

EVALUATION DE LA TOXICITE COMBINEE DE SELS DE PLOMB ET DE CADMIUM EN MILIEU AQUATIQUE LEGEREMENT ACIDE

[EVALUATION OF TOXICITE COMBINEE OF SALTS OF LEAD AND CADMIUM IN SLIGHTLY ACID AQUATIC ENVIRONMENT]

Athanase N. KUSONIKA, Jean Berdhy M. NDJOB, Thierry T. TANGOU, Emmanuel M. BIEY, François Xavier M. MBUYI, Camille I. NSIMANDA, René V. GIZANGA, and Dieudonné E. MUSIBONO

Laboratoire d'Ecotoxicologie et Santé des écosystèmes ERGS, Département des sciences de l'environnement, Faculté des Sciences, Université de Kinshasa, RD Congo

Copyright © 2017 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: We proposed to undertake an experimental study on the combined toxicity of Lead and Cadmium in aquatic environment, for describing well the danger which run the alive beings which live there and on which the life depends on it. To achieve our goal, we used as biological material *Gambusia affinis*, a species sensitive to toxicity in order to check if the combined effects of heavy metals in fact Plomb and Cadmium would be the cause of disturbance in aquatic environment. We proceeded to test each salt individually and to determine the CL50 of them; then, to prepare a solution combined with the concentrations corresponding to the value of $\frac{1}{2}$ CL50 of these two salts tested according to méthode(5). Taking into consideration these results obtained, the constant following is released: The Cadmium tested with the concentration of 0,1 G and its dilutions, is very toxic with a CL50 around 0,003 Mg that the solutions of Lead to the same concentration with a CL50 around 0,006 Mg. The biological tests of laboratory made it possible to prove the toxicity of each salt separately and to confirm the combined toxicity of these two heavy metals, owing to the fact that the combination of their $\frac{1}{2}$ CL50 gives synergistic effects to the populations of *Gambusia affinis*. This study will precisely allow the scientific community, to the industrialists, and the government to manage our environment well, in order to especially avoid the danger due to the pollution with heavy metals which constitutes today a plague threatening the species of the aquatic environment, water, and the life of the human beings in general, in the mine fields of the DRC being a significant mining country.

KEYWORDS: solution, combined toxicity, aquatic environment.

RESUME: Nous nous sommes proposé de mener une étude expérimentale sur la toxicité combinée du Plomb et de Cadmium en milieu aquatique, en vue de bien décrire le danger que courent les êtres vivants qui y habitent et dont la vie en dépend. Pour atteindre notre objectif, nous avons utilisé comme matériel biologique *Gambusia affinis*, une espèce sensible à la toxicité afin de vérifier si les effets combinés de métaux lourds en l'occurrence Plomb et Cadmium seraient la cause de perturbation en milieu aquatique. Nous avons procédé à tester individuellement chaque sel et en déterminer les CL₅₀ ; ensuite, préparer une solution combinée avec les concentrations correspondant à la valeur de la $\frac{1}{2}$ CL₅₀ de ces deux sels testés selon la méthode(5). Au regard de ces résultats obtenus, les constants suivants se dégagent : Le Cadmium testé à la concentration de 0,1 g et ses dilutions, est très toxique avec une CL₅₀ autour de 0,003 mg que les solutions du Plomb à la même concentration à une CL₅₀ autour de 0,006 mg.

Les tests biologiques de laboratoire ont permis de prouver la toxicité de chaque sel séparément et de confirmer la toxicité combinée de ces deux métaux lourds, du fait que la combinaison de leurs $\frac{1}{2}$ CL₅₀ donne des effets synergiques aux populations de *Gambusia affinis*.

Cette étude permettra justement à la communauté scientifique, aux industriels, et au gouvernement de bien gérer notre environnement, afin d'éviter le danger dû à la pollution aux métaux lourds qui constitue aujourd'hui un fléau menaçant les espèces du milieu aquatique, l'eau, et la vie des êtres humains en général, surtout dans les régions minières de la DRC étant un important pays minier.

