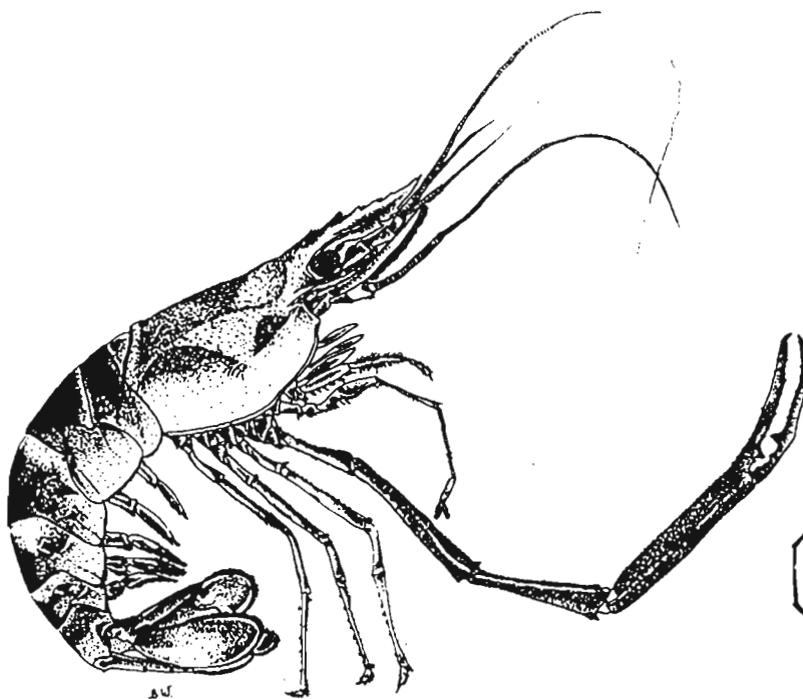


O.R.S.T.O.M.
B.P. 529 Papeete
TAHITI
Polynésie Française

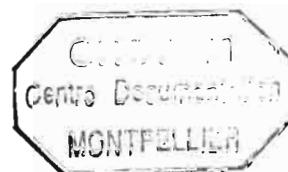
I.T.R.M.L.M.
B.P. 30 Papeete
TAHITI
Polynésie Française

TESTS DE TOXICITE SUR *Macrobrachium* spp.
(CRUSTACES DECAPODES) :
PREMIERE ETUDE AVEC LE TEMEPHOS.

Odile FOSSATI, Anne-Hélène DANIGO, Yves SECHAN, Pierre GUILLET



7 JUL. 1993



Réf. I.T.R.M.L.M. : 12/92/ITRM/DOC.ENT

JUIN 1992

F 367a

RESUME

Une nouvelle méthode pour réaliser des tests de toxicité sur *Macrobrachium* est décrite. Ces tests sont réalisés durant 24 heures, dans des cuvettes dont l'eau est renouvelée en permanence. Des résultats préliminaires montrent l'absence de mortalité des trois espèces testées (*M. australe* Guérin-Méneville, *M. lar* Fabricius et *M. latimanus* Martens) après un traitement au temephos à 4 mg/l/10 mn. L'importance de la maîtrise de divers facteurs mésologiques et biotiques est discutée. Un protocole pour une étude plus complète de la toxicité du temephos est présenté.

REMERCIEMENTS

Nous remercions tous ceux qui nous ont aidé lors de la récolte des *Macrobrachium* et tout particulièrement Jean HUUKENA et Christian TAMARII. Nous remercions Jacques FOSSATI et Stéphane LONCKE pour leur relecture du manuscrit et leurs commentaires. Nos remerciements vont également à Guy CHARMANTIER (Université de Montpellier) , pour une discussion fort instructive sur la physiologie des Crustacés. Ce travail a été réalisé dans le cadre du programme de lutte contre *Simulium buissoni*. Le dessin de couverture (*Macrobrachium lar* Fabricius) est de Bertrand WENDLING.

SOMMAIRE

	page
INTRODUCTION	2
I - MATERIEL	4
II - REALISATION DU TEST	7
III - PREMIERS RESULTATS	10
CONCLUSION	14
BIBLIOGRAPHIE CITEE	16
LISTE DES FIGURES, TABLEAUX ET ANNEXES	18
ANNEXE 1	19
ANNEXE 2	20
ANNEXE 3	21
ANNEXE 4	22
ANNEXE 5	23
ANNEXE 6	24

INTRODUCTION

Le but des tests de toxicité est d'exprimer la mortalité d'organismes donnés lorsqu'ils sont mis en contact avec un produit chimique et en particulier un pesticide. La toxicité aigüe est mesurée par un test de courte durée (SPRAGUE 1969). La mortalité peut être exprimée en pourcentage du nombre d'individus morts au terme du test ou par la dose de pesticide qui tue la moitié des organismes en un temps donné (Dose Léthale 50 ou DL50).

Les tests de toxicité sont habituellement réalisés, pour les Crustacés comme pour les Poissons, dans des bacs et donc en milieu stagnant (SPRAGUE 1969, LANGY 1991). Des tests ont par ailleurs été développés pour les invertébrés de milieu lotique et en particulier les Simulies qui font fréquemment l'objet de traitements insecticides. Ces tests sont de deux types : les tests de sensibilité sont réalisés en milieu stagnant avec le produit technique (QUELENNEC & VERVENT 1970, MOUCHET *et al.* 1977, O.M.S. 1981) alors que les tests d'efficacité et de toxicité utilisent des formulations et sont effectués dans des milieux courants. Ces tests sont pratiqués directement en rivière (BACK *et al.* 1979, KANIMURA *et al.* 1985...) ou dans des dispositifs d'évaluation à échelle réduite tels que les gouttières (DEJOUX 1975, TROUBAT 1981, GUILLET *et al.* 1982).

