large, solid red arrow pointing to the right, with a white outline. The text is centered within the arrow.

Références  
bibliographique

## A

**Adema, D. M. M. (1978).** *Daphnia magna* as a test animal in acute and chronic toxicity tests. *Hydrobiologia*, 59(2), 125-134.

**Alstad, N. E ; Skardal, L ; et Hessen, D. O. (1999).** The effect of calcium concentration on the calcification of *Daphnia magna*. *Limnology and Oceanography*, 44(8), 2011-2017.

**Amoros, C. (1984).** Introduction pratique à la systématique des organismes des eaux continentales françaises-5. Crustacés Cladocères. *Bulletin mensuel de la Société Linnéenne de Lyon*, 53(3), 72-143.

**AnalystSoft, BioStat - statistical analysis program. Version 2007.** See <http://www.analystsoft.com>

## B

**Benndorf, J. (1990).** Conditions for effective biomanipulation; conclusions derived from whole-lake experiments in Europe. In *Biomanipulation Tool for Water Management* (pp. 187-203). Springer Netherlands.

**Berridge, M. J. (1974).** The interaction of cyclic nucleotides and calcium in the control of cellular activity. *Advances in cyclic nucleotide research*, 6, 1-98.

**Biesinger, K. E ; et Christensen, G. M. (1972).** Effects of various metals on survival, growth, reproduction, and metabolism of *Daphnia magna*. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 29(12), 1691-1700.

**Bliss, D. E ; et Mantel, L. H. (2012).** *Integument, Pigments, and Hormonal Processes: Volume 9: Integument, Pigments and Hormonal Processes*. Academic Press, 533p.

**Boillot, C. (2008).** Évaluation des risques écotoxicologiques liés aux rejets d'effluents hospitaliers dans les milieux aquatiques (Doctoral dissertation, Université Lyon 1), 292p.

**Bougueffa, F ; et Boutalbi, K. (2008).** Étude écologique de l'effet des effluents hospitaliers sur *Daphnia magna*. Mémoire d'ingénieur. Université 08 Mai 1945 Guelma, 41p.

**Boukhatta, H ; et Touahir, S. (2008).** Détermination du Calcium sérique et urinaire, Les différentes formes, et les variations physiopathologiques Régions d'Ouargla (l'hôpital Med Boudiaf), mémoire de fin d'étude université kasdi merbah– Ouargla, 53p.

## C

**Carpenter, S. R ; et Kitchell, J. F. (1993).** *The trophic cascade in lakes*. Cambridge University Press.

**Cauzzi, N. (2007).** Evaluation de l'éco-compatibilité de sédiments contaminés, traités ou non par un procédé physico-chimique, dans le cadre d'un scénario de dépôt en gravière (Doctoral dissertation, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon), 341p.

**Chakri, K. (2007).** Contribution à l'étude écologique de *Daphnia magna* (Branchiopoda : Anomopoda) dans la Numidie, et inventaire des grands Branchiopodes en Algérie. Thèse de doctorat d'état. Université Badji Makhtar Annaba, 173p.

**Chakri, K ; et Samraoui, B. (2015).** Resource partitioning in two coexisting cladocerans, *Daphnia magna* and *Scapheloberis kingi* (Anomopoda: Daphniidae), in north-eastern Algeria. African Journal of Aquatic Science, 40(4), 439-442.

**Chevalier, J. (2014).** Utilisation du comportement natatoire de *Daphnia magna* comme indicateur sensible et précoce de toxicité pour l'évaluation de la qualité de l'eau (Doctoral dissertation, Université de Bordeaux), 153p.

**Colbourne, J. K ; Pfrender, M. E ; Gilbert, D ; Thomas, W. K ; Tucker, A ; Oakley, T. H ; ... et Bauer, D. J. (2011).** The ecoresponsive genome of *Daphnia pulex*. science, 331(6017), 555-561.

**Cowgill, U. M ; Hopkins, D. L ; Applegath, S. L ; Takahashi, I. T ; Brooks, S. D ; et Milazzo, D. P. (1985).** Brood size and neonate weight of *Daphnia magna* produced by nine diets. In Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Eighth Symposium. ASTM International, 891, 233-244.

**Cowgill, U. M ; Emmel, H. W ; Hopkins, D. L ; Applegath, S. L ; et Takahashi, I. T. (1986).** The influence of water on reproductive success and chemical composition of laboratory reared populations of *Daphnia magna*. Water Research, 20(3), 317-323.