MOTS-CLEFS: solution, toxicité combinée, milieu aquatique.

1 INTRODUCTION

La pollution métallique pose un problème particulier, car les métaux ne sont pas biodégradables. En outre, tout au long de la chaîne alimentaire, certains se concentrent dans les organismes vivants. Ils peuvent ainsi atteindre des taux très élevés dans certaines espèces consommées par l'homme, comme les poissons. Cette " bioaccumulation " explique leur très forte toxicité. La pollution métallique peut être due à différents métaux comme l'aluminium, l'arsenic, le chrome, le cobalt, le cuivre, le manganèse, le molybdène, le nickel, le zinc ou encore le cadmium, le mercure ou le plomb, plus toxiques que les précédents. De multiples activités humaines en sont responsables (2).

Le milieu aquatique, Malgré son importance comme réservoir des ressources naturelles et en eau douce bien limitée en quantité au niveau mondial (2,5%), est exposé en plus par la mauvaise gestion, créant une menace des espèces dont la vie en dépend y compris l'homme (3).

Ces écosystèmes offrent aux Kinois de multiples ressources halieutiques qui connaissent des menaces précitées, un paradoxe du fait de notre dépendance et d'en faire un dépotier des déchets.

Nous pensons que la toxicité combinée de Plomb et Cadmium, éléments chimiques dangereux, en milieu aquatique, serait la cause de la disparition des espèces, de la faible productivité de cet écosystème, ainsi que de nombreux problèmes liés à la santé humaine.

Le but de ce travail était d'évaluer les comportements de bio indicateur en l'occurrence les *Gambusia affinis*, face à la toxicité combinée de Plomb et Cadmium, pour en faire l'idée réelle sur le danger que courent les êtres vivants qui habitent dans l'eau et dont la vie en dépend. Pour cela, nous avons associé des objectifs spécifiques pour faciliter notre étude:

- Etudier la toxicité aiguë de sels de Plomb et de Cadmium de façon séparée face aux bio indicateurs et déterminer leurs CL₅₀;
- Etudier la toxicité combinée de ces deux métaux et produire un outil de control.

Soucieux d'apporter une contribution sur la toxicité combinée des métaux lourds aux espèces de milieu aquatique à Kinshasa, son impact sur les écosystèmes et des graves problèmes sanitaires que courent les usagers et les consommateurs de ce dernier, compte tenu de la dégradation de ces milieux aquatiques; nous nous proposons de faire l'étude de la toxicité combinée de Plomb et Cadmium en milieu aquatique, en rapport avec le danger que courent ces écosystèmes; « car si on ne s'occupe pas de l'environnement, l'environnement s'occupera de nous ».

Notre étude est essentiellement expérimentale et repose sur les biotests en rapport avec la toxicité combinée de sels de plomb et cadmium.

- MILIEU, MATERIEL ET METHODES
- Notre étude s'est effectuée à l'université de Kinshasa, faculté des sciences, au laboratoire d'écotoxicologie et santé des écosystèmes EGRS, biotechnologie et microbiologie environnementales du département des sciences de l'environnement.
- Une balance électrique de la marque Sartorius, série BL 6
- 3 bassins pour l'élevage des poissons ;
- 2 petits tamis en plastique pour retirer les poissons;
- les récipients qui contiennent l'eau déchlorée (20 litres pour chaque récipient);
- 2 pieds gradués en plastique de 2000 ml pour la dilution successive;
- un béccher en plastique d'un litre;

- 75 gobelets de 500 ml;
- 3 seringues de 20 ml, pour la solution de Plomb, Cadmium et l'eau;
- 12 bouteilles d'un litre et demie (1,5 l), pour mettre chaque solution;
- Un gramme d'Acétate de Plomb ($(\text{CH}_3\text{COO})_4\text{Pb}$);
- Un gramme du Chlorure de Cadmium (CdCl_2).

