

Écotoxicologie

RÉPONSE D'UNE COMMUNAUTÉ DE NÉMATODES LIBRES MARINS À UNE CONTAMINATION PAR LE CUIVRE : ÉTUDE MICROCOSMIQUE

par

HEDFI Amor, MAHMOUDI Ezzeddine, BEYREM Hamouda,

BOUFAHJA Fehmi, ESSID Naceur et AÏSSA Patricia

Une étude microcosmique a été effectuée pour tester l'influence d'un élément métallique (le cuivre) sur une communauté de nématodes libres provenant de la baie de Bizerte (Tunisie). Trois doses de cuivre (faible : 700 ppm, moyenne : 1414 ppm et forte : 2180 ppm) ont été testées pour évaluer les effets de ce métal après 30 jours d'exposition. Les résultats des analyses statistiques ont montré des différences significatives entre le microcosme témoin et les contaminés. Ainsi, l'abondance (I), le nombre d'espèces (S) et la richesse spécifique (d) ont été réduites significativement parallèlement à l'enrichissement sédimentaire en cuivre alors que la diversité (H') n'a été affectée que par la moyenne et la forte dose en cet élément métallique. Les analyses statistiques relatives aux abondances des espèces nématologiques ont mis en évidence une altération de la composition spécifique des associations de nématodes en réponse à la contamination par le cuivre. Ainsi, *Microlaimus affinis* et *Monoposthia mirabilis* semblent être des espèces très sensibles au cuivre puisqu'elles ont été éliminées à toutes les doses métalliques testées. Toutes les espèces, signalées dominantes dans le microcosme témoin, ont montré une chute graduelle de leurs abondances parallèlement à l'augmentation du niveau de contamination par le cuivre.

Mots-clés : Microcosmes, sédiments, nématodes libres marins, éléments métalliques, cuivre.

Response of a free-living nematode community to copper contamination: Results from microcosm experiments

A microcosm experiment was carried out to examine the influence of copper on a free-living nematode community from the Bay of Bizerte (Tunisia). Sediments were contaminated by three copper concentrations (low: 700 ppm, medium: 1414 ppm and high: 2180 ppm), and the effects were examined after 30 days. Gradual changes in community structure were

Bulletin de la Société zoologique de France 133 (1-3)

revealed depending on the quantity of copper administrated: abundance (I), number of species (S) and species richness (d) decreased significantly with an increase of copper contamination, whereas the Shannon-Weaver index (H') was only affected at medium and high copper concentrations. Results from multivariate analyses of the species abundance data demonstrated that responses of nematode species to the copper treatments were varied: *Microaimus affinis* and *Monoposthia mirabilis* seemed to be very sensitive species to copper, as they were eliminated at all doses tested. The abundances of all dominant species in the control microcosm declined with increasing level of copper contamination.

Key words: Microcosm, sediments, free-living nematodes, heavy metals, copper.

Introduction

La plupart des travaux sur la toxicité des éléments métalliques sont concentrés sur leur impact sur des espèces isolées (GEORGE & PIRIE, 1979 ; MORAÏTOU-APOSTOLOPOULOU & VERRIOPOULOS, 1982). Quelques études ont toutefois été faites pour évaluer les risques potentiels de certains métaux traces sur les communautés méiofaunistiques (AUSTEN & McEVOY, 1997 ; MILLWARD *et al.*, 2004 ; GYEDU-ABADIO & BAIRD, 2006).

Il est bien connu que les sédiments de la Méditerranée sont contaminés par les métaux traces (PALANQUES & DIAZ, 1994 ; MULSOW *et al.*, 2001) mais nous ne disposons que de très peu de documents sur l'impact communautaire de ces polluants. En effet, aucune étude *in vivo* n'a été conduite sur les effets des métaux traces sur les communautés benthiques de la Méditerranée ; les études sur le terrain (HERMI, 2001 ; HEDFI *et al.*, 2003 ; MAHMOUDI *et al.*, 2002) se sont limitées à rechercher des corrélations entre les concentrations en polluants et la composition des communautés.

