



Les candidats doivent remplir cette page puis remettre cette chemise accompagnée de la version finale de leur mémoire à leur superviseur.

Numéro de session du candidat

Nom du candidat

Code de l'établissement

Nom de l'établissement

Sessions d'examens (mai ou novembre)

mai

Année

2013

Matière du Programme du diplôme dans laquelle ce mémoire est inscrit : Biologie

(Dans le cas d'un mémoire de langue, précisez la langue et s'il s'agit du groupe 1 ou 2.)

Titre du mémoire : L'effet du naphthalène, en concentrations variables,  
sur le taux de survie de la bactérie *Vibrio fischeri*.

### Déclaration du candidat

Cette déclaration doit être signée par le candidat, sans quoi aucune note finale ne pourra être attribuée.

Le mémoire ci-joint est le fruit de mon travail personnel (mis à part les conseils permis par le Baccalauréat International que j'ai pu recevoir).

J'ai signalé tous les emprunts d'idées, d'éléments graphiques ou de paroles, qu'ils aient été communiqués originellement par écrit, visuellement ou oralement.

Je suis conscient que la longueur maximale fixée pour les mémoires est de 4 000 mots et que les examinateurs ne sont pas tenus de lire au-delà de cette limite.

Ceci est la version finale de mon mémoire.

Signature du candidat :

Date :

## Rapport et déclaration du superviseur.

*Le superviseur doit remplir ce rapport, signer la déclaration et remettre au coordonnateur du Programme du diplôme la version définitive du mémoire dans la présente chemise.*

Nom du superviseur [en CAPITALES]

*Le cas échéant, veuillez décrire le travail du candidat, le contexte dans lequel il a entrepris sa recherche, les difficultés rencontrées et sa façon de les surmonter (voir les pages 13 et 14 du guide Le mémoire). L'entretien de conclusion (ou soutenance) pourra s'avérer utile pour cette tâche. Les remarques du superviseur peuvent aider l'examineur à attribuer un niveau pour le critère K (évaluation globale). Ne faites aucun commentaire sur les circonstances personnelles défavorables qui auraient pu affecter le candidat. Si le temps passé avec le candidat est égal à zéro, vous devrez l'expliquer et indiquer comment il vous a été possible de vérifier que le mémoire était bien le fruit du travail du candidat en question. Vous pouvez joindre une feuille supplémentaire si l'espace fourni ci-après est insuffisant.*

*Cette déclaration doit être signée par le superviseur, sans quoi aucune note finale ne pourra être attribuée.*

J'ai lu la version finale du mémoire qui sera envoyée à l'examineur.

À ma connaissance, le mémoire constitue le travail authentique du candidat.

J'ai consacré  heures d'encadrement au candidat pour ce mémoire.

Signature du superviseur :

Date :

## Formulaire d'évaluation (réservé à l'examinateur)

Critères d'évaluation	Niveau					
	L'examinateur 1	Max.	L'examinateur 2	Max.	L'examinateur 3	
A Question de recherche	2	2	<input type="text"/>	2	<input type="text"/>	
B Introduction	2	2	<input type="text"/>	2	<input type="text"/>	
C Recherche	3	4	<input type="text"/>	4	<input type="text"/>	
D Connaissance et compréhension du sujet étudié	3	4	<input type="text"/>	4	<input type="text"/>	
E Raisonnement	4	4	<input type="text"/>	4	<input type="text"/>	
F Utilisation des compétences d'analyse et d'évaluation adaptées à la matière	4	4	<input type="text"/>	4	<input type="text"/>	
G Utilisation d'un langage adapté à la matière	4	4	<input type="text"/>	4	<input type="text"/>	
H Conclusion	2	2	<input type="text"/>	2	<input type="text"/>	
I Présentation formelle	3	4	<input type="text"/>	4	<input type="text"/>	
J Résumé	2	2	<input type="text"/>	2	<input type="text"/>	
K Évaluation globale	4	4	<input type="text"/>	4	<input type="text"/>	
Total sur 36		<input style="width: 50px; height: 30px;" type="text" value="33"/>	<input style="width: 80px; height: 30px;" type="text"/>	<input style="width: 80px; height: 30px;" type="text"/>		

MÉMOIRE: L'EFFET DU NAPHTALÈNE, EN CONCENTRATIONS VARIABLES, SUR  
LE TAUX DE SURVIE DE LA BACTÉRIE *Vibrio fischeri*

Biologie

BACCALAURÉAT INTERNATIONAL

## Résumé

Le naphthalène est un hydrocarbure aromatique polycyclique (HAP) qui entre dans la composition de la créosote. Or, le naphthalène est un produit chimique toxique qui se retrouve dans la mer. Plusieurs organismes marins tels des poissons et certains calmars sont impliqués dans une relation symbiotique avec la bactérie marine *Vibrio fischeri* qui leur confère de la lumière. Or, cette recherche vise l'évaluation de l'effet du naphthalène, en concentrations variables, sur la viabilité de cette bactérie. Peu de littérature est disponible sur ce sujet en particulier, contrairement à l'effet des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sur la bioluminescence de *V. fischeri* et c'est pourquoi le sujet initial de cette recherche était ce dernier. Toutefois, ce changement de sujet n'a pas été vain. En effet, d'après les résultats obtenus, on pourrait avancer le fait que plus la concentration en naphthalène augmente et moins le taux de survie de *V. fischeri* est élevé. Toutefois, on notera que la fiabilité des résultats n'est pas absolue étant donné que les essais 2,3 et 4 sont basés sur des échantillons ayant échappé à une contamination. De plus, cette recherche a permis d'isoler des contaminants qui sont plus résistants à des concentrations élevées de naphthalène. Malgré des résultats relativement concluants, une question cruciale reste non-résolue soit, l'explication détaillée et exacte de l'effet du naphthalène sur cette bactérie marine. Le fait qu'il y ait peu de littérature sur le sujet ne permet pas vraiment de comparer les résultats à des valeurs théoriques. Il faudrait donc approfondir les recherches pour pouvoir affirmer sans doute que plus la concentration de naphthalène augmente et moins le taux de survie de *V. fischeri* est élevé et pour pouvoir comprendre les raisons d'un tel phénomène.

281 mots

## Remerciements

Je voudrais remercier les membres de ma famille pour leur support, leur patience et leur compréhension à mon égard. Je remercie également mon superviseur, pour avoir su m'aider au long de ce processus et pour avoir su répondre à mes questions. Mes remerciements vont également à la technicienne de laboratoire, dont les compétences et l'expérience m'ont été très utiles. Malgré les moments d'angoisse, ces personnes ont fait du Mémoire une expérience agréable et très enrichissante.

Table des matières

<b>RÉSUMÉ .....</b>	<b>2</b>
<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>5</b>
<b>MODÈLE EXPÉRIMENTAL .....</b>	<b>7</b>
<b>METHODE EXPERIMENTALE.....</b>	<b>8</b>
<b>RESULTATS.....</b>	<b>11</b>
<b>DISCUSSION.....</b>	<b>14</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>18</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>20</b>
<b>ANNEXE I.....</b>	<b>22</b>
<b>ANNEXE II .....</b>	<b>24</b>
<b>ANNEXE III.....</b>	<b>25</b>
<b>ANNEXE IV .....</b>	<b>26</b>
<b>ANNEXE V.....</b>	<b>27</b>
<b>ANNEXE VI.....</b>	<b>28</b>

