

Centre des Sciences de l'Environnement
Université de Metz

RAPPORT FINAL
du contrat d'étude réalisé pour le compte de
L'AGENCE DE L'EAU RHIN-MEUSE

**ETUDE DE LA BIODISPONIBILITE DE
TROIS MICROPOLLUANTS METALLIQUES
(Chrome, Cadmium et Plomb)
DANS LES SEDIMENTS DE 3 RIVIERES
(l'Orne, la Fensch et la Bièvre)**

Etude dirigée par
Jean-François FERARD

avec la collaboration de
Vincent BEAUNOIR
Marie-Laure BOUCHE
Anne-Marie VEBER

Avril 1996

INTRODUCTION et OBJECTIFS DU TRAVAIL

L'étude des sédiments est une préoccupation relativement récente. Les premières publications datent des années 70 mais la majorité des écrits ont été publiés depuis 1988. Cet intérêt pour les sédiments correspond à la prise de conscience que ces derniers constituent un compartiment-piège pour toute une série de polluants qui peuvent y persister alors que les sources de contamination ont depuis longtemps disparu. La plupart des produits chimiques d'origine anthropogène (pesticides, hydrocarbures polyaromatiques et chlorés) ont tendance à s'adsorber sur les sédiments et les matières organiques et se concentrent finalement dans les sédiments. Il en est de même pour les métaux lourds.

La fixation préférentielle de ces contaminants sur les sédiments aboutit à des niveaux de concentration qui permettent une détection plus fiable que dans l'eau. En outre, les sédiments ont un tel pouvoir d'accumulation et de concentration qu'ils peuvent garder les traces d'une pollution hydrique ancienne et représenter un risque même quand la pollution circulante a été maîtrisée. En effet, la remise en circulation ou le recyclage de ces composés peut s'effectuer sous l'action de divers agents chimiques et biologiques.

Les sédiments font partie intégrante de l'écosystème aquatique ; ils jouent un rôle très important dans l'équilibre de celui-ci. En relation constante avec la colonne d'eau, ils échangent en permanence de nombreuses substances organiques et inorganiques. La contamination des sédiments peut entraîner de nombreux effets néfastes pour l'écosystème, évidents pour certains, plus insidieux pour d'autres. Le risque toxique paraît en effet évident pour les organismes qui vivent dans les sédiments, mais également pour ceux qui ingèrent des particules sédimentaires. Il est donc potentiel pour la colonne d'eau, le sol ou les nappes profondes car les transformations que les polluants subissent au sein même du sédiment aboutissent à des modifications de leur disponibilité vis à vis de ces différents compartiments.

Les effets des métaux sont divers : ils peuvent entraîner des anomalies morphologiques, réduire la croissance, augmenter la mortalité, avoir des effets mutagènes, toutes choses qui représentent une menace pour l'écosystème. Les effets des métaux sur les organismes aquatiques sont déterminés par la concentration des formes biodisponibles (c'est-à-dire assimilables) des métaux, et non par les concentrations totales présentes dans le milieu.

L'objectif de cette étude, effectuée au Centre des Sciences de l'Environnement sous la responsabilité de Jean-François FERARD, est d'évaluer l'écotoxicité des sédiments de trois sites du bassin Rhin-Meuse ceci à l'aide d'un certain nombre d'outils innovants.

La mise en relation des données obtenues avec des paramètres physico-chimiques pertinents mesurés sur la colonne d'eau, le sédiment, et l'eau interstitielle devrait permettre de mieux décrire la biodisponibilité de trois micropolluants métalliques : le cadmium, le chrome et le plomb.

Cette étude a été conduite sur 3 sédiments de 3 cours d'eaux mosellans :

- l'Orne à Richemont,
- la Fensch à Florange,
- la Bièvre aux environs de Sarrebourg.

Cette étude s'est déroulée en deux temps:

- a) une étude préliminaire qui a fait l'objet du DEA de Mlle M.L. BOUCHE (1994)
- b) une étude définitive qui a été décrite dans le DEA de M. V. BEAUNOIR (1995), et qui a été réalisée au cours de trois campagnes successives, effectuées à un mois d'intervalle (les 21 Avril, 19 Mai, 21 Juin 1996), et articulées chacune autour de quatre outils d'investigation :

- 1- Exposition de daphnies sur le terrain pendant 48 heures en utilisant des chambres sédimentaires, suivie d'un test de toxicité différée et de récupération des capacités de reproduction et de dosages du cadmium, du chrome et du plomb dans ces organismes.
- 2- Prélèvements d'Oligochètes pour étudier leur présence/absence et la bioaccumulation du plomb, du cadmium et du chrome dans ces organismes benthiques (étude faite en collaboration avec le CEMAGREF).
- 3- Etude au laboratoire de la toxicité de l'eau interstitielle des sédiments de ces trois sites par une série de tests d'écotoxicité.

Analyses physico-chimiques de la colonne d'eau, du sédiment total et de l'eau interstitielle sur chacun des trois sites (analyses réalisées aux bons soins de l'Agence Rhin-Meuse).

CHAPITRE I : PRESENTATION DES OUTILS

A l'occasion de cette étude, divers outils méthodologiques ont été développés pour étudier d'une part la toxicité des sédiments à l'interface et d'autre part la bioaccumulation de trois métaux (cadmium, chrome, plomb).

Certains outils sont classiquement utilisés en écotoxicologie sédimentaire et ne méritent guère d'être ici beaucoup détaillés. Il s'agira, en particulier, de l'étude au laboratoire de la toxicité des eaux interstitielles à l'aide d'une batterie de tests (cf. § I.3) comprenant divers tests aigus et chroniques, parmi lesquels figure, toutefois, le test chronique sur *Ceriodaphnia dubia* (7 jours), dont il faut noter qu'il reste encore trop peu utilisé en France dans les études de ce type.

D'autres outils méritent d'être davantage développés au regard de leur caractère innovant. Ils feront l'objet des deux paragraphes qui suivent.

I.1. - Utilisation des chambres sédimentaires.

Ces chambres ont été décrites par SASSON-BRICKSON et BURTON (1991) et utilisées par ces mêmes auteurs pour étudier la toxicité des sédiments à l'interface eau-sédiment vis-à-vis de la survie de *Ceriodaphnia dubia* après 48 heures d'exposition in situ. La figure 1 représente une telle chambre à l'échelle 1/1. Une chambre se compose d'un cylindre aux extrémités duquel se vissent (i) la partie inférieure équipée d'un tamis en polyamide de maille de 150 µm, destiné à reposer sur le sédiment, et (ii) la partie supérieure comprenant deux tuyaux permettant le contact avec l'eau de la rivière, à l'extrémité desquels sont fixés des tamis de même maille que précédemment afin d'éviter la fuite des organismes exposés.

Ces chambres offrent, en réalité, diverses possibilités d'utilisation, qui n'avaient pas été explorées par SASSON-BRICKSON et BURTON (1991). Dans le but de démontrer tout l'intérêt de ces chambres, nous avons donc élargi le cadre méthodologique où s'étaient situés les premiers utilisateurs de ces chambres, à savoir la seule étude de la toxicité aiguë à l'interface eau-sédiment.

C'est ainsi que cette étude a innové sur trois aspects :

- étude de divers scénarios d'exposition,

- prise en compte de la toxicité différée et de la récupération des capacités de reproduction,
- étude de la bioaccumulation.

Figure 1: Schéma d'une chambre d'exposition sédimentaire (d'après SASSON-BRICKSON et BURTON, 1991).

a) Trois scénarios d'exposition ont été étudiés comme l'illustre la figure 2. Le premier scénario (noté Dm sur la figure 2) consiste à utiliser les chambres comme l'avait proposé SASSON-BRICKSON et BURTON (1991) : les organismes y sont en contact à la fois avec la phase sédimentaire et la phase aqueuse. Dans le second scénario (noté T2 sur la figure 2), les organismes ne sont en contact qu'avec la phase aqueuse; il s'agit là d'un témoin positif, susceptible de mettre en évidence une éventuelle différence avec le premier scénario. Enfin le troisième scénario (noté T1 sur la figure 2) est un simple témoin négatif où les organismes sont emprisonnés dans une chambre entièrement close et contenant simplement le milieu de culture (milieu M4) utilisé pour cultiver ces organismes au laboratoire.

Figure 2: Schéma des différents scénarios d'exposition étudiés.

b) La toxicité différée est prise en compte en récupérant les organismes vivants à l'issue des 48 heures d'exposition. Une fois ramenées au laboratoire, la survie et la reproduction des daphnies provenant d'une même chambre sédimentaire sont suivies pendant 15 jours. Cette durée d'observation tient compte de l'âge des organismes au début de l'expérience et du temps d'exposition sur le terrain.

Les conditions de ce test de toxicité différée et de récupération des capacités de reproduction sont résumées sur la figure 3 ci-dessous :

Figure 3 : Résumé des conditions du test de toxicité différée

c) L'étude de la bioaccumulation a été également envisagée selon les trois scénarios précédemment définis. Cette étude, qui ne peut se faire que sur les organismes survivants à l'issue de l'exposition sur le terrain, nécessite simplement de réserver un certain nombre de chambres à cet usage, ce qui n'empêche nullement de prendre en compte les résultats de survie de ces chambres dans l'évaluation de la toxicité aiguë selon les trois scénarios prévus.

I.1.1.- Réalisation des chambres sédimentaires

A l'aide d'une chambre sédimentaire obligeamment prêtée par le professeur BURTON, nous avons fait réaliser, par la société SOLOPLAST, 180 chambres sur le même modèle, et ceci en altuglass. Pour l'étude préliminaire (cf. § I.1.2), ces chambres ont été équipées d'un tamis de maille égale à 150 μm . Ensuite, pour l'étude définitive, un tamis de maille égale à 400 μm a été employé.

I.1.2. - Les principaux enseignements de l'étude préliminaire

Une étude préliminaire, qui comprenait deux campagnes et qui a fait l'objet du D.E.A. de Mlle M.L. BOUCHE (Centre des Sciences de l'Environnement, Metz), a été conduite durant l'été 1994, très exactement le 5 Juillet et le 19 Juillet 1994. Cette étude a permis d'aboutir aux conclusions suivantes :

a) L'utilisation et surtout la manipulation des cériodaphnies sur le terrain est excessivement délicate du fait de la taille réduite des organismes manipulés. Il s'agit en effet d'introduire cinq cériodaphnies (*C. dubia*) par chambre et surtout de pouvoir les dénombrer et de les récupérer pour les études de toxicité différée et de bioaccumulation à l'issue des 48 heures d'exposition.

Par contre, la manipulation de daphnies (*Daphnia magna*) âgées de quelques jours est beaucoup plus facile. Ce sont donc ces derniers organismes qui ont été retenus pour l'étude définitive. Le choix de daphnies âgées de 4 à 5 jours est dicté par deux considérations. D'une part la nécessité d'utiliser des organismes de taille suffisante pour être manipulé facilement et, d'autre part le recours à des organismes susceptibles de pondre rapidement au sein du test de toxicité différée.

b) Le dispositif employé lors de cette étude préliminaire (cf. figure 4) et qui s'inspirait de celui proposé par SASSON-BRICKSON et BURTON (1991) n'a pas toujours permis d'obtenir le résultat escompté, à savoir le contact de la chambre à la surface du sédiment. C'est ainsi que, selon la structure du sédiment et la force du courant, les chambres ont tendance soit à s'enfoncer, soit à ne pas rester en place pour flotter au fil de l'eau ou remonter à la surface.

Figure 4: Dispositif utilisé par BOUCHE (1994) au cours de l'étude préliminaire. Il a donc été décidé de recourir à une structure plus compacte et susceptible de s'adapter à une grande variété de support (cf. figure 5), tout en assurant que l'ensemble des chambres restera en position verticale. Ce dispositif se compose d'un cadre en aluminium (longueur 1m, largeur 50cm) à l'intérieur duquel coulissent une série de plaques en PVC qui comporte des demi-cercles évidés. Par ailleurs, des « plaques-équerres » coulissantes sont disposées latéralement pour permettre le réglage de la hauteur en fonction de la consistance plus ou moins meuble du sédiment.

Figure 5: Schéma du dispositif utilisé lors de l'étude définitive

c) Le nombre de 5 daphnies par chambre (déjà utilisé par SASSON-BRICKSON et BURTON, 1991) est un nombre pratique qui permet de bien dénombrer les daphnies sur le terrain. Toutefois, il semble possible d'augmenter ce nombre jusqu'à 60 daphnies par chambre, compte tenu d'une part du volume de la chambre et d'autre part de la densité de 2 cm³ par daphnie, définie par la norme ISO (1995).

d) Le poids sec de 5 daphnies âgées de quelques jours (5 à 7 jours suivi de 2 jours d'exposition sur le terrain) est insuffisant pour faire une mesure de poids

valable (nécessaire à la quantification de la bioaccumulation). Il est donc nécessaire de rassembler les daphnies provenant de diverses chambres pour avoir un poids suffisant. Un nombre de huit chambres, soit en principe 40 daphnies susceptibles d'être retrouvées vivantes et donc d'être pesées, semble, en principe, nécessaire et suffisant pour l'étude de la bioaccumulation, à condition, toutefois, que la plus grande partie de ces 40 daphnies soit retrouvée vivante à l'issue des 48 heures d'exposition.

Le nombre de 45 chambres par site, et donc par plaque (cf. figure 5), permet d'attribuer 15 chambres à chaque scénario, pour étudier dans un premier temps la toxicité aiguë. Ensuite, parmi ces 15 chambres, 8 sont réservées à l'étude de la bioaccumulation et 7 à l'étude de la toxicité différée.

e) Le placement sur le terrain des 3 plaques sur les 3 sites de l'Orne (à Richemont), de la Fensch (à Florange) et de la Bièvre (à Sarrebourg) au cours de la même journée implique quelques pratiques permettant de gagner du temps:

- préparation à l'avance de lots de 5 daphnies dans de petits récipients,
- dénombrement des organismes vivants au laboratoire et non pas sur le terrain.

f) Les données de toxicité aiguë observées dans les diverses chambres sédimentaires peuvent être exploitées à l'aide du test du rapport de vraisemblance (ou test G) en utilisant une distribution binomiale pour le comptage des résultats positifs (MAUL, communication personnelle).

