
Soumis le : 02 Août 2012

Forme révisée acceptée le : 19 Janvier 2013

Email de l'auteur correspondant :

zineb.benziane@usmba.ac.ma

Impact toxicologique du lessivage des feuilles et des aiguilles mortes sur la qualité biologique du milieu aquatique récepteur

Zineb Benziane Ouaritini,^a Hassan Chergui,^a El Houssaine Derwich^b

^a Faculté des Sciences Dhar El Mehraz, laboratoire d'Analyse et de Modélisation des Ecosystèmes continentaux, Fès, 30 000, Maroc.

^b Cité de l'Innovation de Fès

Résumé :

Nous avons essayé, grâce à un travail réalisé au laboratoire, dans des conditions contrôlées, d'évaluer l'impact toxicologique des lessivats des feuilles mortes, de quatre espèces foliaires, *Populus nigra*, *Salix babylonica*, *Acer monspessulanum* et *Platanus acerifolia*, ainsi que l'impact des aiguilles mortes d'une essence résineuse, *Taxus baccata*, sur la qualité de l'eau de la source Vittel (Tizguit, Région d'Ifrane). Les résultats obtenus montrent qu'à 25°C la Toxicité évolue avec la durée du lessivage, la concentration initiale, le type de traitement des feuilles et des aiguilles mortes et de l'espèce foliaire. Les tests de toxicité létale réalisés sur les larves d'*Artemia salina* et les alevins de *Gambusia affinis* montrent que l'If et le Saule sont les plus toxiques d'une eau aérée.

Mots clés : Toxicité létale ; Toxicité Comportementale ; lessivage ; Apports feuillus allochtones (séchés et frais) ; *Artemia salina* ; *Gambusia affinis*.

Abstract :

Based on laboratory studies under controlled conditions, we have appraised the toxicological impact of dead leaf leachate from four angiosperm species: *Populus nigra*, *Salix babylonica*, *Acer monspessulanum* and *Platanus acerifolia*, as well as dead needles of a gymnosperm species, *Taxus baccata*, on the quality of water of Vittel spring (Tizguit, Ifrane region). The results show that at 25° C the toxicity changes with the duration of leaching, the initial concentration, type of treatment of leaves and dead needles and leaf species. Lethal toxicity tests conducted on *Artemia salina* larvae and fry of *Gambusia affinis* show that the If and Saule are the most toxic of water ventilated.

Key word: lethal toxicity ; behavioral toxicity ; input of allochthonous leaves (dried and fresh) ; *Artemia salina* ; *Gambusia affinis*.

1. Introduction

Dans les milieux aquatiques, l'apport de litières des écosystèmes forestiers riverains constitue un facteur important de perturbation, voire de contamination naturelle des mares, étangs et petits cours d'eau. Le cas général empirique, reconnu depuis longtemps et corroboré par des essais en bassin de pisciculture [1], est celui d'une chute des productivités primaires et secondaires. Cette chute peut sembler paradoxale si l'on considère que les litières constituent aussi une source d'énergie pour les écosystèmes aquatiques [2 ; 3]. Or les feuilles de Peupliers [1], et les aiguilles de conifères [4] ont été reconnues particulièrement nocives de point de vue piscicole.

Ces lessivats foliaires sont à l'origine des effets rapides et directs liés soit à une étiologie enzymatique (désoxygénation de l'eau par un complexe enzymatique : polyphénoloxydases-peroxydases, ayant pour substrat principal les composés polyphénoliques) soit, à une étiologie toxicologique (effet des principes actifs extractibles cédés aux macérats aqueux des feuilles et des aiguilles mortes). Cette dernière étiologie a effectivement une part de responsabilité, Saponosides très ichtiotoxiques des feuilles de Bouleau [5] terpènes des aiguilles d'Epicéa [4] et Tannins et Quinones intermédiaires de la polycondensation mélanique [6 ; 7 ; 8 ; 9 ; 10 ; 11 ; 12].

2. Méthodologie

Le but de notre travail est d'étudier l'impact des apports feuillus sur la qualité biologique du milieu

aquatique récepteur, il s'agit d'étudier le processus de la toxicité comportementale et létale déclenché à la suite du lessivage des substances toxiques hydrosolubles [13].

Les espèces choisies dans le cadre de notre recherche sont : l'If (*Taxus baccata*), le Peuplier noir (*Populus nigra*), le saule babylone (*Salix babylonica*), l'Erable de Montpeulier (*Acer monspessulanum*) et le platane à feuilles d'Erable (*Platanus acrifolia*).

Ces essences végétales sont largement répandues le long du cours d'eau de la source Vittel (oued Tizguit) (Fig. 1) et approvisionnement en grande partie le milieu aquatique en substances organiques hydrosolubles.

La station Vittel est située au Moyen-Atlas à 3Km au nord de la ville d'Ifrane, à 1700m d'altitude (Photo 1 et 2). Elle appartient à l'étage bioclimatique subhumide à hiver frais.

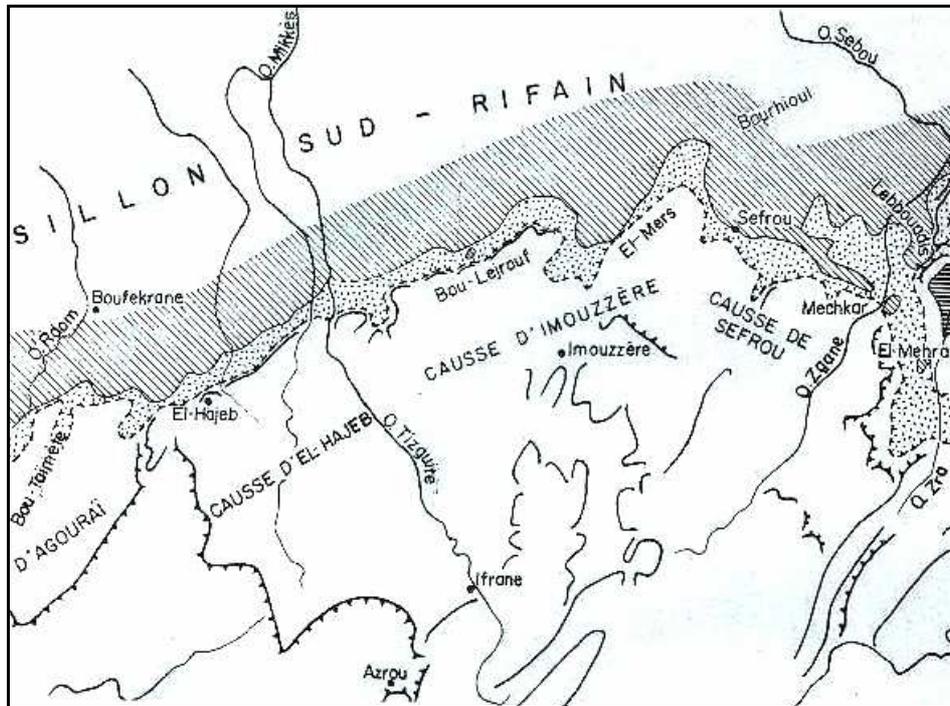


Fig. 1 : Situation géologique et géographique de l'Oued Tizguit. D'après [14].