## Introduction

Le naphthalène est un hydrocarbure présent naturellement dans l'environnement. Il fait partie de la famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), c'est-à-dire que c'est une substance composée de cycles de carbone et d'hydrogène. Les HAP sont des substances hydrophobes dont l'abondance dans l'environnement est peu souhaitée. En effet, l'*Environmental Protection Agency* a marqué 16 HAP comme polluants prioritaires. Parmi ces 16 substances, 8 sont potentiellement cancérigènes pour l'Homme<sup>1</sup>. De plus, le naphthalène (C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>) figure dans la «Liste des substances toxiques» établie par Environnement Canada en fonction de la *Loi Canadienne sur la protection de l'Environnement* (LCPE). Les HAP dont le naphthalène fait partie, se retrouvent naturellement dans les combustibles fossiles. Ils sont libérés dans l'atmosphère lors de la combustion de ces substances et se retrouvent dans l'eau notamment lorsqu'il y a des fuites de pétrole ou d'huile. De plus, 50 millions de kilos d'hydrocarbures sont rejetés dans l'océan et annuellement, 600 000 tonnes d'hydrocarbures évacués dans l'air se retrouvent dans l'eau à cause des pluies<sup>2</sup>. De telles statistiques laissent supposer que la teneur en hydrocarbures dans l'océan est peu négligeable. En effet, malgré son caractère hydrophobe, le naphthalène peut se trouver dans l'eau : si l'on rejette une quantité de naphthalène dans l'eau 93,5 % de la quantité initiale de substance reste dans l'eau<sup>3</sup>. De plus, l'utilisation de la créosote de goudron de houille contribue également à l'augmentation du naphthalène dans l'eau, car étant utilisée comme traitement pour le bois et comme produit protecteur pour les pilotis faits en béton qui sont immergés dans la mer, la créosote se retrouve en contact avec l'océan. Ainsi, des HAP, dont le naphthalène puisqu'il entre dans la composition de la créosote<sup>4</sup>, entrent en contact avec des organismes marins. Mais le portrait se noircit davantage quand on sait que les substances composant la créosote s'accumulent dans les invertébrés aquatiques et les poissons<sup>5</sup>. Des organismes marins tels certains calmars de la famille des Sepiolidae et quelques poissons de la famille de Monocentridae peuvent être amenés à entrer en contact avec des HAP dans l'océan, dont le naphthalène. Or, ces quelques espèces aquatiques ont la particularité de vivre en symbiose avec une bactérie marine nommée *Vibrio fischeri*.<sup>6</sup> Elle vit dans l'océan sous forme libre ou en colonie dans un hôte<sup>7</sup> et est largement utilisée dans des tests toxicologiques tels Microtox®. Ces tests toxicologiques permettent d'évaluer la pureté de cours d'eau en mesurant la bioluminescence de la bactérie en réaction aux substances dans l'eau. Cette bactérie en concentration élevée dans l'organe lumineux de l'hôte est bioluminescente. Grâce à cet atout, l'hôte marin peut ainsi mieux se cacher de ses prédateurs, car en émettant de la lumière la

nuit, les rayons de lune ne créent pas d'ombre et le calmar ou le poisson est moins exposé au danger, car les prédateurs ont tendance à chasser en regardant au-dessus d'eux pour déceler une ombre. Or, si la proie est lumineuse, sa silhouette se fond dans la lumière de la lune<sup>8</sup>. C'est une forme de camouflage appelée «Counterillumination»<sup>9</sup>. La relation symbiotique entre *V. fischeri* et les calmars et poissons en question sera davantage expliquée plus loin. Étant donné que cette bactérie marine est capable de bioluminescence, la question au cœur de ce mémoire a d'abord été : quel est l'effet du naphthalène, à différentes concentrations, sur la bioluminescence de la bactérie *V. fischeri*? Or, suite à des problèmes rencontrés lors de la réalisation de l'expérience, il a fallu ajuster la question de recherche et ainsi réorienter le sujet du mémoire. Ainsi, la question de recherche retenue est la suivante : **quel est l'effet du naphthalène, à différentes concentrations, sur la viabilité de la bactérie *V. fischeri*?**<sup>1</sup> Les éléments responsables de ce changement seront discutés plus loin. Plusieurs chercheurs tels S. Parvez, C. Venkataraman, S. Mukherji et bien d'autres se sont penchés sur l'effet de différents produits chimiques sur la bioluminescence de la bactérie en question mais moins se sont penchés sur l'effet sur la viabilité de ces polluants d'où l'intérêt d'y investir de l'énergie.

### Hypothèse

En considérant le fait que le naphthalène est une substance chimique toxique, l'hypothèse de départ est que plus la concentration en naphthalène est grande et moins le taux de survie des bactéries *V. fischeri* est élevé. En effet, à l'instar d'autres bactéries aquatiques, la *V. fischeri* n'a pas la capacité de dégrader le naphthalène.

### Variables

*Dépendante* : Le taux de survie des bactéries *V. fischeri* en gélose (%)

*Indépendante* : La concentration de naphthalène (mol/L)

*Contrôlées* : Volume de solution de naphthalène (mL), Volume de solution bactérienne (mL), Temps d'incubation (h), milieu de culture, dilutions des solutions, température de l'étuve

---

<sup>1</sup> La viabilité sera mesurée grâce aux taux de survie de la bactérie.

Le protocole qui suit résulte de l'orientation de la question de recherche<sup>2</sup>.

## **Modèle expérimental**

La bactérie qui a été utilisée dans le cadre de cette expérience est la *Vibrio fischeri*. À la base, le choix de cette bactérie reposait sur le fait que le sujet du mémoire était l'effet du naphthalène sur la bioluminescence de cette bactérie. Mais bien qu'il ait été possible de percevoir de la bioluminescence provenant des colonies de bactéries en géloses, le premier protocole élaboré nécessitait l'émission de bioluminescence des bactéries en suspension en solution. Or, selon la courbe de l'émission de bioluminescence en fonction du temps, il y a un pic d'émission après 12 heures d'incubation et à partir de ce pic, l'intensité de la bioluminescence diminue considérablement<sup>3</sup>. Ainsi, vu que l'accès au laboratoire du Collège est limité, il n'a pas été possible de percevoir la bioluminescence de *V. fischeri* en bouillon; il aurait fallu rester 12 heures consécutives pour être certain d'être présent au moment du pic d'émission. Mais malgré cette réorientation, le choix de la bactérie *V. fischeri* reste pertinent, car si le naphthalène a un effet sur elle cela pourrait vouloir dire que le naphthalène affecte les calmars et les poissons qui l'accueillent dans leur organe lumineux pour bénéficier de bioluminescence. En ce qui concerne le milieu de culture, les bouillons de culture TSB et les géloses TSBA pour les géloses ont très bien fait l'affaire étant donné qu'ils sont relativement standards et que *Vibrio fischeri* n'est pas une bactérie exigeant des conditions très spécifiques. Ainsi, le taux de sel (2 %) dans les bouillons de culture correspondait au taux de sel qui optimise la croissance de la bactérie<sup>10</sup>.

### Matériel

Souche de *Vibrio fischeri* en suspension dans de l'agar

Bouillon Trypticase soya (TBS) comme milieu de culture déshydraté

Bouillon Trypticase soya avec agar (TBSA) comme milieu de culture pour les géloses

Mélangeur Vortex fourni par le Collège

---

<sup>2</sup> Pour consulter l'ancien protocole, voir Annexe I.

<sup>3</sup> Voir Annexe II

Cylindre gradué stérile de 100 mL ( $\pm 0,5$  mL)

Micropipette

Agitateur magnétique chauffant

Étaleur en verre stérile

Éprouvettes, bouchons et support à éprouvettes stériles

Brûleur Bunsen

Tubes à dilution de 10 mL d'eau salée et stérile

## **Méthode expérimentale**

Toutes les étapes qui suivent doivent se faire en zone stérile.

### 1. Préparation des solutions de naphthalène

Les volumes d'eau sont mesurés avec un cylindre gradué de 100 mL et sont placés dans des erlenmeyers.

*Solution concentrée à 0,550 mol/L*

Dissoudre environ 7,05 g de naphthalène dans 100 mL<sup>4</sup> d'eau stérile et salée à 2%. Pour faciliter la dissolution, chauffer et agiter la solution avec un agitateur magnétique chauffant à l'intensité 4 jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de flocons de naphthalène visibles. Il faut maintenir l'erlenmeyer utilisé couvert avec de l'aluminium pour limiter les pertes de substances lorsque les solutions de naphthalène sont chauffées.

---

<sup>4</sup> Le choix du volume total de solution est peu important, ce qui compte c'est qu'il y en ait suffisamment pour effectuer les dilutions

*Solution concentrée à 0,275 mol/L*

Diluer 100 ml de la solution concentrée à 0,550 mol/L avec 100 ml d'eau stérile et salée à 2% pour obtenir la solution concentrée à 0,275 mol/L.

*Solution concentrée à 0,825 mol/L*

Dissoudre environ 10,57 g de naphthalène dans 100 ml d'eau stérile et salée à 2% et utiliser l'agitateur magnétique chauffant pour faciliter le processus.

*Solution concentrée à 1,100 mol/L :*

Dissoudre environ 14,10 g de naphthalène dans 100 ml d'eau stérile et salée à 2% en utilisant l'agitateur magnétique chauffant.

## 2. Préparation des différentes dilutions de solution bactérienne

Effectuer les dilutions à partir d'une culture à croissance logarithmique (log), c'est-à-dire une solution de 10 mL composée de bouillon de culture et de 1 mL d'une culture de nuit. Pour ce faire, pipeter 1 mL de la culture log dans 9 ml d'eau stérile salée en éprouvette et mélanger le contenu de l'éprouvette avec le mélangeur Vortex pendant 2 secondes. Répéter ces étapes 8 autres fois jusqu'à ce qu'il y ait 9 dilutions en tout en couvrant chaque éprouvette avec un bouchon.

## 3. Élaboration des géloses

*Groupe témoin :*

Pipeter 1 mL de culture log dans une gélose et l'étendre en utilisant un étaleur en verre stérile. Répéter ces étapes avec les autres dilutions.