I.2. - Etude de la bioaccumulation à l'aide des peuplements d'Oligochètes

Les Oligochètes sont des invertébrés bien représentés dans le benthos des eaux douces. En effet, selon LAFONT (1983), leur biomasse y est suffisamment importante pour permettre des travaux d'analyses performants.

Ils peuvent vivre dans des sédiments à forte teneur en métaux. Par exemple, leur résistance à de fortes teneurs en zinc et en plomb a été montrée par WHITLEY (1968).

Du fait de leur mode de vie, les Oligochètes présentent des capacités accumulatrices vis-à-vis des métaux qui sont supérieures aux autres groupes du benthos. En effet, ils interagissent continuellement avec les eaux interstitielles. En outre, la fraction organique détritique du sédiment associée à la flore bactérienne benthique constitue une source de nourriture essentielle pour les Oligochètes. Divers auteurs en concluent qu'ils constituent un matériel de choix pour les études de bioaccumulation et de bioamplification des polluants en eaux douces (CHAPMAN, 1980 ; GARY et PHIPPS, 1993 ; ANKLEY et al., 1994).

En France, bien que les Oligochètes soient le support d'un indice biotique développé par LAFONT (1989), il n'y a guère de travaux intégrant à la fois la notion de diversité taxonomique et celle de bioaccumulation des peuplements d'Oligochètes. C'est donc cette problématique que nous avons voulu développée dans ce travail.

Toutefois, compte tenu de la difficulté présentée par la systématique des Oligochètes, nous nous sommes seulement intéressés à trois familles (LAFONT, communication personnelle):

- les Tubificidés sans soies capillaires,
- les Tubificidés avec soies capillaires,
- les Naididés.

I.2.1. - Prélèvement et préservation des échantillons

Pour effectuer cette étude, deux litres de sédiment ont été prélevés à proximité du lieu où sont déposés les chambres sédimentaires. Les échantillons ont été pris dans l'horizon superficiel du sédiment (soit environ 10 cm). Ils ont été stockés dans des récipients en verre de 1 litre et fixés au formaldéhyde de façon à obtenir une concentration de 6% de formaldéhyde dans les bocaux de récupération et stockés pour analyse.

I.2.2. - Analyse taxonomique

Les prélèvements ont été d'abord tamisés au laboratoire à 500 μm . Dans le cas des sables, une lévigation avant le tamisage permet de séparer au cours de lavages successifs la fraction sableuse de la fraction organique. Les Oligochètes extraits des sédiments ont été ensuite rincés à l'eau distillée puis séparés par famille sous une loupe binoculaire dans un montage à l'eau. Seuls les animaux non endommagés ont été retenus pour les études de bioaccumulation, alors que tous sont comptabilisés pour déterminer la fréquence de chacun de ces groupes.

I.2.3. - Déterminations analytiques du cadmium, du plomb et du chrome

Les organismes ont été déshydratés dans une étuve à 60 °C pendant 36 h de façon à déterminer le poids de matière sèche, puis ils ont été minéralisés par ajout d'1 ml d'acide nitrique suprapur et passage à l'étuve à 60 °C pendant 24 h, en tube clos, selon une technique décrite par FERARD et MUGEL (1978).. Les analyses ont ensuite été réalisées en spectrophométrie d'absorption atomique avec four.

Il faut noter que la même technique a été utilisée pour le dosage des daphnies exposées pendant 48 heures dans les chambres sédimentaires.

I.3. - Etude de l'écotoxicité des eaux interstitielles

L'eau interstitielle constitue la phase liquide du sédiment et elle occupe les espaces libres entre les particules sédimentaires. Elle représente l'une des fractions les plus utilisées pour tester l'écotoxicité des sédiments.

I.3.1. - Pourquoi tester l'eau interstitielle?

Par rapport au sédiment entier, l'utilisation de l'eau interstitielle offre des avantages techniques : les dilutions sont plus faciles, les tests d'écotoxicité aquatique sont bien standardisés et faciles à réaliser.

De nombreuses études ont montré que la seule eau interstitielle pouvait être responsable de la toxicité du sédiment vis-à-vis d'organismes benthiques (SWARTZ et al., 1985 ; KEMP et SWARTZ, 1988 ; GREEN et al., 1993). Toutefois, cette hypothèse présente quelques limites relatives (i) aux organismes qui ingèrent de grandes quantités de sédiment et de détritiques et (ii) aux substances caractérisées par un Kow élevé.

En outre, SASSON-BRICKSON et BURTON (1991) ont comparé des toxicités aiguës observées in situ, avec les chambres sédimentaires, et celles de l'eau interstitielle et de l'élutriat : Ils ont montré que la toxicité de l'élutriat était la fraction la moins toxique, et surtout que les toxicités aiguës de l'eau interstitielle et celles observées in situ n'étaient pas significativement différentes.

Enfin, SCUBAUER-BERIGAN et ANKLEY (1991) ont conclu que l'eau interstitielle semble être la fraction qui reflète le mieux la toxicité du sédiment. Les tests sur eau interstitielle apparaissent donc comme une alternative intéressante aux tests sur sédiment entier, plus délicats à mener.

I.3.2. - Préparation de l'eau interstitielle

Plusieurs méthodes ont été proposées telles que la centrifugation, la filtration, l'aspiration, la pression ou encore le prélèvement in situ par un système de dialyse. Mise à part cette dernière qui est toutefois plus difficile à mettre en oeuvre et encore peu utilisée, aucune méthode n'est vraiment idéale car elles affectent la composition de l'eau interstitielle.

Cependant, BURTON (1994) rapporte que la centrifugation est la technique qui altérerait le moins la composition de l'eau interstitielle. En effet, la filtration du surnageant entraîne une adsorption des toxiques sur le filtre et/ou une rétention de particules en suspension (SASSON-BRICKSON et BURTON, 1991 ; SCHUBAUER-BERIGAN et ANKLEY, 1991).

Les conditions de centrifugation (vitesse, temps) sont très variables d'une méthode à l'autre : 1000 g pendant 20 minutes (LANGEVIN et al., 1992) ; 2500 g pendant 30 minutes (SCHUBAUER-BERIGAN et ANKLEY, 1991) ; 3560 g pendant 10 minutes (GREEN et al., 1993) ; 10000g pendant 30 minutes (ANKLEY et al., 1994) ; 17500g pendant 15 minutes (SKALSKI, 1991).

Les résultats de SCHUBAUER-BERIGAN et ANKLEY (1991) montrent qu'il est préférable d'augmenter la vitesse de centrifugation à 10000 g plutôt que d'opérer à une vitesse plus faible puis de filtrer. En effet, à 10000 g, la centrifugation élimine suffisamment de particules en suspension dans l'eau interstitielle sans en diminuer la toxicité.

Compte tenu que le comité ad-hoc de l'ASTM (BURTON, communication personnelle) recommande la centrifugation à 10000 g pendant un temps variant de 10 à 30 minutes, nous avons choisi d'utiliser la centrifugation à 10000 g pendant 15 minutes à 4°C.

Dans ces conditions, l'étude préliminaire menée par BOUCHE (1994) a permis de montrer que les volumes d'eau interstitielle récupérés par cette méthode sont de l'ordre de 20 à 30 % de ceux des sédiments.

I.3.3. - Stockage de l'eau interstitielle

Un inconvénient majeur de l'eau interstitielle, c'est son instabilité physico-chimique. L'ASTM rapporte les travaux de HULBERT et BRINDLER (1975) et ceux de WATSON et al. (1985) qui révèlent que la composition de l'eau interstitielle change significativement après 24 heures de stockage, même si elle est conservée à une température proche de celle rencontrée in situ. Par ailleurs, LANDRUM et al. (1987) ont observé la coagulation et la précipitation des matières humiques quand l'eau interstitielle était conservée à 4°C pendant plus d'une semaine.

Pour cette étude, les eaux interstitielles sont recueillies dans des flacons en matière plastique et stockées à 4°C pendant toute la durée des tests, soit au maximum pendant 7 jours.

I.3.4. - La batterie de tests réalisés sur l'eau interstitielle

Cette batterie comporte deux tests de toxicité aiguë et deux tests de toxicité chronique :

- le test Microtox (réalisé selon la norme AFNOR, 1991) ; les temps d'exposition sont de 15 et 30 minutes,
- le test Daphnie aigu (clone 5) réalisé selon la norme ISO (1992) ; les temps d'exposition sont de 24 et 48 heures,
- le test algue en microplaque (utilisant *Raphidocelis subcapitata*) réalisé selon la norme ISO 8692 (1991) et pendant une durée de 72 heures.
- le test *Ceriodaphnia dubia* réalisé selon la méthode de FERRARI (1992) modifiée (utilisation d'eau Vittel à la place de Volvic).

Il faut noter que le test Microtox a été réalisé chaque jour à 5 reprises de façon à mieux mettre en évidence les variations de toxicité au cours du temps.

I.4. - Analyse physico-chimique des sédiments

A la suite des conclusions de l'atelier sur " l'évaluation écotoxicologique des sédiments " qui s'était tenu à Renesse (Pays-Bas) du 8 au 10 Novembre 1993, un certain nombre d'analyses, considérées comme indispensables pour l'objectif de cette étude, ont été réalisés à l'initiative de l'Agence Rhin-Meuse.

a) Pour les eaux de surface : pH, Matière en suspension totales (MES), Carbone organique dissous (COD), Carbone organique total (COT), Dureté totale (TH).

b) Pour les eaux interstitielles : pH, Ammonium (NH_4^+), Ammoniac non ionisé (NH_3), Dureté totale (TH), Calcium (Ca), Magnésium (Mg), Matière en suspension totales (MES), Carbone organique total (COT), Carbone organique dissous (COD), Chrome total (Cr), Cadmium total (Cd), Plomb total (Pb).

c) Pour les sédiments entiers : Carbone organique total (COT), Fer total (Fe), Manganèse total (Mn), Matières sèches

d) Pour la fraction inférieure à 20 micromètres : Chrome total (Cr), Plomb total (Pb), Cadmium total (Cd), Soufre total (S).

Malheureusement, au cours de cette étude, les analyses de certains échantillons de sédiment et d'eau n'ont pu être réalisées (perte des échantillons entre l'agence et le laboratoire chargé des analyses), ce qui limite d'autant les résultats attendus de cette étude.

II. SYNTHÈSE DE LA PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

II.1. - Etude écotoxicologique des sédiments :

Pendant longtemps, les seules études sur les sédiments se sont limitées à des analyses purement physico-chimiques, mais dès les premiers travaux d'écotoxicologie, il est apparu que dans beaucoup de cas, la majorité des contaminants associés aux sédiments n'étaient pas biodisponibles et que le degré de disponibilité ne pouvait pas être prévu par des mesures chimiques.

L'analyse chimique quantifie le degré de contamination, mais ne fournit pas d'information sur les interactions (additivité, antagonisme et synergie), sur la spéciation et donc sur la fraction biodisponible et les effets biologiques du toxique présent. Il est désormais reconnu que les seules analyses chimiques du sédiment ne suffisent pas à évaluer son écotoxicité. Il faut y associer des tests biologiques de toxicité qui apprécient la biodisponibilité du ou des toxiques au sein du sédiment, par la manifestation ou non d'effets néfastes sur l'organisme testé.

Toutefois, le sédiment est caractérisé par une myriade de micro-environnements, de gradients d'oxydo-réduction et d'autres processus physico-chimiques et biologiques. Il apparaît illusoire de vouloir maintenir l'intégrité des sédiments au cours de toutes les manipulations qui séparent le prélèvement du test lui-même. Ces manipulations auront un impact significatif sur la biodisponibilité des contaminants, changeant la forme chimique de l'ammoniac par exemple (toxique intrinsèque du sédiment), mais aussi de la majorité des cations et anions, et celle des composés importants du sédiment entrant en jeu dans la répartition de ces toxiques, comme le carbone organique ou les oxyhydroxydes (BURTON et al., 1993).

Actuellement il n'existe pas de méthode de prélèvement parfaite qui puisse préserver ces micro-environnements (BURTON et al., 1993). Comme le regrettent BURTON et MACPHERSON (1994): "Malheureusement, quand nous prélevons et testons le sédiment, nous avons conscience qu'il s'opère une multitude d'altérations au sein du sédiment, mais nous n'avons que peu de données pour les quantifier. Ainsi on ne peut prédire si ces effets auront une conséquence significative sur les résultats de l'étude". Ce degré d'incertitude important relatif à l'évaluation de l'écotoxicité des sédiments s'ajoute à ceux qui interviennent lors de toute extrapolation des résultats de tests au laboratoire aux conditions naturelles.

Pour diminuer ces incertitudes, on est en droit de préférer aux tests de laboratoire, les études sur le terrain, mais ce que ces études gagnent en représentativité, elles le perdent en interprétabilité, puisque la multitude des paramètres à considérer fait que la relation cause à effet est alors plus difficile à établir (BURTON, 1991). Les études in situ, pourtant plus réalistes, souffrent en outre de grandes variabilités dans le temps et entre les répliqués (BURTON, 1991; BURTON et al, 1993). De plus, il est très difficile de trouver un site témoin, notamment en ce qui concerne les sédiments. Récemment quelques études in situ se sont développées avec SASSON-BRICKSON et BURTON (1991) et SKALSKI (1991).