Le présent travail se propose de fournir les premières données quantitatives et qualitatives sur l'impact d'un enrichissement expérimental en cuivre sur une communauté marine de nématodes libres.

Matériel et méthodes

Site d'échantillonnage

Du sédiment avec sa méiofaune naturelle a été collecté à partir de la baie de Bizerte (Tunisie), en utilisant des carottiers en plexiglas de 10 cm² de section. Au niveau du site d'échantillonnage (N 37 17' 654" E 009 52' 476"), la salinité des eaux a été égale à 36,5 PSU ; le sédiment, prélevé à une profondeur de 1,20 m est principalement composé de sable fin.

Contamination du sédiment

Dès retour au laboratoire, le sédiment destiné à être contaminé a été tout d'abord congelé et décongelé à trois reprises pour tuer sa méiofaune (AUSTEN *et al.*, 1994), puis tamisé sur un tamis de 63 µm pour enlever les grosses particules. Ensuite, des quantités de 100 g de sédiment sec ont été préalablement contaminés avec des doses appropriées de chlorure de cuivre en solution dans le but d'obtenir après mélange avec 200 g

Communauté de nématodes

de sédiment marin naturel des concentrations finales en ce métal correspondant à des doses faibles (700 ppm), moyennes (1414 ppm) et fortes (2180 ppm). Les doses expérimentales que nous avons testées sont comparables à celles utilisées par AUSTEN & McEVOY (1997) dans leur étude microcosmique sur la réponse de la méiofaune marine du Rame Head (sud-ouest de l'Angleterre) à un enrichissement sédimentaire en éléments métalliques et notamment en cuivre.

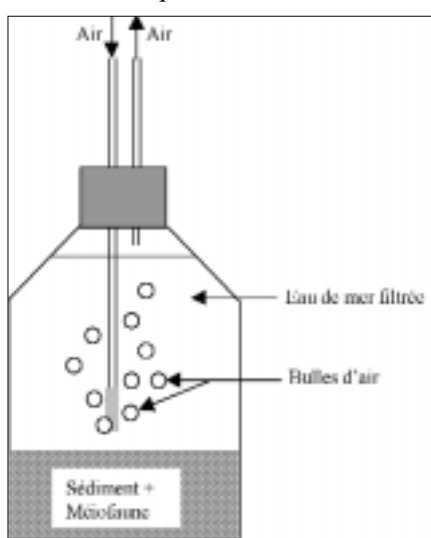


Figure 1

Schéma d'un microcosme.
Microcosm experiment set-up.

Les microcosmes qui consistent en des bouteilles en verre de 567 ml (Fig. 1) ont été remplis tout d'abord avec 300 g de sédiments [200 g de sédiment naturel + 100 g (poids sec) de sédiment contaminé] puis avec de l'eau de mer préalablement filtrée sur un tamis de 1 μ m. Chaque microcosme fonctionne comme un système fermé avec une aération continue assurée par une pompe d'aquarium. La fiabilité d'un tel dispositif expérimental a été vérifiée par plusieurs auteurs (AUSTEIN *et al.*, 1994 ; SCHRATZBERGER & WARWICK, 1998). Un microcosme témoin et trois traitements, correspondant aux trois niveaux de contamination par le cuivre, ont été utilisés. Pour chaque type de microcosme, quatre replicats ont été considérés. Après 30 jours de contamination, le sédiment de chaque microcosme a été conservé dans du formol à 5% ; les microcosmes sont identifiés dans le texte selon les codes présentés dans le tableau 1.

Tableau 1

Codes utilisés pour identifier les différents microcosmes.
Codes used to identify microcosms.

Traitement	Code
Sédiment non contaminé	C
Sédiment à une concentration finale en cuivre égale à 700 ppm	Cu(L)
Sédiment à une concentration finale en cuivre égale à 1414 ppm	Cu(M)
Sédiment à une concentration finale en cuivre égale à 2180 ppm	Cu(H)

Techniques d'étude de la méiofaune et traitement statistique des données

Les nématodes, taxon méiofaunistique prédominant, ont été colorés au rose bengale, séparés par la méthode de lévigation-tamisage (VITIELLO & DINET, 1979) et comptés sous la loupe binoculaire.