Pour chaque groupe expérimental, on obtient les dilutions de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  et  $10^{-9}$ .

*Groupes expérimentaux :*

Pipeter 1 mL de culture log dans une gélose et y ajouter 1 mL de solution de naphthalène concentrée à 0,275 mol/L en utilisant un autre embout. Étendre cette combinaison avec un étaleur en verre stérile. Répéter ces étapes 8 autres fois avec les autres dilutions mais toujours avec la solution de naphthalène concentrée à 0,275 mol/L.

Répéter ces mêmes étapes en utilisant les autres solutions concentrées en naphthalène (0,550, 0,825 et 1,100 mol/L).

Placer les géloses dans une étuve réglée à 25 °C et les laisser incuber 48 heures.

Faire 3 autres séries de géloses pour obtenir 4 essais en tout (groupe expérimental et groupes expérimentaux).

4. Recueillement des données brutes

Après avoir incubé les géloses pendant 48 heures, compter le nombre de colonies sur les géloses où il est possible de les voir distinctivement. Effectuer un dénombrement pour chaque groupe associé à chaque concentration de naphthalène. Le taux de survie est obtenu en multipliant le nombre de bactéries comptées par l'inverse de la dilution et par l'inverse du volume de solution bactérienne ajoutée initialement sur la gélose.

## Résultats

### Données brutes

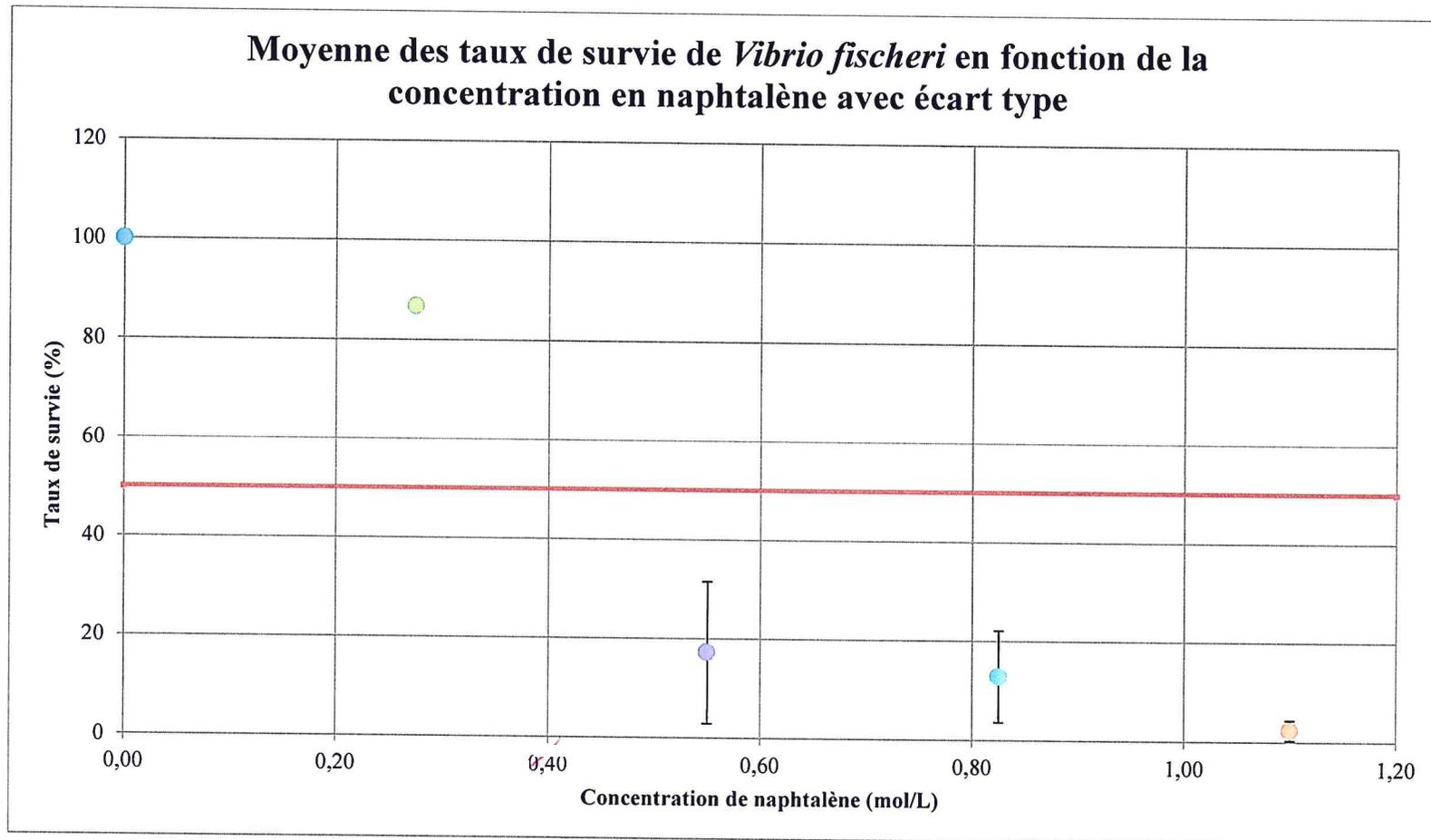
Le nombre de colonies pour le groupe témoin n'a été compté qu'une seule fois. ; il s'agit du groupe où le taux de survie est de 100 %. Pour une dilution  $10^{-5}$ , 128 colonies ont été comptées.

Figure 1 : Nombre de colonies de *Vibrio fischeri* comptées en fonction de la concentration en naphthalène

Essai 1		
Dilution	Concentration en naphthalène	Nombre de colonies comptées
	g/L	
$10^{-5}$	0,275	111
$10^{-4}$	0,550	404
$10^{-3}$	0,825	3072
$10^{-1}$	1,100	904
Essai 2		
$10^{-3}$	1,100	620
Essai 3		
$10^{-3}$	0,825	1678
$10^{-4}$	0,550	37
$10^{-4}$	1,100	49
Essai 4		
$10^{-2}$	0,825	1816
$10^{-3}$	1,100	93