Une approche plus ancienne visant à évaluer la distribution des métaux au sein des sédiments est l'extraction chimique séquentielle. Réalisée d'abord avec un acide faible, elle sera partielle et ne sera représentative que des métaux facilement disponibles. A l'aide d'agents extractants de force croissante, elle sépare les métaux associés aux différentes phases du sédiment (LUOMA, 1989 ; MACKIE, 1989 ; ALLEN, 1993). Plusieurs critiques ont été émises sur cette approche :

- a) Aucun procédé d'extraction n'est vraiment spécifique d'un constituant du sédiment.
- b) De même, aucun procédé ne peut prédire correctement la fraction biodisponible des métaux à partir des sédiments. En effet, aucun ne prend en compte (i) les réactions qui peuvent avoir lieu en solution, après l'extraction des métaux, comme la complexation (qui peut modifier la disponibilité des métaux) (ii) les interactions entre les différents cations au niveau des sites d'absorption de l'organisme. De plus, "vouloir imiter les processus de digestion par des extractions chimiques est un défi formidable" (LUOMA, 1989).

En dépit de cela, HARE (1992) admet que de tels procédés permettent toutefois de séparer les métaux qui sont fortement liés aux particules sédimentaires ingérées de ceux qui sont plus facilement disponibles pour les sites d'absorption du tube digestif. Il faut aussi remarquer que l'extraction séquentielle peut causer des changements de spéciation des espèces et peut mener à la formation d'espèces métalliques qui n'étaient pas présentes à l'origine (JENNE et al., 1984).

L'étude de ARJONILLA et al. (1994) montre, quant à elle, qu'aucune des 7 méthodes d'extraction choisies parmi celles les plus décrites dans la littérature, ne donne une mesure correcte de la biodisponibilité des métaux lourds vis-à-vis de *Cerastoderma glaucum* (bivalve).

Enfin, l'extraction des métaux à partir des sédiments à l'aide d'acides faibles peut améliorer les corrélations avec la biodisponibilité mais ne peut prédire précisément à elle seule cette biodisponibilité (LUOMA, 1989).

Ces approches, qu'elles soient chimique, biologique, de terrain, ont toutes des avantages mais surtout des limites à leur utilisation individuelle; l'association de ces trois ensembles de mesure en une seule approche caractérise la "Triade" de CHAPMAN (1989). Cette méthode préconisée qui est déjà appliquée aux Etats-Unis, allie en effet des mesures chimiques du sédiment, qui évaluent son degré de contamination, des bioessais, qui donnent une indication de la toxicité de ce sédiment et des mesures d'indices biotiques, qui évaluent l'altération in situ (CHAPMAN, 1989; LEE ET JONES, 1992).

Ce type d'approche paraît aujourd'hui très prometteuse si l'on veut évaluer l'écotoxicité d'un sédiment le plus justement possible. Il est en effet nécessaire d'aborder ce problème de contamination d'une façon globale et de ne pas se limiter à des hypothèses trop réductionnistes, comme celles qui consistent à normaliser les concentrations métalliques du sédiment par les teneurs sédimentaires en carbone organique ou en fer pour déterminer la fraction biodisponible de ces métaux.

En effet, les processus mis en jeu dans la répartition des micropolluants métalliques dans les sédiments et leur biodisponibilité sont complexes. Ainsi, BURTON (1991) pense qu'utiliser le carbone organique total pour déterminer le potentiel d'adsorption des métaux et d'en normaliser les concentrations métalliques sédimentaires, est inapproprié parce que les silicates d'aluminium ou les carbonates qui recouvrent les particules de carbone organique peuvent isoler des portions de celles-ci de la phase aqueuse, les rendant ainsi non réactives.

II.2. - Sélection des descripteurs physico-chimiques.

La dynamique des métaux entre le sédiment, l'eau interstitielle et l'eau de la colonne d'eau est particulièrement complexe. L'évaluation de la contamination d'un système tel que le sédiment doit pouvoir prédire le devenir des polluants et les effets biologiques potentiels de ceux-ci. La clé de ces recherches est la compréhension de la spéciation chimique des contaminants présents (ALLEN, 1993). La distribution des éléments dans les différentes phases gazeuse, aqueuse, solide et/ou biologique dépend des propriétés chimiques de ces éléments, des espèces aqueuses présentes, mais aussi des caractéristiques chimiques et biologiques du système, des variations de ces caractéristiques dans le temps et

l'espace, de l'énergie disponible pour mener à bien ces réactions de spéciation (JENNE et al., 1984).

Le mouvement des métaux, leur disponibilité et leur toxicité éventuelle, sont influencés par de nombreuses réactions physico-chimiques telles que la complexation, la précipitation et l'adsorption et par d'autres facteurs tels que la taille des particules sédimentaires, la température, le pH, la dureté calcique et magnésienne, la présence de ligands inorganiques.

Les communautés bactériennes du sédiment jouent également un rôle important puisqu'elles peuvent métaboliser et modifier la valence des métaux par des réactions d'oxydo-réduction et par conséquent modifier le devenir et la toxicité de ces contaminants. Le rôle des communautés benthiques est tout aussi important.

Outre les micropolluants apportés par l'homme, les sédiments peuvent contenir d'autres substances d'origine naturelle cette fois, également très toxiques pour les organismes aquatiques, et dont il est nécessaire de tenir compte dans l'évaluation de l'écotoxicité des sédiments. Ces toxiques sont l'ammoniac et le sulfure d'hydrogène.

II.2.1. La spéciation:

Les métaux se répartissent dans les sédiments entre de nombreuses formes, n'ayant pas la même toxicité. Dans l'eau interstitielle, on pourra les trouver sous la forme d'ions libres solubles, de complexes solubles organiques (avec les acides humiques de bas poids moléculaire) et inorganiques. Dans la phase solide, ils se présenteront sous la forme d'ions facilement échangeables, de précipités d'hydroxydes, de carbonates, de silicates ou de phosphates de métaux, de précipités d'oxyhydroxydes de fer et/ou de manganèse, de complexes organiques insolubles, de sulfures insolubles de métaux (BURTON, 1991; ALLEN, 1993).

Dans certains sédiments, l'adsorption des métaux est gouvernée par les oxydes amorphes de fer et de manganèse et le carbone organique particulaire réactif. Les oxydes amorphes de silicium et d'aluminium, ainsi que l'argile et la zéolithe, sont des adsorbants particulièrement importants pour les métaux anioniques (BURTON, 1991).

Dans les sédiments où les conditions sont plus réductrices (anoxie), les métaux vont surtout se lier aux sulfures.

Les oxydes de manganèse sont très réactifs. Ils adsorbent fortement beaucoup d'ions, sont impliqués dans de nombreuses réactions d'oxydo-réduction

et sont communs dans les sédiments; ils influencent significativement la mobilité et le devenir de nombreux polluants dans le sédiment.

II.2.2.- Description des principales formes métalliques et de leur phase de liaison

a) L'ion libre :

C'est en général l'ion libre qui est considéré comme étant la forme métallique la plus toxique (BUBB et LESTER, 1991; FLORENCE et al., 1992). Ceci est à relier, en partie, à l'aptitude du métal à traverser les membranes biologiques. Ainsi les ions libres pourront facilement les traverser, alors que les formes colloïdales de plus haut poids moléculaire seront exclues (BUBB et LESTER, 1991).

GIESY et al. (1990) rapportent les résultats de plusieurs études (CAIRNS et al., 1984; SCHUYTEMA et al., 1984) indiquant que la toxicité aiguë du cadmium et du cuivre dans les sédiments était à relier à la forme libre de ces métaux, non liée aux particules sédimentaires, vis-à-vis de *Daphnia magna* et de *Chironomus tentans*. En outre, les études de SWARTZ et al. (1985) et de KEMP et SWARTZ (1988) montrent que la mortalité de l'amphipode *Rhepoxynius abronius* est faiblement corrélée avec la concentration en cadmium dans le sédiment, alors qu'elle l'est fortement avec la concentration en cadmium de l'eau interstitielle.

De même, GREEN et al. (1993) trouvent que c'est l'eau interstitielle qui est responsable de la toxicité aiguë du sédiment vis-à-vis d' *Amphiascus tenuiremis* .

Enfin, la toxicité et/ou la bioaccumulation des métaux comme le cadmium, le plomb, le nickel, le zinc et le cuivre a été corrélée à la concentration de ces métaux dans l'eau interstitielle (DI TORO et al., 1990; ANKLEY et al., 1991, 1993).

b) Les métaux liés à la matière organique :

Les substances humiques dissoutes constituent la plus grande partie (60 à 80 %) de la matière organique totale des eaux de surface, des sédiments et des sols (STACKHOUSE et BENSON, 1989). Ces matières humiques dissoutes existent sous forme de complexes hétérogènes de haut poids moléculaire (jusque 300.000 daltons) et représentent la source la plus importante de carbone organique dissous. Elles peuvent former des complexes stables avec les ions métalliques.

Les concentrations naturelles aqueuses de ces matières humiques varient de 1 à 70 mg/L avec une moyenne de 5,8 mg/L (STACKHOUSE et BENSON, 1989).

FU et al. (1992) regrettent que les recherches sur la matière organique des sédiments n'aient pas encore abouti à une description très précise de sa composition. Toutefois, elle contient une forte proportion de groupements fonctionnels carboxylique et phénolique. C'est par échange avec le proton de ces fonctions que se lient les métaux aux acides humiques des sédiments. Ceci signifie que les acides humiques se lient plus facilement avec les cations (Cd, CrIII), qu'avec les anions (CrVI), avec lesquels ils forment toutefois des liaisons hydrogène faibles (STACKHOUSE et BENSON, 1989).

L'étude de FU et al. (1992) suggère que les substances humiques constituent l'adsorbant majeur du Cd, et peut-être d'autres métaux, dans les sédiments oxydés. L'acide fulvique, par exemple, qui est la plus hydrophile des substances humiques et un constituant majeur du COD (carbone organique dissous), se lie avec des métaux de transition comme le cadmium pour former des complexes non biodisponibles (GREEN et al., 1993).

L'influence des substances humiques sur la toxicité et la bioaccumulation est cependant ambiguë. En effet, certains auteurs, comme GEORGES et COOMBS (1977), trouvent que les acides humiques augmentent la bioaccumulation du cadmium par la moule *Mytilus edulis*. D'autres auteurs rapportent que la toxicité et la bioaccumulation de ce même métal sont réduites par les acides humiques (GJESSING, 1981; HUNG, 1982). Enfin, WINNER (1984) n'attribue aucun effet aux substances humiques sur la bioaccumulation chez les daphnies ; elles augmenteraient cependant les toxicités aiguë et chronique du cadmium, et diminueraient les toxicités aiguë et chronique du cuivre. WINNER (1984) fournit une explication partielle à ce phénomène en indiquant que le cadmium ne se lie que faiblement à l'acide humique, il est facilement déplacé par le calcium, alors que le cuivre ne l'est pas. Les résultats de STACKHOUSE et BENSON (1989) tendent à montrer, quant à eux, que les toxicités du cadmium et du chrome trivalent sont diminuées par les acides humiques. L'étude de STEPHENSON et MACKIE (1988) montre nettement que de fortes concentrations en COD diminuent la biodisponibilité du cadmium vis à vis de *Hyalomma azteca*, ce qui est illustré par une diminution des concentrations bioaccumulées par l'insecte.

La matière organique des sédiments constitue ainsi un réservoir potentiel d'adsorption des métaux lourds; les matières humiques dissoutes augmentent

également la capacité de liaison de l'eau, toutefois leur influence sur la toxicité et la bioaccumulation n'est pas encore claire.

c) Les métaux liés aux oxyhydroxydes de fer et de manganèse:

A la différence de la précipitation des carbonates, qui a lieu principalement dans la colonne d'eau, la précipitation des oxydes de fer et de manganèse a lieu principalement à l'interface sédiment/eau ou dans la couche superficielle du sédiment. On ne sait pas encore dans quelle mesure le fer et le manganèse proviennent des sédiments plus profonds ou de la colonne d'eau (WARREN, 1981).

Les précipités d'oxyhydroxydes de fer et de manganèse, très abondants dans l'écosystème aquatique, se présentent sous forme de (i) nodules dans les boues, (ii) concrétions plates dans les sables, (iii) revêtements des cailloux et des particules de sable. Les nodules de ferromanganèse sont en général enrichis en métaux lourds (WARREN, 1981; SINGH et SUBRAMANIAN, 1984).

Les oxyhydroxydes de fer et de manganèse (sous forme de revêtements ou de concrétions), représentent des sites d'adsorption des métaux lourds particulièrement efficaces (LION et al., 1982; SINGH et SUBRAMANIAN, 1984).

OAKLEY et al. (1981) ont élaboré un modèle de répartition des métaux traces dans les sédiments marins. Ils en ont conclu que le cuivre manifestait une plus grande affinité que le cadmium vis-à-vis de toutes les phases solides testées, c'est-à-dire l'argile "bentonite", $\text{Fe}(\text{OH})_3$, MnO_2 et l'acide humique. Ils ont aussi remarqué que les hydroxydes de manganèse possédaient une plus grande capacité d'adsorption du cuivre et du cadmium que les oxydes de fer amorphes. SINGH et SUBRAMANIAN (1984) relatent l'étude de CARLSON et al. (1977) qui indique que le chrome aurait une préférence pour les matériaux riches en fer, alors que le cuivre se lierait plus aisément aux oxydes de manganèse ; le cobalt, le zinc et le cadmium ne montrant, quant à eux, aucune préférence.