Au laboratoire:

- **l'eau déchlorée** était déjà préparée avant la capture (l'eau de robinet laissée à l'air libre pendant 48 heures);
- Dès l'arrivée des poissons au laboratoire, ils étaient transvasés dans l'eau qu'on avait préparée pour l'élevage;
- les poissons étaient laissés pendant 2 jours soit 48 heures pour s'acclimater aux conditions du laboratoire.

La pesée des composés chimiques et préparations des solutions

Nous avons utilisé la balance électrique de marque Sartorius, série BL 6, qui donnait de précision jusqu'à quatre rangs après la virgule (Po, 0001mg) qui nous a servi pour la pesée. Les composés chimiques comprenaient: l'Acétate de Plomb pesé à 0,1g de poids, le Chlorure de Cadmium pesé également à 0,1g de poids.

Une solution a été préparée à partir de 0,1g de sel de Cadmium dans un litre d'eau distillée (la dilution mère de 10^0) et nommée (Cd 0); ensuite, 100 ml de solution 10^0 étaient prélevés pour diluer avec 900 ml de l'eau déchlorée, ce qui a donné un litre de la dilution 10^{-1} , nommée (Cd I); et ainsi de suite nous avons obtenu les dilutions, 10^{-2} , (Cd II), 10^{-3} , (Cd III), 10^{-4} , (Cd IV), et 10^{-5} , (Cd V).

La même technique a fait l'objet de la préparation des solutions de Plomb.

Notre échantillon (espèces testées) était constitué de 3 poissons par bocal testé. Nous avons fait 5 répétitions et nous avons observé pendant 4 jours selon le test de toxicité aiguë. Cette technique nous a servi à observer le comportement des individus testés. Ceux qui crevaient étaient directement retirés de la solution. Les résultats obtenus ont permis de tracer les courbes de suivi médiane ou CL_{50} .

Les espèces choisies pour réaliser ce type de surveillance, doivent satisfaire à un certain nombre de critères :

- ✓ La sédentarité pour représenter la région où elles se développent ;
- ✓ Une durée de vie compatible avec les variations temporelles que l'on souhaite mesurer ;
- ✓ Une large répartition géographique, une abondance, présence tout le long de l'année et une grande taille pour offrir suffisamment de tissus pour les analyses ;
- ✓ Un pouvoir d'accumulation vis-à-vis de la substance considérée et a une facilité de prélèvement.

Relativement aux critères ci-haut, nous nous sommes servis de *Gambusia affinis* comme individu biotest.

Le Gambusie, est un petit poisson ovovivipare d'eau douce, de couleur gris argentée, originaire d'Amérique centrale et de Floride, lieux où il est connu sous le nom de « mosquitofish » (1). Ce poisson présente un dimorphisme sexuel manifestant une différence de taille nette. A l'état adulte, la femelle mesure jusqu'à 5 cm de long, alors que le mâle ne dépasse guère 3 cm.

Nous avons prélevé le matériel biologique utilisé sur la rivière KEMI juste à côté du pont à 50 m du Triangle sur l'avenue By-pass. Nous avons fait la pêche à l'aide d'une épuisette attachée à une tige pour capturer les poissons à distance, l'épuisette (piège) a la forme conique, qui posée dans la trajectoire où passent les poissons après avoir bougé l'eau, les poissons en voulant fuir sont pris au piège; nous avons récolté l'eau claire du milieu dans un récipient (seau) pour conserver les poissons capturés; à la fin de la pêche, les poissons ont été transportés au laboratoire.

Nous avons utilisé les tests aigus ou les essais de toxicité aiguë pour notre étude. Ce sont des essais à court terme: les effets doivent se révéler dans un court laps de temps (de quelques heures à quelques jours en fonction du cycle de vie de l'animal) après administration d'une dose unique de substance. Si aucun effet n'est observé, la substance n'a pas de toxicité aiguë (ce qui ne veut pas dire que cette substance ne présente pas de toxicité chronique).