## D

**Dickson, A. G ; Afghan, J. D ; et Anderson, G. C. (2003).** Reference materials for oceanic CO<sub>2</sub> analysis: a method for the certification of total alkalinity. Marine Chemistry, 80(2), 185-197.

**Dodson, S. I. (1974).** Zooplankton competition and predation: an experimental test of the size-efficiency hypothesis. Ecology, 55(3), 605-613.

## E

**Ebert, D. (2005).** Ecology, epidemiology, and evolution of parasitism in *Daphnia*. National Library of Medicine, 98p.

**Enserink, E. L ; Kerkhofs, M. J. J ; Baltus, C. A. M ; et Koeman, J. H. (1995).** Influence of food quantity and lead exposure on maturation in *Daphnia magna*; evidence for a trade-off mechanism. Functional Ecology, 175-185.

## F

**Feely, R. A ; Sabine, C. L ; Hernandez-Ayon, J. M ; Ianson, D ; et Hales, B. (2008).** Evidence for upwelling of corrosive" acidified" water onto the continental shelf. *science*, 320(5882), 1490-1492.

**Férard, J. F. (2013).** Ecotoxicology: historical overview and perspectives. In *Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology* (pp. 377-386). Springer Netherlands.

**Fernando, C. H ; Paggi, J. C ; et Rajapaksa, R. (1987).** *Daphnia* in tropical lowlands. *Daphnia*. Mem. Ist. Ital. Idrobiol, 45, 107-141.

**Flössner, D. (2000).** Die Haplopoda und Cladocera (ohne Bosminidae) Mitteleuropas. Backhuys.

**Fox, M. (1957).** Citée par Green, J. (1963). *A biology of Crustacean*. 2ed. witherby ltd, London, 165p.

## G

**Geller, W ; et Müller, H. (1981).** The filtration apparatus of Cladocera: filter mesh-sizes and their implications on food selectivity. *Oecologia*, 49(3), 316-321.

**Green, J. (1954).** Size and reproduction in *Daphnia magna* (Crustacea: Cladocera). *Journal of Zoology*, 124(3), 535-545.

**Green, J. (1956).** Growth, size and reproduction in *Daphnia* (Crustacea: Cladocera). *Journal of Zoology*, 126(2), 173-204.

## H

**Hadas, O ; Kott, Y ; Bachrach, U ; et Cavari, B. (1983).** Ability of *Daphnia* cell-free extract to damage *Escherichia coli* cells. *Applied and environmental microbiology*, 45(4), 1242-1246.

**Haney, J. F ; et Buchanan, C. (1987).** Distribution and biogeography of *Daphnia* in the arctic. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol*, 45, 77-105.

**Hazelwood, D. H. (1966).** Illumination and turbulence effects on relative growth in *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr*, 11, 212-216.

**Hessen, D. O ; Alstad, N. E ; et Skardal, L. (2000).** Calcium limitation in *Daphnia magna*. *Journal of Plankton Research*, 22(3), 553-568.

**Holm, N. P ; et Shapiro, J. (1984).** An examination of lipid reserves and the nutritional status of *Daphnia pulex* fed *Aphanizomenon flos-aquae*. *Limnology and oceanography*, 29(5), 1137-1140.

**Horn, W. (1991).** The influence of biomass and structure of the crustacean plankton on the water transparency in the Saldenbach storage reservoir. In *Biology of Cladocera* (pp. 115-120). Springer Netherlands.

**Horn, W. (2003).** Long-term development of the crustacean plankton in the Saldenbach Reservoir (Germany)—changes, causes, consequences. *Hydrobiologia*, 504(1), 185-192.

### I

**ISO, N. 6341. (1996).** Qualité de l'eau—Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna*.

### J

**Jacob, J. (1962).** Light and turbulence as co-determinants of relative growth rates in cyclomorphic *Daphnia*. *International Review of Hydrobiology*, 47(1), 146-156.

**Jeppesen, E ; Jensen, J.P ; Sondergaard, M ; Fenger-Grøn, M ; Bramm, M.E ; Sandby, K ; Møller, P ; et Rasmussen, H.U. (2004).** Impact of fish predation on cladoceran body weight distribution and zooplankton grazing in lakes during winter. *Freshwater Biology*, 49(4), 432-447.