L'influence des oxyhydroxydes de fer et de manganèse sur la toxicité et la bioaccumulation des métaux lourds n'est pas équivoque: leur adsorption sur cette phase de liaison sédimentaire entraîne une réduction de leur biodisponibilité. Ainsi, LUOMA et BRYAN (1982) constatent qu'une augmentation des oxydes de fer dans le sédiment diminue la disponibilité du plomb vis-à-vis de *Nereis*

diversicolor. En 1978, ces mêmes auteurs avaient remarqué que les concentrations en plomb retrouvées dans les palourdes *Scrobicularia plana* et *Macoma balthica* étaient liées de façon linéaire au rapport de la concentration sédimentaire du plomb sur celle du fer.

d) Les métaux liés aux sulfures :

Des nombreux constituants du sédiment qui influencent le comportement des métaux, les sulfures (en particulier les sulfures de fer) constituent vraisemblablement le paramètre le plus important dans un environnement anoxique.

Les sulfures de fer sédimentaires sont formés par réaction du sulfure d'hydrogène (H_2S) et du fer ferreux. H_2S est produit principalement par l'oxydation de la matière organique due à la flore bactérienne. Le fer ferreux est généré par la réduction des oxydes de fer. L'accumulation des sulfures de fer est ainsi maximale dans les sédiments anoxiques à teneurs suffisantes en sulfate et en carbone réduit (WARREN, 1981; JENNE et al., 1984).

DI TORRO et al. (1990) ont suggéré que la biodisponibilité des métaux est fortement influencée par les concentrations relatives de métaux et de sulfures extraits des sédiments en utilisant de l'acide chlorhydrique à froid. Ces sulfures sont qualifiés de sulfure d'acide volatils (AVS) et les métaux ainsi extraits de « simultaneous extracted metals » (SEM).

La mesure consiste en réalité à doser la fraction des sulfures extractibles par l'acide et à déterminer parallèlement les concentrations totales de métaux (Cd, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn) libérés lors de l'extraction des AVS. Sachant que ces réactions s'effectuent moles à moles, tant que le rapport métal/AVS est inférieur à 1, les métaux du sédiment ne sont pas biodisponibles et quand ce rapport dépasse 1, les métaux deviennent théoriquement biodisponibles. Dans ce dernier cas, la biodisponibilité n'est pas systématique puisque d'autres phases de liaison peuvent alors entrer en jeu (ANKLEY et al. , 1993), en particulier la matière organique (FU et al., 1992).

De nombreux travaux ont poursuivi l'idée (ANKLEY et al., 1991; CARLSON et al., 1991; DI TORO et al., 1992; ALLEN et al., 1993; ANKLEY et al., 1993, CASAS et CRECELIUS, 1994). Il ressort de ces études que le rapport SEM/AVS est un paramètre utile pour prédire la toxicité aiguë.

II.2.3. - Le sédiment est un système dynamique où interviennent différents facteurs:

De nombreux processus physiques, chimiques et biologiques qui ont lieu dans le sédiment contribuent largement aux variations spatiales et temporelles de la distribution des contaminants présents, de leur biodisponibilité et par conséquent de leur toxicité.

a) L'activité microbienne :

Les capacités de biotransformation des espèces métalliques de certaines bactéries sont connues. Le mercure et le plomb se trouvent ainsi alkylés. De cette alkylation résulte un changement des caractéristiques physico-chimiques de ces métaux, ce qui affecte leur distribution au sein du sédiment mais également leur toxicité (JENNE et al., 1984; BRYAN et LANGSTON, 1992). Les bactéries jouent également un rôle prépondérant dans le cycle des métaux au sein des sédiments. La couche superficielle de sédiment, la plus oxygénée et souvent riche en matières organiques, comporte également une forte population bactérienne. Ces bactéries dégradent le substrat mis à leur disposition, libérant en même temps les métaux qui y étaient associés. L'oxydation des matières organiques entraîne une déplétion en oxygène dans le sédiment, ce qui va favoriser localement la réduction des oxyhydroxydes de fer et de manganèse.

Parallèlement, se produit la libération des métaux coprécipités ou adsorbés dans l'eau interstitielle. Ces métaux peuvent alors être complexés par des anions, principalement des sulfures dans les zones déficientes en oxygène, ou des carbonates dans les zones plus oxygénées, ce qui entraîne leur précipitation, réduisant par conséquent leur mobilité (BUBB et LESTER, 1991).

Les sulfures de cadmium, de plomb et de zinc, une fois formés dans les sédiments anoxiques, ne seraient vraisemblablement pas facilement remobilisables. Des tests d'extraction suggèrent qu'ils sont certainement moins disponibles que les métaux complexés à la matière organique. Toutefois, la resolubilisation des sulfures de métaux pourrait avoir lieu si ces complexes se trouvaient transportés à la surface par des phénomènes de bioturbation ou de resuspension (WARREN, 1981).

De même, les différences de concentrations entre les zones oxygénée et anoxique vont entraîner une diffusion vers le haut des fluides, aboutissant à la reprécipitation et à l'enrichissement de la couche sédimentaire superficielle en fer, manganèse, phosphore et métaux. Il faut toutefois souligner que cette diffusion

simple est un phénomène d'importance limitée (BUBB et LESTER, 1991), les mécanismes à considérer sont plutôt les échanges turbulents et la bioturbation.

b) Les échanges turbulents :

Ils concernent tous les échanges sédiment/eau causés par l'action du vent, des vagues, des orages, mais aussi résultant du dragage, du trafic des bateaux... Ces turbulences augmentent en effet les possibilités de transfert des toxiques et des nutriments du sédiment vers la colonne d'eau (WARREN, 1981; REYNOLDSO, 1987; BUBB et LESTER, 1991).

c) La bioturbation :

La bioturbation est définie comme étant le mélange ou le mouvement des sédiments par l'activité d'enfouissement et d'alimentation des organismes benthiques, principalement des invertébrés comme les mollusques bivalves, les oligochètes, les larves de chironomes (REYNOLDSO, 1987). Elle s'exerce jusqu'à 16 cm en dessous de la surface des sédiments.

Ces organismes benthiques contribuent à la rupture de la structure et au mélange des couches sédimentaires, cela par plusieurs mécanismes: (i) en pompant l'eau interstitielle en dehors du sédiment et en injectant dans celui-ci de l'eau de la colonne d'eau, plus riche en oxygène, (ii) en transportant des particules des couches profondes du sédiment vers la surface, (iii) en laissant à la surface du sédiment des particules de fèces (REYNOLDSO, 1987).

Ce phénomène augmente ainsi la pénétration de l'oxygène; il peut également altérer la taille des particules sédimentaires et celle des espaces interparticulaires, modifiant la force de cisaillement du sédiment et affectant la turbidité de l'eau de la colonne d'eau. La bioturbation peut aussi augmenter l'activité microbienne, avec pour résultat une augmentation des dégradations ou des méthylations de certains métaux (BUBB et LESTER, 1991; BURTON, 1991).

d) Influence d'autres paramètres :

La taille des particules sédimentaires, la température, le pH, la dureté calcique et magnésienne, la présence d'autres éléments comme les phosphates, les sulfates, les chlorures; tous sont autant de paramètres qui vont déterminer la forme physico-chimique dans laquelle le métal sera présent dans le sédiment, l'eau interstitielle ou la colonne d'eau.

1 - La taille des particules sédimentaires :

La séparation en classe de tailles des particules sédimentaires correspond aussi à une séparation minéralogique. On distingue la fraction sableuse (>63 µm de diamètre), la fraction silteuse (entre 2 et 63 µm de diamètre) et la fraction argileuse (<2 µm) (JENNE et al., 1984). La fraction argileuse se trouve enrichie en fer et en matière organique, mais contient aussi une grande concentration en métaux lourds comme le plomb et le zinc (WARREN, 1981). Parce que les sédiments sableux possèdent une surface spécifique par unité de masse beaucoup plus petite que celle des sédiments constitués de particules plus fines, ils offrent moins de possibilités d'adsorption. En outre, ils possèdent une plus faible teneur en carbone organique.

SWARTZ et al. (1985) démontrent que la toxicité du cadmium vis-à-vis de l'amphipode *Rhepoxynius abronius*, de même que les concentrations en cadmium de l'eau interstitielle, sont réduites quand les sédiments sableux sont additionnés de particules fines. GRANEY et al. (1984) observent, en général, une relation négative entre le contenu en argile et en matière organique du substrat et l'accumulation de cadmium par *Corbicula fluminea*.

2 - La température :

L'influence de la température sur la toxicité aiguë et la bioaccumulation d'un composé chimique est un phénomène complexe, et de ce fait difficile à prédire.

Les effets peuvent être directs par l'activation du métabolisme des organismes avec l'augmentation de température. C'est ce que montrent les résultats de HUNG (1982) : l'huître *Crassostrea virginica* accumule plus de cadmium dans ses tissus quand elle se trouve exposée à 25°C, ceci par augmentation de son activité, notamment de filtration. Les résultats de GRANEY et al. (1984) vont dans le même sens. Les effets indirects de la température sur la toxicité des métaux lourds se manifestent notamment par l'augmentation de la solubilité de ces métaux (PERSOONE et al., 1989).

Dans leur revue bibliographique sur les effets de la température et de la salinité sur la toxicité des métaux lourds vis-à-vis des invertébrés marins et estuariens, MCLUSKY et al. (1986) s'accordent à dire que l'effet général des hautes températures est une exacerbation de la toxicité et de l'accumulation des métaux, notamment du cadmium, du chrome et du plomb. On peut alors penser que les variations saisonnières de température peuvent affecter la toxicité des métaux vis-à-vis des organismes aquatiques.

3 - Le pH :

MACKIE (1989) a étudié l'influence du pH sur la toxicité de l'aluminium, du cadmium et du plomb vis-à-vis des invertébrés benthiques. Il rapporte les travaux de CAMPBELL et STOKES (1985) qui avaient décrit deux types de comportement parmi les métaux.

Le type I correspond à une diminution de la toxicité du métal avec la diminution du pH. On se trouve dans la situation où, à pH bas, l'augmentation de la proportion d'ion métallique aqueux est faible (c'est-à-dire qu'un faible pH ne modifie pas la spéciation du métal en solution), de même, la liaison aux surfaces biologiques est faible du fait d'une compétition avec les ions H⁺. Le type II est l'augmentation de la toxicité métallique avec la diminution du pH. Cette diminution de pH va augmenter la mobilité des métaux; la liaison aux surfaces biologiques est suffisamment forte pour que les ions H⁺ présents ne puissent entrer en compétition.

Ainsi, CAMPBELL et STOKES (1985) prédisent que le cadmium doit avoir un comportement de type I et le plomb, un comportement de type II. Les résultats de MACKIE ne sont cependant pas en complet accord avec cette théorie, car selon les espèces testées, le comportement des métaux varient, suggérant que d'autres ions que les protons entrent en compétition avec le cadmium et le plomb pour les sites de liaison biologiques. Cette compétition modifierait le type de comportement prédit par CAMPBELL et STOKES. L'influence du pH porte également sur la répartition des métaux entre les compartiments sédimentaire et aquatique. L'adsorption du cadmium par le sédiment augmente de 20 à 80% lorsqu'on passe d'un pH 5 à 7 (BOAL PALHEIROS et al., 1989).

Quant au plomb, il montre une faible solubilité. Les carbonates, les sulfates et les sulfures de plomb sont abondants dans le sédiment. Cependant ces composés insolubles de plomb peuvent être mobilisés par une diminution de pH, entraînée par certains rejets ou des précipitations acides (MACKIE, 1989; PROSI, 1989).

4- La dureté calcique et magnésienne :

De nombreuses études ont montré que les métaux sont plus toxiques en eau douce qu'en eau dure (WINNER et GAUSS, 1986; PERSOONE et al., 1989). Ce mécanisme de détoxification fait en fait intervenir deux phénomènes, d'une part la complexation des métaux avec CO₃⁻⁻ et HCO₃⁻, complexes moins toxiques, et d'autre part l'interaction compétitive entre les cations métalliques et le calcium et

le magnésium au niveau des sites d'absorption de l'organisme (STEPHENSON et MACKIE, 1988).

On attribue à la précipitation des carbonates un certain contrôle des teneurs en métaux de la colonne d'eau. Dans le Southern Lake Michigan, par exemple, le plomb et le zinc ont été significativement corrélés à la proportion de CaCO_3 des solides en suspension et aux carbonates du sédiment (WARREN, 1981). Quant à l'interaction compétitive qui existe entre les cations, HARE (1992) suggère, pour le cas particulier du cadmium, que ce métal emprunterait le même système de transport à l'intérieur de l'organisme que le calcium.

5- Les ligands inorganiques :

Les phosphates, les sulfates et les chlorures sont autant d'espèces qui peuvent se lier aux métaux. Il est vraisemblable que les phosphates entrent en compétition avec certains ions au niveau des sites d'absorption, comme c'est le cas pour les arseniates. Ils forment également des complexes non solubles comme les phosphates de cadmium ou de zinc, diminuant par conséquent la biodisponibilité de ces métaux (WANG, 1987).

Les sulfates et les chromates semblent entrer en compétition au niveau des mêmes sites d'absorption; la toxicité du Cr(VI) s'en trouve alors réduite (WANG, 1987). Quant à l'influence des chlorures, elle est à mettre en parallèle avec celle de la salinité. La complexation du Cd^{++} par le chlorure en phase aqueuse entraîne une diminution de la biodisponibilité du cadmium (GREEN et al., 1993). D'une façon générale, la toxicité du cadmium et du chrome diminue quand la salinité augmente (BRYANT et al., 1984; MCLUSKY et al., 1986).

Par contre, l'adsorption du cadmium par le sédiment est réduite quand la concentration aqueuse en chlorure augmente, ceci par augmentation de la force ionique mais également par formation de chloro-complexes stables CdCl^+ , CdCl_2 et CdCl_3^- qui ne paraissent pas être adsorbés comme le Cd^{++} (BOAL PALHEIROS et al., 1989).

f) Les toxiques naturels :

NH_3 et H_2S sont deux composés très toxiques pour les organismes aquatiques, présents naturellement dans les sédiments contenant des concentrations suffisantes en matières organiques (BURTON et al., 1994). Ils sont tous deux produits par de nombreux micro-organismes aquatiques.

