

Université de Metz  
UFR Sci.FA



Centre de Recherches Ecologiques  
Equipe d'Ecotoxicologie

THESE

Présentée à l'Université de Metz en vue de l'obtention du grade de :

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE METZ**

Mention : Sciences de la vie

Spécialité : Toxicologie de l'environnement

Par

**Bruno CLAVERI**

Titre

**Les bryophytes aquatiques comme traceurs de la contamination  
métallique des eaux continentales.**

**Influence de différents paramètres sur l'accumulation des métaux et développement d'un  
Module d'Intégration de la Micropollution (M.L.M.)**

Soutenue le **5** décembre 1995 **devant** la commission d'examen

Jean-Claude PIHAN	Professeur à l'Université de Metz	Directeur de Thèse
Michèle TREMOLIERES	Professeur à l'Université de Strasbourg	<b>Rapporteur</b>
Guy VAILLANCOURT	Professeur à l'Université du Québec à Trois-Rivières	Rapporteur
Christophe MOUVET	Chef de projet au BRGM	Codirecteur de thèse
Serge MULLER	Professeur à l'Université de Metz	Examineur
Didier VAZELLE	Ingénieur à la Direction des Etudes et Recherches de EDF	Examineur
Xavier <b>BOURRAIN</b>	Ingénieur à l'Agence de <b>l'Eau</b> Loire-Bretagne	Examineur



## SOMMAIRE

	PAGES
<b>Introduction</b>	17
 <b>Chapitre I:</b> <b>Analyse bibliographique</b>	
<b>I-1 LES METAUX DANS L'ECOSYSTEME AQUATIQUE</b>	21
<b>I-1-1 ORIGINE ET DISSEMINATION DANS LA BIOSPHERE</b>	21
<b>I-1-2 DEVENIR ET REPARTITION DES METAUX DANS LES ECOSYSTEMES AQUATIQUES CONTINENTAUX</b>	25
<b>I-1-3 IMPLICATION DE LA SPECIATION DES METAUX DANS L'EVALUATION DE LA CONTAMINATION D'UN MILIEU ET DE SES EFFETS SUR LES BIOCENOSES</b>	25
<b>1-2 LES METHODES D'EVALUATION DE LA CONTAMINATION METALLIQUE</b>	27
<b>1-2-1 INTERET DE L'UTILISATION DES VARIABLES BIOLOGIQUES: NOTION D'INDICATEUR BIOLOGIQUE</b>	27
<b>1-2-2 LE MONITORING BIOLOGIQUE</b>	28
<b>1-2-3 LE MONITORING CHIMIQUE</b>	29
<b>I-2-4 LA PLACE DES MOUSSES AQUATIQUES AU SEIN DES METHODES D'EVALUATION DE LA CONTAMINATION DES ECOSYSTEMES</b>	30
<b>I-3 LES MOUSSES AQUATIQUES COMME TRACEURS DE LA MICROPOLLUTION METALLIQUE</b>	31
<b>1-3-1 BIOLOGIE DES BRYOPHYTES AQUATIQUES EN GENERAL</b>	31
<i>Systematique</i>	
<i>Physiologie</i>	
<i>Ecologie</i>	
<b>I-3-2 ...ET DE L'ESPECE <i>RHYNCHOSTEGIUM RIPARIOIDES</i> EN PARTICULIER</b>	33
<i>Structure et organisation de la plante</i>	
<i>Physiologie de la plante</i>	
<i>Repartition géographique</i>	
<b>I-3-3 ASSIMILATION DES ELEMENTS NUTRITIFS PAR LES BRYOPHYTES</b>	37
<i>Accumulation et localisation extracellulaire des éléments</i>	
<i>Accumulation intracellulaire des éléments</i>	
<i>Mouvement des éléments au sein de l'organisme</i>	

<b>I-3-4</b> ACCUMULATION PREFERENTIELLE DES METAUX	<b>40</b>
I-3-5 PENETRATION INTRACELLULAIRE DES METAUX	41
<b>I-3-6</b> CINETIQUE D'ACCUMULATION ET DE RELARGAGE DES METAUX PAR LES BRYOPHYTES AQUATIQUES	<b>43</b>
<b>I-3-7</b> FACTEURS DU MILIEU INFLUENCANT L'ACCUMULATION ET LE RELARGAGE DES METAUX	<b>45</b>
<b>I-3-8</b> CHAMP D'APPLICATION DES MOUSSES AQUATIQUES COMME TRACEURS DE LA CONTAMINATION METALLIQUE	<b>48</b>
<i>Les avantages des mousses aquatiques</i>	
<i>Les différentes méthodologies</i>	
<i>Les différentes applications faisant appel aux mousses aquatiques</i>	