Légende :
 Miocène marin reconnu
 Bassin vallésien
 Extension maximale probable des transgressions miocènes



Photos 1 et 2 : Vues de la station Vittel [15].

Les feuilles et les aiguilles mortes ont été récoltées (durant la période 1996-1999) en automne immédiatement après leur chute au sol, elles sont à ce moment encore

jaunes voire mêmes vertes (chez *Taxus baccata* seules les brunes ont été retenues). Les périodes de pluies ont été

évitées afin d'exclure autant que possible tout lessivage naturel.

Nous avons utilisé pour nos expériences, deux types de traitements : des feuilles fraîches et des feuilles séchées. Pour ceci les feuilles et les aiguilles étaient partagées en deux séries :

Une première série, est utilisée pour déterminer la relation entre le poids frais et le poids sec des feuilles et des aiguilles mortes après que ses dernières aient été individuellement pesées quelques heures après leur récolte (poids frais : PF) puis séchées à l'étuve à 40°C pendant 48h, et repesées immédiatement (poids sec : PS). Sur un total de 100 feuilles (aiguilles chez *Taxus*) de chaque espèce nous avons déterminé la relation, entre le poids sec et le poids frais donné par l'équation de régression (Tableau 1) :

$$PS = aPF + b \quad (a = \text{coefficient de régression et } b = \text{constante})$$

Tableau. 1

Relation entre le poids sec et le poids frais des feuilles et des aiguilles mortes des cinq essences végétales étudiées (d'après les courbes de tendance linéaire où r = coefficient de corrélation).

Essences végétales	Equation de Régression (N=100)	Coefficient de corrélation(r)
<i>Taxus baccata</i>	$PS = 0,8934PF - 0,0010$	0,9350
<i>Populus nigra</i>	$PS = 0,7412PF - 0,0017$	0,9900
<i>Salix babylonica</i>	$PS = 0,6841PF - 0,0274$	0,9035
<i>Acer monspessulanum</i>	$PS = 0,7197PF - 0,0035$	0,9450
<i>Platanus acerifolia</i>	$PS = 0,8855PF - 0,0115$	0,9024

*Le poids des feuilles et des aiguilles est exprimé en poids sec, étant donné qu'il offre l'avantage de la précision, la standardisation et facilite les comparaisons.

Une deuxième série, est répartie en deux lots : Un lot séché à l'étuve à 40°C pendant 48h, constitue le lot séché. Un autre lot est gardé au frais à 5°C, dans des sacs de congélation jusqu'à son utilisation, constitue le lot frais.

2.1. Lessivage des feuilles et des aiguilles mortes

Les feuilles et les aiguilles des deux lots ont été pesées par petits lots de 1 g, 2 g, 5 g et 10 g (en poids sec), puis chaque lot a été lessivé séparément à 25°C dans des béchers contenant 1 litre d'eau de ville.

Le nombre total de lots examinés est de : 5 essences végétales (le Peuplier, le Saule, l'Erable, le Platane et l'If) x 2 traitements (frais et sec) x 4 concentrations (1 g/l, 2 g/l, 5 g/l et 10 g/l) x 6 temps de lessivage (1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 24 h et 48 h) x 3 réplicas, soit 720 lots (Fig. 2).

Nous avons utilisé de l'eau de ville au lieu de l'eau distillée, pour rester dans une zone de pH proche de celle du milieu naturel.

Le milieu de lessivage est filtré sur du coton, puis testé sur *Artemia salina* (nauplii au stade II) (Fig. 3) à une température de 25°C, température optimale de survie des Artemias [16 ; 17] et sur *Gambusia affinis* (Fig. 4) (alevins de 1,5 cm) à une température de 20°C, c'est la température optimale pour la croissance et la reproduction des Gambusias [18 ; 19].

Durant les essais, toutes les manifestations comportementales et létales, traduisant la réaction des organismes tests face aux lessivats ont été relevées.

Au bout de chaque heure (jour et nuit) les individus morts sont dénombrés et retirés. Chez *Artemia* le dénombrement se faisait sous une loupe binoculaire.

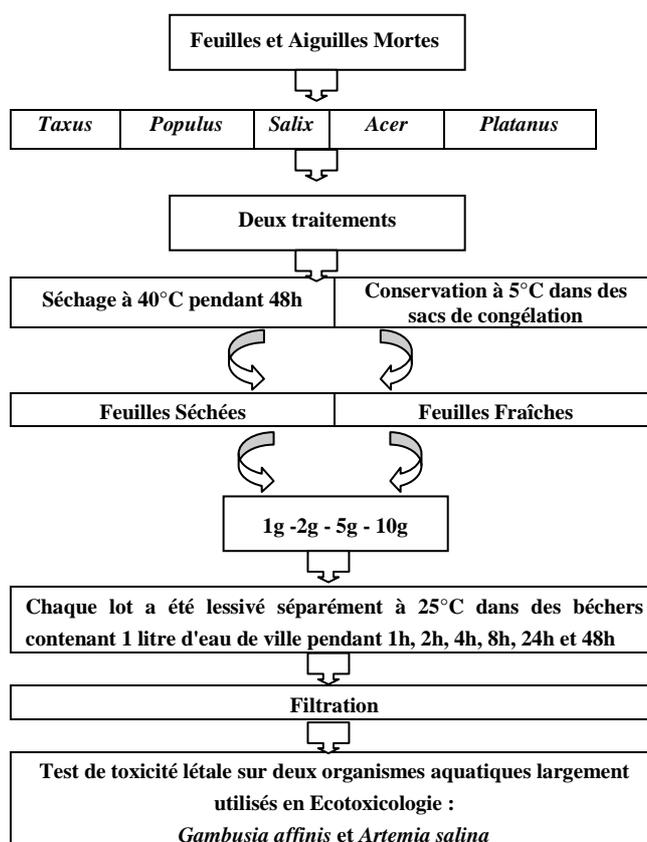


Fig. 2 : Schéma montrant les différentes étapes de préparation des milieux de lessivage

2.2. Protocole expérimental des tests

Le Test *Artemia salina* est réalisé en conditions statiques, dans des boîtes de pétri avec couvercle en verre Pyrex (60 mm ± 12 mm) à une température de 25 ± 1°C. L'oxygénation des milieux tests n'est pas nécessaire étant donné la faible profondeur des boîtes de Pétri et la tolérance des *Artemia* pour des faibles teneurs en oxygène [20].



Fig. 3 : Morphologie externe d'Artemia salina



Fig. 4 : Morphologie externe de Gambusia affinis mal et femelle.

Le test *Gambusia* a été réalisé à moyen terme à 20°C, dans des béciers en pyrex de 600 ml de capacité.

Les différents tests sont reproduits 3 fois et avec 3 témoins contenant 300 ml d'eau de la source.

Deux précautions furent nécessaires pour le test *Gambusia* :

- une oxygénation de tous les tests, à l'aide de bulleurs "RENA 301", avec réglage du débit à 100 bulles/min, afin de dissocier l'impact toxicologique de l'effet désoxygénant.
- une filtration quotidienne des fèces.