Les "chevrettes" (*Macrobrachium spp.*, Crustacés, Décapodes) se développent dans les cours d'eau de Polynésie (MARQUET 1988, DANIGO 1991). Elles sont abondantes dans les vasques au long des cours torrentueux des rivières et représentent une part importante de la

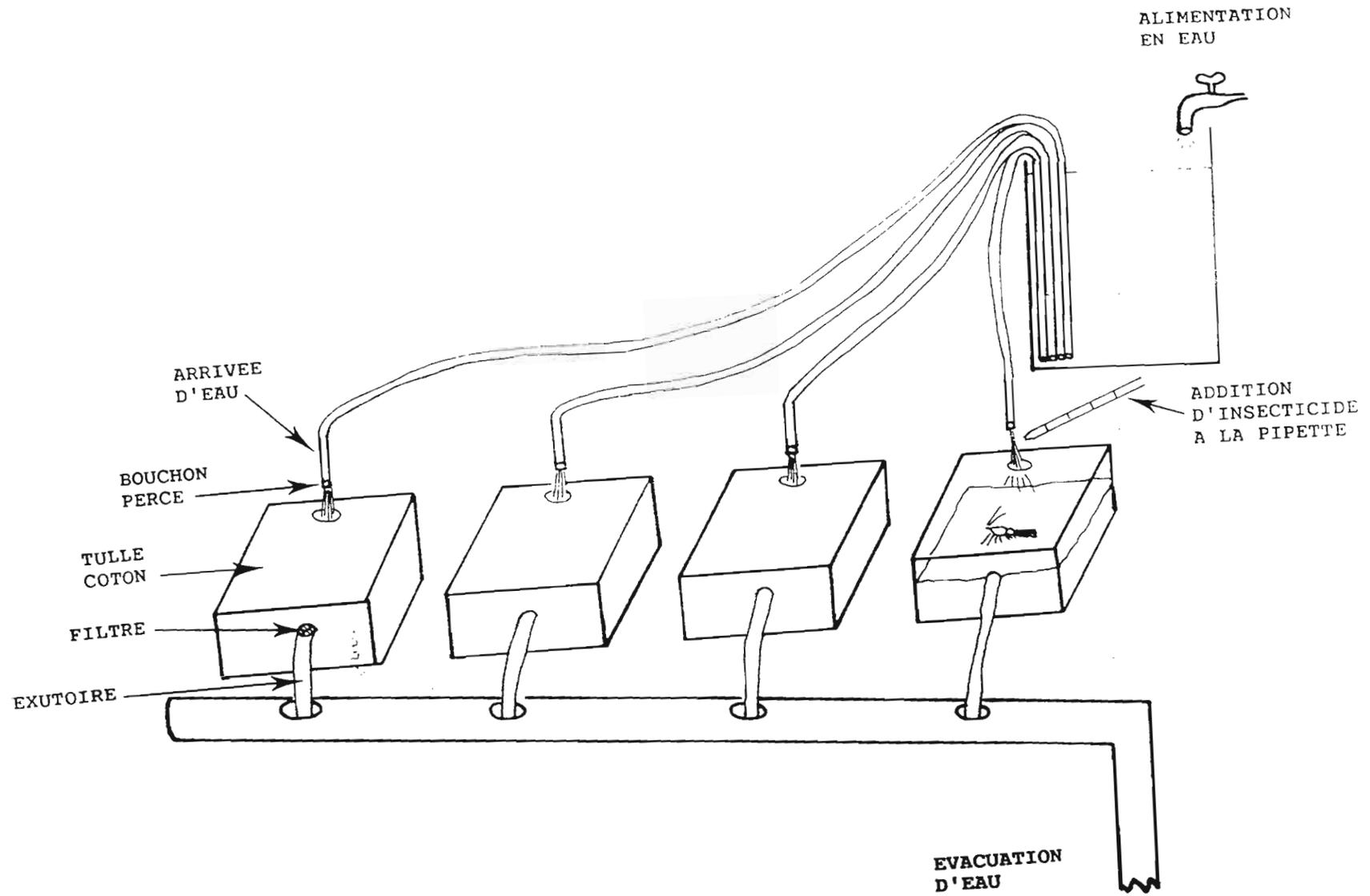


Figure 1 : Montage expérimental.

biomasse des invertébrés colonisant ces écosystèmes (GIBON & FOSSATI 1991).

Dans le cadre du programme de lutte contre *Simulium buissoni*, Diptère nuisant, un insecticide organophosphoré, le temephos (Abate[®]), va être utilisé pour traiter les rivières de l'île de Nuku-Hiva (archipel Marquises, Polynésie Française - SECHAN *et al.* 1986, 1988). Une étude des effets de ce produit sur les *Macrobrachium* était donc indispensable afin de fournir une première évaluation de l'impact des traitements sur ces crustacés largement pêchés et consommés. Pour ce travail, il a été nécessaire de reconstituer un milieu physique proche de celui dans lequel vivent ces Crustacés.

Les premiers tests ont été réalisés sur trois espèces de *Macrobrachium* de Nuku-Hiva : *M. australe* Guérin-Méneville, *M. lar* Fabricius et *M. latimanus* Martens.

I - MATERIEL

L'installation nécessaire au test se compose de quatre cuvettes en plastique alimentées par l'eau du robinet (fig. 1). Les cuvettes mesurent 27 x 27 x 12 cm. L'évacuation par trop plein, placée à une hauteur de 8 cm, permet le maintien d'un volume d'environ 6 l dans chaque cuvette.