## **Chapitre II: Materiel et méthodes**

<b>II-1</b> CHOIX DES SITES DE PRELEVEMENT	<b>53</b>
II-2 COLLECTE DES ORGANISMES	55
<b>II-3</b> DISPOSITIF EXPERIMENTAL DE LABORATOIRE	<b>57</b>
<b>II-4</b> DISPOSITIF EXPERIMENTAL <i>IN SITU</i>	<b>58</b>
<b>II-5</b> SUIVI DE LA PHYSICO-CHEMIE DU MILIEU	<b>59</b>
<b>II-5-1</b> EN LABORATOIRE	<b>59</b>
<i>Echantillonnage</i>	
<i>Les paramètres physico-chimiques</i>	
<i>Les anions et cations majeurs</i>	
<i>Les métaux</i>	
<b>II-5-2</b> <i>IN SITU</i>	<b>60</b>
<i>Echantillonnage</i>	
<i>Les paramètres physico-chimiques</i>	
<i>Les anions et cations majeurs</i>	
<i>Les métaux</i>	
<b>II-6</b> SUIVI DES CONCENTRATIONS EN METAUX DANS LES MOUSSES	<b>61</b>
<b>II-6-1</b> ECHANTILLONNAGE ET CONDITIONNEMENT	<b>61</b>
<i>Echantillonnage</i>	
<i>Lavage des mousses en laboratoire</i>	
<i>Séchage</i>	
<b>II-6-2</b> PREPARATION D'UNE ECHANTILLONNEUSE EN VUE DU DOSAGE	<b>63</b>
<i>Partie de la mousse utilisée pour le dosage des métaux</i>	
<i>Pesée</i>	
<i>Minéralisation</i>	

<b>11-6-3 DOSAGES ET EXPRESSION DES RESULTATS</b>	<b>65</b>
<i>Dosage des métaux en SAA</i>	
<i>Détermination du pourcentage de résidu</i>	
<i>Incertitudes sur la mesure</i>	
<b>II-7 MESURE DE L'ACTIVITE PHOTOSYNTHETIQUE DES MOUSSES</b>	<b>69</b>
11-7-1 PRINCIPE	69
11-7-2 DISPOSITIF EXPERIMENTAL	69
11-7-3 MESURE	69
11-7-4 CALCUL ET EXPRESSION DES RESULTATS	71
<b>II-8 DETERMINATION DES CONCENTRATIONS METALLIQUES DANS LES MATIERES EN SUSPENSION</b>	<b>71</b>
<b>II-9 TECHNIQUES ET PREPARATIONS POUR L'OBSERVATION MICROSCOPIQUE</b>	<b>72</b>
11-9-1 PREPARATIONS DES COUPES	72
<i>Fixation</i>	
<i>Déshydratation</i>	
<i>Imprégnation et inclusion</i>	
11-9-2 OBSERVATIONS TOPOGRAPHIQUES	73
11-9-3 OBSERVATIONS HISTOCHIMIQUES	73

### **Chapitre III:**

## **Effet de la température de l'eau sur l'accumulation du cuivre et l'assimilation de CO<sub>2</sub> par *Rhynchostegium riparioides***

<b>III-1 INTRODUCTION</b>	<b>75</b>
<b>III-2 PROTOCOLE EXPERIMENTAL</b>	<b>77</b>
III-2-1 DISPOSITIF EXPERIMENTAL	77
<i>Modifications des unités expérimentales</i>	
<i>Régulation du pH</i>	
<i>Régulation de la température de l'eau</i>	
11-2-2 PROTOCOLE EXPERIMENTAL	78
<i>Conditions d'exposition des mousses</i>	
<i>Fréquence de prélèvement et de mesure</i>	
<i>Prélèvement pour la mesure de l'activité photosynthétique</i>	
<i>Statistiques</i>	
<b>III-3 RESULTATS</b>	<b>79</b>
<i>Conditions d'exposition des mousses</i>	
<i>Cinétiques d'accumulation et de relargage du cuivre</i>	