2.3. Protocole expérimental des tests

Dans le but de faciliter les comparaisons de la toxicité des cinq essences d'une part et des deux types de traitements des feuilles et des aiguilles d'autre part, nous avons opté pour la transformation des Probits. Cette

dernière nous a permis de calculer les TL₅₀ et leurs intervalles de confiances [21].

Afin de faciliter l'analyse de la relation entre le pourcentage de mortalité cumulée et le temps d'incubation, une droite de régression linéaire est tracée en exprimant la variation du probit en fonction du logarithme du temps d'incubation.

Les probits sont des unités de probabilité disposées sur une échelle de 10, de telle sorte que la valeur 5 représente le taux 50 % de mortalité. Ces valeurs serviront pour le calcul du probit calculé : Y'' avec P = pourcentage de mortalité cumulée [21].

2.4. Analyse des Probits

Le calcul de la TL₅₀ par la méthode des probits est résumé dans le plan décrit ci-dessous. Ce calcul consiste à remplir les données du tableau suivant :

T	%M	X	Y	Y'	Y''	W	WX	WY''	WXY''	WX ²

Résultats bruts :

T: Temps d'incubation.

%M : Pourcentage de mortalité cumulée (en 3 réplicats), relatif à chaque temps de lessivage.

Résultats calculés :

X : Logarithme décimal du temps d'incubation.

Y : Probit empirique, lu sur la table de Bliss, correspondant à chaque pourcentage de mortalité cumulée excepté 0 et 100%.

Y' : Probit provisoire calculé à partir de la droite de régression obtenue à partir de X et Y [22].

$$Y' = aX + b$$

Correction des Probits : Pour chaque valeur de Y', nous avons recherché dans la table correspondant au Probit probable, les valeurs correspondants à

$$Y_0, K \text{ et } \frac{Z^2}{\Phi Q}$$

Ces valeurs serviront pour le calcul du Probit calculé : Φ "

$$Y^* = Y_0 + KP, \text{ avec } P = \text{pourcentage de mortalité cumulé.}$$

Equation de régression définitive de la forme : Cette équation a été établie à partir de la droite de régression linéaire, où $\log(TL_{50})$ correspond à la valeur de X quand : $\Phi = 5$. [21] (Fig. 5).

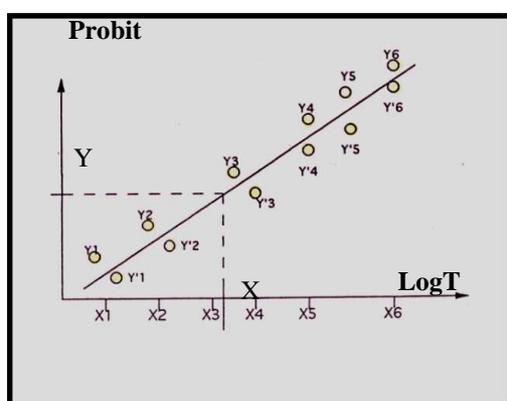


Fig. 5 : Droite de régression : Probit en fonction du Logarithme du temps $\log(T)$ [21].

Les paramètres qui serviront à la détermination de la variance de la TL_{50} sont pondérés par un coefficient

$$W = N \left(\frac{Z^2}{\Phi Q} \right)$$

Avec N : le nombre de sujets mis en expérience.

$\left(\frac{Z^2}{\Phi Q} \right)$: Est donné par la table en fonction des probits probables.

$$\bar{Y} = \frac{\sum(WY)}{\sum(W)}$$

$$\bar{X} = \frac{\sum(WX)}{\sum(W)}$$

$$(TL_{50} - 1,96\sigma; TL_{50} + 1,96\sigma)$$

$$b = \frac{\sum(WXY) - \bar{Y}\sum(WX)}{\sum(WX^2) - \bar{X}\sum(WX)}$$

$$\text{Et } X = \bar{X} + \frac{1}{b(Y - \bar{Y})}$$

Variance de la TL_{50}

$$V(TL_{50}) = \frac{1}{b^2} \left(\frac{1}{\sum W} + \frac{(\log TL_{50} - \bar{X})^2}{\sum(WX^2) - \frac{\sum^2(WX)}{\sum(W)}} \right)$$

$$\text{L'écart type de la } TL_{50}, \sigma(TL_{50}) = \sqrt{V(TL_{50})}$$

Expression des résultats : Pour un coefficient de sécurité de 95 %, une évaluation des limites de l'intervalle de confiance où se situe l'estimation optimale de la TL_{50} est donnée sous forme :

$$(TL_{50} - 1,96\sigma; TL_{50} + 1,96\sigma)$$

3. Discussion

3.1. Toxicité comportementale des lessivats des feuilles et des aiguilles mortes à 25°C

Toxicité comportementale chez Artemia : Pendant les premières heures d'incubation des larves dans les solutions de lessivage, nous avons noté une dépigmentation de leur peau. Les Artemies qui étaient beiges jaunes au départ prennent une couleur transparente. Et puis leur mort est précédé par :

- Une diminution du rythme de la nage.
- Une diminution des échanges avec le milieu extérieur (respiration).
- Une réduction de l'extension de l'antenne 2.

Et enfin les Artemies répondent de moins en moins aux sollicitations tactiles et vibratoires. Ces observations sont en accord avec celles faites par [23] qui note que la toxicité comportementale chez les crustacés se manifeste au niveau du rythme de la nage et du comportement de l'accouplement.

Toxicité comportementale chez Gambusia : Au cours de la toxicité subaiguë provoquée par les lessivats des feuilles et des aiguilles mortes, nous avons observé chez les alevins testés des troubles comportementaux se manifestant par des pertes de l'équilibre, ainsi que des troubles moteurs se traduisant par des réflexes violents et désordonnés.

- Les Gambusies commencent d'abord à s'immobiliser au fond du bêcher durant 1 à 2mn puis reprennent la nage, tout en essayant de s'enfuir.

- Les poissons remontent à la surface de l'eau. Cette observation corrobore celle faite par [24] qui signale, dans un petit étang recevant des feuilles mortes de *Populus nigra*, une remonté de poissons (perches, gardons et brochetons) en état de détresse respiratoire pipant l'air et se laissant prendre à la main.

Et environ une heure avant leur mort nous avons noté :

- Une diminution du rythme des mouvements respiratoires, traduisant une difficulté respiratoire, manifestée par une grande ouverture des opercules. Des observations similaires ont été notées par [25], en testant l'effet toxique de la poudre brute du laurier rose sur les civelles d'anguilles.

- Les poissons perdent progressivement leur équilibre.

Après leur mort, certains poissons présentent une allure courbée (déformation scoliosée), des brûlures, une dépigmentation de la peau ainsi que des yeux saillants.

3.2. Toxicité létale des lessivats des feuilles et des aiguilles mortes à 25°C

Toxicité létale en fonction de la durée du lessivage (Tableau. 2 et 3, Fig. 6 et 7) : L'évolution de la toxicité des lessivats des feuilles et des aiguilles fraîches et séchées en fonction de la durée de lessivage à 25°C montre que plus le temps d'incubation augmente et plus la TL₅₀ diminue.

Cette augmentation de la toxicité en fonction du temps d'incubation revient essentiellement au fait que plus la

durée du lessivage augmente et plus la quantité des substances lessivées augmente, ce qui engendre probablement plus d'effets nocifs.