L'alimentation en continu est faite par de l'eau du robinet qui est une eau de rivière décantée mais non traitée provenant de la rivière Meau, à l'ouest de Taiohae (Fig. 2). L'eau est stockée dans un récipient en

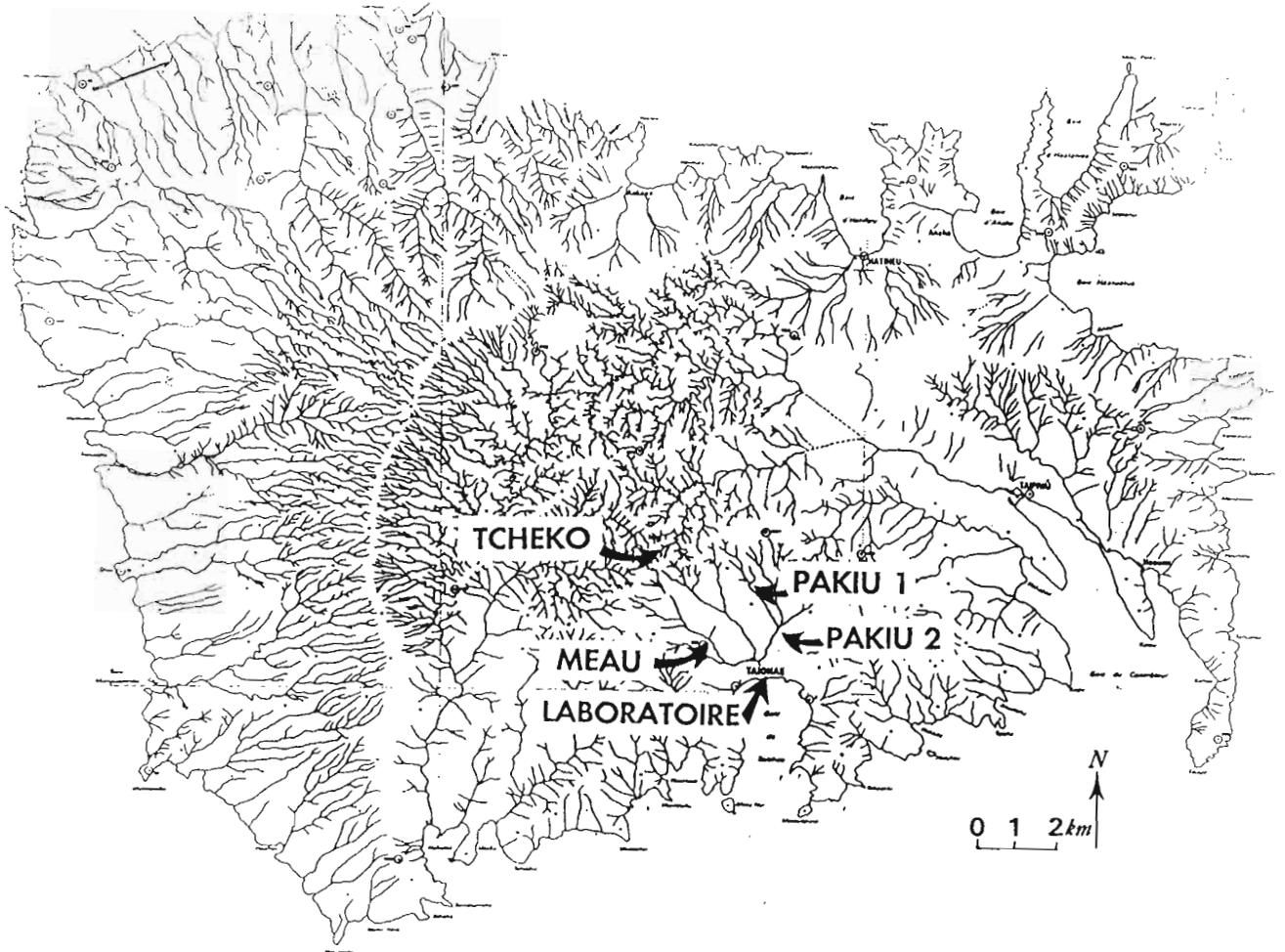


Figure 2 : Localisation des stations de prélèvement et du laboratoire à Nuku-Hiva.

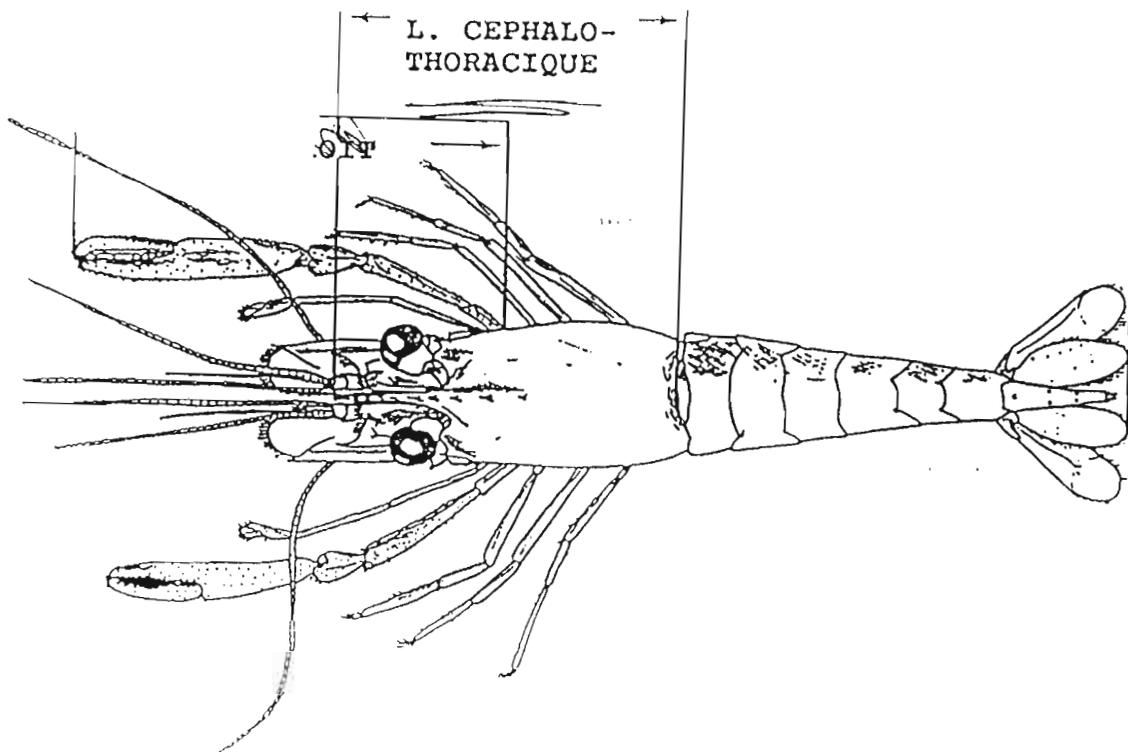


Figure 3 : Mesure de la longueur céphalothoracique (Lc).