*Evolution de l'activité photosynthétique des mousses*

<b>III-4</b>	<b>DISCUSSION</b>	<b>84</b>
<b>III-5</b>	<b>CONCLUSION</b>	<b>85</b>

**Chapitre IV:**  
**Influence du régime d'écoulement des eaux sur l'accumulation  
des métaux par *Rhynchostegium riparioides***

<b>IV-1</b>	<b>INTRODUCTION</b>	<b>87</b>
<b>IV-2</b>	<b>ETUDE EN LABORATOIRE</b>	<b>88</b>
<b>IV-2-1</b>	<b>PROTOCOLE EXPERIMENTAL</b>	<b>88</b>
	<i>Dispositif expérimental</i>	
	<i>Conditions d'exposition des mousses</i>	
	<i>Fréquence d'échantillonnage et de mesure</i>	
	<i>Statistiques</i>	
<b>IV-2-2</b>	<b>RESULTATS</b>	<b>90</b>
	<i>Conditions d'exposition des mousses</i>	
	<i>Cinétiques d'accumulation de Cr, CU et Zn</i>	
	<i>Cinétiques de relargage de Cr, CU et Zn</i>	
<b>IV-3</b>	<b>ETUDE IN SITU</b>	<b>97</b>
<b>IV-3-1</b>	<b>PROTOCOLE EXPERIMENTAL</b>	<b>97</b>
	<i>Site d'étude</i>	
	<i>Dispositif expérimental</i>	
	<i>Fréquence d'échantillonnage et de mesure</i>	
	<i>Statistiques</i>	
<b>IV-3-2</b>	<b>RESULTATS</b>	<b>98</b>
	<i>Conditions d'exposition</i>	
	<i>Concentrations en Cr, CU et Zn dans les mousses transplantées selon le régime d'écoulement des eaux</i>	
	<i>Concentrations en métaux dans les mousses autochtones en fonction du régime d'écoulement des eaux</i>	
	<i>Comparaison des concentrations en <b>métaux</b> entre les mousses autochtones et les mousses transplantées</i>	
<b>IV-4</b>	<b>DISCUSSION</b>	<b>107</b>
<b>IV-5</b>	<b>CONCLUSION</b>	<b>112</b>

**Chapitre V:**  
**Approche des mécanismes d'accumulation du cuivre par  
*Rhynchostegium riparioides*. Localisation cellulaire du métal**

<b>V-1</b>	<b>INTRODUCTION</b>	<b>115</b>
------------	---------------------	------------

<b>I-3-4</b> ACCUMULATION PREFERENTIELLE DES METAUX	40
I-3- <b>PENETRATION</b> INTRACELLULAIRE DES METAUX	41
<b>I-3-6</b> CINETIQUES D'ACCUMULATION ET DE RELARGAGE DES METAUX PAR LES BRYOPHYTES AQUATIQUES	43
I-3-7 FACTEURS DU MILIEU INFLUENCANT L'ACCUMULATION ET LE RELARGAGE DES METAUX	45
<b>I-3-8</b> CHAMP D'APPLICATION DES MOUSSES AQUATIQUES COMME TRACEURS DE LA CONTAMINATION METALLIQUE	48
<i>Les avantages des mousses aquatiques</i>	
<i>Les différentes méthodologies</i>	
<i>Les différentes applications faisant appel aux mousses aquatiques</i>	

## **Chapitre II: Matériel et méthodes**

<b>II-1 CHOIX DES SITES DE PRELEVEMENT</b>	53
<b>II-2 COLLECTE DES ORGANISMES</b>	55
<b>II-3 DISPOSITIF EXPERIMENTAL DE LABORATOIRE</b>	57
<b>II-4 DISPOSITIF EXPERIMENTAL <i>IN SITU</i></b>	58
<b>II-5 SUIVI DE LA PHYSICO-CHIMIE DU MILIEU</b>	59
<b>11-5-EN LABORATOIRE</b>	59
<i>Echantillonnage</i>	
<i>Les paramètres physico-chimiques</i>	
<i>Les unions et cations majeurs</i>	
<i>Les métaux</i>	
<b>11-5-2 <i>INSITU</i></b>	60
<i>Echantillonnage</i>	
<i>Les paramètres physico-chimiques</i>	
<i>Les unions et cations majeurs</i>	
<i>Les métaux</i>	
<b>II-6 SUIVI DES CONCENTRATIONS EN METAUX DANS LES MOUSSES</b>	61
<b>II-6-1 ECHANTILLONNAGE ET CONDITIONNEMENT</b>	61
<i>Echantillonnage</i>	
<i>Lavage des mousses en laboratoire</i>	
<i>Séchage</i>	
<b>11-6-2 PREPARATION DE SECHANTILLONS EN VUE DU DOSAGE</b>	63
<i>Partie de la mousse utilisée pour le dosage des métaux</i>	
<i>Pesée</i>	
<i>Minéralisation</i>	