Selon [26] plus la durée du lessivage augmente et plus la quantité des substances Polyphénoliques augmente.

Ainsi l'étude de la toxicité des produits de lessivage des feuilles et des aiguilles, séchées et fraîches à 25°C, nous a montré que plus la durée de lessivage augmente et plus la mortalité cumulée des organismes tests par rapport aux témoins augmente (Tableau. 2 et 3, Fig. 6 et 7).

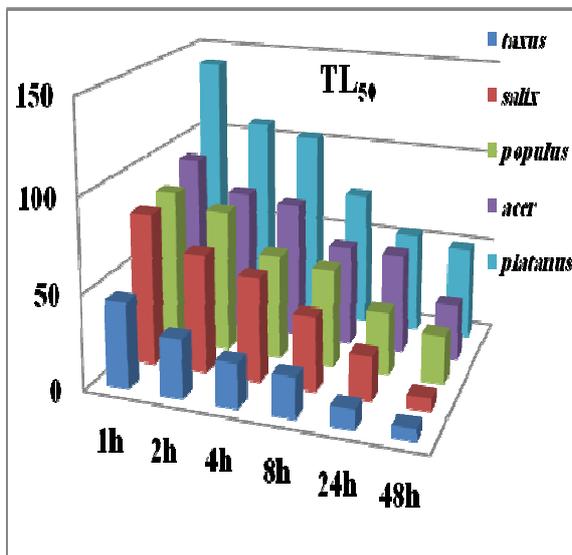


Fig. 6 : Evolution de la toxicité létale sur *Gambusia affinis*, des suspensions fraîches de 5 g/l, en fonction de la durée de lessivage, à 25°C.

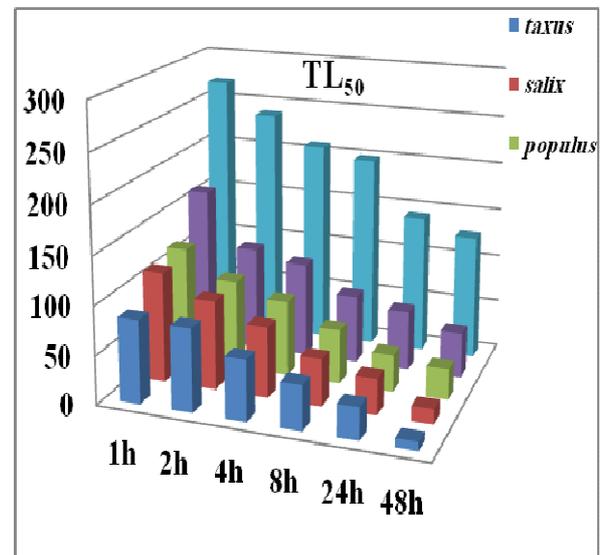


Fig. 7 : Evolution de la toxicité létale sur *Gambusia affinis*, des suspensions séchées de 5 g/l, en fonction de la durée de lessivage, à 25°C.

Tableau. 2 :

Evolution de la toxicité létale sur *Gambusia affinis*, des suspensions fraîches de 5 g/l, en fonction de la durée de lessivage, à 25°C.

Essences végétales	Durée du lessivage	Equation de régression	Coefficient de corrélation	TL ₅₀ (heures)	Intervalle de confiance (à 95 %)
<i>Taxus baccata</i>	1 h	$y = 1,5223x+2,4766$	0,9779	45,4594	(45,4055 ; 45,5133)
	2 h	$y = 1,3787x+2,9444$	0,9658	30,9720	(30,9238 ; 31,0202)
	4 h	$y = 1,5761x+2,8394$	0,9407	23,4883	(23,4302 ; 23,5464)
	8 h	$y = 1,3596x+3,1896$	0,9347	21,4570	(21,4047 ; 21,5092)
	24 h	$y = 1,1800x+3,7869$	0,9764	10,6672	(10,6231 ; 10,7113)
	48 h	$y = 1,7147x+1,9755$	0,9711	6,2296	(6,0701 ; 6,4091)
<i>Salix babylonica</i>	1 h	$y = 1,9610x+1,2590$	0,9764	80,8537	(80,7386 ; 80,9689)
	2 h	$y = 1,9746x+1,4458$	0,9517	63,0898	(62,9906 ; 63,1891)
	4 h	$y = 1,9004x+1,6940$	0,9737	54,9078	(54,8213 ; 54,9942)
	8 h	$y = 2,0343x+1,6799$	0,9784	38,9999	(38,9151 ; 39,0846)
	24 h	$y = 1,8351x+2,4865$	0,9757	23,4250	(23,3595 ; 23,4906)
	48 h	$y = 1,1601x+4,0423$	0,9857	6,6916	(6,6536 ; 6,7296)

<i>Populus nigra</i>	1 h	$y = 1,9709x + 1,2173$	0,9873	83,0377	(82,9177 ; 83,1577)
	2 h	$y = 1,0455x + 3,0340$	0,9034	75,9346	(75,8941 ; 75,9751)
	4 h	$y = 1,9922 + 1,5241$	0,9872	55,5590	(55,4608 ; 55,6572)
	8 h	$y = 0,9775x + 3,3230$	0,8196	51,9519	(51,9151 ; 51,9886)
	24 h	$y = 2,2797x + 1,5263$	0,9522	33,4005	(33,2990 ; 33,5020)
	48 h	$y = 2,0441x + 2,1244$	0,9566	25,5141	(25,3445 ; 25,6837)
<i>Acer monspessulanum</i>	1 h	$y = 1,7133x + 1,6309$	0,9575	92,5633	(92,4823 ; 92,6444)
	2 h	$y = 2,2808x + 0,7076$	0,9851	76,2029	(76,0106 ; 76,3951)
	4 h	$y = 1,9902x + 1,2863$	0,9750	73,4503	(73,3307 ; 73,5698)
	8 h	$y = 2,1279x + 1,3265$	0,9738	53,2537	(53,1291 ; 53,3783)
	24 h	$y = 1,7533x + 1,9798$	0,9857	52,7935	(52,7183 ; 52,8686)
	48 h	$y = 1,2379x + 3,1813$	0,9635	29,4565	(29,4067 ; 29,5063)
<i>Platanus acerifolia</i>	1 h	$y = 1,9566x + 0,7958$	0,8702	140,8400	(140,706 ; 140,9750)
	2 h	$y = 1,8255x + 1,2881$	0,9443	107,9840	(107,8990 ; 108,0700)
	4 h	$y = 1,6995x + 1,5787$	0,9498	103,0670	(102,9810 ; 103,1540)
	8 h	$y = 1,6714x + 1,8870$	0,9552	72,8636	(72,7921 ; 72,9350)
	24 h	$y = 1,1475x + 3,0163$	0,9115	53,5445	(53,5043 ; 53,5847)
	48 h	$y = 1,3516x + 2,7129$	0,9620	49,2201	(49,1682 ; 49,2720)

Tableau. 3 :

Evolution de la toxicité létale sur *Gambusia affinis*, des suspensions séchées de 5g/l, en fonction de la durée de lessivage, à 25°C.