plastique (volume 60 l) qui permet une alimentation régulière et homogène des cuvettes par gravité (Fig. 1). Le tuyau d'alimentation de chaque cuvette est fermé par un bouchon percé d'un trou. Deux dimensions ont été utilisées, fournissant des débits approximatifs de 0,015 et 0,03 l/s. Pour ces débits, l'eau de chaque cuvette est renouvelée, respectivement, en 6 mn et 40 s et 3 mn et 20 s. L'évacuation de l'eau se fait par un tuyau protégé par un filtre.

Les cuvettes sont numérotées. La première contient le témoin et les trois autres sont traitées avec des doses croissantes d'insecticide. Avant chaque test, les cuvettes sont tirées au sort pour annuler les effets d'une éventuelle accumulation de résidus chimiques au niveau des parois lors des traitements successifs.

Les chevrettes sont récoltées dans les rivières le jour même du test. Pour les tests préliminaires, des peuplements non triés ont été utilisés. Les stations suivantes ont été retenues (Fig. 2), pour leur accessibilité depuis Taiohae :

Station Pakiu 2 : *M. australe*,

Station Pakiu 1 : *M. lar* et quelques *M. latimanus*,

Station Tcheko 1 : *M. latimanus*.

Les récoltes étant, à certaines dates, insuffisantes, nous avons été amenés quelquefois à mélanger des chevrettes d'origines diverses.

Les chevrettes sont récoltées à l'aide de petites nasses en plastique réalisées avec des bouteilles d'eau minérale (DANIGO 1991, GIBON & FOSSATI 1991). Cette méthode présente l'avantage de limiter la manipulation des animaux et de fournir un bon échantillonnage des *Macrobrachium* de taille moyenne. Les larves et les très gros individus

devront être récoltés avec d'autres méthodes qui restent à déterminer (filet à dérive pour les larves, saladier, fagot ou autre type de nasses pour les *M. lar* de grande taille).

II - REALISATION DU TEST

Des nasses sont posées le soir et laissées en place toute la nuit. Les chevrettes sont récupérées le matin suivant. Pour réduire la manipulation, les chevrettes ne sont triées ni par espèce ni par taille. Le nombre de bouteilles posées dépend du nombre de *Macrobrachium* que l'on souhaite utiliser. Pour obtenir environ 100 *M. australe*, il faut poser 60 bouteilles, 60 pour *M. lar* et 120 pour *M. latimanus* (D'après DANIGO 1991). Lors des tests préliminaires, 50 nasses seulement ont été posées.

Les chevrettes récoltées sont placées dans un petit seau que l'on aère en permanence. En effet, il suffit de laisser ces animaux quelques minutes sans remuer l'eau dans laquelle ils se trouvent pour voir des mortalités apparaître. L'aération peut se faire simplement en agitant la surface de l'eau avec la main.

Des lots les plus homogènes possible (espèces, tailles...) sont mis en place dans les cuvettes. Chaque lot comporte 20 à 25 *Macrobrachium*. Pour les tests ultérieurs, il est souhaitable d'avoir des lots d'au moins 30 individus, pour que les pourcentages de mortalité obtenus aient une signification.

Le débit est mesuré, pour chaque arrivée d'eau, à deux reprises. Si les deux mesures d'une même cuvette diffèrent de plus d'une seconde, l'arrivée est nettoyée et le siphon correspondant est réamorcé. Les doses de formulation à introduire sont calculées à l'aide du débit ainsi mesuré.

$V = 3 \times DT \times D$ pour un insecticide à 20%,

$V = 1,2 \times DT \times D$ pour un produit à 50% de matière active.

V = volume d'insecticide à épandre (ml),

DT = Dose du Traitement (mg/l/10mn),

D = Débit (l/s).

Une dilution préalable est faite juste avant l'épandage de l'insecticide qui est réalisé en quelques secondes au niveau de chaque arrivée d'eau à l'aide d'une pipette. Chaque cuvette est ensuite couverte d'un tulle coton laissant seulement un orifice pour l'arrivée d'eau, afin d'empêcher la sortie des animaux qui pourraient sauter en dehors des cuvettes notamment lorsque l'insecticide a un effet irritant.

Le comportement des chevrettes (effet irritant) est noté cinq minutes après le traitement. Une échelle qualitative est retenue :

A : les chevrettes se regroupent à l'exutoire,

B : mouvements brusques,

C : quelques sauts,

D : nombreux sauts,

E : perte d'équilibre,

F : mort apparente.

Il n'y a pas, à strictement parler, de graduation des effets. Pour certains produits, la perte d'équilibre peut intervenir sans qu'il y ait eu

d'effet irritant. Seul l'effet irritant observé le plus fréquemment est noté pour chaque cuvette.

Les chevrettes placées dans les cuvettes sont en condition de stress. Les densités estimées par capture-recapture dans les stations de prélèvements varient de 5 à 16 individus/m² pour *M. lar* et de 5 à 8 individus/m² pour *M. latimanus* (DANIGO 1991). Les densités sont, au début des tests, de 15 à 18 individus par cuvette, soient 205 à 247 individus/m². Une telle augmentation de la densité correspond à une augmentation du stress et à une perturbation du comportement.