Ces essais permettent d'établir une relation entre la concentration d'exposition et l'intensité de l'effet.

Les résultats sont généralement exprimés par une CE 50 (Concentration Efficace). La CE 50 est la concentration à laquelle les effets sont observés pour 50 % des individus testés. Les effets observés sont, par exemple, la létalité (le "E" est alors remplacé par le "L" CL₅₀).

Pour réaliser nos tests de la toxicité combinée, nous avons procédé de la manière suivante :

Après la première série de test de la toxicité de sel de Plomb et Cadmium séparément, nous avons déterminé les CL₅₀ de ces deux sels testés et à partir de chaque CL₅₀, nous avons préparé une solution avec la concentration correspondant à la ½ de la valeur de CL₅₀ de chaque sel testé obtenu et le mélange de ces deux ½ de CL₅₀ est la solution combinée.

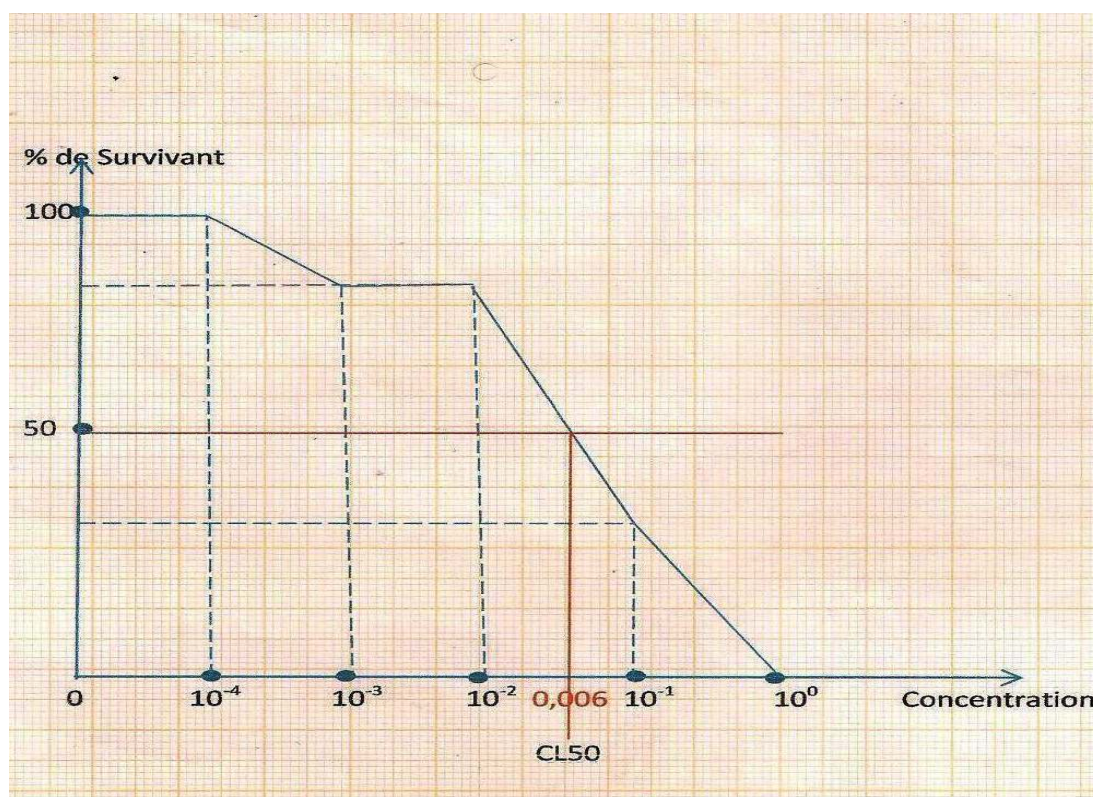
La deuxième série sur la base de mélange de solution avec les concentrations correspondant à la ½ de chaque valeurs de CL₅₀ (Pb et Cd), nous avons obtenu une solution combinée, dont à l'issue de l'analyse biologique, nous avons obtenu une toxicité combinée (5)(4).