Essences végétales	Durée du lessivage	Equation de regression	Coefficient de corrélation	TL ₅₀ (heures)	Intervalle de confiance (à 95 %)
<i>Taxus baccata</i>	1 h	$y = 2,1465x + 0,8517$	0,9885	85,6225	(85,4780 ; 85,7670)
	2 h	$y = 1,6773x + 1,7635$	0,9533	85,0333	(84,9643 ; 85,1024)
	4 h	$y = 1,8818x + 1,6257$	0,9713	62,1046	(62,0576 ; 62,1966)
	8 h	$y = 2,3879x - 0,0019$	0,9954	45,4594	(45,4120 ; 45,5067)
	24 h	$y = 1,8986x + 2,1143$	0,9762	33,1062	(33,0353 ; 33,1771)
	48 h	$y = 1,2395x + 3,8297$	0,8695	8,7937	(8,7502 ; 8,8372)
<i>Salix babylonica</i>	1 h	$y = 2,1057x + 0,6772$	0,9451	112,9550	(112,7600 ; 113,1490)
	2 h	$y = 1,9636x + 1,1510$	0,9837	91,2379	(91,1210 ; 91,3548)
	4 h	$y = 1,7841x + 1,6672$	0,9497	72,5082	(72,4429 ; 72,5735)
	8 h	$y = 1,8464x + 1,8925$	0,9775	48,1953	(48,1129 ; 48,2777)
	24 h	$y = 1,0352x + 3,3779$	0,9642	36,8930	(36,7926 ; 36,9933)
	48 h	$y = 1,1692x + 3,6190$	0,8678	15,1757	(15,1277 ; 15,2237)
<i>Populus nigra</i>	1 h	$y = 1,8173x + 1,2271$	0,9332	119,1520	(119,0490 ; 119,2550)
	2 h	$y = 2,3786x + 0,3282$	0,9651	92,0654	(91,6389 ; 92,4919)
	4 h	$y = 2,4054x + 0,4523$	0,9651	77,7358	(77,5662 ; 77,9054)
	8 h	$y = 1,8826x + 1,7120$	0,9533	55,7497	(55,6676 ; 55,8318)
	24 h	$y = 1,6103x + 2,4625$	0,9541	37,6525	(37,5921 ; 37,7128)
	48 h	$y = 1,3217x + 3,0181$	0,9284	31,5870	(31,5363 ; 31,6377)
<i>Acer monspessulanum</i>	1 h	$y = 2,5555x - 0,6582$	0,9832	163,7293	(163,5602 ; 163,8984)
	2 h	$y = 2,6207x - 0,3206$	0,9627	107,2060	(106,7890 ; 107,6240)
	4 h	$y = 1,6675x + 1,6834$	0,9091	97,4912	(97,4110 ; 97,5714)
	8 h	$y = 1,4923x + 2,2448$	0,9318	70,1904	(70,1337 ; 70,2470)
	24 h	$y = 1,9149x + 1,5794$	0,9823	61,1375	(61,0411 ; 61,2338)
	48 h	$y = 1,2661x + 2,8911$	0,9125	46,3091	(46,2651 ; 46,3531)
	1 h	$y = 2,4469x - 0,9503$	0,9784	270,2532	(270,1250 ; 270,3810)
	2 h	$y = 3,3191x - 2,8925$	0,9549	238,7280	(238,6880 ; 238,7680)

<i>Platanus acerifolia</i>	4 h	$y = 3,0000x - 1,9612$	0,9607	209,1220	(209,0670 ; 209,1780)
	8 h	$y = 3,2149x - 2,3921$	0,9747	199,2160	(199,1650 ; 199,26700)
	24 h	$y = 2,9910x - 1,4444$	0,9913	142,7570	(142,7000 ; 142,9000)
	48 h	$y = 2,1054x + 0,5651$	0,9837	127,7734	(127,5618 ; 127,9850)

Evolution de la toxicité létale en fonction de la concentration en feuilles et en aiguilles (Fig. 8) : Les tests de toxicité réalisés à 25°C montrent que l'évolution de la TL50 en fonction de la concentration initiale (en feuilles et en aiguilles) suit un gradient décroissant.

Il semble ainsi que des concentrations relativement élevées sont nécessaires pour obtenir un effet toxique aigu dans le cas de la plupart des espèces étudiées, à l'exception de l'If et du Saule.

La toxicité élevée des feuilles fraîches par rapport aux feuilles séchées est due essentiellement au fait, qu'à 25°C

les feuilles fraîches sont plus lessivées que les feuilles séchées [27], ce qui engendre une diffusion plus élevée des substances toxiques hydrosolubles.

Dans le cas de l'If, la substance responsable de sa toxicité serait le taxol [28 ;29 ;30 ;31 ;32 ;33 ;34 ;35 ;36 ;37].

L'effet du type de traitement des feuilles et des aiguilles, constitue à côté de la durée du lessivage et de la concentration initiale, un autre facteur déterminant dans la toxicité des macérats.

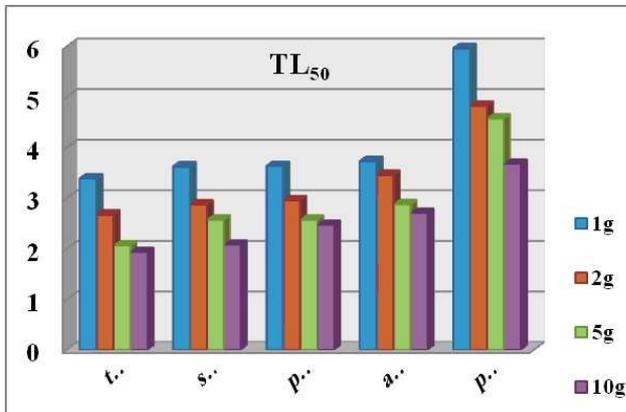


Fig. 8 : Evolution de la toxicité létale, sur *Artemia salina*, des suspensions séchées, lessivées pendant 24h, en fonction de la concentration initiale en feuilles et en aiguilles, à 25°C.

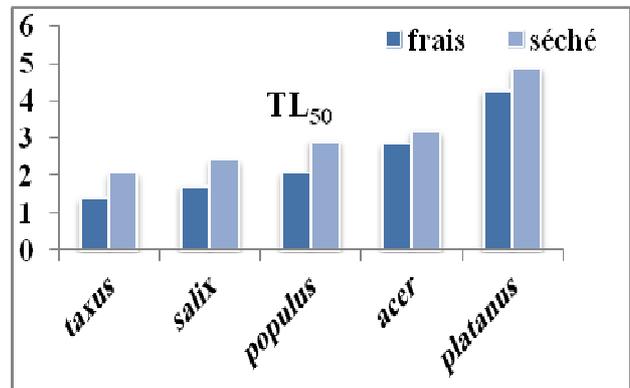


Fig. 9 : Toxicité létale sur *Artemia salina*, des lessivats de 48 h, pour une concentration de 2 g/l, en fonction du type de traitement des feuilles et des aiguilles mortes, à 25°C

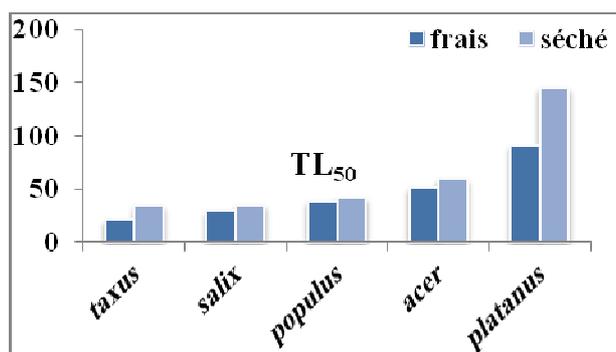


Fig. 10 : Toxicité létale sur *Gambusia affinis*, des lessivats de 48 h, pour une concentration de 2 g/l, en fonction du type de traitement des feuilles et des aiguilles mortes, à 25°C.