L'ammoniac résulte de la réaction d'ammonification de l'azote organique particulaire, dont la source importante, selon LEE et JONES (1992), est

constituée par les protéines des plantes aquatiques et terrestres. L'ammoniac des sédiments est facilement libéré par élutriation, c'est à dire agitation d'un certain volume de sédiment par un certain volume d'eau.

Le sulfure d'hydrogène est un composant commun des sédiments anoxiques, formé par réduction des sulfates. Il est lui-même toxique pour la vie aquatique mais agit aussi indirectement en éliminant l'oxygène dissous (LEE et JONES, 1992).

De nombreuses études ont montré que l'eau interstitielle de nombreux sédiments contenaient des concentrations suffisantes en ammoniac pour que celui-ci soit considéré comme un toxique potentiel, mais à part entière, dans toute évaluation de l'écotoxicité des sédiments. Ainsi, SCHUBAUER-BERIGAN et ANKLEY (1991) ont déterminé que les métaux, les composés organiques non polaires mais aussi l'ammoniac étaient responsables de la toxicité de l'eau interstitielle des sédiments étudiés. De même, KRANTZBERG et BOYD (1992) ont relié la toxicité particulièrement prononcée d'un site à celle de l'ammoniac. Les analyses confirmaient des teneurs excessives en ammoniac et l'élutriat préparé à partir de ce sédiment manifestait une forte toxicité.

D'autre part, LEE et JONES (1992) font remarquer que l'amphipode marin *Rhepoxynius abronius* est insensible à l'ammoniac; c'est donc une espèce inadaptée à la détermination de la responsabilité de NH₃ dans la toxicité des sédiments.

En définitive, la biodisponibilité des métaux, qui conditionne leur bioaccumulation et leur toxicité, est contrôlée par une multitude de paramètres physico-chimiques influençant la spéciation des métaux.

L'analyse de la littérature indique au moins trois conclusions générales :

1- Certaines formes chimiques d'un métal donné sont plus toxiques que d'autres. Il est donc important de définir s'il est préférable de les déterminer spécifiquement ou de normaliser les concentration totales par un certain nombre de variables.

2- La biodisponibilité diminue quand le nombre de liaisons potentielles augmente dans le milieu. Il convient donc d'éviter tout facteur de perturbation susceptible de jouer sur le nombre de liaisons potentielles, ce qui renforce le concept même de test in situ.

3- Dans des conditions environnementales normales, la majorité du chrome et du plomb est généralement associée aux particules en suspension et aux sédiments, alors que le cadmium se trouve surtout sous forme dissoute (BUBB et LESTER, 1991).

III. - SYNTHÈSE DES EXPERIMENTATIONS

Mis à part le § III.1 qui suit, l'ensemble des résultats ici présentés ont été obtenus au cours du D.E.A. de M. V. BEAUNOIR (Centre des Sciences de l'Environnement, Metz).

III.1. - Validation au laboratoire de l'utilisation des chambres sédimentaires

Les divers scénarios présentés à la figure 2 (§ I.1) ont été testés au laboratoire avec des sédiments volontairement enrichis en dichromate de potassium, à raison de 15 chambres par manipulation (5 T1, 5T2 et 5 Dm).

III.1.1. - Essai statique

Les essais ont d'abord été réalisés en statique (pas de courant d'eau entretenu au-dessus des sédiments enrichis). Les sédiments enrichis, à raison de 100 mg de Cr VI/kg de sédiments, ont été placés dans un récipient puis recouverts d'eau du robinet déchlorée. Les chambres sédimentaires, contenant chacune 5 daphnies (*Daphnia magna*, clone 5) âgées de 4 à 5 jours, ont été simplement placées sur ces sédiments pendant 48 heures. La température était de 20°C et la photopériode de 16/8.

	T1	T2	Dm
Survie (en %)	100	50	30

Tableau I : Pourcentages de survie de daphnies âgées de 4 à 5 jours après 48 heures d'exposition à des sédiments enrichis en Cr VI (100 mg/kg de sédiments) au cours d'un essai statique selon différents scénarios : T1 (aucun contact avec le milieu extérieur) ; T2 (contact uniquement avec l'eau stagnant au-dessus des sédiments enrichis) ; Dm (contact à la fois avec les sédiments et l'eau).

Ces résultats montrent clairement une plus forte sensibilité des daphnies exposées dans le scénario Dm que celles du scénario T2. Ceci témoigne du passage dans la phase aqueuse du chrome VI ajouté au sédiment. Pour le scénario T1, il n'y a aucune toxicité aiguë observée. La séquence de survie observée en statique est donc la suivante :

$$T1 > T2 > Dm$$

III.1.2. - Les essais ont ensuite été réalisés en dynamique en plaçant simplement un courant d'eau entretenu par une pompe placée à l'extérieur du récipient contenant les sédiments. Différentes concentrations de sédiments enrichis ont été testés et les pourcentages de survie respectifs sont présentés dans le tableau II.

	T1	T2	Dm
Sédiments enrichis à 100 mg Cr VI/kg	100 %	0 %	0 %
Sédiments enrichis à 10 mg Cr VI/kg	100 %	100 %	100 %
Sédiments enrichis à 40 mg Cr VI/kg	100 %	50 %	35 %

Tableau II : Pourcentages de survie de daphnies âgées de 4 à 5 jours après 48 heures d'exposition à des sédiments enrichis à diverses concentrations de Cr VI au cours de plusieurs essais dynamiques selon différents scénarios : T1 (aucun contact avec le milieu extérieur) ; T2 (contact uniquement avec l'eau stagnant au-dessus des sédiments enrichis) ; Dm (contact à la fois avec les sédiments et l'eau).

Ces résultats permettent d'aboutir aux conclusions suivantes :

- a) Il n'y a aucune mortalité dans le scénario T1
- b) Pour 10 mg de Cr VI/kg de sédiments, il n'y a aucune toxicité observée quelque soit le scénario. Par contre, pour une concentration 10 fois plus forte, l'ensemble des daphnies présentes dans les scénarios T2 et Dm sont retrouvées mortes. Une concentration intermédiaire permet de retrouver la séquence observée précédemment au cours de l'essai statique, à savoir :

$$T1 > T2 > Dm$$

- c) L'essai dynamique est environ 2,5 fois plus sensible que l'essai statique.

Ce système d'essai au laboratoire pourrait être utilisé plus largement pour tester l'effet de diverses variables contrôlées (structure du sédiment, composition, etc..)

III.2. - Utilisation des chambres sédimentaires in situ.

Les chambres sédimentaires ont été placées sur le terrain au cours des trois campagnes prévues sur l'Orne, la Fensch et la Bièvre les 21 Avril, 19 Mai et 21 Juin 1996. Toutefois, au cours de la première campagne sur la Bièvre, les chambres sédimentaires déposées sur le sédiment se sont retrouvées totalement

émergées en moins de 48 h. Aussi, ne disposons-nous pas de résultats sur la Bièvre lors de la première campagne.

Les chambres sédimentaires ont fourni différents types de résultats :

- résultats de toxicité aiguë (observés après 48 heures sur le terrain),
- résultats de toxicité différée (observés après 48 heures sur le terrain et 15 jours au laboratoire).

III.2.1. - Résultats de toxicité aiguë.

Les tableaux III, IV et V présentent les pourcentages de survie observés sur 15 chambres sédimentaires (comprenant donc les 7 chambres réservées à l'étude de la toxicité différée et celles réservées à l'étude de la bioaccumulation), et ce respectivement sur l'Orne, la Fensch et la Bièvre.

	T1	T2	Dm
1 ^{ère} campagne	96	92	97
2 ^{ème} campagne	100	97	93
3 ^{ème} campagne	99	95	80

Tableau III : Pourcentages de survie observés sur des daphnies âgées de 4 à 5 jours et placées sur l'Orne à Richemont durant 48 heures selon trois scénarios différents (n = 75 daphnies par scénario).

	T1	T2	Dm
1 ^{ère} campagne	96	92	97
2 ^{ème} campagne	100	97	89
3 ^{ème} campagne	99	85	88

Tableau IV : Pourcentages de survie observés sur des daphnies âgées de 4 à 5 jours et placées sur la Fensch à Florange durant 48 heures selon trois scénarios différents (n = 75 daphnies par scénario).

	T1	T2	Dm
1 ^{ère} campagne	/	/	/
2 ^{ème} campagne	100	91	79
3 ^{ème} campagne	100	100	88

Tableau V : Pourcentages de survie observés sur des daphnies âgées de 4 à 5 jours et placées sur la Bièvre à Sarrebourg durant 48 heures selon trois scénarios différents (n = 75 daphnies par scénario).

De ces divers tableaux se dégagent les résultats suivants :

a) D'une manière générale les taux de survie sont bons quelque soit le scénario d'exposition, le site testé et la campagne (compris entre 79 et 100 %), ce qui témoigne donc d'une faible toxicité aiguë. Il en résulte que les différences observées entre les divers sites, entre les différentes campagnes et entre les trois scénarios d'exposition sont toujours faibles. En outre, ces forts pourcentages de survie permettent de conduire les études subséquentes (toxicité différée et bioaccumulation) avec un nombre important d'organismes.

b) Les taux de survie sont meilleurs pour les témoins T1 que dans les deux autres scénarios, et ceci dans 6 cas sur 8. Les T1 constituent donc de bons témoins pour les études de toxicité aiguë.

c) La séquence des taux de survie classés dans l'ordre décroissant est dans 5 cas sur 8 celle observée lors des études de validation (cf. § III.1), à savoir :

$$T1 > T2 > Dm$$

d) L'analyse statistique des divers résultats obtenus par le test du rapport de vraisemblance, au seuil de 5%, conduit aux conclusions suivantes :

1- Chaque site étudié peut être considéré comme homogène pour un même scénario au cours d'une même campagne, autrement dit il n'y a pas d'effet « chambre sédimentaire ».

2- Les trois scénarios d'exposition (Dm, T1 et T2) sont caractérisés par des moyennes qui ne sont pas significativement égales, c'est-à-dire qu'il existe un effet « scénario », sans toutefois que l'on sache entre quel(s) scénario(s) cette différence significative existe. Toutefois, compte tenu des résultats observés, il est vraisemblable que les deux scénarios Dm et T1 qui donnent les résultats les plus éloignés soient significativement différents.

3- Les différences observées, pour un site donné, entre les diverses campagnes successives sont significatives pour seulement deux sites, à savoir l'Orne et la Bièvre. Dans ces deux cas, les pourcentages de survie ont été, en effet, légèrement plus faibles lors de la troisième campagne.

III.2.2. - Résultats de toxicité différée et de récupération des capacités de reproduction

Les mortalités différées sont faibles (comprises entre 0 et 20 % pour les 15 jours d'essai). Il apparaît que sur l'ensemble des résultats, la mortalité moyenne des T1 est plus élevée que dans les deux autres scénarios dans 4 cas sur 7.

Les moyennes des taux de reproduction cumulés sur 15 jours (exprimés en petits pondus par mère vivante au jour J-1) sont présentés ci-dessous dans les tableaux VI, VII et VIII.

	T1	T2	Dm
1 ^{ère} campagne	34,7 ± 5,6 A	43,9 ± 5,8 B	37,2 ± 3,8 AB
2 ^{ème} campagne	33,3 ± 5,5 A	38,5 ± 8,9 AB	44,2 ± 4,7 B
3 ^{ème} campagne	73,6 ± 6,3 A	89,8 ± 15,8 A	114,2 ± 12,1 B

Tableau VI : Moyennes et écart-types des taux de reproduction cumulés pendant 15 jours sur des daphnies âgées de 4 à 5 jours, placées sur l'Orne à Richemont au cours de trois campagnes successives et récupérées vivantes après 48 heures d'exposition selon trois scénarios différents (n égal à 7). Des lettres majuscules différentes (situées sur une même ligne) traduisent que les moyennes sont significativement différentes d'un scénario à l'autre (test de Tukey).

	T1	T2	Dm
1 ^{ère} campagne	34,2 ± 5,6 A	45,8 ± 13,2 A	46,3 ± 7,4 A
2 ^{ème} campagne	28,3 ± 3,5 A	35,8 ± 4,3 AB	39,2 ± 4,2 B
3 ^{ème} campagne	67,0 ± 13,6 A	101,9 ± 7,1 B	99,6 ± 18,7 B

Tableau VII : Moyennes et écart-types des taux de reproduction cumulés pendant 15 jours sur des daphnies âgées de 4 à 5 jours, placées sur la Fensch à Florange au cours de trois campagnes successives et récupérées vivantes après 48 heures d'exposition selon trois scénarios différents (n égal à 7). Des lettres majuscules différentes (situées sur une même ligne) traduisent que les moyennes sont significativement différentes d'un scénario à l'autre (test de Tukey).

	T1	T2	Dm
1 ^{ère} campagne	/	/	/
2 ^{ème} campagne	34,7 ± 5,1 A	43,7 ± 15,6 A	42,7 ± 6,5 A
3 ^{ème} campagne	76,5 ± 3,9 A	71,3 ± 6,3 A	82,5 ± 16,6 A

Tableau VIII : Moyennes et écart-types des taux de reproduction cumulés pendant 15 jours sur des daphnies âgées de 4 à 5 jours, placées sur la Bièvre à Sarrebourg au cours de trois campagnes successives et récupérées vivantes après 48 heures d'exposition selon trois scénarios différents (n égal à 7). Des lettres majuscules différentes (situées sur une même ligne) traduisent que les moyennes sont significativement différentes d'un scénario à l'autre (le test de Tukey a été utilisé pour la 2^{ème} campagne tandis que le test de Kruskal-Wallis a été employé pour la 3^{ème} campagne car les variances n'étaient pas homogènes)

Le test non paramétrique de Mann et Whitney appliqué à la comparaison des taux de reproduction au cours des différentes campagnes montre l'existence d'un effet « campagne ». Quelque soit le traitement (T1, T2, ou Dm), il indique un taux nettement supérieur pendant la campagne du mois de Juin. Cette augmentation peut être attribuée soit aux organismes eux-mêmes (variable biologique) soit aux conditions biotiques et abiotiques rencontrées sur le terrain au cours de ces trois campagnes. Parmi ces dernières, la température, qui a varié de 7 à 15 °C (cf. tableau IX), peut avoir joué un rôle non négligeable.