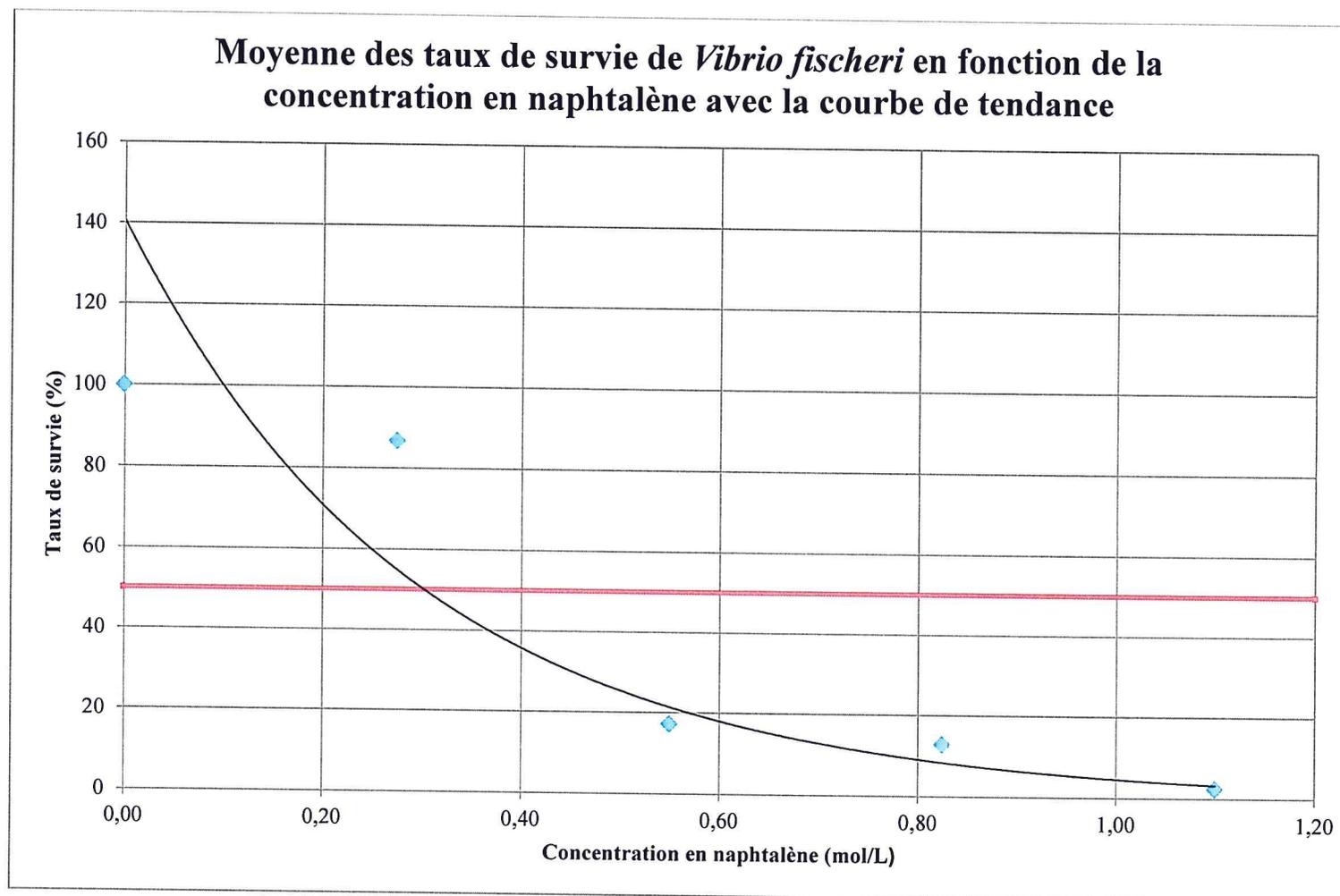
Données traitées

Figure 2 : Graphique des moyennes de taux de survie de *Vibrio fischeri* en fonction de la concentration de naphthalène avec l'écart type<sup>5</sup>.



<sup>5</sup> Voir Annexe IV pour les données issues d'un premier traitement disposées en tableau et Annexe V pour les exemples de calculs des données traitées.

Figure 3 : Graphique des moyennes de taux de survie de *Vibrio fischeri* en fonction de la concentration de naphthalène avec la courbe de tendance



## Discussion

À la lumière de ces résultats on pourrait penser que l'hypothèse a été **confirmée**, puisqu'on peut remarquer que plus la concentration en naphthalène augmente et moins le taux de survie de la bactérie *Vibrio fischeri* est élevé. Le graphique à la page précédente illustre bien la tendance observée lors de cette expérimentation. Mais le fait que les écarts types se croisent suggère qu'il n'y a pas de différence significative entre les moyennes par concentration de naphthalène. En plus, une seule donnée est disponible pour 0,275 g/L ce qui ne permet pas de calculer un écart type. Ainsi, même si les données semblent confirmer l'hypothèse, les données ne sont ni significatives ni concluantes, car il n'y en a très probablement pas assez.

En effet, on pourrait facilement exclure certains résultats et ainsi finir avec peu de bases sur lesquelles s'appuyer pour infirmer ou confirmer l'hypothèse. Un seul paramètre a été modifié entre l'essai 1 et les 3 autres ; l'étuve dans laquelle les bactéries ont été incubées. Au début de l'expérimentation, le sujet de recherche n'étant pas l'influence du naphthalène sur le taux de survie de la bactérie mais bien sur la bioluminescence, l'utilisation de géloses n'était pas centrale dans le protocole initial. Or, avec le changement de sujet de recherche, il fallait beaucoup d'espace pour placer les géloses et le temps était compté ; la petite étuve utilisée au début ne suffisait plus pour incuber plus d'un essai à la fois. Il a donc fallu utiliser une autre étuve pour les géloses des essais 2, 3 et 4. Les géloses de l'essai 1 étaient dans la petite étuve et les géloses des essais 2, 3 et 4 étaient dans la plus grosse, celle qui n'avait pas encore été utilisée. Il s'est avéré qu'une grande proportion de ces dernières géloses a été contaminée. De plus, entre l'essai 1 et les autres essais, les solutions de naphthalène préalablement stériles sont restées sur la paillasse une semaine et cette exposition prolongée à l'air, vecteur de plusieurs bactéries et organismes, est une autre cause probable de contamination. C'est très probablement cette dernière hypothèse qui expliquerait la contamination. Peu de géloses ont pu être retenues pour le calcul de taux de survie. Ainsi, pour être rigoureux, il faudrait exclure les géloses qui ont été placées dans la deuxième étuve, car les chances qu'elle ait été contaminée sont très grandes. Toutefois, cela reviendrait à ne pas considérer les essais 2,3 et 4 et ne se baser que sur l'essai 1. Ça diminuerait grandement la fiabilité des conclusions qu'on pourrait en tirer. Mais même si on ne considérait pas les

géloses provenant de l'étuve contaminée, le taux de survie de la bactérie *Vibrio fischeri* diminuerait quand même avec l'augmentation de la concentration en naphthalène. Si on se fie à la courbe illustrée ci-haut, la concentration de naphthalène à laquelle le taux de survie de *V. fischeri* serait de 50% (LC<sub>50</sub>) est d'environ 0,422 mol/L. En la comparant à la valeur théorique de Log(LC<sub>50</sub>) de 0,88 mg/L<sup>11</sup> et qui donne un LC<sub>50</sub> d'environ 1,000 mol/L, le pourcentage d'écart est de 57,80 %. Avec un tel écart, on peut affirmer que l'exactitude de la valeur trouvée est faible. Toutefois, cette valeur théorique est relative à des essais effectués sur des bactéries incubées 96 heures provenant d'un poisson. Malgré plusieurs recherches, une valeur théorique de LC<sub>50</sub> propre à des bactéries *V. fischeri* en géloses n'a pas pu être trouvée, contrairement aux valeurs de EC<sub>50</sub> (concentration à laquelle la bioluminescence est inhibée à 50 %) qui sont abondantes étant donné la grande utilisation de cette bactérie lors des tests d'écotoxicité. La valeur a été utilisée comme point de référence mais peut-être est-ce normal qu'il y ait une grande différence avec la valeur expérimentale. Que ce soit pour des valeurs d'EC<sub>50</sub> ou de LC<sub>50</sub>, l'étude considérée qui se rapproche le plus de mon sujet de recherche utilise la bactérie sous forme de bouillon pour déterminer ces valeurs, contrairement à cette expérimentation où les bactéries étaient en géloses<sup>12</sup>. Le fait qu'il y ait peu d'études consacrées à la toxicité du naphthalène sur *Vibrio fischeri* limite grandement l'évaluation de la pertinence et de la fiabilité des résultats.

Comme il l'a précédemment été mentionné, on peut remarquer la relation inversement proportionnelle entre le taux de survie de *V. fischeri* et la concentration de naphthalène. Mais comment l'expliquer? Il faudrait d'abord considérer le fait que la bioluminescence et la densité cellulaire de *V. fischeri* sont régies par un «Quorum Sensing» (QS)<sup>13</sup>. Celui-ci permet aux bactéries d'être en concentration suffisante dans l'organe lumineux de l'hôte impliqué dans la symbiose pour qu'elles puissent ainsi émettre de la lumière. Cette lumière résulte de l'oxydation des luciférines, «composés aldéhydiques à longues chaînes»<sup>14</sup>, par l'enzyme luciférase. Chaque bactérie produit des N-acylhomosérines lactones (AHLs) qui vont agir comme des signaux<sup>15</sup>. Il existe plusieurs types de AHLs dépendamment des bactéries Gram-négatives qui s'y rapportent<sup>16</sup>. En ce qui a trait à *V. fischeri*, il s'agit de N-acylhomosérines lactones. Ces molécules produites par une enzyme vont se retrouver en grande quantité dépendamment de la quantité de cellules à en sécréter. Les AHLs vont donc facilement diffuser à travers la membrane cellulaire (étant des molécules hydrophobes<sup>17</sup>) et se fixer à un récepteur sur d'autres cellules quand la concentration d'AHLs sera suffisamment élevée (entre

$10^{-5}$  et  $10^{-9}$  mol/L dépendamment des cas)<sup>18</sup>. Cela activera la synthèse de la protéine R. Le gène codant pour la protéine en question est le gène LuxR. Par après, d'autres gènes sont exprimés en chaîne (car l'opéron Lux inclut d'autres gènes) et ces expressions activent davantage les AHLs à se fixer aux récepteurs. Il en résulte que la densité cellulaire augmente grandement ainsi que l'intensité de la bioluminescence. On sait que la concentration optimale pour que *Vibrio fischeri* émette de la luminescence varie entre  $10^9$  et  $10^{10}$  cellules/ml<sup>19</sup>. Le principe consiste en une chaîne de rétroaction positive<sup>6</sup>. Étant donné que peu de littérature est disponible sur l'effet direct du naphthalène (ou d'HAP) sur la viabilité de la bactérie *V. fischeri*, on peut tout de même émettre des hypothèses pour tenter d'expliquer ces résultats. Étant un HAP, le naphthalène est une substance relativement hydrophobe. Ainsi, on pourrait avancer le fait que comme les AHLs, le naphthalène ait traversé la membrane cellulaire. De cette façon, le naphthalène a pu interférer avec les AHLs lorsqu'elles devaient se fixer sur les récepteurs des cellules pour activer la synthèse de la protéine R. La densité cellulaire a donc pu être limitée, car la communication entre les bactéries (QS) ne se faisait plus bien. Le naphthalène serait donc un élément perturbateur dans ce système de QS. De plus, même si les bactéries étaient incubées dans des géloses, cela ne change pas le fait que le naphthalène était placé sur ces géloses en même temps que les solutions bactériennes et que le tout ait été mélangé.