Evolution de la toxicité en fonction du type de traitement des feuilles et des aiguilles (Tableau. 4 et 5) : L'étude comparative à 25°C de la toxicité des suspensions

des feuilles et des aiguilles sous leurs deux états, frais et sec montre que les feuilles fraîches sont plus toxiques que les feuilles séchées.

Tableau 4 :

Toxicité létale sur *Artemia salina*, des lessivats de 48 h, pour une concentration de 2 g/l, en fonction du type de traitement des feuilles et des aiguilles mortes, à 25°C.

Essences Végétales	Type de traitement	Equation de régression	Coefficient de corrélation	TL ₅₀ (heures)	Intervalle de confiance (à 95%)
<i>Taxus baccata</i>	Frais	$y = 2,1467x + 4,6873$	0,9828	1,3985	(1,3335 ; 1,4635)
<i>Taxus baccata</i>	Séché	$y = 4,6106x + 3,5551$	0,9851	2,0577	(1,9797 ; 2,1358)
<i>Salix babylonica</i>	Frais	$y = 2,2102x + 4,4751$	0,9438	1,7278	(1,6702 ; 1,7854)
<i>Salix babylonica</i>	Séché	$y = 3,4607x + 3,6775$	0,9914	2,4107	(2,3483 ; 2,4732)
<i>Populus nigra</i>	Frais	$y = 3,5350x + 3,8834$	0,9518	2,0695	(2,0043 ; 2,1347)
<i>Populus nigra</i>	Séché	$y = 4,2694x + 3,0101$	0,9884	2,9247	(2,8401 ; 3,0094)
<i>Acer monspessulanum</i>	Frais	$y = 4,0555x + 3,1661$	0,9850	2,8327	(2,7599 ; 2,9055)
<i>Acer monspessulanum</i>	Séché	$y = 3,2113x + 3,3927$	0,9793	3,1660	(3,0984 ; 3,2337)
<i>Platanus acerifolia</i>	Frais	$y = 6,0515x + 1,1830$	0,9932	4,2732	(4,0735 ; 4,4729)
<i>Platanus acerifolia</i>	Séché	$y = 3,6790x + 2,4729$	0,9509	4,8629	(4,7986 ; 4,9273)

Tableau 5 :

Toxicité létale sur *Gambusia affinis*, des lessivats de 48 h, pour une concentration de 2 g/l, en fonction du type de traitement des feuilles et des aiguilles mortes, à 25°C.

Essences Végétales	Type de traitement	Equation de régression	Coefficient de corrélation	TL ₅₀ (heures)	Intervalle de confiance (à 95%)
<i>Taxus baccata</i>	Frais	$y = 1,1470x + 3,4945$	0,9485	20,5378	(20,4340 ; 20,6417)
<i>Taxus baccata</i>	Séché	$y = 1,0595x + 3,3795$	0,9666	33,8450	(33,7445 ; 33,9456)
<i>Salix babylonica</i>	Frais	$y = 1,0391x + 3,4791$	0,9397	29,0851	(28,9828 ; 29,1874)
<i>Salix babylonica</i>	Séché	$y = 1,1258x + 3,2678$	0,9593	34,5652	(34,4622 ; 34,6682)
<i>Populus nigra</i>	Frais	$y = 1,1063x + 3,2477$	0,9816	38,3644	(38,2625 ; 38,4663)
<i>Populus nigra</i>	Séché	$y = 1,1565x + 3,1306$	0,9832	41,3456	(41,2412 ; 41,4499)
<i>Acer monspessulanum</i>	Frais	$y = 1,7604x + 1,9929$	0,9794	51,0730	(51,0065 ; 51,1395)
<i>Acer monspessulanum</i>	Séché	$y = 1,7900x + 1,8281$	0,9544	59,1577	(59,0934 ; 59,2219)
<i>Platanus acerifolia</i>	Frais	$y = 1,8054x + 1,4684$	0,9799	90,3923	(90,2744 ; 90,5103)
<i>Platanus acerifolia</i>	Séché	$y = 2,0407x - 0,5926$	0,9793	144,4605	(144,2940 ; 144,6270)

Toxicité létale interspécifique des lessivats : L'évaluation de la toxicité létale des cinq essences végétales en

fonction du temps d'incubation montre que l'If et le Saule sont les plus toxiques (Fig. 11,12,13 et 14).

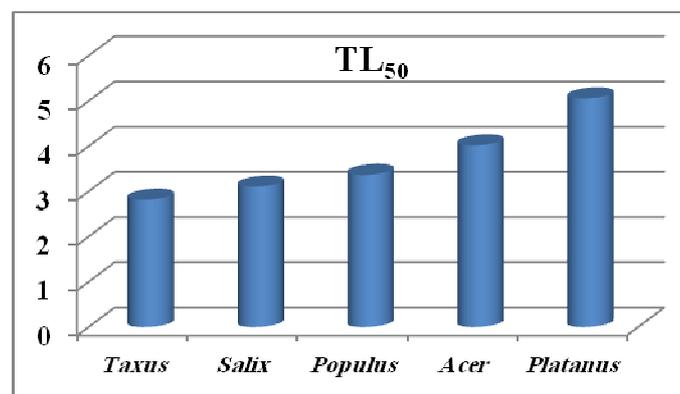


Fig. 11- Toxicité létale sur *Artemia salina*, des suspensions fraîches lessivées pendant 8 h, pour une concentration de 5 g/l, à 25°C

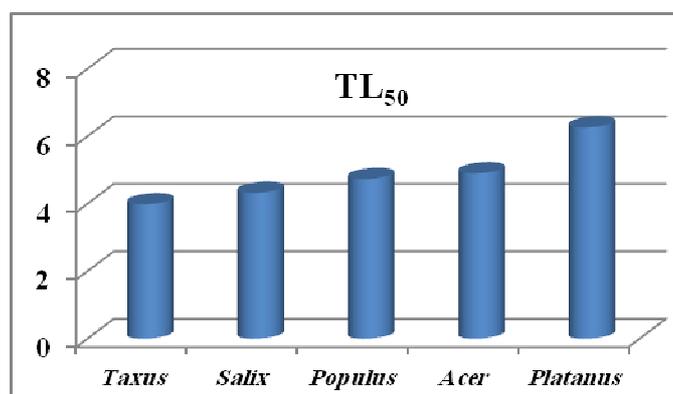


Fig. 12 : Toxicité létale sur *Artemia salina*, des suspensions séchées lessivées pendant 8 h, pour une concentration de 5 g/l, à 25°C.