**Jeziorski, A ; et Yan, N. D. (2006).** Species identity and aqueous calcium concentrations as determinants of calcium concentrations of freshwater crustacean zooplankton. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 63(5), 1007-1013.

### K

**Kasprzak, P ; et Schwabe, W. (1987).** Some observations on the diurnal vertical migration of crustacean zooplankton in a stratified oligotrophic clear water lake (Lake Stechlin, GDR). *Limnologica*. Jena, 18(2), 297-311.

**Kast-Hutcherson, K ; Rider, C. V ; et Leblanc, G. A. (2001).** The fungicide propiconazole interferes with embryonic development of the crustacean *Daphnia magna*. *Environmental toxicology and chemistry*, 20(3), 502-509.

**Kimerle, R. A ; Werner, A. F ; et Adams, W. J. (1985).** Aquatic hazard evaluation principles applied to the development of water quality criteria. In *Aquatic toxicology and hazard assessment: Seventh Symposium*. ASTM (American Society for Testing and Materials) International. pp. 538-547.

**Köthe, A ; et Benndorf, J. (1994).** Top-down impact of *Daphnia galeata* on pelagic heterotrophic flagellates in a whole-lake biomanipulation experiment. *Marine microbial food webs*, 8(1-2), 325-335.

## L

**Lampert, W ; Fleckner, W ; Rai, H ; et Taylor, B. E. (1986).** Phytoplankton control by grazing zooplankton: a study on the spring clear-water phase. *Limnology and Oceanography*, 31(3), 478-490.

**Lynch, M ; et Ennis, R. (1983).** Resource availability, maternal effects, and longevity. *Experimental gerontology*, 18(2), 147-165.

## M

**Manar, R. (2008).** Effets populationnels du chlordane sur les microcrustacés cladocères *Daphnia sp.* Dans une perspective d'évaluation des risques (Doctoral dissertation, Metz), 169p.

**Margalef, R. (1983).** *Limnologia*. Ediciones Omega, S.A., Barcelona, 1010 p.

**Massarin, S. (2010).** Etude des effets de l'uranium sur le budget énergétique et la dynamique de population de *Daphnia magna* (Doctoral dissertation, Aix Marseille 2), 228p.

**Meybeck, M ; et Helmer, R. (1989).** The quality of rivers: from pristine stage to global pollution. *Global and Planetary Change*, 1(4), 283-309.

**Microsoft ® office excel version 2010.**

**Muck, P ; et Lampert, W. (1984).** An experimental study of the importance of food conditions for the relative abundance of calanoid copepods and cladocerans. I. Comparative feeding studies with *Eudiaptomus gracilis* and *Daphnia longispina*. *Archiv für Hydrobiologie. Supplementband. Monographische Beiträge*, 66(2), 157-179.

**Mugel, M ; et Férard, J. F. (1978).** Elaboration d'un modèle de chaîne trophique dulcaquicole et application à une étude écotoxicologique. Doctorat d'écotoxicologie et chimie de l'environnement UER d'Ecologie de Metz.

**Mulhauser, B. (1995).** Guide de la faune et de la flore des lacs et des étangs d'Europe. Delachaux et Niestlé.

## O

**OCDE, Organization for Economic Cooperation and Development. (1998).** Guide lines for testing of chemicals : *Daphnia magna* reproduction test. Procedure 211. Paris, France.

**OCDE, Organisation de Coopération et de Développement Economiques. (2004).** *Daphnia sp.*, Acute immobilisation test. Guidelines for testing for chemicals, Rep. No.202.

**OCDE, Organisation de Coopération et de Développement Economiques. (2008).** *Daphnia magna* acute immobilisation test and reproduction test. Guidelines for testing for chemicals, Rep. No.211.

**OCDE, Organisation de Coopération et de Développement Economiques (2012).** Agir maintenant ou assumer les coûts élevés de l'inaction. Technical Report of the " Organisation de coopération et de développement économiques.

**Olmstead, A. W ; et Leblanc, G. A. (2002).** Juvenoid hormone methyl farnesoate is a sex determinant in the crustacean *Daphnia magna*. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology, 293(7), 736-739.

## P

**Parisot, F. (2015).** Étude mécaniste des effets transgénérationnels des radiations ionisantes alpha et gamma chez *Daphnia magna* (Doctoral dissertation, Aix-Marseille), 247p.