	Orne	Fensch	Bièvre
1 ^{ère} campagne	7	8	8
2 ^{ème} campagne	11	12	12
3 ^{ème} campagne	14	14	15

Tableau IX : Températures (°C) relevées sur les trois sites à chaque début de campagne.

L'analyse statistique des résultats (résumée dans la tableau X) montrent que, dans 3 cas sur 7, il n'y a pas de différence significative entre les 3 scénarios. Par contre, plus surprenant est la constatation que dans les 4 autres cas, les taux de reproduction observés sont significativement plus élevés dans le scénario Dm que dans le scénario T1, tandis que dans 2 cas sur 7 les résultats du scénario T2 sont eux-mêmes significativement plus élevés que dans le scénario T1.

ORNE	<i>Camp. 1</i>	T2 > T1
	<i>Camp. 2</i>	Dm > T1
	<i>Camp. 3</i>	Dm > T1 et Dm > T2
FENSCH	<i>Camp. 1</i>	pas de différences
	<i>Camp. 2</i>	Dm > T1
	<i>Camp. 3</i>	Dm > T1 et T2 > T1
BIEVRE	<i>Camp. 2</i>	pas de différences
	<i>Camp. 3</i>	pas de différences

Tableau X : Résumé des différences observées entre les moyennes des taux de reproduction cumulés sur 15 jours.

III.2.3. - Conclusion de l'étude de toxicité in situ

a) Les études de toxicité différée et surtout celles de récupération des capacités de reproduction n'ont pas confirmées les résultats de toxicité aiguë. Ce fait mériterait d'être éclairci par des expérimentations supplémentaires réalisées au laboratoire (cf. étude de validation).

b) Par contre, le scénario T1 qui nous était apparu comme un bon témoin pour la toxicité aiguë (cf. § III.3.1) se caractérise ici par des résultats (survie et mortalité) qui ne sont pas parfaits. L'étude de la récupération des capacités de reproduction a ici permis de mettre en évidence un effet, ce qui témoigne donc de son intérêt malgré les résultats obtenus.

Il est vraisemblable que l'absence de nourriture durant les 48 heures d'exposition sur le terrain peut expliquer ces effets sublétaux sur le taux de reproduction. Une série d'expérimentations supplémentaires destinées à déterminer la quantité de nourriture à leur fournir s'avérerait nécessaire.

III.3. - Résultats des essais réalisés sur eaux interstitielles

Pour chaque site, 100 ml d'eau interstitielle sont réservés au test Microtox et conservés à 4 °C. Chaque jour 3 ml sont prélevés après homogénéisation manuelle. L'évolution de la toxicité est suivie pendant plusieurs jours (jusqu'à sa disparition). Lors de la deuxième campagne le test Microtox a été réalisé le jour même de la centrifugation (J0). Pour la première et la troisième campagne, le test a été réalisé le lendemain de la centrifugation (J1).

III.3.1. - Résultats des essais Microtox

Les résultats des différents sites sont présentés respectivement dans les tableaux XI, XII et XIII.

	1ère campagne pH = 7,75			2ème campagne pH = 7,78			3ème campagne pH = 7,38		
	% d'inhibition à la concentration de 90 %		CI 50 15 mn	% d'inhibition à la concentration de 90 %		CI 50 15 mn	% d'inhibition à la concentration de 90 %		CI 50 15 mn
	à 15 mn	à 30 mn		à 15 mn	à 30 mn		à 15 mn	à 30 mn	
J0	/	/	/	N.T	N.T	IAD	/	/	/
J1	N.T	N.T	IAD	/	/	/	5,1 %	8,3 %	IAD
J2	N.T	N.T	IAD	N.T	N.T	IAD	/	/	/
J3	N.T	N.T	IAD	N.T	N.T	IAD	/	/	/
J4	N.T	N.T	IAD	/	/	/	/	/	/
J5	N.T	N.T	IAD	/	/	/	/	/	/

Tableau XI: Résultats des tests Microtox réalisés sur les eaux interstitielles des sédiments prélevés sur l'Orne à Richemont (/ = essai non réalisé ; N.T = Non Toxique ; IAD = impossible à déterminer).

	1ère campagne pH = 7,75			2ème campagne pH = 7,74			3ème campagne pH = 7,32		
	% d'inhibition à la concentration de 90 %		CI 50 15 mn	% d'inhibition à la concentration de 90 %		CI 50 15 mn	% d'inhibition à la concentration de 90 %		CI 50 15 mn
	à 15 mn	à 30 mn		à 15 mn	à 30 mn		à 15 mn	à 30 mn	
J0	/	/	/	52,0	36,5	77,4 %	/	/	/
J1	60,3	55,4	55,8 %	/	/	/	68,1	65,1	79,2 %
J2	45,5	44,4	IAD	23,3	16,0	IAD	50,6	45	55,8 %
J3	42,2	38,4	IAD	11,0	2,2	IAD	56	52,7	IAD
J4	22,3	21,0	IAD	/	/	/	44	46,8	IAD
J5	32,8	25,5	IAD	/	/	/	37,8	36,6	IAD

Tableau XII: Résultats des tests Microtox réalisés sur les eaux interstitielles des sédiments prélevés sur la Fensch à Florange (/ = essai non réalisé ; N.T = Non Toxique ; IAD = impossible à déterminer).

	1ère campagne pH = 6,90			2ème campagne pH = 7,11			3ème campagne pH = 6,79		
	% d'inhibition à la concentration de 90 %		CI 50 15 mn	% d'inhibition à la concentration de 90 %		CI 50 15 mn	% d'inhibition à la concentration de 90 %		CI 50 15 mn
	à 15 mn	à 30 mn		à 15 mn	à 30 mn		à 15 mn	à 30 mn	
J0	/	/	/	29,9	17,3	IAD	/	/	/
J1	15,1	15,3	IAD	/	/	/	88,9	90,3	14,4 %
J2	N.T	3,4	IAD	22,8	19,9	IAD	77,1	78,8	27,0 %
J3	N.T	N.T	IAD	N.T	N.T	IAD	66,2	68,1	43,2 %
J4	1,3	2,5	IAD	/	/	/	61,3	63,8	55,8 %
J5	N.T	N.T	IAD	/	/	/	56,9	59,4	64,8 %
J6	/	/	/	/	/	/	43,5	49,1	IAD

Tableau XIII: Résultats des tests Microtox réalisés sur les eaux interstitielles des sédiments prélevés sur la Bièvre à Sarrebourg (/ = essai non réalisé ; N.T = Non Toxique ; IAD = impossible à déterminer).

Il ressort de ces résultats que :

- a) Les pourcentages d'inhibition diminuent légèrement entre 15 et 30 minutes, donc les échantillons testés sont en général moins toxiques à 30 minutes qu'après 15 minutes d'exposition. Ceci semblerait indiquer plutôt la présence de composés organiques dans les solutions d'essai.
- b) D'une manière générale, les échantillons sont relativement peu toxiques. Néanmoins, l'eau interstitielle des sédiments de la Bièvre témoignent, à la 3ème campagne, d'une certaine toxicité.
- c) La toxicité, lorsqu'elle est présente, diminue avec le temps. Ce fait est particulièrement visible avec les résultats de la 3ème campagne sur la Bièvre.

III.3.2. - Résultats des tests daphnie aiguë

Ces tests ont été réalisés le lendemain de la centrifugation des sédiments (J1). Sur une gamme de concentrations comprises entre 0,0032 et 32 % d'eau interstitielle, aucune toxicité n'a été observée quelque soit le site ou la campagne.

III.3.3. - Résultats des essais sur algues

Ces tests ont été initiés le lendemain de la centrifugation des sédiments (J1). Sur une gamme de concentrations comprises entre 0,01 et 90 % d'eau interstitielle, seule l'eau interstitielle provenant des sédiments de la Fensch prélevés à la 3ème campagne a manifesté une toxicité. La CI 50 - 72 heures était égale à 6 % d'eau interstitielle.

Il convient toutefois de signaler une difficulté technique pour la lecture de ce test. En effet les algues ont tendance à adhérer dans le fond des puits des microplaques, surtout avec les eaux interstitielles provenant des sédiments de la Fensch. La remise en suspension des algues est difficile et partielle, ce qui risque de conduire l'expérimentateur à une inhibition alors qu'elle n'existe pas.

III.3.4. - Résultats des essais sur cériodaphnie

Ces tests ont débutés le lendemain de la centrifugation des sédiments (J1) avec une gamme de concentrations comprises entre 0,5 et 15 % d'eau interstitielle. Les conditions de validité des témoins négatifs (nombre de petits supérieur ou égal à 15 ; au moins 3 pontes observées sur 60 % des témoins) ont été respectées.

Dans tous les cas une réponse de toxicité a été observée. Le tableau XIV rassemble les divers résultats obtenus et rappelle en même temps les données de toxicité observée pour les autres tests.

	1ère campagne	2ème campagne	3ème campagne
Résultats ORNE			
Cériodaphnie reproduction	LOEC = 5%	LOEC = 15%	LOEC ≤ 0,5% *
Cériodaphnie mortalité	Pas de toxicité		
Daphnie 48 h	Pas de toxicité		
Microtox	Pas de toxicité		
Algue	Pas de toxicité		
Résultats FENSCH			
Cériodaphnie reproduction	LOEC ≤ 0,5% *	LOEC = 15%	LOEC ≤ 0,5% *
Cériodaphnie mortalité	Pas de toxicité		LOEC = 15%
Daphnie 48 h	Pas de toxicité		
Microtox	CI50= 55,8%	CI50 = 77,4%	CI50 = 79,2%
Algue	Pas de toxicité		CI50 = 6%
Résultats BIEVRE			
Cériodaphnie reproduction	LOEC = 1%	LOEC = 10%	LOEC = 10%
Cériodaphnie mortalité	Pas de toxicité		
Daphnie 48 h	Pas de toxicité		
Microtox	Pas de toxicité (calculable)		CI50 = 14,4%
Algue	Pas de toxicité		

Tableau XIV: Bilan des résultats des tests d'écotoxicité réalisés sur les eaux interstitielles.

* La LOEC est la plus faible concentration testée au cours de l'essai, ce qui explique le signe d'inégalité partielle (=).

Ces résultats montrent que :

a) Les tests chroniques (algues et cériodaphnies) se caractérisent par une meilleure détectabilité que les tests aigus (CI 50 ou LOEC faibles).

Le test cériodaphnie semble particulièrement bien adapté à l'évaluation de l'écotoxicité des eaux interstitielles car il a fourni une réponse dans tous les cas. En réalité, l'inhibition de la reproduction présente un bon rapport temps/détectabilité puisqu'il faut rappeler que le test Microtox avait permis d'observer une diminution de l'écotoxicité en fonction du temps, ce qui aurait pu limiter l'intérêt des tests chroniques dans la mesure où la toxicité diminuerait trop rapidement.

Grâce à son pouvoir de détectabilité, les résultats de toxicité obtenus avec le test cériodaphnie permettent de révéler et d'attester une toxicité plus importante que

les tests in situ. En l'absence de ce test, la conclusion n'aurait sans doute pas été la même.

b) Le test Microtox semble mieux adapté que le test daphnie aiguë à l'évaluation écotoxique des eaux interstitielles.

c) Contre toute attente, une grande partie des tests de toxicité effectués sur eaux interstitielles n'ont pratiquement pas révélé de toxicité. Ceci pourrait s'expliquer par les conditions météorologiques enregistrées au cours de la période avril-juin 1995 (très fortes précipitations entraînant une montée des eaux et de forts débits) qui pourraient avoir provoquées une dilution importante des polluants. Ceci semble être plus particulièrement le cas pour les campagnes 1 et 2.

III.4. - Résultats des études de bioaccumulation sur les daphnies exposées 48 heures sur le terrain

Seuls le plomb et le cadmium ont été dosés chez ces daphnies. Le dosage du chrome a fourni des résultats ininterprétables (absence de linéarité de la gamme d'étalonnage et manque de répétabilité). Des témoins-laboratoires réalisés parallèlement ont fourni les teneurs de référence (maximales) 21 ng de plomb / daphnie et de 2,5 pg de cadmium / daphnie.

Les tableaux XV et XVI fournissent les résultats exprimés par daphnie pour tenir compte des variations importantes de poids de matière sèche d'un cas à l'autre.