En fait, lorsqu'on place quelques *Macrobrachium* dans le seau, lors de la récolte, des comportements agonistiques peuvent être observés, principalement entre les mâles à pinces fortes (mâles dominants). Ces comportements disparaissent lorsque le nombre de chevrettes dans le seau augmente. Sans doute y a-t-il là un phénomène d'inhibition sociale, mais cette inhibition correspond à un stress.

Les chevrettes mortes sont enlevées à intervalles fixes. Il semble souhaitable de réaliser cette opération 1, 2, 3, 6, 12 et 24 heures après le traitement afin de pouvoir faire un décompte précis de la mortalité aigüe. Il serait également utile de noter la température de l'eau, avant et 1, 2, 3, 6, 12 et 24 h après le traitement, ainsi que le pH et la conductivité. Ceci n'a pu être réalisé lors des tests préliminaires. L'homogénéité des débit entre les cuvettes est vérifiée et réajustée au besoin. Les variations de débit éventuelles sont notées parmi les observations. Un désamorçage d'un siphon entraîne l'invalidation du test correspondant.

L'ensemble des informations concernant chaque test est consigné dans un tableau dont on trouvera un modèle dans l'annexe 1. De même, il est important de noter en observation tout ce qui a pu subvenir pendant le test (modification de la qualité de l'eau, comportement particulier des chevrettes...).

A la fin d'un test, les *Macrobrachium* sont identifiées (espèce d'après les critères cités par DANIGO (1991) et sexe d'après les orifices génitaux) et mesurées. La longueur du céphalothorax (fig. 3) est retenue comme critère de taille. Les résultats biométriques sont consignés dans un tableau dont on trouvera un modèle dans l'annexe 2.

Après chaque test, les cuvettes, les morceaux de tulle coton et tout ce qui a été en contact avec l'insecticide est soigneusement lavé à l'eau savonneuse ou au triphosphate de

soude afin d'éliminer les éventuels résidus d'insecticide, puis abondamment rincé à l'eau douce.

III - PREMIERS RESULTATS

Les premiers tests ont été réalisés en même temps que la mise au point technique de l'installation. A ce titre, les résultats cités ici sont tout à fait indicatifs et devront être confirmés par de nouvelles mesures faites en tenant compte des recommandations faites ci-dessus.

Tableau I : Résultats des premiers tests avec le temephos 20% : mortalités à 24 h.

DOSE (mg/l/10mn)	DEBIT (ml/s)	EFFECTIF TOTAL	ESPECE	EFFECTIF TESTE	MORTS
2,5	30	17	<i>M. australe</i> <i>M. lar</i>	12 5	0 0
4	15	17	<i>M. lar</i> <i>M. latimanus</i>	13 4	0 0
6	12	24	<i>M. australe</i> <i>M. lar</i>	17 7	5 2
8	22	17	<i>M. australe</i> <i>M. lar</i>	12 5	7 2
8	14	18	<i>M. lar</i> <i>M. latimanus</i>	14 4	10 3
10	15	26	<i>M. australe</i> <i>M. lar</i>	16 10	7 2
12	14	15	<i>M. lar</i>	15	14

Le temephos 20% a été testé à une température proche de 30°C. Les résultats sont consignés dans le tableau I et les données complètes se trouvent dans les annexes 3 à 5.

Aucune mortalité n'a été observée, quelle que soit l'espèce considérée, pour les doses inférieures à 4 mg/l/10 mn. Pour les doses supérieures, la mortalité est grossièrement croissante avec la dose. Les mortalités observées pour 10 mg/l/10mn sont relativement faibles. Lors de ce test, de même que pour la dose de 6 mg/l/10mn, l'eau était trouble à la suite de crues dans la rivière. Une adsorption du temephos sur les particules en suspension a pu réduire sa toxicité. Il est donc nécessaire que les tests soient réalisés avec de l'eau claire et, à défaut, que toute anomalie soit notée. Un suivi de certains paramètres physico-chimiques de l'eau (température, oxygène, conductivité, pH, matières en suspension...) serait donc intéressant pour l'interprétation des résultats.

Deux tests sur *M. lar* réalisés pour une dose de 8 mg/l/10 mn ont donné des mortalités de 2:5 et 10:14 soient 40 et 71 %. Deux facteurs ont varié lors de ces tests : le débit et la biomasse. Des débits de 22 et 14 ml/s correspondent à des temps de renouvellement de l'eau dans les cuvettes de 4 mn 37s et 7 mn et 9s. Il est logique que la mortalité la plus forte soit observée lorsque les crustacés sont le plus longtemps en contact avec l'insecticide. D'autre part, le premier test a été réalisé avec une plus grande abondance de *M. australe*, espèce de petite taille, le second avec une dominance de *M. lar*, espèce de grande taille. Il est possible qu'une biomasse plus forte corresponde à une plus forte consommation d'oxygène et donc à un facteur de mortalité supplémentaire. Précisons qu'aucune mortalité n'a été observée dans les témoins. Lors des tests ultérieurs, il sera cependant nécessaire de

mesurer les biomasses en pesant les individus ou de les estimer en utilisant une régression Longueur Céphalothoracique / Poids qui peut être établie à partir des données de DANIGO (1991).

Lors du ramassage des chevrettes vivantes à la fin du test, nous avons remarqué qu'il était plus facile d'attraper celles ayant été traitées que celles des témoins. Il existe donc un effet du traitement qui ne s'exprime pas par la mortalité à 24 h. Cet effet pourra être étudié en conservant les animaux en élevage (dans des aquariums, avec aération et nourriture, par exemple) pendant plusieurs jours après le test, en notant, éventuellement, le comportement des différents individus. Une étude des toxicités devrait être complétée par une observation fine des effets sur la physiologie des crustacés. Il est possible, par exemple, d'utiliser les capacités osmorégulatrices comme témoin de l'état physiologique des différents individus (LANGY 1991). Il est souhaitable que le stade d'intermue des chevrettes soit déterminé, ce qui peut être fait d'après les descriptions et les dessins de WENDLING (1992). Il est aussi possible de constituer des lots de stades d'intermues homogènes. Les tests devront alors être faits avec des individus de stade C, seul stade stable physiologiquement.