III-4 DISCUSSION	84
III-5 CONCLUSION	85

## Chapitre IV:

### Influence du régime d'écoulement des eaux sur l'accumulation des métaux par *Rhynchostegium riparioides*

IV-1 INTRODUCTION	87
IV-2 ETUDE EN LABORATOIRE	88
IV-2-1 PROTOCOLE EXPERIMENTAL	88
<i>Dispositif expérimental</i>	
<i>Conditions d'exposition des mousses</i>	
<i>Fréquence d'échantillonnage et de mesure</i>	
<i>Statistiques</i>	
IV-2-2 RESULTATS	90
<i>Conditions d'exposition des mousses</i>	
<i>Cinétiques d'accumulation de Cr, CU et Zn</i>	
<i>Cinétiques de relargage de Cr, CU et Zn</i>	
IV-3 ETUDE <i>IN SITU</i>	97
IV-3-1 PROTOCOLE EXPERIMENTAL	97
<i>Site d'étude</i>	
<i>Dispositif expérimental</i>	
<i>Fréquence d'échantillonnage et de mesure</i>	
<i>Statistiques</i>	
IV-3-2 RESULTATS	98
<i>Conditions d'exposition</i>	
<i>Concentrations en Cr, CU et Zn dans les mousses transplantées selon le régime d'écoulement des eaux</i>	
<i>Concentrations en métaux dans les mousses autochtones en fonction du régime d'écoulement des eaux</i>	
<i>Comparaison des concentrations en métaux entre les mousses autochtones et les mousses transplantées</i>	
IV-4 DISCUSSION	107
IV-5 CONCLUSION	112

## Chapitre V:

### Approche des mécanismes d'accumulation du cuivre par *Rhynchostegium riparioides*. Localisation cellulaire du métal

V-1 INTRODUCTION	115
------------------	-----

<b>V-2 MISE AU POINT D'UNE TECHNIQUE DE DESORPTION DES METAUX</b>	<b>117</b>
<b>V-2-1 INTRODUCTION</b>	<b>117</b>
<b>V-2-2 MATERIELS ET METHODES</b>	<b>118</b>
<i>Les paramètres testés</i>	
<i>Préparation des solutions de désorption</i>	
<i>Protocole expérimental</i>	
<i>Expression des résultats</i>	
<b>V-2-3 RESULTATS ET DISCUSSION</b>	<b>125</b>
<i>Choix du traitement optimum</i>	
<i>Signification de l'information recueillie</i>	
<b>V-3 LOCALISATION ET QUANTIFICATION DES DIFFERENTES FRACTIONS METALLIQUES ACCUMULEES PAR LES MOUSSES AQUATIQUES</b>	<b>129</b>
<b>V-3-1 PROTOCOLE EXPERIMENTAL</b>	<b>129</b>
<i>Déroulement de l'expérience</i>	
<i>Dispositif expérimental</i>	
<i>Conditions d'exposition des mousses</i>	
<i>Fréquence d'échantillonnage et de mesure</i>	
<i><b>Prélèvement pour l'étude de la répartition des métaux</b></i>	
<i>Mesure de l'activité photosynthétique</i>	
<i>Fréquence de prélèvement pour l'observation microscopique</i>	
<i>Statistiques</i>	
<b>V-3-2 RESULTATS</b>	<b>131</b>
<i>Conditions d'exposition des mousses</i>	
<i>Evolution de la répartition du cuivre accumulé par les mousses</i>	
<i>Evolution de l'activité photosynthétique</i>	
<b>V-3-3 STRUCTURE PARIETALE D'UNE CELLULE DE BRYOPHYTE</b>	<b>137</b>
<b>V-3-4 LOCALISATION ET REPARTITION DU CUIVRE DANS LA PLANTE</b>	<b>140</b>
<b>V-3-5 DISCUSSION</b>	<b>147</b>
<b>V-3-6 CONCLUSION</b>	<b>149</b>