### Limites et améliorations

Au début, le sujet de recherche était l'effet du naphthalène sur la bioluminescence de *Vibrio fischeri*. La littérature sur le sujet est beaucoup plus présente, car cette bactérie est largement utilisée dans des tests d'écotoxicité où sa bioluminescence est mesurée. Toutefois, malgré le protocole conçu pour le premier sujet de recherche, certains éléments pour qu'il y ait bioluminescence en bouillon n'ont pas été considérés. Par exemple, même si on sait que la concentration bactérienne nécessaire pour qu'il y ait bioluminescence est entre  $10^9$  et  $10^{10}$  cellules/ml, la courbe de croissance spécifique à *Vibrio fischeri* n'était pas connue. Ainsi, il n'était pas possible de savoir doser les bouillons et de savoir combien de temps exactement laisser incuber les bactéries pour que la solution atteigne une concentration dans cet ordre de grandeur. Procéder par essai-erreur n'était pas envisageable ; cela aurait requis trop de temps. De plus, lorsque le premier protocole a été conçu, on n'a pas pensé à vérifier si la

---

<sup>6</sup> Voir Annexe III pour un schéma détaillé du mécanisme.

bioluminescence était vraiment instantanée ; cette idée a été prise pour acquis. De ce fait, après plusieurs échecs à développer une solution bactérienne bioluminescente, on a approfondi davantage les recherches sur les conditions favorables à l'émission de lumière et on a appris qu'il y a un pic d'émission après 12 heures<sup>20</sup>. C'est surtout cette information qui a confirmé le changement de sujet de recherche étant donné que les heures d'ouverture du laboratoire du Collège ne permettait pas d'y rester pendant 12 heures en attendant qu'il y ait bioluminescence. Le choix s'est donc arrêté sur l'effet du naphthalène sur la viabilité de la bactérie, car il avait été remarqué que le taux de survie de celle-ci diminuait lorsque la concentration du naphthalène augmentait (essai 1). Au départ, l'essai 1 devait servir à déterminer les concentrations de naphthalène à utiliser pour mesurer la bioluminescence, ces concentrations devaient être sublétales pour qu'une diminution de la bioluminescence n'ait pas été due à la mort des bactéries.

D'autres problèmes sont survenus. Dans un premier temps, la souche de bactéries *Vibrio fischeri* commandée n'était apparemment pas viable étant donné qu'il n'a pas été possible d'en faire la culture en bouillon. Pourtant, le tout s'est fait dans les conditions optimales (manche de Koch stérile, effectué en zone stérile, bouillon adéquat pour la prolifération des bactéries, etc.). Cet imprévu est la cause d'une perte de temps (environ 1 semaine), temps qui aurait pu être investi dans les manipulations. Il a donc fallu commander une autre souche de bactéries et attendre qu'elle arrive. Il n'était malheureusement pas possible de prévoir cet incident.

De plus, plusieurs erreurs de manipulation et anomalies auraient pu être évitées. Premièrement, la contamination très répandue qu'il y a eu lors des essais 2,3 et 4 aurait pu être évitée si les solutions de naphthalène avaient été utilisées dans un bref délai, c'est-à-dire tout de suite après les avoir stérilisées. C'est cette source de contamination qui apparaît être la plus plausible. On aurait aussi dû filtrer les solutions avec un filtre millipore (un filtre qui bloque les particules de 2µm et plus) pour les débarrasser le plus possible de contaminants. Cette contamination a pu influencer la croissance des bactéries, car après avoir récolté un échantillon de divers types de contaminants<sup>7</sup> on a constaté qu'ils étaient résistants à une concentration de naphthalène de 1,100 mol/L. Malheureusement, les essais 2,3 et 4 n'ont pas

---

<sup>7</sup> Voir Annexe VI

été répétés étant donné le peu de temps qu'il restait pour finir de manipuler. Le fait qu'il faille attendre au moins 2 jours pour pouvoir compter les colonies de bactéries a également ralenti les manipulations. Un autre exemple d'erreur de manipulation est l'oubli d'ajout de sel à la solution de naphthalène ; cela a tué les bactéries en gélose en plus d'avoir gaspillé inutilement des géloses.

Si l'expérience était à refaire, plus de temps devrait être accordé à la préparation du protocole pour qu'aucun paramètre ne soit négligé. Cela éviterait les changements de parcours et les pertes de temps. En ayant plus de temps, on aurait ainsi une marge de manœuvre au cas où des problèmes surviennent (comme la contamination des 3 essais) et la possibilité de faire plus d'essais. Plus de soins devraient être accordés aux manipulations pour éviter les erreurs qui constituent une perte de temps en plus d'un gaspillage du matériel.

## **Conclusion**

À la lumière de cette expérience, on est en mesure de fournir une réponse à la question de recherche qui était l'effet du naphthalène, à différentes concentrations, sur la viabilité de la bactérie *V. fischeri*. Au départ, la question de recherche était presque la même mais on mesurait l'intensité de la bioluminescence de la bactérie. À cause des problèmes cités plus haut, une réorientation a été nécessaire. Les résultats découlant de cette expérience suggèrent que plus la concentration en naphthalène est élevée et moins le taux de survie de *Vibrio fischeri* l'est; la relation qui unit ces 2 variables semble être inversement proportionnelle. Le naphthalène semble donc létal à partir de 0,275 g/L pour cette bactérie marine.

Toutefois, la fiabilité des résultats pour tous les essais n'est pas équivalente, car les essais 2 à 4 ont été sujets à contamination et car il n'y a pas beaucoup d'essais. Malgré un changement de sujet de recherche, travailler sur la toxicité du naphthalène sur *V. fischeri* n'est sûrement pas vain. En effet, si le naphthalène diminue la viabilité de *Vibrio fischeri*, il diminue probablement indirectement sa bioluminescence, il ne permettrait pas l'obtention de la concentration nécessaire pour qu'il y ait émission de lumière. Ainsi, on pourrait avancer la

possibilité que si les céphalopodes ou poissons qui font la symbiose avec *V. fischeri* assimilent du naphthalène en concentration létale pour la bactérie, leurs chances de bénéficier de bioluminescence sont diminuées. À noter aussi qu'on ne s'attendait pas à trouver des organismes résistants au naphthalène.

Malgré le fait que les résultats semblent concluants, les raisons exactes qui expliquent en quoi une augmentation de concentration de naphthalène diminue le taux de survie de *V. fischeri* restent inconnues et seule une hypothèse a été suggérée pour tenter d'expliquer le phénomène. La réponse fournie à la question de recherche est ainsi donc incomplète, car on n'est pas en mesure de complètement analyser les résultats, et malgré l'ampleur des recherches effectuées pour y remédier, aucune notion claire se rapportant à ce sujet n'a été trouvée.

3 992 mots

## Bibliographie

### Livres

Branger, Alain, Richer, Marie-Madeleine et Roustel, Sébastien. 2007. «Microbiochimie et alimentation : 1.6.1. Chez *Vibrio fischeri*. 343 p. Dijon : Éditions Educagri.

Pelmont, Jean. 2005. «Biodégradations et métabolismes : les bactéries pour les technologies de l'environnement». 798 p. EDP Sciences.

### Sites Internet

ConsoGlobe. 2012. «Planetoscope : l'eau et les océans». In *Planetoscope*. En ligne. <<http://www.planetoscope.com/environnement/eau-océans>>. Consulté le 1<sup>er</sup> août 2012.

Environnement Canada. 2009, 22 avril. «Guide de déclaration des installations de préservations du bois à l'INRP». In *Déclaration à l'INRP*. En ligne. <<http://www.ec.gc.ca/inrp-npri/default.asp?lang=Fr&n=29B3E589-1&offset=7&toc=show>>. Consulté le 1<sup>er</sup> août 2012.

University of California Santa Barbara. «The Color-changing Squid». In *The Bioluminescence Web Page*. En ligne. <<http://www.lifesci.ucsb.edu/~biolum/organism/squid.html>>. Consulté le 19 décembre 2012.

### Publications

Environnement Canada. 1992. «Série de la protection de l'environnement : méthode d'essai biologique essai de toxicité sur la bactérie luminescente». En ligne. 79 p. <<http://www.ec.gc.ca/Publications/7FB204F9-07E7-454E-AFCF-8BF8AB3A95CB%5C24F.pdf>>. Consulté le 10 septembre 2012.