**Pennak, R. W. (1989).** Freshwater invertebrates of North America.

**Pereira, J. L ; Hill, C. J ; Sibly, R. M ; Bolshakov, V. N ; Gonçalves, F ; Heckmann, L. H ; et Callaghan, A. (2010).** Gene transcription in *Daphnia magna*: effects of acute exposure to a carbamate insecticide and an acetanilide herbicide. Aquatic toxicology, 97(3), 268-276.

**Persoone, G ; et Janssen, C. R. (1993).** Freshwater invertebrate toxicity tests. Handbook of ecotoxicology, 1, 51-65.

**Pringle, C. M ; White, D. S ; Rice, C. P ; et Tuchman, M. L. (1981).** The biological effects of chloride and sulfate, with special emphasis on the Laurentian Great Lakes. Great Lakes Res. Div. Publ, 20.

## R

**Reynolds, C. S. (1984).** The ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge University Press.

**Rukke, N. A. (2002).** Tolerance to low ambient calcium shows inter-population differences in *Daphnia galeata*. Journal of plankton research, 24(5), 527-531.

## S

**Santiago, S ; Becker van Slooten, K ; Chèvre, N ; Pardos, M ; Benninghoff, C ; Dumas, M ; Thybaud, E ; et Garrivier, F. (2002).** Guide pour l'utilisation des tests écotoxicologiques avec les daphnies, les bactéries luminescentes et les algues vertes, appliqués aux échantillons de l'environnement (No. CECOTOX-REPORT-2002-001).

**Silva, E. I.L ; et Davies, R. W. (1997).** The effects of irrigation effluent on a Western Canadian prairie river. Hydrobiologia, 344(1), 103-109.

**Silva, E. I. L ; et Davies, R. W. (1999).** The effects of simulated irrigation induced changes in salinity on metabolism of lotic biota. Hydrobiologia, 416, 193-202.

**Slooff, W ; Canton, J. H ; et Hermens, J. L. M. (1983).** Comparison of the susceptibility of 22 freshwater species to 15 chemical compounds. I. (Sub) acute toxicity tests. *Aquatic toxicology*, 4(2), 113-128.

**Smith, S. V ; et Key, G. S. (1975).** Carbon dioxide and metabolism in marine environments. *Limnology and Oceanography*, 20(3), 493-495.

**Soares, A. M. V. M. (1989).** Clonal variation in life-history traits in *Daphnia magna* Straus (Crustacea, Cladocera). Implications for ecotoxicology. University of Sheffield: Sheffield, UK.

**Sommer, U ; Gliwicz, Z. M ; Lampert, W ; et Duncan, A. (1986).** The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Arch. Hydrobiol*, 106(4), 433-471.

**Sterner, R. W. (1989).** The role of grazers in phytoplankton succession. In *Plankton ecology* (pp. 107-170). Springer Berlin Heidelberg.

### T

**Tessier, A. J ; et Goulden, C. E. (1982).** Estimating food limitation in cladoceran populations. *Limnology and Oceanography*, 27(4), 707-717.

**Thompson, J. M ; Ferguson, A. J. D ; et Reynolds, C. S. (1982).** Natural filtration rates of zooplankton in a closed system: the derivation of a community grazing index. *Journal of plankton research*, 4(3), 545-560.

**Tollrian, R. (1994).** Fish-kairomone induced morphological changes in *Daphnia lumholtzi* (Sars). *Archiv für Hydrobiologie*, 130(1), 69-75.

**Touati, L ; et Samraoui, B. (2002).** The ecology of *Daphnia chevreuxi* Richard in Northeast Algeria (Crustacea: Anomopoda). *Sciences & Technologie C*, (1), 75-81.

**Toumi, H. (2013).** Écotoxicité de la deltaméthrine et du malathion sur différentes souches de *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera): apport de la protéomique dans la recherche de nouvelles cibles cellulaires (Doctoral dissertation, Université de Lorraine), 158p.

### W

**Wærvågen, S. B ; A Rukke, N ; et Hessen, D. O. (2002).** Calcium content of crustacean zooplankton and its potential role in species distribution. *Freshwater Biology*, 47(10), 1866-1878.