## **Chapitre VI:**

### **Optimisation de la méthode des bryophytes aquatiques pour l'évaluation de la micropollution métallique**

<b>VI-1 INTRODUCTION</b>	<b>151</b>
<b>VI-2 DEVELOPPEMENT D'UN MODELE MATHEMATIQUE DECRIVANT LES RELATIONS D'ECHANGE A L'INTERFACE EAU-BRYOPHYTES</b>	<b>152</b>
<b>VI-2-1 THEORIE DU MODELE</b>	<b>152</b>
<b>VI-2-2 DETERMINATION DES CONSTANTES CINETIQUES</b>	<b>154</b>



*Expérience de laboratoire*  
*Principe de calcul des constantes  $k_1$ ,  $k_{-1}$  et  $k_2$*   
*Calcul des constantes cinétiques*

<b>VI-3 DEVELOPPEMENT D'UN MODULE EXPERIMENTAL</b>	<b>159</b>
<b>w-3-1 INTRODUCTION</b>	<b>159</b>
<b>VI-3-2 PRINCIPE</b>	<b>161</b>
<b>w-3-3 CARACTERISTIQUES TECHNIQUES</b>	<b>161</b>
<i>L 'alimentation en eau</i>	
<i>Le <b>décanteur</b></i>	
<i>Le bac d 'immersion</i>	
<i>L 'alimentation électrique</i>	
<i>Le <b>coffre</b> de protection</i>	
<b>VI--EVALUATION DE LA CONTAMINATION METALLIQUE DE REJETS INDUSTRIELS</b>	<b>165</b>
<b>VI-4-1 INTRODUCTION</b>	<b>165</b>
<b>VI-4-2 PROTOCOLE EXPERIMENTAL</b>	<b>167</b>
<i>Sites et stations d'étude</i>	
<i>Suivi des concentrations métalliques dans l 'eau</i>	
<i>Suivi des concentrations métalliques dans les mousses</i>	
<i>Conditions d'utilisation du module expérimental</i>	
<i>Suivi de la physico-chimie du milieu</i>	
<i>Suivi des concentrations en métaux dans les matières en suspension</i>	
<i>Statistiques</i>	
<b>VI-4-3 RESULTATS</b>	<b>169</b>
<i>Physico-chimie des rejets</i>	
<i>Concentrations en métal total et dissous <b>dans</b> les rejets</i>	
<i>Concentrations en métaux dans les mousses aquatiques transplantées</i>	
<i>Concentrations métalliques dans les matières en suspension <b>centrifugées</b></i>	
<b>VI-4-4 INFORMATIONS RECUEILLIES PAR L'INTERMEDIAIRE DU MODULE EXPERIMENTAL</b>	<b>173</b>
<i>Conditions d'utilisation du module</i>	
<i>Conditions d'exposition des mousses</i>	
<i>Rendement de décantation</i>	
<i>Concentrations en métaux dans l 'eau</i>	
<i>Concentrations en métaux dans les mousses</i>	
<i>Concentrations métalliques dans les matières en suspension décantées</i>	
<b>VI-4-5 APPLICATION DU MODELE MATHEMATIQUE AUX DONNEES RECUEILLIES</b>	<b>177</b>
<i><b>Définition</b> d'une stratégie d'échantillonnage</i>	
<i>Application du modèle mathématique et de la stratégie d'échantillonnage</i>	
<b>VI-5 DISCUSSION</b>	<b>183</b>
<i>Les bryophytes aquatiques et les matières en suspension comme traceurs complémentaires de la pollution par les métaux</i>	
<i>Utilisation du module expérimental en parallèle avec la méthode des transferts</i>	
<i>Utilisation du <b>modèle</b> mathématique</i>	