La plupart des analyses statistiques des données suivent les méthodes standard d'analyse des communautés décrites par CLARKE & WARWICK (2001). Des indices d'analyses univariées ont été considérés : l'abondance nématologique totale (I), le nombre d'espèces (S), la diversité [indice de diversité de SHANNON (H')], la richesse spécifique (d) et l'équitabilité (J'). Le test de la différence significative de Tukey (Tukey

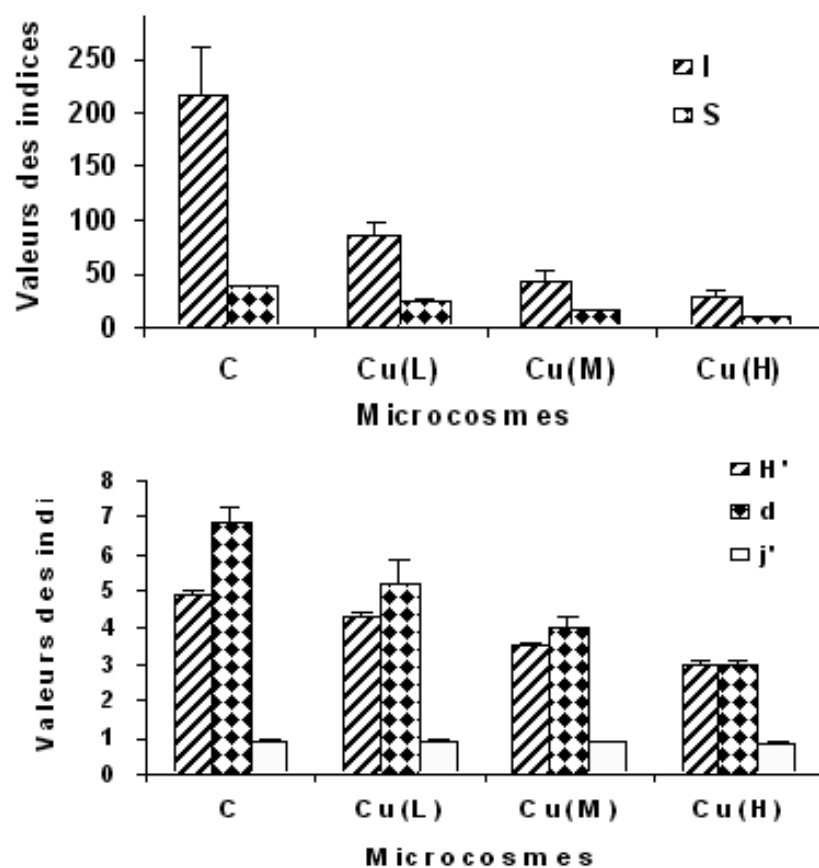


Figure 2

Valeurs des indices d'analyses univariées calculés pour les communautés de nématodes libres du microcosme témoin (C) et de ceux enrichis en cuivre [Cu(L), Cu(M) et Cu(H)]. I = abondance, S = nombre d'espèces, H' = indice de diversité de Shannon, d = richesse spécifique, J' = équitabilité.

Graphical summary of univariate indices for nematode assemblages from each microcosm (I = abundance, S = number of species, H' = Shannon-Weaver index, d = species richness, J' = evenness).

Communauté de nématodes

Tableau 2

Résultats de l'analyse statistique par le test de la différence significative de Tukey (Tukey HSD), utilisé dans des comparaisons multiples entre les communautés nématologiques du contrôle et celles des microcosmes enrichis en cuivre (+ : augmentation de la valeur de l'indice de l'analyse univariée ; - : réduction de la valeur de l'indice de l'analyse univariée; ns: différence non significative à $p < 0.05$). I = abondance, H' = indice de diversité de Shannon, d = richesse spécifique, J' = équitabilité, S = nombre d'espèces.