CONCLUSION

La réalisation de tests insecticides exige une excellente maîtrise des conditions mésologiques et biotiques afin que les résultats puissent être correctement interprétés. Il semble nécessaire, pour affiner les résultats, que des lots plus homogènes soient réalisés (tri des animaux par espèce et par taille, voire sélection des stades C d'intermue). Un suivi physicochimique lors des tests permettrait une meilleure interprétation des résultats.

Des données plus nombreuses permettront d'évaluer d'éventuelles modifications liées au sexe ou à l'état physiologique (présence d'oeufs par exemple). L'étude de la mortalité sur 24 h pourra avec profit être suivie par l'observation en aquarium du comportement des animaux traités, pendant plusieurs jours.

Il reste, enfin, à adapter la méthode décrite au test des larves et des très jeunes individus.

Un protocole expérimental pour une étude des toxicités chroniques et aiguës du temephos, insecticide utilisé dans le cadre du programme de lutte contre *Simulium buissoni* dans l'île de Nuku-Hiva, a été établi. Ce protocole est cité en annexe à ce rapport (annexe 6).

L'étude des toxicités pourra être complétée par une étude de l'influence de l'insecticide sur la physiologie des crustacés, en prenant comme critère les capacités osmorégulatrices par exemple.

BIBLIOGRAPHIE CITEE :

BACK C., LANOUILLE L.G. & AUBIN A. 1979 : Preliminary tests on the use of temephos for the control of blackflies (Diptera: Simuliidae) in Northern Quebec. Mosq. News 39 (4) : 762 - 767.

DANIGO A.H. 1991 : Répartition et biométrie de trois espèces de *Macrobrachium* (Decapode, Palaemonidae) à Nuku-Hiva (Marquises). Rapport D.E.A. Université Française du Pacifique : 41 p.

DEJOUX C. 1975 : Nouvelle technique pour tester *in situ* l'impact de pesticides sur la faune aquatique non-cible. Cah. ORSTOM, Sér. Ent. méd. Parasitol. 13 (2) : 75 - 80.

GIBON F.M. & FOSSATI O. 1991 : Les macroinvertébrés dulçaquicoles de Nuku-Hiva (Marquises) : compte-rendu d'une mission en saison des pluies et proposition d'un protocole de surveillance. Rapport ORSTOM/ITRMLM 3/91/ITRM/DOC.ENT. : 22p.

GUILLET P., ESCAFFRE H. & PRUD'HOM J.M. 1982 : L'utilisation d'une formulation à base de *Bacillus thuringiensis* H - 14 dans la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest. I. Efficacité et modalités d'application. Cah. ORSTOM, Sér. Ent. méd. Parasitol. 20 (3) : 175 - 180.

KANIMURA K., SUZUKI T., OKAZAWA T., INAOKA T. & OCHOA J.O. 1985 : Effect of temephos against the blackfly larvae in stream tests in Guatemala. Jpn. J. Sanit. Zool. 36 (3) : 189 - 195.

LANGY S. 1991 : Effets d'un insecticide organophosphoré, le Fenitrothion, sur la physiologie de la crevette *Penaeus japonicus* (Crustacé, Décapode). Rapport D.E.S. Université des Sciences et Techniques du Languedoc : 70 p.

MOUCHET J., QUELENNEC G., BERL D., SECHAN Y. & GREBAUT S. 1977 : Méthodologie pour tester la sensibilité aux insecticides des larves de *Simulium damnosum* s.l. Cah. ORSTOM, Sér. Ent. méd. Parasitol. 15 (1) : 55 - 66.

OMKAR R.M. 1985 : Toxicity of some pesticides to the freshwater prawn *Macrobrachium dayamun* (Henderson) (Decapoda, Caridea). Crustaceana 49 (1) : 1 - 5.

OMS 1981 : Instructions pour déterminer la sensibilité ou la résistance des larves de simules aux insecticides. WHO/VBC/81.811 : 6 p.

QUELENNEC G. & VERVERT G. 1970 : Mesure de la sensibilité aux insecticides des larves de Simulies (Diptera Simuliidae). Cah. ORSTOM, Sér. Ent. méd. Parasitol. 8 (1) : 21 - 44.

SECHAN Y. BOUTIN J.Y. ROUX J. 1988 : Eradication de Simulium buissoni, un diptère hématophage, condition de développement de l'île de Nuku-Hiva, Archipel des Marquises, Polynésie Française. Rapport ORSTOM/ITRMLM 6/88/ITRM/DOC.ENT : 75 p.

SECHAN Y., RIVIERE F. & ROUX J. 1986 : Eradication de Simulium buissoni, "moucheron piqueur" dans l'île de Nuku-Hiva, Marquises. Présentation du projet. Rapport ORSTOM/ITRMLM 32/86/ITRM/DOC.ENT. : 14 p. + annexes.

SPRAGUE J.B. 1969 : Measurement of pollutant toxicity to fish I. Bioassay methods for acute toxicity. Water Res. 3 : 793 - 821.

TROUBAT J.J. 1981 : Dispositif à gouttières multiples destiné à tester in situ la toxicité des insecticides vis-à-vis des invertébrés benthiques. Rev. Hydrobiol. trop. 14 (2) : 149 - 152.

WENDLING B. 1992 : Peuplement des cours d'eau de Nuku-Hiva (Marquises) avant une campagne de traitements insecticides. Rapport ORSTOM/ITRMLM 14/92ITRM/DOC.ENT : 40 p. + annexes.

FIGURES

Figure 1 : Montage expérimental.