2 RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

Tableau 1. Nombre et pourcentage de survivants de Gambusia affinis dans les dilutions de sel de Pb

Concentration	N ^{bre} de morts				% Mort	% Survivant
	1 ^{er} Jr	2 ^{eme} Jr	3 ^{eme} Jr	4 ^{eme} Jr		
10 ⁰	3	-	-	-	100	0
10 ⁻¹	1	1	0	0	67	33
10 ⁻²	0	0	0	1	33	67
10 ⁻³	0	0	0	1	33	67
10 ⁻⁴	0	0	0	0	0	100
Témoin	0	0	0	0	0	100

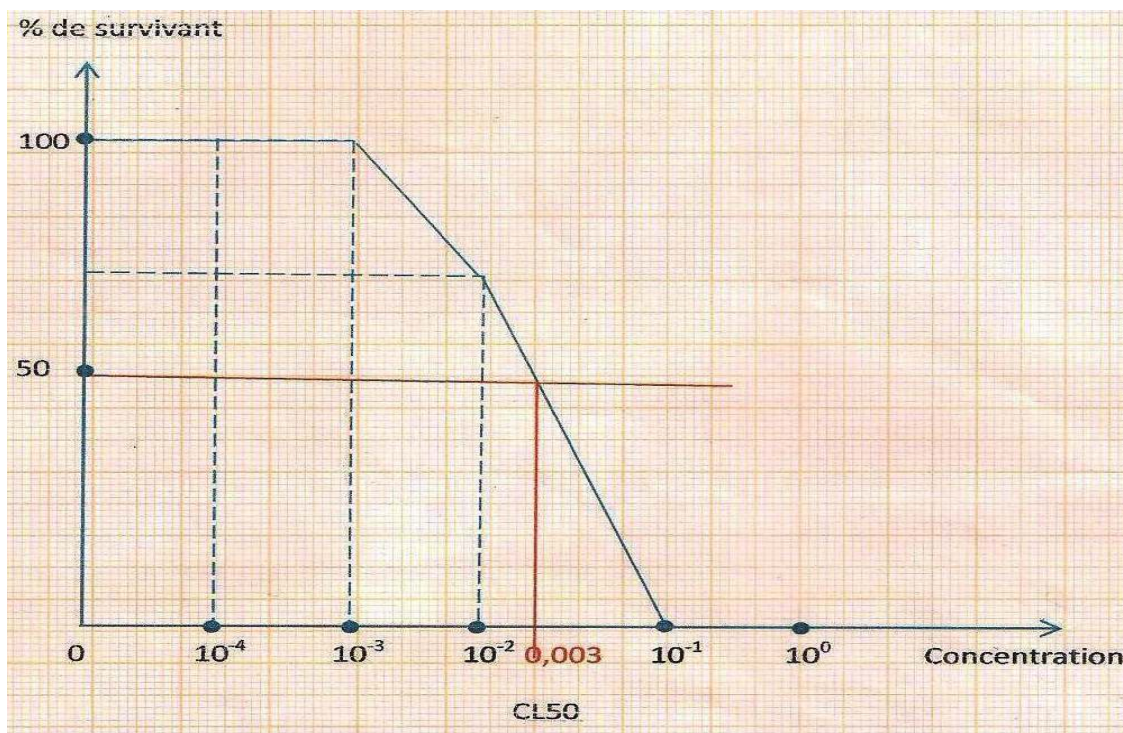


Graphique 1 : Courbe de survie de Gambusia affinis dans les solutions de sel de Plomb