Results from multiple comparison tests for significant differences between nematode assemblages from the control microcosm and the copper amended treatments (+: increase in univariate measure; -: decrease in univariate measure; ns: no significant difference at $p < 0.05$). (I = abundance, H' = Shannon-Weaver index, d = species richness, J' = evenness, S = number of species).

Microcosme	Effets du traitement par le cuivre sur les indices des analyses univariées des communautés nématologiques
Cu(L)	I : -, H' : -, d : -, J' : ns, S : -
Cu(M)	I : -, H' : -, d : -, J' : -, S : -
Cu(H)	I : -, H' : -, d : -, J' : -, S : -

HSD) a été utilisé dans des comparaisons multiples entre le contrôle et les microcosmes traités. Dans tous les traitements statistiques considérés précédemment, le seuil de signification a été fixé à 5%. Les analyses multivariées ont fait appel au logiciel PRIMER (CLARKE & GORLEY, 2001), l'ordination des taxa nématologiques a été réalisée selon la méthode MDS (*non-parametric multi-dimensional scaling*) en considérant les valeurs transformées (racine carrée) de leurs abondances relatives spécifiques pour mettre en évidence d'éventuelles modifications en réponse aux différents niveaux de contamination par le cuivre. Le test d'analyse de similarités (ANOSIM) a été employé pour comparer la structure communautaire des différents microcosmes traités. La procédure SIMPER (*similarity percentages*) a été utilisée pour déterminer la contribution de chaque espèce à la dissimilarité moyenne de BRAY-CURTIS entre le contrôle et les microcosmes traités.

Résultats et discussion

Analyses univariées

Les valeurs prises par les indices d'analyses univariées (Fig. 2) considérés pour décrire la communauté nématologique de chaque microcosme indiquent que les effets de la contamination du sédiment par le cuivre sur les nématodes libres marins varient en fonction de la dose utilisée.

En effet, l'abondance (I) et le nombre d'espèces (S) ont été considérablement affectés par la contamination par le cuivre (Fig. 2). Les résultats des analyses par le test HSD, utilisé dans des comparaisons multiples entre le contrôle et les microcosmes traités, montrent des différences significatives pour la plupart des indices dans les microcosmes traités par rapport au témoin (Tableau 2). Ainsi, l'abondance (I), le nombre d'espèces (S), la richesse spécifique (d) et l'indice de diversité de Shannon (H') sont réduits significativement parallèlement à l'enrichissement en cuivre.

Bulletin de la Société zoologique de France 133 (1-3)

Les courbes de k-dominance (Fig. 3) montrent une nette augmentation de la dominance spécifique et une chute de la diversité spécifique parallèlement à l'enrichissement sédimentaire en cuivre.

Analyses multivariées

L'ordination des taxa nématologiques selon la méthode MDS indiquent un très net effet de la contamination par le cuivre sur les peuplements nématologiques (Fig. 4). En effet, les microcosmes sont graduellement disposés en séries en fonction de leurs teneurs sédimentaires en cuivre, les replicats de tous les microcosmes traités par le cuivre sont placés à gauche de ceux du contrôle avec ceux du microcosme fortement contaminé (Cu(H)) à l'extrême gauche de cette ordination.

L'analyse des similarités (ANOSIM) révèle que les communautés nématologiques sont affectées par l'enrichissement en cuivre. Ainsi, dans tous les microcosmes traités par ce métal, les associations de nématodes diffèrent significativement de celle du contrôle ($p < 0,05$).

Les résultats de la procédure SIMPER montrent que la dissimilarité moyenne entre les différents microcosmes augmente parallèlement à l'enrichissement sédimentaire en cuivre (Tableau 3).