Tableau. 7 :

Toxicité létale sur *Artemia salina*, des suspensions séchées lessivées pendant 8 h, pour une concentration de 5 g/l, à 25°C.

Essences Végétales	Equation de régression	Coefficient de corrélation	TL ₅₀ (heures)	Intervalle de confiance (à 95 %)
<i>Taxus baccata</i>	$y = 3,8795x + 2,6722$	0,986	3,9813	(3,9014 ; 4,0612)
<i>Salix babylonica</i>	$y = 3,9482x + 2,4899$	0,9883	4,3227	(4,2429 ; 4,4026)
<i>Populus nigra</i>	$y = 4,3295x + 2,0763$	0,9383	4,7348	(4,6368 ; 4,8327)
<i>Acer monspessulanum</i>	$y = 2,8205x + 3,1355$	0,9914	4,8984	(4,8158 ; 4,981)
<i>Platanus acerifolia</i>	$y = 4,4385x + 1,4637$	0,9751	6,2623	(6,1218 ; 6,4028)

Cependant pour une suspension de 5 g/l lessivée pendant 8 h, la TL₅₀ sur *Artemia* est de 3,3677 h avec un intervalle de confiance de 2,2982 à 3,4372 à l'état frais (Tableau. 6), et de 4,7348 h avec un intervalle de confiance de 4,6368 à 4,8327 à l'état séché (Tableau. 7).

L'augmentation brutale de la toxicité létale en fonction du temps d'incubation, chez le Peuplier peut s'expliquer d'une part par sa richesse en composés Polyphénoliques [9 ; 46 ; 47] et d'autre part par l'apparition des Quinones fortement toxiques, durant la première étape de l'oxydation enzymatique [6 ; 10].

L'Erable se classe cependant en quatrième position en ce qui concerne son impact toxicologique (Fig. 11, 12, 13 et 14). Par exemple pour une suspension de 5 g/l lessivée pendant 8 h, la TL₅₀ sur *Artemia* est de 2,8182 h avec un intervalle de confiance de 2,7453 à 2,8911 – 3,1055 h avec un intervalle de confiance de 3,0359 à 3,1752 – 3,3677 h avec un intervalle de confiance de 2,2982 à 3,4372 – 4,0219 h avec un intervalle de confiance de 3,9269 à 4,1169 et 5,0602 avec un intervalle de confiance de 4,9767 à 5,1437 respectivement chez l'If, le Saule, le Peuplier, l'Erable et le Platane à l'état frais (Tableau. 6), et de 3,9813 avec un intervalle de confiance de 3,9014 à 4,0612 – 4,3227 h avec un intervalle de confiance de 4,2429 à 4,4026 – 4,7348 h avec un intervalle de confiance de 4,6368 à 4,8327 – 4,8984 h avec un intervalle de confiance de 4,8158 à 4,981 et 6,2623 avec un intervalle de confiance de 6,1218 à 6,4028 respectivement à l'état séché (Tableau. 7).

L'Acer est aussi riche en composés Polyphénoliques que le Saule [40], même si sa toxicité durant les premières heures d'incubation reste moyenne. Ceci confirme que les Polyphénols ne sont pas les seules responsables de la toxicité d'une plante donnée, d'autres composés sont incriminés, à savoir, les Alcaloïdes, les Saponosides, les

Terpénoïdes, etc. Ainsi la nature qualitative des molécules organiques hydrosolubles libérées par chaque essence végétale serait à l'origine des différents effets toxiques observés.

Par ailleurs, le Platane s'est montré moyennement toxique malgré sa richesse en composés Polyphénoliques [48]. Ainsi dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment, la TL₅₀ sur *Artemia* des suspensions de 5g/l lessivées pendant 8 h à 25°C, est de 5,0602 h avec un

intervalle de confiance de 4,9767 à 5,1437 à l'état frais (Tableau. 6), et de 6,2623 h avec un intervalle de confiance de 6,1218 à 6,4028 à l'état séché (Tableau 7).

La faible toxicité des feuilles mortes du Platane est probablement due à leur texture rigide permettant un lessivage lent.

4. Conclusion

Notre étude s'est focalisée sur l'impact de la végétation riveraine qui borde le cours d'eau Vittel (Tizguit, Région d'Ifrane), formée essentiellement d'If (*Taxus baccata*), de Saule babylone (*Salix babylonica*), de Peuplier noir (*Populus nigra*), d'Erable de Montpellier (*Acer monspessulanum*) et de Platane hybride (*Platanus acerifolia*).

L'ensemble des résultats obtenus nous ont permis de comprendre quelques-uns des mécanismes qui interviennent dans le phénomène de la contamination naturelle des milieux aquatiques récepteurs.

Les tests de toxicité comportementale réalisés sur les larves (nauplii du stade II) d'*Artemia salina* et les alevins de *Gambusia affinis* (alevins de 1,5 cm) montrent que la toxicité des lessivats se manifeste essentiellement au niveau du rythme de la nage et de la respiration. Chez les Gambusies, ce comportement est précédé d'un mouvement violent, les alevins essayent de s'échapper du bêcher.

Le suivi du comportement et de la mortalité des organismes tests nous a permis de déterminer également la TL₅₀ par la méthode des probits, décrite par [21 ; 22].

La majorité des recherches en toxicologie concerne des extraits de plantes pris, isolément et agissant à court terme, généralement CL₅₀-24, 48 ou 96 h. La TL₅₀ déterminée par les lessivats des feuilles et des aiguilles mortes de ces cinq essences végétales à leur état naturel permet d'évaluer en partie le niveau de contamination des eaux superficielles par les apports allochtones feuillus.

Les résultats obtenus révèlent l'existence d'une cinétique de mortalité pour les lessivats. La mortalité commence dès la première heure d'incubation aussi bien chez les *Artemies* que chez les *Gambusies*.

Les résultats des tests de toxicité létale obtenus soulignent l'importance de la durée du lessivage, de la concentration initiale, du type de traitement, et de l'espèce foliaire.

Les tests de toxicité létale permettent de voir que les TL₅₀ des lessivats de l'If et du Saule sont les plus faibles.

Le test *Artemia* est court (11 heures), ceci revient essentiellement au fait que les larves (nauplii du stade II) sont très exigeantes vis-à-vis de la salinité, elles ne peuvent pas vivre plus de 12 heures dans les eaux douces [16].

Le calcul de la TL₅₀ montre l'ordre de toxicité suivant : If > Saule > Peuplier > Erable > Platane, où la toxicité de l'If est la plus élevée, suivie dans l'ordre par le Saule, le Peuplier, l'Erable et le Platane.

L'If (*Taxus baccata*) conifère à aiguilles coriaces, est connu pour sa toxicité à l'égard de plusieurs organismes tests. A titre d'exemple la DL₅₀ (dose létale pour 50% des organismes tests) est de l'ordre de 2g par Kg pour le cheval, de plus les composés toxiques passent dans la chair et le lait animal [33].

Une comparaison de nos résultats avec ceux de la bibliographie s'est montrée très difficile du fait qu'à notre connaissance aucune donnée sur la sensibilité des Gambusies et des Artemies vis-à-vis des essences végétales choisies n'a été publiée jusqu'à présent.