Figure 2 : Localisation des stations de prélèvement et du laboratoire à Nuku-Hiva.

Figure 3 : Mesure de la longueur céphalothoracique (Lc).

Tableau 1 : Résultats des premiers tests avec le temephos 20% : mortalités à 24 h.

ANNEXES

Annexe 1 : Exemple de fiche pour les résultats : Qualité de l'eau et mortalités.

Annexe 2 : Exemple de fiche pour les résultats : Biométrie.

Annexe 3 : Résultats du premier test réalisé : Test sur *M. australe* et *M. lar*.

Annexe 4 : Test sur *M. lar* et *M. latimanus*.

Annexe 5 : Test sur *M. australe* et *M. lar*.

Annexe 6 : Protocole expérimental : Tests de toxicité chronique et aiguë du temephos sur trois espèces de *Macrobrachium* (*M. lar*, *M. australe*, *M. latimanus*).

Annexe 1 : Exemple de fiche pour les résultats : Qualité de l'eau et mortalités.

**TESTS INSECTICIDES SUR *Macrobrachium* spp., ILE DE NUKU-HIVA.
QUALITE DE L'EAU ET MORTALITES**

Insecticide :

Date :

Origine des Crustacés :

Espèce :

Heure du traitement :

Test n° :

Manipulateur :

QUALITE DE L'EAU :

Heure :	Temp. (°C)	Oxygène (mg/l)	Oxygène (% sat.)	Conduct. (µS)	pH (u. pH)
1					
2					
3					
6					
12					
24					
Moyenne Ecart-type					

MORTALITES :

		Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3
Débit	ml/s				
Dose	mg/l/10mn				
Insecticide	ml				
Effet irritant	0 ou A à D				
Heure :	Mortalité				
1 h	Effectif				
2 h	Effectif				
3 h	Effectif				
6 h	Effectif				
12 h	Effectif				
24 h	Effectif				
Vivantes à 24 h	Effectif				
Mortes en 24 h	Effectif				
Mortalité	%				

Annexe 3 : Résultats du premier test réalisé : Test sur *M. australe* et *M. lar*.

TESTS INSECTICIDES SUR *Macrobrachium* spp., ILE DE NUKU-HIVA.

Insecticide : TEMEPHOS 20%
 Origine des Crustacés : PAKIU 2
 Origine des Crustacés : PAKIU 1
 Manipulateur : O. FOSSATI

Date : 13/12/91
 Espèce : *M. australe*
 Espèce : *M. lar*
 Test n° : 1

Longueurs céphalothoraciques :

M. australe	Témoin		Dose 1		Dose 2		Dose 3	
	M.	V.	M.	V.	M.	V.	M.	V.
		24	12	25		23	20	23
		23		22		28	27	22
		22		23		21	25	14
		14		20		26	8	20
		24		17		18	24	15
		24		23		21	19	
		20		23		14	21	
		25		21		19		
		25		24		24		
		20		16		22		
		20		17		13		
		16		13		19		
		15		13				
		19		12				

M. lar	Témoin		Dose 1		Dose 2		Dose 3	
	M.	V.	M.	V.	M.	V.	M.	V.
		19		21		11	22	20
		17		28		17	22	21
		17		17		23		15
		21		16		15		
				13		18		

Dose (mg/l/10')	Débit (ml/s)	Insecticide (ml)	M. australe		L. Céphalothoracique	
			M.	V.	Mortes	Vivantes
0	55	0	0	14		20,79+/-3,72
1,25	27	0,122	1	14	12	19,21+/-4,48
2,5	30	0,224	0	12		20,67+/-4,25
8	22	0,540	7	5	20,57+/-5,78	18,80+/-3,66

Dose (mg/l/10')	Débit (ml/s)	Insecticide (ml)	M. lar		L. Céphalothoracique	
			M.	V.	Mortes	Vivantes
0	55	0	0	4		18,50+/-1,66
1,25	27	0,122	0	5		19,00+/-5,18
2,5	30	0,221	0	5		16,80+/-3,92
8	22	0,540	2	3	22	18,67+/-2,62

Annexe 4 : Test sur *M. lar* et *M. latimanus*.TESTS INSECTICIDES SUR *Macrobrachium* spp., ILE DE NUKU-HIVA.

Insecticide : TEMEPHOS 20%
 Origine des Crustacés : PAKIU 1
 Manipulateur : O. FOSSATI

Date : 29/12/91
 Espèces : *M. lar*, *M. latimanus*
 Test n° : 4

Longueurs céphalothoraciques (mm) :

M. lar	Témoin		Dose 1		Dose 2		Dose 3	
	M.	V.	M.	V.	M.	V.	M.	V.
Lc1		20		42	13	37	40	39
Lc2		34		29	31	28	33	
Lc3		15		25	36	28	41	
Lc4		15		17	25	16	30	
Lc5		19		28	23		30	
Lc6		29		33	31		13	
Lc7		27		29	24		18	
Lc8		33		25	23		19	
Lc9		39		21	33		19	
Lc10		38		16	18		20	
Lc11		32		16			13	
Lc12		22		18			16	
Lc13				26			31	
Lc14							24	
Lc15								

M. latimanus	Témoin		Dose 1		Dose 2		Dose 3	
	M.	V.	M.	V.	M.	V.	M.	V.
Lc1				27	24	15		
Lc2				26	15			
Lc3				18	15			
Lc4				17				
Lc5								

Dose (mg/l/10')	Débit (ml/s)	Insecticide (ml)	Effet irritant	M. lar		L. Céphalothoracique	
				M.	V.	Mortes	Vivantes
0	16	0	0	0	12	#####± #####	26,92± 8,55
4	15	0,187	B	0	13	#####± #####	25,00± 7,56
8	14	0,329	C	10	4	25,70± 7,10	27,25± 8,62
12	13	0,522	C	14	1	24,79± 9,39	39,00± #####

Dose (mg/l/10')	Débit (ml/s)	Insecticide (ml)	Effet irritant	M. latimanus		L. Céphalothoracique	
				M.	V.	Mortes	Vivantes
0	16	0	0	0	0	#####± #####	#####± #####
4	15	0,187	B		4	#####± #####	22± 3,226
8	14	0,329	C	3	1	18 ± 5,196	15± #####
12	13	0,522	C	0	0	#####± #####	#####± #####

Annexe 5 : Test sur *M. australe* et *M. lar*.