**Watts, D. L. (1990).** The nutritional relationships of calcium. *Journal of Orthomolecular Medicine*, 5(2), 61-66.

**Williams, W. D. (1987).** Salinization of rivers and streams: an important environmental hazard. *Ambio* (Sweden) .

**Williams, D. D ; Williams, N. E ; et Cao, Y. (1999).** Road salt contamination of groundwater in a major metropolitan area and development of a biological index to monitor its impact. *Water Research*, 34(1), 127-138.

**Winner, R. W ; Keeling, T ; Yeager, R ; et Farrell, M. P. (1977).** Effect of food type on the acute and chronic toxicity of copper to *Daphnia magna*. *Freshwater Biology*, 7(4), 343-349.

### Y

**Yurista, P. M. (2000).** Cyclomorphosis in *Daphnia lumholtzi* induced by temperature. *Freshwater Biology*, 43(2), 207-213.

### Z

**Zeman, F. (2008).** Toxicité d'un mélange binaire sur la daphnie *Daphnia magna*: Etude des effets biologiques de l'uranium et du sélénium seuls et en mélange (Doctoral dissertation, Montpellier 2), 199p.

**Webographie**

[1][http://stockage.univvalenciennes.fr/MenetACVBAT20120704/acvbat/chap01/co/ch01\\_280\\_2-4-9.html](http://stockage.univvalenciennes.fr/MenetACVBAT20120704/acvbat/chap01/co/ch01_280_2-4-9.html). Consulté le : 04 Mai 2017

[2][http://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=calcium\\_ps](http://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=calcium_ps). Consulté le : 29 Mai 2017

[3]<http://weppi.gtk.fi/publ/foregsatlas/text/Ca.pdf>. Consulté le : 29 Mai 2017

[4]<http://www.delagua.org/>. Consulté le : 05 Avril 2017

[5]<http://www.lenntech.fr/data-perio/ca.htm>. Consulté le : 09 Mai 2017



Résumé

## Résumé

*Daphnia magna* est un microcrustacé d'eau douce, généralement connus sous le nom de «puce d'eau», qui appartient à l'ordre des cladocères. On a l'utilisé comme bioindicateur pour évaluer les risques écotoxicologiques des écosystèmes aquatiques. Ce travail présente les résultats de test chronique avec *daphnia magna* exposé pendant 21 jours à des différentes concentrations 0.5 – 5 – 10 – 20 – 25 mg/l de  $\text{Ca}^{2+}$ . Durant cette période nous avons suivi les individus pour évaluer leurs paramètres de cycle de vie (la croissance, la survie et la reproduction), en tenant compte les variations de  $\text{Ca}^{2+}$  de l'eau.

On a observé que la taille des femelles à la première ponte est inférieure à celle de la deuxième ponte. Cependant, l'âge à la maturation et l'âge à la première ponte ont subi une prolongation de temps.

**Mots clés :** *Daphnia magna*, bioindicateur, risques écotoxicologiques,  $\text{Ca}^{2+}$ , cycle de vie.

**Abstract**

*Daphnia magna* is a freshwater microcrustacean, commonly known as "water flea", which belongs to the order of the cladocera. It has been used as a bioindicator to assess the ecotoxicological risks of aquatic ecosystems. This work presents chronic test results with *daphnia magna* exposed for 21 days at different concentrations 0.5 - 5 - 10 - 20 - 25 mg / l of Ca<sup>2+</sup>. During this period we monitored individuals to assess their life cycle parameters (growth, survival and reproduction), taking into account changes in water Ca<sup>2+</sup>.

It was observed that the size of females at first reproduction is lower than that of second reproduction. However, the age at maturity and the age at first reproduction have undergone an extension of time.

**Keywords :** *Daphnia magna*, bioindicator, ecotoxicological risks, Ca<sup>2+</sup>, life cycle.

## ملخص

تصنف *Daphnia magna* من قشريات الماء العذب، المعروف عادة بإسم برغوث الماء. يستعمل كمؤشر حيوي لتقييم الأخطار السمية البيئية للأنظمة الإيكولوجية المائية. و قد أظهرت هذه الدراسة نتائج الإختبار طويل المدى لبرغوث الماء خلال فترة 21 يوم الموضوعة في تراكيز مختلفة 0.5 ، 5 ، 10 ، 20 ، 25 ملغ/التر من الكلسيوم. خلال هذه الفترة تتبعنا الأفراد من أجل تقييم دورة حياة برغوث الماء(معدل النمو، البقاء و تكاثر الأفراد) مع الأخذ بعين الإعتبار تغيرات تراكيز الكلسيوم في الماء. أظهرت النتائج أن طول الإناث الكبار خلال الولادة الأولى أقل من طولهم خلال الولادة الثانية، في حين هناك امتدادا زمنيا في العمر عند البلوغ و العمر عند الولادة الأولى.