Meite, Kalidjata et Bonnemaïns, Jacky. «Traitement des déchets dangereux : la créosote et les bois traités à la créosotes». En ligne. 415 p. <[http://www.robindesbois.org/dossiers/traverses\\_annexes.pdf](http://www.robindesbois.org/dossiers/traverses_annexes.pdf)>. Consulté le 1<sup>er</sup> août 2012.

Santé Canada. 2008. «Rapport d'évaluation du naphtalène (91-20-3)». En ligne. 40 p. <[https://www.ec.gc.ca/ese-ees/F212515C-94E5-47BE-8618-1EA9F3818A9B/batch1\\_91-20-3\\_fr.pdf](https://www.ec.gc.ca/ese-ees/F212515C-94E5-47BE-8618-1EA9F3818A9B/batch1_91-20-3_fr.pdf)>. Consulté le 1<sup>er</sup> août 2012.

### Articles de périodiques

Chavez-Dozal, Alba et Nishiguchi, Michele K. 2011. «Variation in biofilm formation among symbiotic and free-living strains of *Vibrio fischeri*». *Journal of Basic Microbiology*. En ligne. Vol. 51. , p. 452-458. Las Cruces (Nouveau Mexique) : New Mexico State University. < <http://biology-web.nmsu.edu/nish/files/journals/Chavez&Nishiguchi2011.pdf> >. Consulté le 2 août 2012.

Dunlap, Paul V. 1999. «Quorum Regulation of Luminescence in *Vibrio fischeri*». *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. En ligne. Vol. 1, no. 1. p. 5-12. Baltimore (Maryland): Horizon Scientific Press. < <http://www.horizonpress.com/jmmb/v1/v1n1/03.pdf> >. Consulté le 10 octobre 2012.

Geiselbrecht, Allison D. , Herwig, Russel P. , Deming, Jody W. et Staley, J. T. 1996. «Enumeration and Phylogenetic Analysis of Polycyclic Aromatic Hycarbon-Degrading Marine Bacteria from Puget Sound Sediments». *Applied and Environmental Microbiology*. En ligne. Vol. 62, no. 9, p. 3344-3349. Seattle (WA): University of Washington. < <http://aem.asm.org/content/62/9/3344.full.pdf> >. Consulté le 1er août 2012.

Parvez, Shahid, Venkataraman, Chandra et Mukherji, Suparna. 2008. «Toxicity assessment of organic pollutants: Reliability of bioluminescence inhibition assay and univariate QSAR models using freshly prepared *Vibrio fischeri*». *Toxicology In Vitro*. En ligne. Vol. 22, no. 7(octobre). < <http://dspace.library.iitb.ac.in/jspui/bitstream/10054/1405/1/5176.pdf> >. Consulté le 17 juillet 2012.

Sarter, S, Metayer, I. et Zakhia, N. 2008. «Effects of mycotoxins, aflatoxin B1 and deoxynivalenol, on the bioluminescence of *Vibrio fischeri*». *World Mycotoxin Journal*. En ligne. Vol. 1, no. 2. p. 189-193. Wageningen Academic Publishers. < [http://130.88.242.202/medicine/Aspergillus/Dropbox/Aspergillus\\_Website/aspergillus-web/articlesoverflow/world%20mycotoxin%20journal/Sarter2008.pdf](http://130.88.242.202/medicine/Aspergillus/Dropbox/Aspergillus_Website/aspergillus-web/articlesoverflow/world%20mycotoxin%20journal/Sarter2008.pdf) >. Consulté le 10 octobre 2012.

## Annexe I

### Protocole initial

- **Expérience pour vérifier que le nombre de bactéries *Vibrio fischeri* est bien de 300 /mL.**

A. Il y a 1 million de bactéries par essai.

1. Brancher le brûleur Bunsen. Les étapes qui suivent devront être effectuées proche de celui-ci pour rester en milieu stérile.
2. Placer le lyophilisat dans une éprouvette. Dépend de l'emballage.
3. Ajouter 10 mL d'eau distillée au lyophilisat qui contient les bactéries et le sel.
4. À l'aide d'une micropipette propre et sèche, aspirer et déverser la solution pour bien mélanger. Obstruer l'éprouvette de l'étape 3.
5. Pipeter 0,3 mL de cette solution et verser ce volume dans une autre éprouvette propre et sèche. Obstruer l'éprouvette de l'étape 4.
6. Diluer ce 0,3 mL de solution en ajoutant 99,7 mL d'eau distillée.
7. Pipeter un 1 mL de cette solution mère de bactéries et le déposer sur un vase de Pétri.
8. Étendre uniformément sur la gélose la solution en faisant basculer doucement le vase de Pétri.
9. Placer le couvercle sur le vase de Pétri.
10. Répéter les étapes 6 à 8 2 autres fois.
11. Relier les 3 vases de Pétri ensemble et les laisser à la température de la pièce.

- **Expérience pour solubiliser le naphthalène dans l'eau**

1. Peser 0,275 g de naphthalène à l'aide de la balance.
2. Verser le naphthalène dans un bécher et ajouter 500 mL d'eau distillée.
3. Placer l'agitateur magnétique dans le bécher.
4. Placer le bécher sur la plaque chauffante et régler à 32 °C.
5. Laisser brasser durant toute une nuit en plaçant une soucoupe de verre sur le bécher.

- **Expérience pour déterminer la concentration de naphthalène qui affecte la viabilité des bactéries.**

À partir de bactéries qu'on aura incubées il faudra les mettre en contact avec différentes concentrations de naphthalène et les étaler sur des vases de Pétri pour ainsi les dénombrer. Il faudra trouver une valeur de volume qui nous permettra de déterminer le nombre de bactéries par unité de volume et ainsi comparer le nombre de bactéries avant et après l'ajout de naphthalène.

- **Expérience principale**

- A. À cette étape, la concentration critique (qui affecte la viabilité des bactéries) a été déterminée.
- B. Il faut veiller à calibrer le spectrophotomètre à chaque changement de longueur d'onde, en utilisant une éprouvette contenant du bouillon de culture.

### **Groupe témoin**

1. Pipeter 1 mL (dépend du volume minimal dans la cuvette) de la solution mère à l'aide de la micropipette et le verser une cuvette du spectrophotomètre.
2. Calibrer le spectrophotomètre à 445 nanomètres et mesurer le pourcentage d'absorbance.
3. Répéter l'étape 3 jusqu'à une valeur de 585 nm en effectuant des intervalles de 20 nm.

### **Groupe expérimental**

Après avoir tracé le graphique du pourcentage d'absorbance en fonction de la longueur d'onde, déterminer la longueur d'onde dans laquelle émettent les bactéries. Cette valeur correspond à la valeur la plus élevée de la courbe.

1. Pipeter 1 mL (dépend du volume minimal dans la cuvette) de la solution mère à l'aide de la micropipette et le verser dans une cuvette du spectrophotomètre.
2. Ajouter une quantité de naphthalène (dépend de la concentration déterminée plus tôt). Démarrer le chronomètre.
3. Calibrer le spectrophotomètre à la longueur d'onde dans laquelle émettent la bactérie lorsqu'elle est lumineuse.
4. Quand 5 minutes ont passé, mesurer le pourcentage d'absorbance.
5. Effectuer la prise de mesure aux temps 7,5 ; 10 ; 12,5 ; 15 ; 17,5 ; 20 ; 25 ; 30 ; 45 et 60 (peut-être pas nécessaires) minutes.
6. Répéter les étapes 1 à 5 autres fois en gardant la concentration de naphthalène inchangée.
7. Répéter les étapes 1 à 6 en changeant la concentration de la solution de naphthalène (valeurs à déterminer en fonction de la 3<sup>ème</sup> sous expérience).

## Annexe II

Figure 4. Graphique de l'émission de lumière de *Vibrio fischeri* en fonction du temps

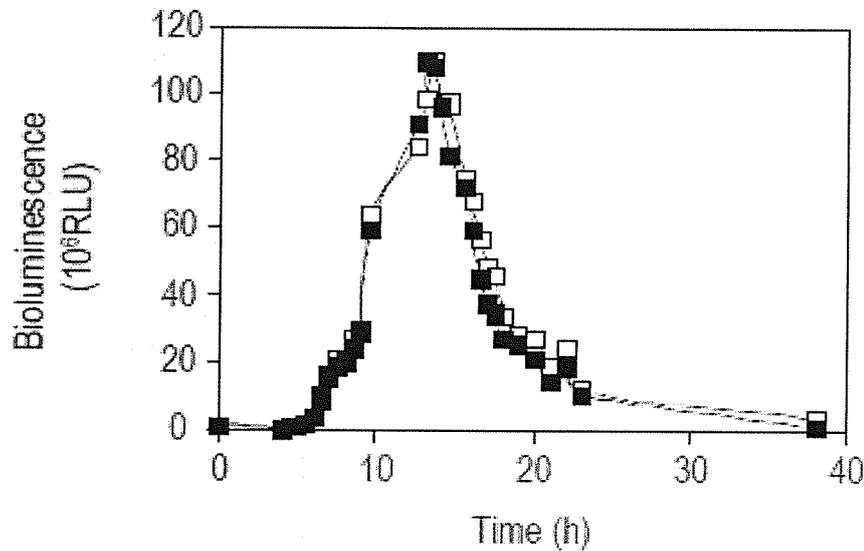


Figure 1. Evolution of *Vibrio fischeri* bioluminescence during the lifecycle over 30 h of incubation (in duplicate). RLU: relative luminescence units.