Les résultats du Tableau 1 et le graphique 1, montrent que la dilution 10^0 (Pb 0) est très toxique pour *Gambusia affinis*. Car il y a eu 0% de survivants dès le premier jour de notre test, la dilution 10^{-1} (Pb I) est également toxique il y a que 33,3 % de survivants ; la dilution 10^{-2} (Pb II) n'est pas toxique au test de toxicité aigue, car il y a 67 % de survivants et également pour la dilution 10^{-3} . la dilution 10^{-4} (Pb IV) n'est pas toxique au test de toxicité aigue, car il y a eu 100 % de survivants au bout de 4 jours comme d'ailleurs pour le témoin a eu 100 % de survivants. La CL_{50} de cette solution est autour de 0,006 mg, témoignant la toxicité de sel de Plomb pour *Gambusia affinis*.

Tableau 2. Nombre et pourcentage des survivants de *Gambusia affinis* dans les dilutions de sel de Cd

Concentration	N ^{bre} de morts				% Mort	% Survivant
	1 ^{er} Jr	2 ^{eme} Jr	3 ^{eme} Jr	4 ^{eme} Jr		
10^0	3	-	-	-	100	0
10^{-1}	1	0	1	1	100	0
10^{-2}	0	0	0	1	67	33
10^{-3}	0	0	0	0	0	100
10^{-4}	0	0	0	0	0	100
Témoin	0	0	0	0	0	100



Graphique 2. Courbe de survie de *Gambusia affinis* dans les solutions de sel de Cadmium

Les résultats du Tableau 2 et le Graphique 2 montrent que la dilution 10^0 (Cd 0) est toxique, il y a 0 % de survivants dès le premier jour de notre test de toxicité aigue; la dilution 10^{-1} (Cd I) est également toxique car il y a également 0 % de survivants au bout de 4 jours; la dilution 10^{-2} (Cd II) est toxique, car il y a 33% de survivants et les autres dilutions restantes (10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5}) ne sont pas toxiques au test de toxicité aigue . La CL_{50} de cette solution est autour de 0,003 mg, témoignant que la solution de sel de Cadmium est toxique au test de toxicité aigue pour le *Gambusia affinis*.

La pollution aux métaux lourds est à l'heure actuelle un fléau qui est à la base de la perturbation de nos écosystèmes et de la vie qui en dépend. Les milieux aquatiques aussi ne sont pas épargnés; pour faire face à cette situation, nous nous sommes proposé une étude de la toxicité combinée de sel de Plomb et de Cadmium en milieu aquatique en vue de comprendre le mécanisme sur la vie des espèces qui habitent les eaux réceptrices et de prévenir tout effet négatif.

Comme dit plus haut, pour avoir détenu les résultats de test de toxicité combinée de ces deux métaux lourds, en l'occurrence le Plomb et le Cadmium, nous nous sommes basés sur la valeur de leurs CL₅₀ obtenues au premier test, en mélangeant la ½ de la valeur correspondant aux CL₅₀ de ces deux métaux lourds. Soit la CL₅₀ de Plomb était de 0,006 mg et celle de Cadmium à 0,003 mg.

Ainsi, les valeurs correspondant à la moitié des CL₅₀ sont respectivement 0,015 mg pour le sel de Cadmium et 0,003 mg pour celui de Plomb.

Nous avons mélangé ces deux valeurs de la ½ CL₅₀ dans une seule solution où nous avons soumis le *Gambusia affinis* pendant 4 jours en 3 répétitions pour notre test de la toxicité combinée. Au bout de 4 jours nous avons eu aucun poisson n'a survécu soit 0 % de survivant.

Vu les résultats obtenus, nous disons que la toxicité combinée du Plomb et le Cadmium indique une synergie. Ceci, signifie qu'en solution aqueuse, le Plomb et le Cadmium ont les effets synergiques (5).

Après l'analyse, les résultats des bioessais sur la toxicité des métaux lourds nous montrent que, quels que soient les métaux, le Plomb ou le Cadmium, tous les deux ont les effets délétères sur le milieu récepteur, des espèces de milieu aquatique.