**الكلمات المفتاحية:** برغوث الماء، مؤشر حيوي، الأخطار السمية البيئية، الكلسيوم، دورة حياة.



# Glossaire

## Glossaire

**Adaptation** : Toute caractéristique morphologique, comportementale, anatomique ou physiologique d'un organisme qui améliore ses chances de survie et de propagation dans son environnement.

**Bioindicateur** : Sert à mesurer la qualité d'un milieu. Des organismes (animaux, végétaux, champignons...), présents à l'état naturel, sont étudiés et recensés. Leur disparition d'un milieu (aérien, terrestre ou aquatique) indique une dégradation des conditions de vie. Leur réapparition est signe d'une amélioration.

**Biomarqueur** : Indicateur permettant d'évaluer une réponse biologique d'un organisme face à un ou des produit(s) toxiques.

**Biomasse** : Quantité de matière vivante existant dans un écosystème aquatique par unité de volume ou de superficie et exprimée en unité massique.

**Biosurveillance** : Utilisation du vivant pour surveiller l'évolution, des modifications, des altérations, ou la stabilité de la qualité d'un milieu.

**Carnivore** : Est un organisme qui se nourrit de tissus animaux, généralement de la viande (muscle), vivants ou morts (nécrophagie).

**Colonne d'eau** : Espace d'eau vertical s'étendant de la surface au fond de la mer ou des cours d'eau.

**Cyclomorphose** : Changement saisonnier du phénotype de nombreuses espèces de plancton. Par exemple, certaines espèces de *Daphnia* produisent des épines pour se protéger contre les prédateurs pendant la saison estivale.

**Détritivore** : Terme qualifiant les animaux qui se nourrissent de débris organiques.

**Dulçaquicole** : Est un organisme qui vit et se reproduit exclusivement dans les eaux douces.

**Ecotoxicologie** : Etude des effets des facteurs chimiques, physiques et biologiques sur l'ensemble des êtres vivants.

**Ephippie** : Etape de repos de Cladocère consistant en un ou deux œufs de repos, entourés d'une paroi externe membranaire.

**Eutrophisation** : Enrichissement d'eaux naturelles en éléments nutritifs, en particulier azotés et phosphatés, provoquant une croissance excessive des plantes et des algues.