Graphique tiré de :

Sarter, S, Metayer, I. et Zakhia, N. 2008. «Effects of mycotoxins, aflatoxin B1 and deoxynivalenol, on the bioluminescence of *Vibrio fischeri*». *World Mycotoxin Journal*. En ligne. Vol. 1, no. 2. p. 189-193. Wageningen Academic Publishers.  
< [http://130.88.242.202/medicine/Aspergillus/Dropbox/Aspergillus\\_Website/aspergillus-web/articlesoverflow/world%20mycotoxin%20journal/Sarter2008.pdf](http://130.88.242.202/medicine/Aspergillus/Dropbox/Aspergillus_Website/aspergillus-web/articlesoverflow/world%20mycotoxin%20journal/Sarter2008.pdf) >. Consulté le 10 octobre 2012.

### Annexe III

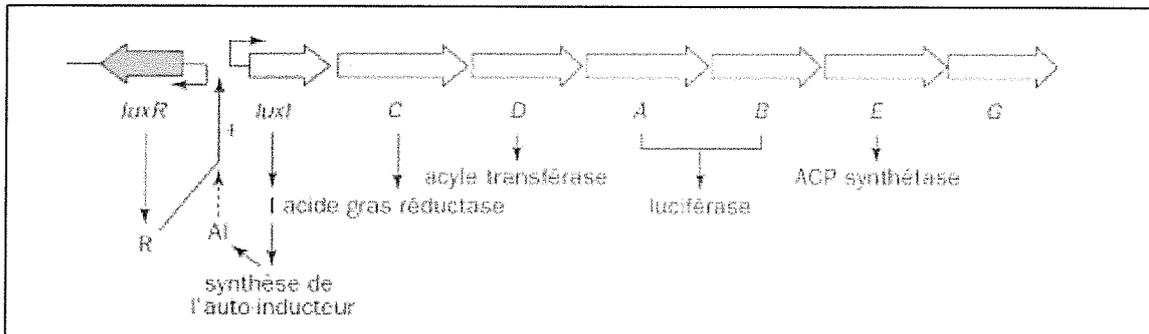


Image tirée de :

Pelmont, Jean. 2005. «Biodégradations et métabolismes : les bactéries pour les technologies de l'environnement». p. 120. EDP Sciences.

## Annexe IV

Figure 4. Taux de survie de *Vibrio fischeri* en fonction de la concentration en naphthalène pour chaque essai

	Taux de survie				
	%				
Concentrations de naphthalène	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 4	Moyenne
mol/L					
0	100	100	100	100	100
0,275	86,7185	/	/	/	86,7185
0,550	31,5625	/	2,890625	/	17,2266
0,825	24	/	13,109375	1,41875	12,8427
1,100	0,070625	4,84	3,828125	0,7265625	2,3663

\*Les barres obliques indiquent qu'il n'a pas été possible de calculer le taux de survie faute de données.\*

## Annexe V

### Exemples de calculs

#### 1. Taux de survie

Taux de survie (%) = nb de colonies comptées x 1/dilution x 1/volume de solution bactérienne x 100