# **Chapitre VII: Discussion générale**

<b>VII-1 PROPOSITION D'UN SCHEMA DE PRINCIPE DECRIVANT L'ACCUMULATION ET LERELARGAGEDESMETAUXPARLESBRYOPHYTESAQUATIQUES</b>	<b>191</b>
<b>VII- 1-2 PRESENTATION</b>	<b>191</b>
<b>VII-1-2 LES POINTS NON ECLAIRCIS</b>	<b>196</b>
<b>VII-2 ~NTERETSETLJMITESDEL'EMPLOIDELAMETHODEDESTRANSFERTS</b>	<b>197</b>
<b>VII-2-1IMPORTANCE DES CARACTERISTIQUES PHYSIQUES ET CHIMIQUES DE LA STATIONDETRANSFERT</b>	<b>197</b>
<b>VII-2-2 AVANTAGES ET INCONVENIENTS DE L'EMPLOI DE LA METHODE DES TRANSFERTS</b>	<b>201</b>
<b>VII-3 INTERETS ET LIMITES ACTUELLES DE L'APPLICATION DU MODELE MATHEMATIQUE ET DE L'EMPLOI DU MODULE EXPERIMENTAL</b>	<b>202</b>
<b>Conclusion</b>	<b>207</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>211</b>
<b>Annexes</b>	<b>223</b>

# Introduction

Les problèmes de pollution engendrés par le bouleversement des cycles géochimiques et le développement industriel sont aujourd'hui, pour la plupart, connus et identifiés. De part la circulation et les flux d'éléments dans la biosphère, les émissions de polluants, qu'elles soient solides, liquides ou gazeuses ont souvent comme milieu récepteur final le milieu aquatique, sujet à une forte pression anthropique. Les métaux, éléments constitutifs du tableau périodique sont employés dans une large gamme de procédés industriels et sont omniprésents dans notre vie quotidienne. Notre civilisation **général** des masses considérables de déchets, il résulte une large dissémination de ces éléments dans la biosphère. Si tous ces éléments sont naturels, leur présence au sein des écosystèmes aquatiques l'est beaucoup moins lorsque, aux apports géochimiques, s'ajoutent les sources **d'origine** anthropique. De part leur propriété à s'accumuler dans un grand nombre d'organismes et surtout à se concentrer au fur à et mesure que l'on progresse dans la pyramide biologique, les métaux, qui pour certains sont des **oligo-éléments**, deviennent alors indésirables, voire toxiques. Cette toxicité s'exprime souvent, du fait de leur capacité à se concentrer dans la **chaîne** trophique, pour de très **faibles** concentrations dans l'eau, d'où le terme de micropollution parfois donné à ce type de nuisance.

La particularité des métaux à exercer des effets néfastes sur la biocénose à de très faibles doses rend difficile l'estimation fiable de la contamination du milieu et de ses conséquences sur les organismes vivants. Le développement des méthodes analytiques, toujours plus performantes, a permis d'affiner les limites de détection, d'identifier et de quantifier certaines formes chimiques du **métal** dans l'eau, y compris des formes potentiellement toxiques. Cependant, la démarche strictement analytique ne peut intégrer deux phénomènes de première importance. Le premier est la grande variabilité spatiale et temporelle du niveau de **contamination** du milieu rendant difficile une estimation représentative de la situation réelle. Le second découle de la propriété des métaux à s'accumuler au sein de la chaîne trophique, propriété qu'il est difficile de prendre en compte par une simple approche analytique.

C'est ainsi que ce sont développées des méthodes **basées** sur la détermination des teneurs en métaux directement dans les organismes. Le premier avantage d'une telle approche est de mesurer directement sur la biocénose la résultante d'une contamination de l'écosystème. Le

second est de pouvoir sélectionner certains organismes qui présentent une très forte capacité d'accumulation, facilitant ainsi la mise en évidence d'une contamination du milieu, aussi faible soit elle. D'autres **méthodes** faisant appel à des organismes sensibles à ce type de pollution ont aussi permis, non pas de quantifier le niveau d'une contamination métallique, mais d'en évaluer les effets toxiques.

Parmi les organismes employés pour la mise en évidence d'une contamination, les bryophytes aquatiques, végétaux présents dans la majorité des cours d'eau, sont largement utilisées depuis le début des années 1980. A l'origine, cette méthode s'inspire de l'emploi de bryophytes terrestres pour détecter les retombées atmosphériques d'éléments radioactifs. Transposé au milieu aquatique, l'emploi des mousses aquatiques comme support analytique s'est avéré une méthode efficace donnant à la fois une indication fiable du niveau de contamination métallique du milieu dans lequel elles sont immergées et une évaluation de la fraction du métal présent dans l'eau potentiellement **accumulable** dans la chaîne trophique. Les nombreuses recherches consacrées à cet indicateur de pollution ont abouti en 1986 à l'élaboration d'une méthodologie, mise au point par C. Mouvet au Laboratoire d'**Ecologie** de l'Université de Metz (actuellement CREUM) avec l'appui des Agences de l'Eau, permettant de classer les cours d'eau selon une grille de qualité traduisant le niveau de pollution métallique.