**Exosquelette** : Enveloppe chitineuse de certains invertébrés tels que les insectes ou les crustacés.

**Herbivore** : Est un organisme qui se nourrit d'herbes ou d'autres substances végétales.

**Kairomones** : Indications chimiques rejetées par les prédateurs et reconnues par la proie.

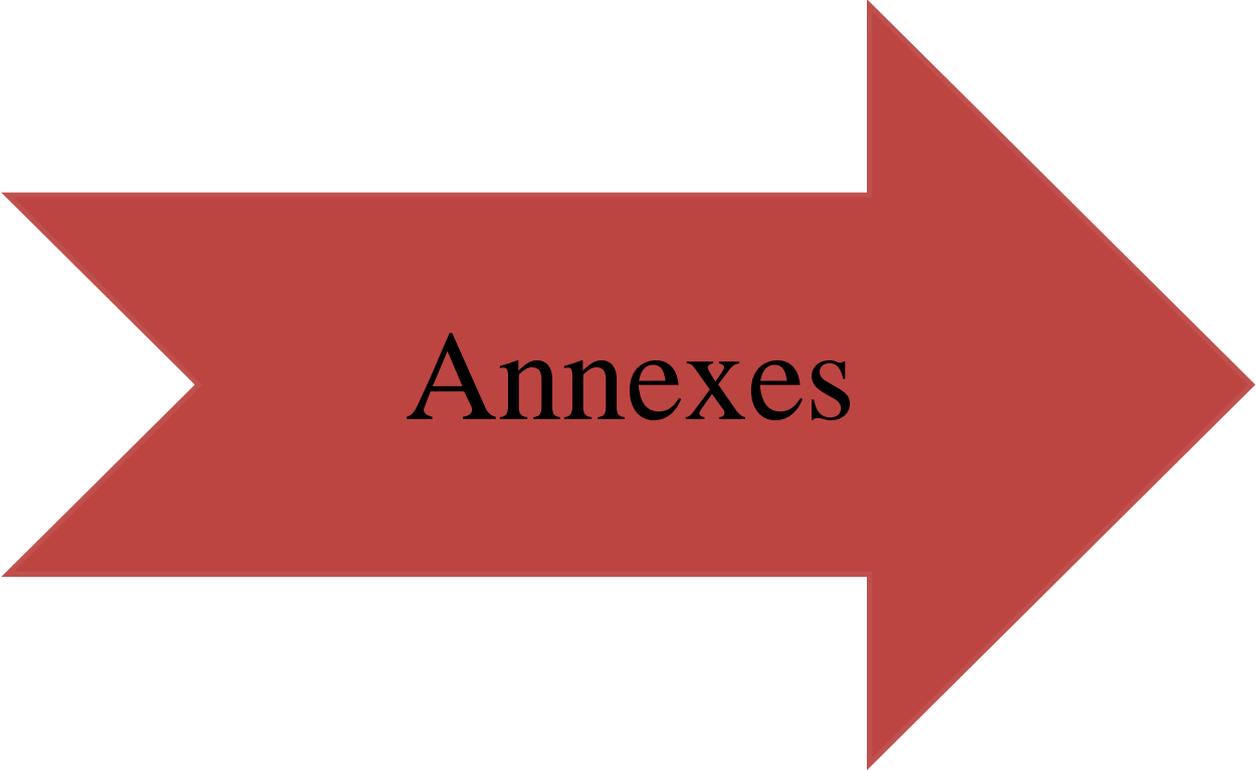
**Phytoplanctons :** L'ensemble des organismes du plancton appartenant au règne végétal, de taille très petite ou microscopique, qui vivent en suspension dans l'eau.

**Test de toxicité :** Procédure par laquelle une réponse biologique est utilisée pour détecter et quantifier la toxicité d'une substance, d'un groupe de substances ou de facteurs environnementaux.

**Toxicité :** Capacité propre d'une substance de provoquer des effets nocifs ou de troubler ou d'interrompre les fonctions vitales d'un organisme.

**Zone pélagique :** Est la partie des lacs, des mers ou des océans comprenant la colonne d'eau, qui ne contient pas de l'eau proche des côtes ou des fonds.

**Zooplancton :** Représente l'ensemble des animaux du plancton. Le zooplancton dulçaquicole est surtout représenté par les rotifères et divers crustacés. Le zooplancton marin est infiniment plus riche en espèces (les protozoaires, annélides, mollusques,...).



*Annexes*

**Tableau :** Résultats de l'analyse de la variance à un facteur testant l'impact écotoxique du calcium de concentration de 0.5 mg/l sur les paramètres de cycle de vie de *Daphnia magna*.

	ddl	Fobes	P
L'âge à la maturation	11	0.89	0.36
L'âge à la première ponte	11	0	1
La taille des femelles à la première ponte	11	0.58	0.46
La taille des femelles à la deuxième ponte	6	0.53	0.49
La taille des juvéniles à la première ponte	11	0.17	0.68
La taille des juvéniles à la deuxième ponte	6	3.17	0.13
Le nombre de ponte par femelle	19	0.23	0.63
L'intervalle de ponte	13	0.36	0.55
La grandeur de ponte	17	3.62	0.07
Le nombre total des descendants par femelle	10	1.44	0.26
La longévité	19	2.06	0.16
La taille des femelles à la fin de test	11	0.28	0.60
Le poids des femelles à la fin de test	11	0.25	0.62
La survie	9	1.34	0.27

P = probabilité que l'hypothèse nulle est égale à zéro; Ddl = degré de liberté ; Fobes =  $Cm_a/Cm_r$ .