$$= 128 \text{ colonies} \times 1/10^{-5} \times 1/10^{-1} \times 100$$

$$= 1,28 \times 10^{-8}$$

#### 2. Moyenne du taux de survie

Somme des taux de survie/nombre d'essais

$$= (24 \% + 13,109375 \% + 1,41875 \%) / 3$$

$$\approx 12,8427 \%$$

## Annexe VI

### Contaminants considérés comme résistants au naphthalène

Figure 5. Contaminant #1

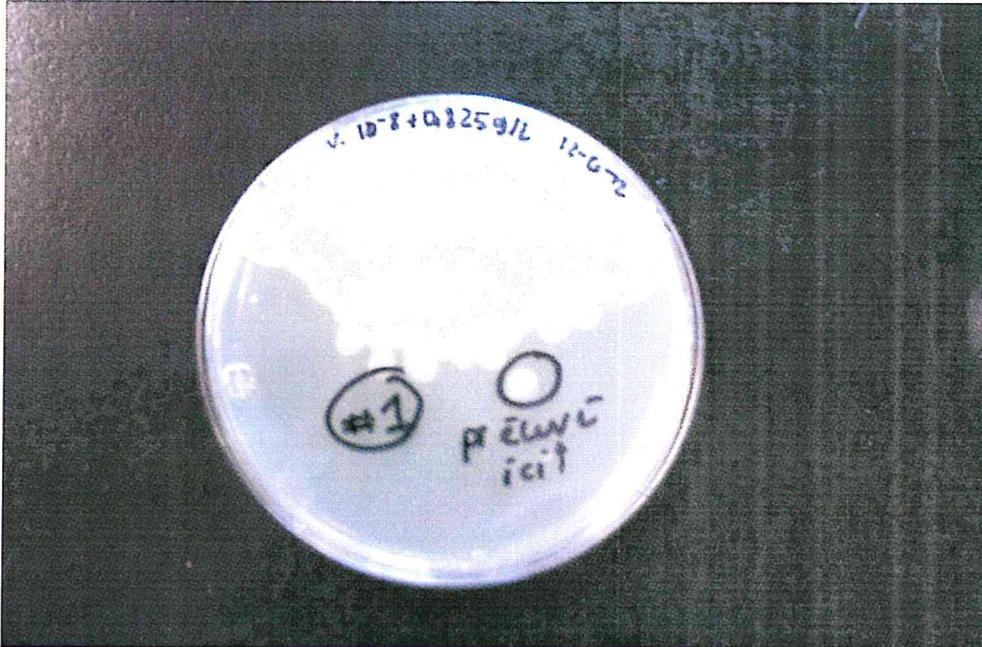


Figure 6. Contaminant #2

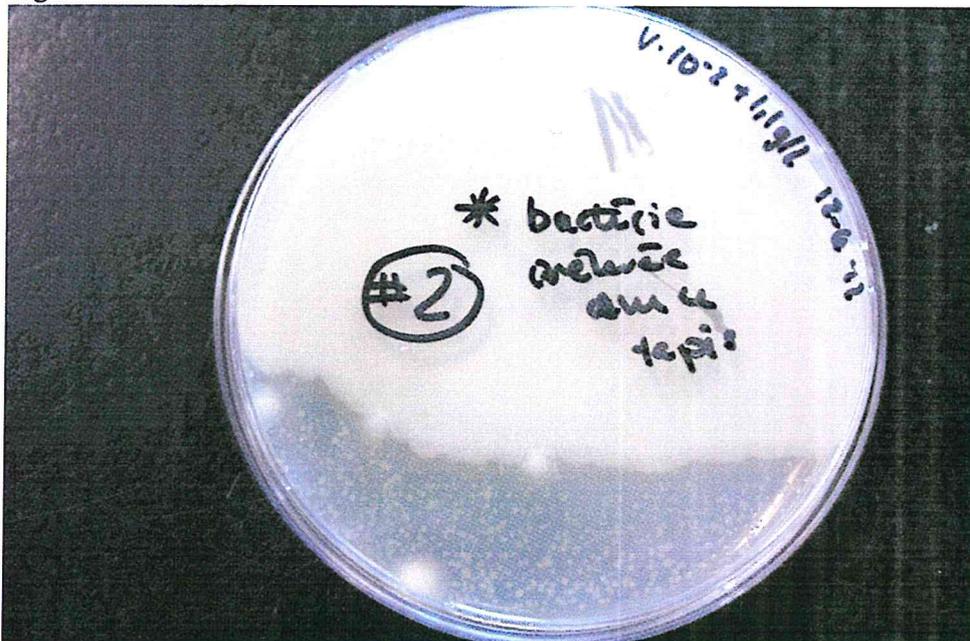


Figure 7. Contaminant #3

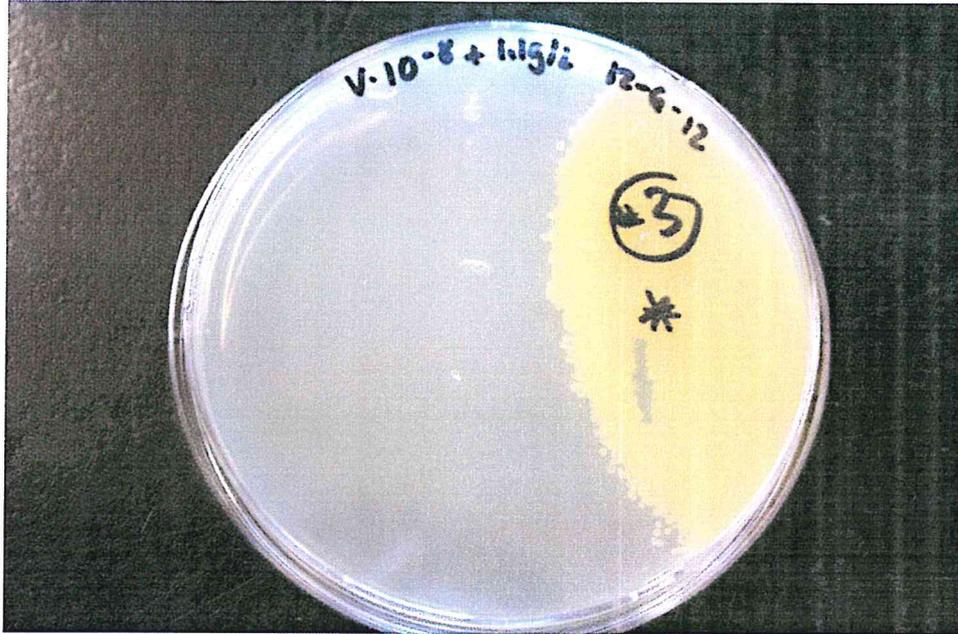


Figure 8. Contaminant #4



- 
- <sup>1</sup> Geiselbrecht, Allison D. , Herwig, Russel P. , Deming, Jody W. et Staley, J. T. 1996. «Enumeration and Phylogenetic Analysis of Polycyclic Aromatic Hycarbon-Degrading Marine Bacteria from Puget Sound Sediments». *Applied and Environmental Microbiology*. En ligne. Vol. 62, no. 9, p. 3344-3349. Seattle (WA): University of Washington. < <http://aem.asm.org/content/62/9/3344.full.pdf> >. Consulté le 1er août 2012.
- <sup>2</sup> ConsoGlobe. 2012. «Planetoscope : l'eau et les océans». In *Planetoscope*. En ligne. < <http://www.planetoscope.com/environnement/eau-oceans> >. Consulté le 1<sup>er</sup> août 2012.
- <sup>3</sup> Santé Canada. 2008. «Rapport d'évaluation du naphtalène (91-20-3)». En ligne. 40 p. <[https://www.ec.gc.ca/ese-ees/F212515C-94E5-47BE-8618-1EA9F3818A9B/batch1\\_91-20-3\\_fr.pdf](https://www.ec.gc.ca/ese-ees/F212515C-94E5-47BE-8618-1EA9F3818A9B/batch1_91-20-3_fr.pdf)>. Consulté le 1<sup>er</sup> août 2012.
- <sup>4</sup> Environnement Canada. 2009, 22 avril. «Guide de déclaration des installations de préservations du bois à l'INRP». In *Déclaration à l'INRP*. En ligne. <<http://www.ec.gc.ca/inrp-npri/default.asp?lang=Fr&n=29B3E589-1&offset=7&toc=show>>. Consulté le 1<sup>er</sup> août 2012.
- <sup>5</sup> Meite, Kalidjata et Bonnemains, Jacky. «Traitement des déchets dangereux : la créosote et les bois traités à la créosotes». En ligne. 415 p. < [http://www.robindesbois.org/dossiers/traverses\\_annexes.pdf](http://www.robindesbois.org/dossiers/traverses_annexes.pdf) >. Consulté le 1<sup>er</sup> août 2012.
- <sup>6</sup> Chavez-Dozal, Alba et Nishiguchi, Michele K. 2011. «Variation in biofilm formation among symbiotic and free-living strains of *Vibrio fischeri*». *Journal of Basic Microbiology*. En ligne. Vol. 51. , p. 452-458. Las Cruces (Nouveau Mexique) : New Mexico State University. < <http://biology-web.nmsu.edu/nish/files/journals/Chavez&Nishiguchi2011.pdf> >. Consulté le 2 août 2012.
- <sup>7</sup> Dunlap, Paul V. 1999. «Quorum Regulation of Luminescence in *Vibrio fischeri*». *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. En ligne. Vol. 1, no. 1. p. 5-12. Baltimore (Maryland): Horizon Scientific Press. < <http://www.horizonpress.com/jmmb/v1/v1n1/03.pdf> >. Consulté le 10 octobre 2012.
- <sup>8</sup> University of California Santa Barbara. «The Color-changing Squid». In *The Bioluminescence Web Page*. En ligne. <<http://www.lifesci.ucsb.edu/~biolum/organism/squid.html> >. Consulté le 19 décembre 2012.
- <sup>9</sup> Chavez-Dozal, Alba et Nishiguchi, Michele K. 2011. «Variation in biofilm formation among symbiotic and free-living strains of *Vibrio fischeri*». *Journal of Basic Microbiology*. En ligne. Vol. 51. , p. 452-458. Las Cruces (Nouveau Mexique) : New Mexico State University. < <http://biology-web.nmsu.edu/nish/files/journals/Chavez&Nishiguchi2011.pdf> >. Consulté le 2 août 2012.
- <sup>10</sup> Environnement Canada. 1992. «Série de la protection de l'environnement : méthode d'essai biologique essai de toxicité sur la bactérie luminescente». En ligne. 79 p. < <http://www.ec.gc.ca/Publications/7FB204F9-07E7-454E-AFCF-8BF8AB3A95CB%5C24F.pdf> >. Consulté le 10 septembre 2012.
- <sup>11</sup> Parvez, Shahid, Venkataraman, Chandra et Mukherji, Suparna. 2008. «Toxicity assessment of organic pollutants: Reliability of bioluminescence inhibition assay and univariate QSAR models using freshly prepared *Vibrio fischeri*». *Toxicology In Vitro*. En ligne. Vol. 22, no. 7(octobre). < <http://dSPACE.library.iitb.ac.in/jspui/bitstream/10054/1405/1/5176.pdf> >. Consulté le 17 juillet 2012.

---

<sup>12</sup> Chavez-Dozal, Alba et Nishiguchi, Michele K. 2011. «Variation in biofilm formation among symbiotic and free-living strains of *Vibrio fischeri*». *Journal of Basic Microbiology*. En ligne. Vol. 51. , p. 452-458. Las Cruces (Nouveau Mexique) : New Mexico State University. < <http://biology-web.nmsu.edu/nish/files/journals/Chavez&Nishiguchi2011.pdf> >. Consulté le 2 août 2012.

<sup>13</sup> Branger, Alain, Richer, Marie-Madeleine et Roustel, Sébastien. 2007. «Microbiochimie et alimentation : 1.6.1. Chez *Vibrio fischeri*. 343 p. Dijon : Éditions Éducagri.

<sup>14</sup> Idem

<sup>15</sup> Idem

<sup>16</sup> Pelmont, Jean. 2005. «Biodégradations et métabolismes : les bactéries pour les technologies de l'environnement». 798 p. EDP Sciences.

<sup>17</sup> Idem

<sup>18</sup> Idem

<sup>19</sup> Dunlap, Paul V. 1999. «Quorum Regulation of Luminescence in *Vibrio fischeri*». *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. En ligne. Vol. 1, no. 1. p. 5-12. Baltimore (Maryland): Horizon Scientific Press.  
< <http://www.horizonpress.com/jmmb/v1/v1n1/03.pdf> >. Consulté le 10 octobre 2012.

<sup>20</sup> Sarter, S, Metayer, I. et Zakhia, N. 2008. «Effects of mycotoxins, aflatoxin B1 and deoxynivalenol, on the bioluminescence of *Vibrio fischeri*». *World Mycotoxin Journal*. En ligne. Vol. 1, no. 2. p. 189-193. Wageningen Academic Publishers.  
< [http://130.88.242.202/medicine/Aspergillus/Dropbox/Aspergillus\\_Website/aspergillus-web/articlesoverflow/world%20mycotoxin%20journal/Sarter2008.pdf](http://130.88.242.202/medicine/Aspergillus/Dropbox/Aspergillus_Website/aspergillus-web/articlesoverflow/world%20mycotoxin%20journal/Sarter2008.pdf) >. Consulté le 10 octobre 2012.