	Site	Scénario	ng de Plomb / daphnie
Camp 1	ORNE	T1	11
		T2	71
		Dm	4,8
	FENSCH	T1	30
		T2	150
		Dm	4,7
BIEVRE	Résultats non exploitables		
Camp 2	ORNE	T1	70
		T2	140
		Dm	88,6
	FENSCH	T1	10
		T2	30
		Dm	80
	BIEVRE	T1	300
		T2	221
		Dm	5,8
Camp 3	ORNE	T1	60
		T2	1630
		Dm	143
	FENSCH	T1	144
		T2	216
		Dm	157
	BIEVRE	T1	109
		T2	230
		Dm	106

Tableau XV: Résultats des dosages de plomb pour les daphnies exposées 48 heures dans les chambres sédimentaires (en gras figurent les concentrations supérieures à la référence-témoin : 21 ng / daphnie)

	Site	Scénario	pg de Cadmium / daphnie
Camp 1	ORNE	T1	2,0
		T2	0,5
		Dm	0,3
	FENSCH	T1	3,6
		T2	1,1
		Dm	0,2
BIEVRE	Résultats non exploitables		
Camp 2	ORNE	T1	1,7
		T2	2,5
		Dm	1,6
	FENSCH	T1	0,9
		T2	2,4
		Dm	1,4
	BIEVRE	T1	2,4
		T2	7,6
		Dm	4,0
Camp 3	ORNE	T1	0,4
		T2	11,6
		Dm	3,6
	FENSCH	T1	3,3
		T2	6,4
		Dm	1,8
	BIEVRE	T1	2,3
		T2	0,8
		Dm	1,6

Tableau XVI: Résultats des dosages de cadmium pour les daphnies exposées 48 heures dans les chambres sédimentaires (en gras figurent les concentrations supérieures à la référence-témoin : 2,5 pg / daphnie)

Il faut tout d'abord signaler l'absence de répétitions pour chaque scénario puisqu'il a fallu rassembler les organismes présents dans 8 chambres sédimentaires. Il n'a donc pas été possible d'exploiter statistiquement ces résultats. Il est toutefois possible de constater que :

- les résultats de plomb dépassent très souvent le seuil de référence (daphnies témoins élevées au laboratoire), cela n'est pas le cas pour le cadmium,
- les résultats n'apparaissent pas systématiquement dans la séquence à laquelle on aurait pu s'attendre compte tenu des résultats observés précédemment pour la toxicité, à savoir :

$$[T1] < [T2] < [Dm]$$

Pour le plomb, ces résultats ne sont pas très cohérents et fiables. La preuve en est que les résultats des T1 qui devraient être du même ordre de grandeur (puisque situé dans le même milieu) varient considérablement, même à l'intérieur d'une même campagne (de 10 à 300 ng de plomb/ daphnie au cours de la 2ème campagne).

Pour le cadmium, les résultats sont moins dispersés et apparaissent plus fiables.

III.5. - Résultats relatifs aux peuplement d'Oligochètes

III.5.1. - Analyse taxonomique simplifiée des Oligochètes

Le tableau XVII regroupe les résultats de cette analyse.

	campagne 1			campagne 2			campagne 3		
	ORNE	FENSCH	BIEVRE	ORNE	FENSCH	BIEVRE	ORNE	FENSCH	BIEVRE
Tubificidés sans soies capillaires		63,8 %		90,1 %	79,2 %		88,6 %	85,7 %	43,75 %
Tubificidés avec soies capillaires		36,2 %		9,9 %	20,8 %		11,4 %	14,3 %	56,25 %
Naididés	AUCUN			AUCUN			AUCUN		

Tableau XVII : Bilan de l'analyse taxonomique simplifiée des Oligochètes

La diversité taxonomique de ces sites s'avère extrêmement limitée puisque, outre les Oligochètes, les échantillons ne contiennent que des Chironomes. Ce résultat tend à prouver que les trois sites étudiés sont effectivement contaminés de façon chronique (KLEMM et al., 1990). La forte proportion de Tubificidés sans soies capillaires par rapport aux Tubificidés avec soies capillaires retrouvée dans l'Orne et la Fensch devrait être interprétée comme un signe de pollution métallique (LAFONT, Communication personnelle).

III.5.2. - Résultats des dosages

Le tableau XVIII rassemble l'ensemble des résultats de dosage de plomb, cadmium et chrome obtenus sur les 6 cas où il y avait présence d'Oligochètes.

Pour les 3 métaux, il apparaît globalement que les concentrations sont plus importantes chez les Tubificidés avec soies capillaires que pour les Tubificidés sans soies capillaires. En outre, les concentrations sont plus élevées au cours de

la troisième campagne, ce qui peut être mis en relation avec une tendance observée avec les résultats de toxicité aiguë des chambres sédimentaires (Tableau III et IV) et sur eaux interstitielles (Tableau XIV).

Campagne	Site	TSSC	TASC
PLOMB			
1	FENSCH	19,5	32,2
2	ORNE	4,3	5,8
2	FENSCH	1,1	1,2
3	ORNE	3,9	249
3	FENSCH	10,8	105,3
3	BIEVRE	51,4	113,5
CADMIUM			
1	FENSCH	150,7	194,3
2	ORNE	16,6	2,8
2	FENSCH	0,7	3,2
3	ORNE	116,6	9965,0
3	FENSCH	154,2	3413,0
3	BIEVRE	1150,0	5192,0
CHROME			
1	FENSCH	17,8	20,8
2	ORNE	1,4	0,1
2	FENSCH	0,9	0,2
3	ORNE	3,5	71,4
3	FENSCH	1,6	7,9
3	BIEVRE	6,9	5

Tableau XVIII: Résultats des dosages de plomb, cadmium et chrome (exprimés en ng de métal / mg de matière sèche) dans les deux classes de Tubificidés retrouvées au cours des diverses campagnes (en gras sont figurés les cas où les concentrations retrouvées dans les TSSC sont au moins 2 fois supérieures à celles des TASC). TSSC = Tubificidés sans soies capillaires; TASC = Tubificidés avec soies capillaires.

III.6. - Résultats des analyses physico-chimiques des sédiments

Il faut signaler deux problèmes qui ont gravement limités l'interprétation des données :

- les échantillons de sédiment de la troisième campagne (20/06/95),
 - les échantillons d'eau de la deuxième campagne (18/05/95)
- ne sont pas parvenus au laboratoire chargé de faire les analyses

Néanmoins le tableau XIX permet de comparer, pour les deux premières campagnes, les concentrations retrouvées sur la fraction inférieure à 20 μm aux valeurs de référence admises dans le bassin Rhin Meuse (Agence de l'Eau Rhin-Meuse, 1991). Tous les métaux étudiés se trouvent en quantités supérieures aux valeurs de références. Ces résultats montrent que les trois sites sont sujets à une importante pollution polymétallique.

		ORNE	FENSCH	BIEVRE	Valeur-référence
	Cd	2,1	5,8	5,4	0,5
Camp.1	Cr	61,6	163	25,7	20
	Pb	347	732,7	117,1	20
	Cd	1,46	3,44	2,45	0,5
Camp.2	Cr	43,3	381	35,8	20
	Pb	393	1130	120	20

Tableau XIX: Résultats des dosages sur la fraction inférieure à 20 μm (exprimés en mg/kg de matière sèche)

IV - CONCLUSION GENERALE - MISE EN RELATION DES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES AVEC LES DONNEES DE TOXICITE ET DE BIOACCUMULATION

En raison de différents problèmes rencontrés, cette étude n'a pu être réalisée que partiellement et l'analyse statistique envisagée initialement n'a pu être effectuée. Une partie de ces problèmes provient des conditions météorologiques qui ont rendu délicate quelquefois la mise en place des chambres sédimentaires sur le fond des cours d'eau.

Néanmoins ce travail a permis de mieux cerner les limites pratiques de l'utilisation de ces chambres sédimentaires. Elles sont difficiles à placer lorsque le courant est fort (supérieur à 1 m/s) et lorsque la hauteur d'eau est plus grande que 1 m. Leur emploi semble donc réservé sur le terrain à un usage saisonnier (en principe de juin à septembre dans la région Est).

Il faut souligner que ce travail exploratoire n'a permis d'envisager que quelques utilisations de ces chambres, mais que cette technique constitue un formidable outil d'investigation multifonctionnel:

a) tout d'abord au laboratoire, pour mieux comprendre les facteurs qui influencent la biodisponibilité des toxiques en particulier ceux liés à la structure du sédiment, à sa composition, etc...

b) ensuite in situ, pour mieux étudier les échanges aux interfaces. Des dispositifs plus élaborés sont à prévoir pour étudier la toxicité et la bioaccumulation sur des temps plus longs.

Ces chambres pourraient en effet être facilement transformées en biocapteurs situés sur le fond des cours d'eau et susceptible de fournir non pas une photographie à un instant donné, mais des informations en continu et in situ.

Ces chambres pourraient également être transformées en chambres plurispécifiques permettant ainsi d'étudier le potentiel d'accumulation de diverses espèces.

Ce travail a également montré l'intérêt de pouvoir disposer d'un test sensible et qui fournit une réponse pour tous les cas. Le test chronique sur *Ceriodaphnia dubia* apparaît donc incontournable dans l'état actuel des connaissances.

Initialement une étude globale destinée à mettre en relation l'ensemble des paramètres physico-chimiques mesurés sur la colonne d'eau, le sédiment et l'eau interstitielle avec les données de toxicité et de bioaccumulation était prévue. La perte de certains échantillons, ainsi que (i) la faible toxicité rencontrée que ce soit in situ ou dans les tests réalisés sur eaux interstitielles et (ii) le peu de fiabilité de certains dosages réalisés nous ont obligé malheureusement à limiter la portée de ce travail.

Néanmoins, il a été possible de constater :

a) Une bonne corrélation entre les résultats du test céridaphnie réalisés sur eaux interstitielles et les concentrations totales de plomb ($r=0,75$), de cadmium ($r=0,53$) et de chrome ($r=0,66$). Toutefois, il reste à valider sur un plus grand nombre de cas que ces descripteurs physico-chimiques (sur eaux interstitielles) semblent suffisants pour prédire une toxicité vis-à-vis de la céridaphnie.

b) Les résultats de bioaccumulation obtenus avec les daphnies ou les Oligochètes ne sont pas corrélés aux paramètres physico-chimiques mesurés sur l'eau interstitielle (les seuls à être complets). Ceci montre, à l'inverse, que les descripteurs physico-chimiques sont peu appropriés pour décrire les phénomènes de bioaccumulation..

c) Une bonne corrélation entre les concentrations de cadmium retrouvées dans les scénarios Dm et dans les Tubificidés avec soies capillaires ($r = 0,73$) alors que cette corrélation n'existe pas entre ce même scénario Dm et les Tubificidés sans soies capillaires. Cette constatation mériterait d'être vérifiée à l'aide d'un nombre plus élevé d'échantillons. Cette corrélation n'est pas visible avec le plomb, ce qui mériterait d'être davantage compris

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AFNOR, 1991,
Détermination de l'inhibition de la luminescence de *Photobacterium phosphoreum*,
Norme Française, T90-320, 6p.

AGENCE DE L'EAU RHIN-MEUSE, 1991,
Indicateur de qualité des eaux superficielles. Concentrations de référence pour divers métaux et micropolluants organiques.
Rapport Agence de l'Eau Rhin-Meuse, 178 p.

ALLEN H.E., 1993,
The significance of trace metal speciation for water, sediment and soil quality criteria and standards,
Sci. Total Environ., supplement, 23-45.

ALLEN H.E., FU G. & DENG B., 1993,
Analysis of acid-volatile sulfide (AVS) and simultaneously extracted metals (SEM) for the estimation of potential toxicity in aquatic sediments,
Environ. Toxicol. Chem., 12, 1441-1453.

ANKLEY G.T., PHIPPS G.L., LEONARD E.N., BENOIT D.A., MATTSON V.R., KOSIAN P.A., COTTER A.M., DIERKES J.R., HANSEN D.J. & MAHONY J.D., 1991,
Acid volatile sulfide as a factor mediating cadmium and nickel bioavailability in contaminated sediments,
Environ. Toxicol. Chem., 10, 1299-1307.

ANKLEY G.T., MATTSON V.R., LEONARD E.N., WEST C.W. & BENNETT J.L., 1993,
Predicting the acute toxicity of copper in freshwater sediments : evaluation of the role of acid-volatile sulfide,
Environ. Toxicol. Chem., 12, 315-320.

ANKLEY G.T., LEONARD E.N. & MATTSON V.R., 1994,

Prediction of bioaccumulation of metals from contaminated sediments by the oligochaete *Lumbriculus variegatus*,
Wat. Res., 28, 1071-1076.

ARJONILLA M., FORJA J.M. & GOMEZ-PARRA A., 1994,
Sediment analysis does not provide a good measure of heavy metal bioavailability to *Cerastoderma glaucum* (mollusca : bivalvia) in confined coastal ecosystems,
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 52, 810-817.

A.S.T.M., 1991,
Standard guide for collection, storage, characterization, and manipulation of sediments for toxicological testing.
E 1391 - 90, 15 p.

BEAUNOIR V., 1995,
Contribution à l'étude intégrée (Toxicité, Accumulation, Physico-chimie) de la biodisponibilité de trois micropolluants (cadmium, chrome, plomb) dans trois sédiments différents,
D.E.A. de Toxicologie de l'Environnement, Centre des Sciences de l'Environnement, Université de Metz, 59 p.

BOAL PALHEIROS I., COSTA DUARTE A., OLIVEIRA J.P. & HALL A., 1989,
The influence of pH, ionic strength and chloride concentration on the adsorption of cadmium by a sediment,
Wat. Sci. Technol., 21, 1873-1876.

BODAR C.W.M., ZEE A.V.D., VOOGT P.A., WYNNE H. & ZANDEE D.I., 1989,
Toxicity of heavy metals to early life stages of *Daphnia magna*,
Ecotox. and Environ. Safety, 17, 333-338.

BOUCHE M.L., 1994,
Etude écotoxicologique des sédiments de trois rivières : l'Orne, la Fensch et la Bièvre,
D.E.A. de Toxicologie de l'Environnement, Centre des Sciences de l'Environnement, Université de Metz, 43 p.

BRYAN G.W. & LANGSTON W.J., 1992,
Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries : a review,

Environ. Pollut., ser B, 76, 89-131.

BRYANT V., McLUSKY D.S., RODDIE K. & NEWBERY D.M., 1984,
Effect of temperature and salinity on the toxicity of chromium to three estuarine invertebrates (*Corophium volutator*, *Macoma balthica*, *Nereis diversicolor*),
Mar. Ecol. Prog. Ser., 20, 137-149.