**Tableau :** Résultats de l'analyse de la variance à un facteur testant l'impact écotoxique du calcium de concentration de 5 mg/l sur les paramètres de cycle de vie de *Daphnia magna*.

	ddl	Fobes	P
L'âge à la maturation	8	0.08	0.77
L'âge à la première ponte	8	0.11	0.74
La taille des femelles à la première ponte	8	1.03	0.34
La taille des femelles à la deuxième ponte	6	0.06	0.80
La taille des juvéniles à la première ponte	8	0.14	0.71
La taille des juvéniles à la deuxième ponte	6	0.39	0.55
Le nombre de ponte par femelle	19	0.15	0.70
L'intervalle de ponte	15	0.37	0.55
La grandeur de ponte	17	4.05	0.06
Le nombre total des descendants par femelle	8	24.26	0.001
La longévité	19	1.20	0.28
La taille des femelles à la fin de test	15	0.34	0.56
Le poids des femelles à la fin de test	15	0.09	0.75
La survie	9	0.4	0.54

P = probabilité que l'hypothèse nulle est égale à zéro; Ddl = degré de liberté ; Fobes =  $Cm_a/Cm_r$ .

**Tableau :** Résultats de l'analyse de la variance à un facteur testant l'impact écotoxique du calcium de concentration de 10 mg/l sur les paramètres de cycle de vie de *Daphnia magna*.

	ddl	Fobes	P
L'âge à la maturation	7	0.20	0.66
L'âge à la première ponte	7	0.57	0.47
La taille des femelles à la première ponte	7	0.23	0.64
La taille des femelles à la deuxième ponte	5	0.2	0.67
La taille des juvéniles à la première ponte	7	1.07	0.33
La taille des juvéniles à la deuxième ponte	5	0.36	0.57
Le nombre de ponte par femelle	19	0.03	0.85
L'intervalle de ponte	14	0.02	0.87
La grandeur de ponte	16	0.14	0.70
Le nombre total des descendants par femelle	7	11.12	0.01
La longévité	19	0.36	0.55
La taille des femelles à la fin de test	15	0.06	0.80
Le poids des femelles à la fin de test	15	0.00	0.95
La survie	9	0.1	0.75

P = probabilité que l'hypothèse nulle est égale à zéro; Ddl = degré de liberté ; Fobes =  $Cm_a/Cm_r$ .

**Tableau :** Résultats de l'analyse de la variance à un facteur testant l'impact écotoxique du calcium de concentration de 20 mg/l sur les paramètres de cycle de vie de *Daphnia magna*.

	ddl	Fobes	P
L'âge à la maturation	9	0.2	0.66
L'âge à la première ponte	9	0.09	0.77
La taille des femelles à la première ponte	9	1.38	0.27
La taille des femelles à la deuxième ponte	6	0.96	0.37
La taille des juvéniles à la première ponte	9	0.51	0.49
La taille des juvéniles à la deuxième ponte	6	1.05	0.35
Le nombre de ponte par femelle	19	0.52	0.47
L'intervalle de ponte	16	0.70	0.41
La grandeur de ponte	19	0.01	0.9
Le nombre total des descendants par femelle	9	2.05	0.19
La longévité	19	0.00	0.95
La taille des femelles à la fin de test	15	0.27	0.61
Le poids des femelles à la fin de test	15	0.25	0.61
La survie	9	0	1

P = probabilité que l'hypothèse nulle est égale à zéro; Ddl = degré de liberté ; Fobes =  $Cm_a/Cm_r$ .

**Tableau :** Résultats de l'analyse de la variance à un facteur testant l'impact écotoxique du calcium de concentration de 25 mg/l sur les paramètres de cycle de vie de *Daphnia magna*.

	ddl	Fobes	P
L'âge à la maturation	13	6.71	0.02
L'âge à la première ponte	13	6.19	0.02
La taille des femelles à la première ponte	13	0.18	0.67
La taille des femelles à la deuxième ponte	7	0.25	0.62
La taille des juvéniles à la première ponte	13	0.07	0.79
La taille des juvéniles à la deuxième ponte	5	0.5	0.51
Le nombre de ponte par femelle	19	3.6	0.07
L'intervalle de ponte	17	0.07	0.78
La grandeur de ponte	20	3.65	0.07
Le nombre total des descendants par femelle	13	0.59	0.45
La longévité	19	1.90	0.18
La taille des femelles à la fin de test	16	1.28	0.27
Le poids des femelles à la fin de test	16	1.99	0.17
La survie	9	1.28	0.28

P = probabilité que l'hypothèse nulle est égale à zéro; Ddl = degré de liberté ; Fobes =  $Cm_a/Cm_r$ .