Le microcosme témoin C a été dominé par *Trichostrongylus mirabilis* (17,8%), *Pomponema multipapillatum* (17,0%), *Leptonemella aphanothecae* (10,5%), *Ditlevsenella murmanica* (10,3%), *Oncholaimus campylocercoides* (9,0%), *Xyala striata* (8,3%), *Oncholaimellus mediterraneus* (7,8%), *Gammanema conicauda* (7,8%), *Viscosia cobbi* (7,5%), *Bathylaimus capacosus* (7,0%), *Mesacanthion hirsutum* (7,0%), *Chromaspirina pontica* (6,3%), *Theristus modicus* (6,0%) et *Sabatieria longisetosa* (6,0%). Toujours en ordre décroissant d'abondance, il apparaît ensuite des espèces

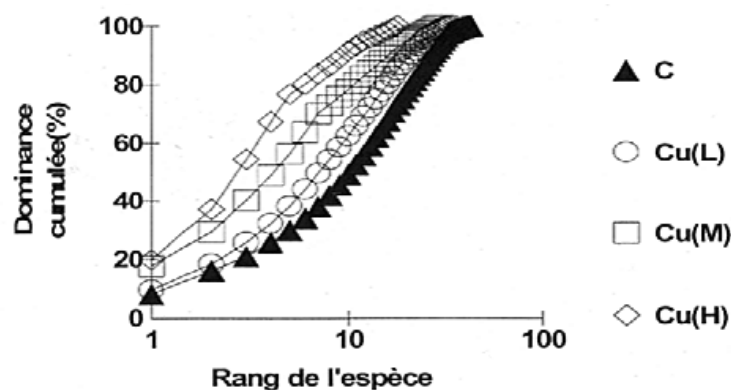


Figure 3

Les courbes de k-dominance pour le microcosme témoin (C)
et pour les enrichis en cuivre [Cu(L), Cu(M) et Cu(H)].

*k-dominance curves for uncontaminated sediment control microcosm (C)
and copper added sediment treatments [Cu(L), Cu(M) and Cu(H)].*

Communauté de nématodes

communes aux abondances inférieures, ne dépassant pas les 5% : *Viscosia glabra* (4,8%), *Latronema orcinum* (4,3%), *Neochromadora trichophora* (4,3%), *Enoplolaimus propinquus* (3,8%), *Chaetonema vicinum* (3,5%), *Ptycholaimellus ponticus* (3,0%) et *Bathylaimus tenuicaudatus* (3,0%). *Microaimus affinis* et *Monoposthia mirabilis* ont été totalement éliminées dans tous les microcosmes traités par du cuivre alors que toutes les espèces signalées dominantes dans le témoin ont vu leurs abondances chuter parallèlement à l'enrichissement sédimentaire en cuivre.

Les communautés nématologiques de la baie de Bizerte ont été très affectées par l'enrichissement sédimentaire en cuivre. Ainsi, les valeurs de la plupart des paramètres descripteurs des peuplements nématologiques ont chuté de manière significative parallèlement à l'enrichissement en ce métal. Les effets néfastes des métaux traces sur la nématofaune ont été rapportés par plusieurs auteurs (FICHET & MIRAMAND, 1996 ; MAHMOUDI *et al.*, 2002). Selon BURTON *et al.* (2001), la contamination par les éléments métalliques modifie la structure des communautés méiofaunistiques.

Tableau 3

Dissimilarité moyenne entre les différents microcosmes.

Average dissimilarity between microcosms.

Dissimilarité moyenne (%)	C	Cu(L)	Cu(M)	Cu(H)
C				
Cu(L)	40,06			
Cu(M)	66,41	46,56		
Cu(H)	76,22	57,31	42,71	

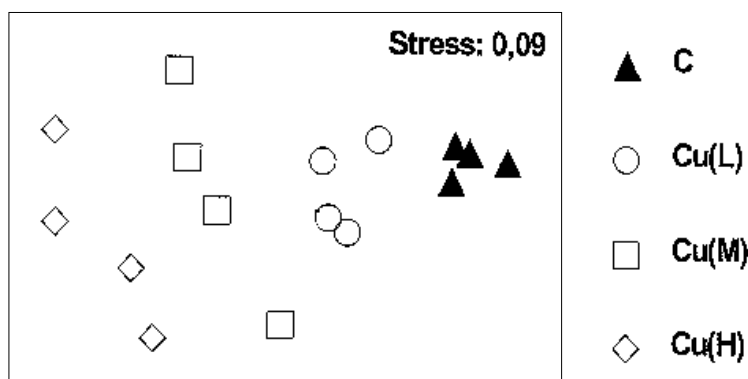


Figure 4

Ordination des microcosmes selon la méthode MDS (non-parametric multi-dimensional scaling), réalisée en considérant les valeurs transformées (racine carrée) des abondances spécifiques calculées pour le microcosme témoin (C) et pour les microcosmes enrichis en cuivre [Cu(L), Cu(M), Cu(H)].