BUBB J.M. & LESTER J.N., 1991,
The impact of heavy metals on lowland rivers and the implications for man and the environment,
Sci. Total Environ., 100, 207-233.

BURTON G.A., 1991,
Assessing the toxicity of freshwater sediments,
Environ. Toxicol. Chem., 10, 1585-1627.

BURTON G.A., LA POINT T. & ZARBA C., 1993,
Contamination assessment of sediments in freshwater ecosystems,
in Hazard assessment of chemicals, volume 8, 171-204, SAXENA J. (Ed.),
Taylor & Francis, Washington D.C., USA

BURTON G.A. & McPHERSON C., 1994,
Sediment toxicity testing issues and methods,
in Handbook of ecotoxicology, HOFFMAN et al. (Eds.), Lewis, Boca Raton,
USA

CAIRNS M.A. et al., 1984, cités par GIESY J.P. et al., 1990,

CAMPBELL P.G.C. & STOKES P.M., 1985, cités par MACKIE G.L., 1989,

CARIGNAN R., RAPIN F. & TESSIER A., 1985,
Sediment porewater sampling for metals analysis : a comparison of techniques,
Geochimica et Cosmochimica Acta, 49, 2493-2497.

CARLSON A.R., PHIPPS G.L., MATTSON V.R., KOSIAN P. & COTTER A.M., 1991,
The role of acid-volatile sulfide in determining cadmium bioavailability and toxicity in freshwater sediments,
Environ. Toxicol. Chem., 10, 1309-1319.

CARLSON L. et al., 1977, cités par SINGH S.K. & SUBRAMANIAN V., 1984,

CARLSON, A.R., PHIPPS, G.L, MATTSON, V.R, KOSIAN, P.A & COTTER, A.M., 1991,

The role of acid volatile sulfide in determining cadmium bioavailability and toxicity in freshwater sediments.

Environ. Toxicol. Chem., 10, 1309-1319.

CASAS A.M. & CRECELIUS E.A., 1994,

Relationship between acid volatile sulfide and the toxicity of zinc, lead and copper in marine sediments,

Environ. Toxicol. Chem., 13, 529-536.

CHAPMAN P.M., 1989,

Current approaches to developing sediment quality criteria,

Environ. Toxicol. Chem., 8, 529-536.

CHAPMAN P.M., 1980,

Heavy metal studies with oligochaetes in C.R. Congrès « Aquatic Oligochaetes biology », 477-502, BRINKHURST R.O. & COOK D.G. (Eds.)

DI TORO D.M., MAHONY J.D., HANSEN D.J., SCOTT K.J., HICKS M.B., MAYR S.M. & REDMOND M.S., 1990,

Toxicity of cadmium in sediments : the role of acid-volatile sulfide,

Environ. Toxicol. Chem., 9, 1487-1502.

DI TORO D.M., MAHONY J.D., HANSEN D.J., SCOTT K.J., CARLSON A.R. & ANKEY G.T., 1992,

Acid volatile sulfide predicts the acute toxicity of cadmium and nickel in sediments,

Environ. Sci. Technol., 26, 96-101.

FERARD J.F. & MUGEL M., 1978,

Elaboration d'un modèle de chaîne trophique dulçaquicole et application à une étude écotoxicologique du cadmium,

Thèse de docteur en écotoxicologie et chimie de l'environnement, Université de Metz, 344 p.

FERRARI B., 1993,

Effets de la fréquence des apports nutritionnels sur la reproduction de *Ceriodaphnia dubia*,

D.E.A. de Toxicologie de l'Environnement, Centre des Sciences de l'Environnement, Université de Metz, 42 p.

FLORENCE T.M., MORRISON G.M. & STAUBER J.L., 1992,
Determination of trace element speciation and the role of speciation in aquatic toxicity,
Sci. Total Environ., 125, 1-13.

FU G., ALLEN H.E. & CAO Y., 1992,
The importance of humic acids to proton and cadmium binding in sediments,
Environ. Toxicol. Chem., 11, 1363-1372.

GARY L.P. & PHIPPS G.L., 1993,
Use of the aquatic oligochaete *Lumbriculus variegatus* for assessing the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants,
Environ. Toxicol. Chem., 12, 269-279

GEORGE S.G. & COOMBS T.L., 1977,
The effects of chelating agents on the uptake and accumulation of cadmium by *Mytilus edulis*,
Marine Biol., 39, 261-268.

GIESY J.P., ROSIU C.J., GRANNEY R.L. & HENRY M.G., 1990,
Benthic invertebrate bioassays with toxic sediment and pore water,
Environ. Toxicol. Chem., 9, 233-248.

GJESSING E.T., 1981,
The effect of aquatic humus on the biological availability of cadmium,
Arch. Hydrobiol., 91, 144-149.

GOULET M., POTVIN P. & PRIMEAU S., 1982,
Toxiques inorganiques dans l'eau des rivières et des lacs du Québec méridional,
Direction Générale des Inventaires et de la Recherche, Ministère de l'Environnement Québécois, 269p.

GRANNEY R.L., CHERRY D.S. & CAIRNS J., 1984,
The influence of substrate, pH, diet and temperature upon cadmium accumulation in the asiatic clam (*Corbicula fluminea*) in laboratory artificial streams,
Wat. Res., 18, 833-842.

GREEN A.S., CHANDLER G.T. & BLOOD E.R., 1993,
Aqueous-, pore-water-, and sediment-phase cadmium : toxicity relationships for
meiobenthic copepod,
Environ. Toxicol. Chem., 12, 1497-1506.

HARE L., 1992,
Aquatic insects and trace metals : bioavailability, bioaccumulation, and toxicity,
C.R. Toxicol, 22, 327-369.

HULBERT M.H. & BRINDLE M.P., 1975, cités par l'A.S.T.M., 1991,

HUNG Y.W., 1982,
Effects of temperature and chelating agents on cadmium uptake in the american
oyster,
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 28, 546-551.

ISO, 1995,
Qualité de l'eau. Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna*
Straus (Cladocera, Crustacea),
Norme internationale, ISO 6341 - 1995(F).

JAWORSKI J.F., 1980,
Effets du plomb dans l'environnement. 1978. Aspects quantitatifs,
Conseil National de Recherches au Canada. Comité associé du CNRC sur les
critères scientifiques concernant l'état de l'environnement, 853 p.

JENNE E.A., BACCINI P., BAULD J., BRUMMER G.W., CHAU Y.K.,
FRIMMEL F.H., GAMBLE D.S., KABATA-PENDIAS A., KANE P.F.,
LECKIE J.O, MULLER G.K., PROSI F.P. & TOBSCHALL H.J., 1984,
Chemical species in freshwater and terrestrial systems, in C.R. Congrès The
importance of chemical speciation in environmental process, 121-147, Berlin, 2-7
septembre 1984, BERNHARD M. et al. (Eds.), Springer Verlag, Berlin, 1986.

JENNE, E.A., DI TORO, H.E., ALLEN and ZARBA, 1986,
An activity-based model for developing sediment criteria for metals : Part 1. A
new approach in C.R. Congrès « International Conference Chemicals in the
environment » , 560-568, Lisbonne.

KEMP P.F. & SWARTZ R.C., 1988,
Acute toxicity of interstitial and particle-bound cadmium to a marine infaunal
amphipod,
Marine Environ. Res., 26, 135-153.

KLEMM, D.J., LEWIS, P.A, FULK, F. & LAZORCHAK, J.M., 1990, Macoinvertebrate field and laboratory methods for evaluating the biological integrity of surface water.

Rapport EPA 600/ 4-90/030. U.S. Environmental Protection Agency, Duluth, USA.

KRANTZBERG G. & BOYD D., 1992,

The biological significance of contaminants in sediment from Hamilton Harbour, lake Ontario,

Environ. Toxicol. Chem., 11, 1527-1540.

LAFONT M., 1983,

Annelides Oligochètes, in Introduction pratique à la systématique des organismes des eaux continentales françaises, extrait du Bulletin mensuel de la Société Linnéenne de Lyon.

LAFONT M., 1989,

Contribution à la gestion des eaux continentales: utilisation des oligochètes comme descripteurs de l'état biologique et du degré de pollution des eaux et des sédiments,

Thèse de Doctorat es Sciences, Université Claude Bernard, Lyon, 311 p.

LANDRUM P.F. et al., 1987, cités par l'A.S.T.M., 1991,

LANGEVIN R., RASMUSSEN J.B., SLOTEDIJK H. & BLAISE C., 1992,

Genotoxicity in water and sediment extracts from the St Lawrence River system using the SOS chromotest,

Wat. Res., 26, 419-429.

LEE G.F. & JONES R.A., 1992, comm. pers.,

LION L., ALTMANN R.S. & LECKIE J.O., 1982,

Trace-metal adsorption characteristics of estuarine particulate matter : evaluation of contributions of Fe/Mn oxide and organic surface coatings,

Environ. Sci. Technol., 16, 660-666.

LUOMA S.N., 1983,

Bioavailability of trace metals to aquatic organisms; A review,

Sci. Total Environ., 28, 1-22.

LUOMA S.N., 1989,

Can we determine the biological availability of sediment-bound trace elements ?,
Hydrobiologia, 176/177, 379-396.

LUOMA S.N. & BRYAN G.W., 1978,
Factors controlling the availability of sediment-bound lead to the estuarine
bivalve *Scrobicularia plana*,
J. Mar. Biol. Ass. U.K., 58, 793-802.

LUOMA S.N. & BRYAN G.W., 1982,
A statistical study of environmental factors controlling concentrations of heavy
metals in the burrowing bivalve *Scrobicularia plana* and the polychaete *Nereis
diversicolor*,
Estuarine, Coastal and Shelf Science, 15, 95-108.

MACKIE G.L., 1989,
Tolerances of five benthic invertebrates to hydrogen ions and metals (Cd, Pb, Al),
Arch. Environ. Contam. Toxicol., 18, 215-223.

McLUSKY D.S., BRYANT V. & CAMPBELL R., 1986,
The effects of temperature and salinity on the toxicity of heavy metals to marine
and estuarine invertebrates,
Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev., 24, 481-520.

MOREL et al., 1974, cités par JAWORSKI J.F., 1980,

OAKLEY S.M., NELSON P.O. & WILLIAMSON K.J., 1981,
Model of trace-metal partitioning in marine sediments,
Environ. Sci. Technol., 15, 474-480.

PERSOONE G., VAN DE VEL A., VAN STEERTEGEM M. & DE MAYER
B., 1989,
Predictive value of laboratory tests with aquatic invertebrates : influence of
experimental conditions,
Aquat. Toxicol., 14, 149-166.

PROSI F., 1989,
Factors controlling biological availability and toxic effects of lead in aquatic
organisms,
Sci. Total Environ., 79, 157-169.

RASPOR B., 1991,
Metals and metals compounds in waters, in *Metals and their compounds in the
environment*, 233-255, Merian E. (Ed.), VCH, Weinheim.

- REYNOLDSON T.B., 1987,
Interactions between sediment contaminants and benthic organisms,
Hydrobiologia, 149, 53-66.
- SASSON-BRICKSON G. & BURTON G.A., 1991,
In situ and laboratory sediment toxicity testing with *Ceriodaphnia dubia*,
Environ. Toxicol. Chem., 10, 201-207.
- SCHUBAUER-BERIGAN M.K. & ANKLEY G.T., 1991,
The contribution of ammonia, metals and non polar organic compounds to the
toxicity of sediment interstitial water from an Illinois river tributary,
Environ. Toxicol. Chem., 10, 925-939.
- SCHUYTEMA G.S. et al., 1984, cités par GIESY J.P. et al, 1990,
- SINGH S.K. & SUBRAMANIAN V., 1984,
Hydrous Fe and Mn oxides. Scavengers of heavy metals in the aquatic
environment,
C.R.C. Crit. Rev. Environ. Control, 14, 33-90.
- SKALSKI C.J., 1991,
Laboratory and in situ sediment toxicity evaluations with early life stages of
Pimephales promelas,
Thèse Sc. Master, Wright State University, Dayton, OH.
- STACKHOUSE R.A. & BENSON W.H., 1989,
Interaction of humic acid with selected trace metals : influence on
bioaccumulation in daphnids,
Environ. Toxicol. Chem., 8, 639-644.
- STEPHENSON M. & MACKIE G.L., 1988,
Multivariate analysis of correlations between environmental parameters and
cadmium concentrations in *Hyalella azteca* (Crustacea : amphipoda) from central
Ontario lakes,
Can. J. Fish. Aquat. Sci., 45, 1705-1710.
- SWARTZ R.C., DITSWORTH G.R., SCHULTS D.W. & LAMBERSON J.O.,
1985,
Sediment toxicity to a marine infaunal amphipod : cadmium and its interaction
with sewage sludge,
Marine Environ. Res., 18, 133-153.

WANG W., 1987,
Factors affecting metal toxicity to (and accumulation by) aquatic organisms,
Overview,
Environment International, 13, 437-457.

WARREN L.J., 1981,
Contamination of sediments by lead, zinc and cadmium : a review,
Environ. Pollut., ser. B, 2, 401-436.

WATSON P.G. et al., 1985, cités par l'A.S.T.M., 1991,

WHITLEY L.S., 1968,
The resistance of Tubificid worms to three common pollutants,
Hydrobiologia, 32, 193-205

WILLIAMS K.A., GREEN D.W., PASCOE D. & GOWER D.E., 1987,
Effect of cadmium on oviposition and egg viability in *Chironomus riparius*
(Diptera : chironomidae),
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 38, 86-90.

WINNER R.W., 1984,
The toxicity and bioaccumulation of cadmium and copper as affected by humic
acid,
Aquat.Toxicol., 5, 267-274.

WINNER R.W. & GAUSS J.D., 1986,
Relationships between chronic toxicity and bioaccumulation of copper, cadmium
and zinc as affected by water hardness and humic acid,
Aquat. Toxicol., 8, 149-161.