TESTS INSECTICIDES SUR *Macrobrachium* spp., ILE DE NUKU-HIVA
RESULTATS BIOMETRIQUES

Insecticide : TEMEPHOS 20%
 Origine des Crustacés : PAKIU 2
 Heure du traitement : 11h50
 Manipulateur : A-H DANIGO

Date : 23-02-92
 Espèces : *M. AUSTRALE* . *M.*
 Test n° : 7

Macrobrachium mortes : *M. australe*

Heure	Témoin		2 mg/l/10'		8 mg/l/10'		10 mg/l/10'		
	Sexe	Lc	Sexe	Lc	Sexe	Lc	Sexe	Lc	
1					M	25	M	24	
					M	22	M	24	
					M	18	M	25	
					J	15	M	24	
					J	16	M	19	
							J	12	
							J	11	
N. Mesures	N. Mesures		0		0		5		7
Moyenne	Moyenne						19,20		19,86
Ecart-Type	Ecart-Type						3,76		5,59

Macrobrachium mortes : *M. lar*

1					O	24	M	48	
24					M	31	O	29	
N. Mesures	N. Mesures		0		0		2		2
Moyenne	Moyenne						27,50		38,50
Ecart-Type	Ecart-Type						3,50		9,50

Macrobrachium vivantes à la fin du test : *M. australe*

	Témoin		Dose 1		Dose 2		Dose 3	
	Sexe	Lc	Sexe	Lc	Sexe	Lc	Sexe	Lc
	M	23	M	28	M	26	M	25
	M	26	M	25	M	25	M	21
	M	25	M	24	M	24	M	21
	M	23	M	26	M	24	F	19
	M	26	M	22	M	25	J	14
	M	20	M	23	M	21	J	15
	M	22	M	22	M	21	J	14
	M	20	M	24	M	21	J	12
	M	18	M	23	J	13	J	12
	F	17	F	17	J	16		
	O	17	J	14	J	12		
	J	15	J	17	J	12		
	J	14	J	16				
N. Mesures	13		13		12		9	
Moyenne	20,46		21,62		20,00		17,00	
Ecart-Type	3,91		4,11		5,12		4,37	

Macrobrachium vivantes à la fin du test : *M. lar*

	M	37	M	39	M	38	M	39
	M	32	M	32	M	34	M	31
	M	40	M	35	M	30	M	20
	M	28	M	41	M	30	O	30
	M	31	O	30	M	15	O	27
	O	33	O	25			O	25
	O	29					F	25
	O	25					J	14
	F	24						
	J	17						
	J	15						
N. Mesures	11		6		5		8	
Moyenne	28,27		33,67		29,40		26,38	
Ecart-Type	7,32		5,41		7,79		7,00	

ANNEXE 6 : PROTOCOLE EXPERIMENTAL

TESTS DE TOXICITE CHRONIQUE ET AIGUE DU TEMEPHOS

SUR *Macrobrachium lar*, *M. australe*, et *M. latimanus*.

I- TESTS DE TOXICITE CHRONIQUE

-Doses (mg/l/10mn) : 0,25 ; 0,5 ; 1.

-Durée du test : huit semaines, 1 test par semaines pendant 24 heures, puis observation en aquarium tous les jours (un aquarium pour le témoin et un aquarium pour chaque dose testée). Les chevrettes sont à jeun pendant le test et nourries pendant la période d'observation.

-Matériel biologique : 25 chevrettes de la même espèce et de tailles différentes pour chaque dose (les lots se ressemblant le plus possible). Réalisation d'un test par espèce. Détermination du sexe et mesure de la Lc (longueur céphalothoracique) pour chaque individu.

-Exploitation :

Courbe : Mortalité (%) en fonction du temps (h), pour chaque dose et pour chaque espèces

II- TESTS DE TOXICITE AIGUE SUR LES JUVENILES ET LES ADULTES

-Doses (mg/l/10mn) : 4 ; 8 ; 12 (Test 1)
6 ; 10 ; 14 (Test 2).

-Durée du test : 24 heures avec contrôle des mortalités à 1, 2, 3, 6, 12 et 24 h. Les individus sont ensuite répartis par lot dans 4 bassines où l'oxygénation est assurée par bullage. Suivi des mortalités pendant plusieurs jours. Les chevrettes sont à jeun pendant le test et nourries ensuite.

-Matériel biologique : test 1 et test 2 sur les juvéniles et les adultes de chacune des trois espèces soient 12 tests au total. Détermination du sexe et de la Lc pour chaque individu.

-Exploitation :

- Courbes et graphes :
- Mortalité (%) en fonction de la dose (mg/l/10mn),
- Mortalité (%) en fonction du temps (h) pour chaque dose,
- Mortalité (%) pour chaque sexe,
- Mortalité (%) en fonction de la taille (mm).
- Tests de comparaison de moyennes.
- Calcul des DL50.

TESTS DE TOXICITE AIGUE SUR LES LARVES

-Doses (mg/l/10mn) : 0,125 ; 1 ; 50 : Test 1
0,25 ; 10 ; 100 : Test 2

-Durée du test : 24 heures avec contrôle de la mortalité à 1, 2, 3, 6, 12 et 24 h. Les larves ne sont pas nourries pendant le test.

-Matériel biologique : larves pêchées par dérive. Détermination, dans la mesure du possible, des espèces et des stades.

-Exploitation : Mortalité (%) = f(temps(h)) pour les différentes doses.