Non-metric MDS ordination of square-root transformed nematode species abundance data from uncontaminated sediment control microcosm (C) and copper added sediment treatments [Cu(L), Cu(M), Cu(H)].

Bulletin de la Société zoologique de France 133 (1-3)

La méthode MDS a mis en évidence des modifications significatives dans les abondances relatives des espèces par rapport au microcosme témoin (Fig. 3). Ainsi, tous les replicats ont été séparés les uns des autres indiquant un changement graduel dans la composition communautaire parallèlement à l'augmentation du niveau de contamination par le cuivre.

La nématofaune étudiée semble être sensible au cuivre même à faible dose (700 ppm). La sensibilité des nématodes libres aux métaux traces a été également observée dans des milieux estuariens (AUSTEN *et al.*, 1994) et marin (AUSTEN & McEVOY, 1997). Dans leur étude microcosmique sur les effets du zinc, du cuivre et du cadmium, AUSTEN *et al.* (1994) ont montré que la structure des communautés nématologiques de deux estuaires est altérée par le cuivre à une teneur de 749,32 ppm alors que le cadmium serait inoffensif à 2,89 ppm. Dans un travail similaire, AUSTEN & McEVOY (1997) ont trouvé que les associations marines de nématodes libres étaient sensibles au cuivre à une teneur de 794 ppm.

Dans le présent travail, *Microlaimus affinis* et *Monoposthia mirabilis* semblent être des espèces très sensibles au cuivre puisqu'elles ont été éliminées à toutes les doses testées de ce métal. Toutes les autres espèces, signalées dominantes dans le microcosme témoin, ont montré une chute graduelle de leurs abondances parallèlement à l'enrichissement sédimentaire en cuivre.

Conclusion

Les résultats de la présente étude constituent une contribution aux investigations relatives aux conséquences écologiques de la contamination par les métaux traces sur les communautés benthiques. L'altération de la composition spécifique des associations nématologiques pourrait influencer significativement les interactions au sein des nématocoénoses mais aussi les interactions entre la majorité des taxa benthiques (CARMAN *et al.*, 1997). De plus, les organismes méiobenthiques et particulièrement les nématodes libres et les copépodes constituent l'unique source alimentaire de plusieurs poissons juvéniles et crustacés (GEE, 1989 ; COULL, 1990). La réponse de la nématofaune à la contamination par le cuivre (élimination de certaines espèces, réduction de l'abondance d'autres formes) limiterait les ressources trophiques de leurs prédateurs et pourrait aboutir dans les cas extrêmes à l'altération de la structure de toutes les communautés de l'écosystème.

Remerciements

Cette étude a été financée par le ministère de la Recherche scientifique, de la Technologie et du Développement des compétences (MRSTDC).

Laboratoire de Biosurveillance de l'Environnement,
Faculté des Sciences de Bizerte, Zarzouna 7021, Tunisie.
Fax : +216 72 590 566. Email : hedfi.amor@laposte.net