Depuis 1988, Electricité de France (EDF) s'intéresse à cette méthode pour la **caractérisation** et l'évaluation des rejets métalliques et radioactifs imputables aux centres de production nucléaire. Le Département Environnement de la Direction des Etudes et Recherches de EDF (EDF-DER) a donc développé un programme de recherche sur plusieurs années. L'objectif est le suivi et l'évaluation des rejets métalliques et radioactifs des centrales nucléaires, et leur contribution à la contamination du milieu récepteur. Ce programme est basé en partie sur l'emploi des mousses aquatiques comme traceur de la contamination métallique. La partie concernant les radioéléments a été confiée au Commissariat à l'**Energie** Atomique (CEA) de Cadarache et a fait l'objet d'une thèse (Beaugelin-Seiller, 1994). La partie portant sur la méthodologie et les métaux fait l'objet de cette thèse. Elle a **été** menée au Centre de Recherches Ecologiques, Université de Metz (CREUM) en collaboration avec le Département Géochimie du Bureau de Recherches Géologiques et Minières d'**Orléans** (BRGM) et le Département Environnement de EDF-DER à **Chatou**.

Le premier objectif de ce travail est d'adapter la méthode mise au point en 1986 aux spécificités et aux contraintes liées au contexte particulier des rejets d'eaux échauffées d'une centrale nucléaire. Ceux-ci se caractérisent par des **températures** inhabituelles pour les mousses

aquatiques et par des régimes d'écoulement très différents d'un site à l'autre. Or l'incidence de ces deux paramètres sur l'ampleur des phénomènes d'accumulation des métaux par ces organismes n'a jamais été étudiée.

Le deuxième objectif est de mieux comprendre les mécanismes d'accumulation des métaux par ces organismes. En effet, si la résultante d'une exposition de l'organisme à un métal est aujourd'hui bien connue, les principes qui gouvernent les cinétiques d'accumulation et de relargage des métaux par les mousses le sont, eux, beaucoup moins. Une meilleure compréhension de ces phénomènes consiste alors à subdiviser la quantité globale de **métal** accumulée en différentes fractions, à suivre leur évolution quantitative dans le temps et à étudier la répartition du métal accumulé dans la plante.

Le troisième objectif est d'optimiser une méthode qui, jusqu'à présent, ne donne qu'une interprétation qualitative basée sur une grille de qualité, et d'aboutir à une description quantitative des relations d'échanges des métaux entre le milieu et la mousse. Le lien, souvent observé au laboratoire mais aussi *in situ*, entre le niveau de contamination métallique du milieu et les concentrations déterminées dans les mousses mérite que soit tentée la mise en relation quantitative de ces deux facteurs. Ainsi, une meilleure connaissance des mécanismes d'accumulation doit permettre de mieux décrire les relations d'échanges de métaux à l'interface eau-bryophytes. Il s'agit aussi d'identifier et, dans la mesure du possible, quantifier la contribution de facteurs physiques et chimiques du milieu à l'ampleur des phénomènes d'accumulation. Ces facteurs, sujets à d'éventuelles variations dans le milieu peuvent affecter de façon significative la relation quantitative qui relie les concentrations métalliques dans le milieu et celles dans les mousses aquatiques. Ainsi, le dernier objectif consiste à mettre au point un support, utilisable *in situ*, permettant de placer les mousses dans un environnement physique contrôlé et d'intervenir, en les **régulant**, sur les **facteurs** du milieu susceptibles d'affecter l'accumulation des métaux par ces organismes.

# Conclusion

L'emploi des bryophytes aquatiques tant en France qu'à l'étranger, dans le cadre de réseaux de surveillance ou d'études ponctuelles, montre l'intérêt porté à ces organismes traceurs de la contamination métallique des eaux continentales.

Le programme engagé par EDF et les conditions spécifiques dans lesquelles l'utilisation des bryophytes est envisagée (transfert d'échantillons directement dans les rejets d'eaux **échauffées**) a permis d'éclaircir plusieurs points restés jusque là en suspens et d'élaborer une nouvelle méthodologie profitant au mieux des potentialités de cet indicateur.