Chez le Peuplier la toxicité des lessivats est plus faible par rapport à celle de l'If et du Saule, mais reste considérable par rapport aux témoins.

L'Erable est par ailleurs moyennement toxique, alors que le Platane reste le moins actif de toutes les essences étudiées.

Le Platane, espèce à feuilles pourtant fortement mélanisables et particulièrement riche en Polyphénols [48], s'est montré peu actif sur le plan toxique et désoxygénant.

En comparant la toxicité des lessivats en fonction du type de traitement des feuilles et des aiguilles, nous constatons qu'à 25°C les suspensions fraîches sont les plus toxiques, et ce quelque soit l'espèce test utilisée (*Artemia* ou *Gambusia*).

Références

- [1] A. Wurtz, Bulletin Français de pisciculture. 179 (1955)41-52.
- [2] H. Chergui, Conférence internationale sur les ECOTON, SOPRON, HONGRIE (1988).
- [3] H. Chergui and E. Pattee, Archiv. Hydrobiol. 120(1990)1-12.
- [4] M. HUET, Ass. Int. Limnol. Theor. App. 11 (1951)189-200.
- [5] M. Trémolières (1979), in M. Trémolières, Thèse d'Etat. Es-Sci. Uni. Louis Pasteur, Strasbourg. (1983)150.
- [6] S. Chase and A. Ferrullo, J. New Engl. Water. Works. Assoc. 71(1957)307-312.
- [7] M. Metche, F. Mangenot and F. Jacquin, Soil. Biol. Bioch. 2 (1970) 81-98.
- [8] M. Trémolières and J. Bieth, Phytochemistry. 23(3)(1984)501-505.
- [9] M. Trémolières and R. Carbiener, Rev. Ecol. (Terre Vie). 40(1985)435-449.
- [10] M. Trémolières, Water. Res. 22(1) (1988)21-28.
- [11] M.J. Amiot, M. Tacchini, S. Auberti and J. Nicolas, J. Food. Sci. 57(1992)958-962.
- [12] J. Nicolas and J. Potus, Sciences des Aliments. 14(1994)627-642.
- [13] Z. O. Benziane, Thèse de Doct National Es Sci. Fac. Sci. DEM Fès Maroc (2000)201.
- [14] J. Martin, Edit du service géologique du Maroc Rabat. (1981)445.
- [15] M. A. Benslimane, Thèse de Doct National Es Sci. Fac. Sci. DEM Fès Maroc (2003)179.
http://toubkal.imist.ma/bitstream/handle/123456789/1002/THESE_BEN%20SLIMANE.pdf;jsessionid=4AF557FFFF823E388484DADC2B7FF34?sequence=3
- [16] C. J. Jonces, Water. Environ-Entomo. 21(4)(1992)832-836.
- [17] S. Ratnayake, J. K. Rupprecht, W. M. Potter and J. L. McLaughlin, Horticultural Entomology. 85(6)(1992)2353-2356.
- [18] L. Blainstein, American Mosq. Control, Ass. 5(1)(1989) 29-35.
- [19] B. Fraile, F. J. Saez, C. A. Vicentini, A. Gonzalez, M. P. DE Migvel and R. Paniagva, Copeia. 1(1994)216-221.
- [20] J. Dutrieu, Arch. Zool. Exp. 99 (1960)1-133.
- [21] F. RAMADE, Ecotoxicologie. Masson Paris. (1977)250.
- [22] J. T. J. R. Litchfield and F. Wilcoxon, J. Pharmac. Expr. Ther. 99-113.
- [23] A. Cowley (1985) in A. MAAROUF, Thèse d'Etat, Fac. Sci. Meknès. (1993)293.
- [24] Carbiener (1961), in M. Trémolières, Thèse d'Etat. Es-Sci. Uni. Louis Pasteur, Strasbourg. (1983)150.
- [25] M. Melhaoui, Thèse d'Etat, Fac. Sci. Oujda. (1994)163.
- [26] L. Haddy, Thèse de 3ème cycle, Fac. Sci. Oujda. (1993)83.
- [27] K. Laabidi, Thèse de 3ème cycle. Fac. Sci. Oujda. (1993)96.
- [28] G. Chauvière, D. Guenard and F. Picot, Compte Rendus Hebdomadaire des séances de l'académie des Sciences, Paris. 293(7)(1981)501-503.
- [29] N. Vidensek, P. Lim, A. Campbell and C. Carlson, Journal of Natural Product. 53 (6)(1990)1609-1610.
- [30] J.H. Cardellina, 14(4)(1991)659-665.
- [31] D. G. I. Kingston, Pharmac. Ther. 52(1991)1-34.
- [32] M.J.I. Mattina and A. A. Paiva, Environ. Hort. 10(4)(1992)187-191.
- [33] M. H. Vanhaelen, J. Pharm. Belg. 47(5)(1992)417-424.
- [34] R. Vanhaelen-Fastre, B. Diallo, M. Jaziri, M. L. FAES, J. Homes and M. Vanhaelen, Journal of Liquid Chromatography. 15(4)(1992)697-706.
- [35] R. F. PIESCH and N. C. Wheeler, Acta. Horticulturae. 344(1993)219-228.
- [36] K. SHANKER, N. K. R. PATHAK, V.P. TRIVEDI, J. P. N. CHANSURIA and V. B. PANDEY. Journal of Ethnopharmacology. 79(2002)69-73.
- [37] S. Malik, R. M. CUSIDO, M. H. MIRJALILI and E. MOYANO. Process Biochemistry. 46 (2011) 23-34.
- [38] N. Nykvist, Studia Forestalia Suecica. 3 (1963) 1-31.
- [39] F. Mangenot, F. Jacquin and M. Metche, Oecol. Plant. 1(1966)79-102.
- [40] M.E. Carr, Econ. Bot. 39(1985)336-345.
- [41] Y. Tekol, Planta Medica. 5(1985)357-360.
- [42] N.C. Wheeler et al, K. Jech, S. Masters, S.W. Brobst, A.B. Alvarado and A.J. Hoover, Journal of Natural Products. 55(4)(1992)432-440.
- [43] J. Leu, K.S. Jech, N.C. Wheeler, B. Chen and B.F. Life Sciences. 53 (1993). 183-187.
- [44] Y. Guo, M. Jaziri, B. Diallo, R. Vanhaelen-Fastre, A. Zhiri, M. Vanhaelen, M. Homes and E. Rombardelli, Biol. Chem.Hoppe-Seyler. 375(1994)281-287.
- [45] A. Stierle, D. Stierle, G. Strobel, G. Bignami and P.Grothaus, J. Am. Chem. Soc. 6: (1995). 81-97.
- [46] S.A. Hoffman, A.R. Miller and W.L. Pengelly, Phytochemistry. 21(11)(1985)2685-2688.
- [47] Y.G. Park, M.S. Choi and S.H. Son, Biotechnology in Agriculture and Forestry. 37(1996) 319-334.
- [48] M. Kaouadji, S. Chiron, J. Garcia, F. Thomasson, M. Tissut and P. Ravel, Phytochemistry. 31(6)(1992)2131-2134.