Communauté de nématodes

RÉFÉRENCES

- AUSTEN, M.C. & McEVOY, A.J. (1997).- The use of offshore meiobenthic communities in laboratory microcosm experiments: response to heavy metal contamination. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **211**, 247-261.
- AUSTEN, M.C., McEVOY, A.J. & WARWICK, R.M. (1994).- The Specificity of Meiobenthic Community Responses to Different Pollutants: Results from Microcosm Experiments. *Mar. Pollut. Bull.*, **28**, 557-563.
- BURTON, S.M., RUNDLE, S.D. & JONES, M.B. (2001).- The relationship between trace metal contamination and stream meiofauna. *Environ. Pollut.*, **111**, 159-167.
- CARMAN, K.R., FLEEGER, J.W. & POMARICO, S.M. (1997).- Response of a benthic food web to hydrocarbon contamination. *Limnol. Oceanogr.*, **42**, 561-571.
- CLARKE, K.R. & GORLEY, R.N. (2001).- *PRIMER v5: User manual/tutorial*. PRIMER-E, Plymouth, UK, 91 p.
- CLARKE, K.R. & WARWICK, R.M. (2001).- *Changes in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. 2nd edition. PRIMER-E, Plymouth, UK, 164 p.
- COULL, B.C. (1990).- Are members of the meiofauna food for higher trophic levels? *Trans. Am. Microsc. Soc.*, **109**, 233-246.
- FICHET, D. & MIRAMAND, P. (1996).- Métaux lourds et méiofaune benthique : indicateurs de pollution des sédiments portuaires (premiers résultats). Actes du 11^{ème} Colloque de l'Union des Océanographes de France. *J. Rech. Océanogr.*, **21**, 82.
- GEE, J.M. (1989).- An ecological and economical review of meiofauna as food for fish. *Zool. J. Linn. Soc.*, **96**, 243-261.
- GEORGE, G.S. & PIRIE, J.S.B. (1979).- The occurrence of cadmium in subcellular particles in the kidney of the marine mussel, *Mytilus edulis*, exposed to cadmium. *Biochem. Biophys. Acta-Protein Structure*, **580**, 234-244.
- GYEDU-ABADIO, T.K. & BAIRD, D. (2006).- Response of meiofauna and nematode communities to increased levels of contaminants in a laboratory microcosm experiment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **63**, 443-450.
- HEDFI, A., MAHMOUDI, E., ESSID, N., BEYREM, H. & AÏSSA, P. (2003).- Distribution quantitative de la méiofaune d'un milieu fortement anthropisé : le vieux port de Bizerte. *Bull. INSTM* (vol. **30**), 10 p.
- HERMI, M. (2001).- *Impact de la pollution sévissant dans le lac Sud de Tunis sur la méiofaune*. Thèse doct. Fac. Sc. Bizerte, 300 p.
- MAHMOUDI, E., BACCAR, L., BEYREM, H. & AÏSSA, P. (2002).- Response of free-living nematodes to the quality of waters and sediments at Bou Ghrara lagoon (Tunisia) during winter 2000. *Medit. Mar. Sci.*, **2**, 133-146.
- MILLWARD, R.N., CARMAN, K.R., FLEEGER, J.W., GAMBRELL, R.P. & PORTIER, R. (2004).- Mixtures of metals hydrocarbons elicit complex responses by a benthic invertebrate community. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **310**, 115-130.
- MORAÏTOU-APOSTOLOPOULOU, M. & VERRIOPOULOS, G. (1982).- Individual and combined toxicity of three heavy metals, Cu, Cd and Cr for marine copepod *Tisbe holothuria*. *Hydrobiologia*, **87**, 83-87.
- MULSOW, S., POVINCE, P., WYSE, E., BEN MANSOUR, M., SAMMIR, B. & CHAFIK, A. (2001).- Trace elements, heavy metals and Pb isotopic ratios in marine sediments of the South Mediterranean Sea (Morocco). *Rapp. Comm. Int. Explr. Scient. Mer Méd.*, **36**, 147.
- PALANQUES, A. & DIAZ, J.I. (1994).- Anthropogenic heavy metal pollution in the sediments of the Barcelona continental shelf (Northwestern Mediterranean). *Mar. Environ. Res.*, **38**, 17-31.

Bulletin de la Société zoologique de France 133 (1-3)

- SCHRATZBERGER, M. & WARWICK, R.M. (1998).- Effects of intensity and frequency of organic enrichment on two estuarine nematode communities. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **164**, 83-94.
- VITIELLO, P. & DINET, A. (1979).- Définition et échantillonnage du méiobenthos. *Rapp. Comm. Int. Explr. Scient. Mer. Méd.*, **25**, 279-283.

(reçu le 06/02/07 ; accepté le 07/06/07)