Au regard de ces résultats obtenus, nous faisons les constats suivants :

- Le Cadmium testé à la concentration de 0,1 g et ses dilutions est très toxique avec une CL₅₀ autour de 0,003 mg que les solutions du Plomb à la même concentration à une CL₅₀ autour de 0,006 mg.

De ces deux métaux lourds, le métal le plus toxique est le Cadmium.

En plus de tout ce qui précède, la combinaison de ces deux métaux lourds révèle des effets plus toxiques par synergie.

3 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

L'objectif assigné à notre étude était l'étude de comportement de *Gambusia affinis* face à la toxicité combinée de sel Plomb et de Cadmium. Pour atteindre cet objectif, nous avons évalué chaque sel métallique à la concentration de 0,1g (10⁰) et nous avons procédé à des dilutions successives jusqu' à la concentration 10⁻⁵; et pour la forme combinée, nous avons préparé des solutions avec les concentrations correspondant à la ½ de la valeur de CL₅₀ de chaque sel testé.

Les résultats obtenus montrent que le sel de Plomb et de Cadmium sont toxiques à la concentration de 0,1g et la combinaison de leurs ½ CL₅₀ est encore toxique, car nous avons remarqué la létalité sur tous les individus testés et cela nous a poussé à confirmer notre hypothèse de départ que le Plomb et le Cadmium ensemble ont les effets synergiques.

Donc la toxicité combinée de Plomb et de Cadmium serait la cause de la perturbation des espèces en milieu aquatique pollué par ces métaux et cela peut entraîner des nombreux problèmes sur la santé humaine, sans doute, car métaux bio-accumulables.

A la lumière de ce qui précède, nous recommandons:

- De poursuivre les études de combinaison de métaux lourds pour en savoir plus sur le danger que courent les espèces aquatiques;
- D'aider notre pays à la mise en place d'une démarche multisectorielle expérimentale à la fois chimique et écotoxicologique suivante :

Analyser et suivre les paramètres Physico-chimiques caractérisant des eaux industrielles afin de mieux comprendre le fonctionnement des stations de décontamination (Volet analyse chimique);

Proposer la mise en place de station d'épuration aux autorités municipales, en vue de sécuriser notre environnement (Volet traitement des eaux usées);

Démontrer à la fois la toxicité des rejets industriels et l'intérêt environnemental en vue de bien gérer notre environnement (Volet écotoxicologie);

La mise en place d'un système de management environnemental (SME) dans chaque établissement susceptible de générer la pollution aux métaux lourds pour sauvegarder notre environnement (Volet évaluation environnementale).

Aux industriels:

- De ne pas déverser la concentration de 0,1g/l de Plomb et Cadmium, car à cette concentration l'effluent est très toxique ;
- Mise en place du SME pour sécuriser le processus de transformation des établissements classés, ainsi que, le milieu récepteur.

REFERENCES

- [1] BELDI. Hayette, 2007, Thèse: étude de gambusia affinis (poisson, téléostéen) et *donax trunculus* (mollusque, pélécy-pode) : écologie, physiologie et impacts de quelques altéragènes, p 9 – 21 ;
- [2] Edder P., Ortelli D., Ramseier S., Chèvre N., (2007). *Métaux et micropolluants organiques dans les eaux du Léman*. Nyon, Commission internationale pour la protection des eaux du Léman contre la pollution, 22 p ;
- [3] Miquel. G (2001), les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques (dir). Rapport sénat n° 261, p 360 ;
- [4] MUSIBONO D.E. et J. Day (1999), The effect of the Al on the growth of the amphipod *Paramelita nigroculus* B. exposed to mixtures of Cu and Mn acidic waters. *Water Reseach*, Vol. 33(1) :213-219;
- [5] MUSIBONO Eyu'nki. Dieudonné(1998), toxicological studies of the combined effects of Al, Cu and Mn on a freshwater amphipod, in acidic waters. Ph.D. thesis, UCT, Cape Town, South Africa, 233 pp.