Les **différentes** expériences de laboratoire ont permis de proposer une description des **différentes** étapes intervenant lors du processus d'accumulation qui ne peut se réduire à un simple échange physico-chimique entre la paroi cellulaire et le milieu environnant. L'organisme a ainsi été divisé en trois compartiments successifs : l'apoplasme, les structures d'échanges de la paroi et le milieu intracellulaire. L'accumulation du métal **s'effectue** selon une succession de gradients de concentration qui s'établissent entre les trois compartiments lorsque la concentration dans le milieu environnant augmente. Le passage et le flux de métal d'un compartiment à l'autre sont fonction en premier lieu de l'existence d'un gradient de concentration mais sont aussi assujettis aux mécanismes physico-chimiques et biologiques mis en jeu lors du transfert de l'élément d'un compartiment à l'autre. Ainsi, le flux d'élément transitant du milieu extérieur vers l'apoplasme serait tributaire de l'épaisseur de la couche de diffusion séparant ces deux compartiments, épaisseur variable car dépendant notamment de la vitesse du courant. La fixation des métaux sur les sites d'échanges va dépendre entre autres de **l'affinité** respective des éléments et des sites de fixation, et probablement de la présence d'ions compétiteurs. Le gradient de concentration seul n'est pas suffisant pour justifier la présence de **métal** dans **la** cellule puisque le transfert de l'élément dans ce compartiment nécessite le passage de la membrane **plasmique** mettant alors en jeu des processus biologiques. La quantification d'une **fraction** métallique accumulée de façon quasi irréversible et localisée à l'intérieur de la cellule montre que le métal n'est pas accumulé uniquement au niveau **extracellulaire** mais qu'une fraction pénètre l'intérieur de la cellule. Cette observation permet d'expliquer, au moins en partie, l'effet mémoire observé chez les organismes préalablement exposés au métal et qui conservent par la suite une trace de cette contamination en ne relarguant pas la totalité du métal accumulé.

La prise en compte de la vitesse du courant a montré que ce paramètre a une influence sur l'accumulation des métaux. Les expériences de laboratoire et de terrain révèlent que la

concentration en métal accumulé par la mousse n'est pas uniquement fonction de la teneur d'exposition mais peut être également influencée par le flux de métal, Outre sa prise en considération dans la description de l'accumulation des métaux par les bryophytes, la mise en évidence de l'influence de ce paramètre a des conséquences au niveau méthodologique, surtout lorsque la méthode des transferts est employée. Les résultats obtenus montrent que ce paramètre doit impérativement être pris en compte lors de l'emploi de la méthode des transferts. Cette remarque est aussi valable lorsqu'on fait appel aux mousses autochtones, même si les conséquences au niveau méthodologique sont probablement moins prononcées. En effet, si l'on considère d'une part, la préférence des bryophytes pour les courants rapides et d'autre part, un échantillonnage rigoureux dans la veine du courant, l'influence de la vitesse du courant devient moindre, les stations prospectées se restreignant à une gamme de vitesse beaucoup moins large.

L'adaptation de la méthodologie au contexte particulier que constitue un rejet industriel tel que les effluents d'une centrale **électronucléaire** et la volonté d'optimiser l'information fournie par cet indicateur ont abouti à l'élaboration de deux outils.

Le premier est un dispositif expérimental utilisable *in situ* appelé Module **d'Intégration** de la Micropollution (MIM) dont le premier intérêt est de placer les bryophytes aquatiques dans des conditions d'immersion reproductibles d'un site à l'autre. Constitué d'un bac d'immersion dans lequel est introduit en continu et à débit constant l'eau de rivière préalablement débarrassée de la majorité de ces matières en suspension grâce à un décanteur, ce dispositif offre deux avantages. Il permet à la fois de s'affranchir de **l'influence** de la vitesse du courant en maintenant un débit fixe et de protéger les bryophytes des effets néfastes des matières en suspension (abrasion et **colmatage**) grâce au système de **décantation**. Le second **intérêt** est l'obtention grâce au **décanteur** d'une quantité suffisante de matières en suspension pour permettre la détermination des concentrations métalliques. Contrairement aux méthodes de prélèvement ponctuel, les concentrations en métal dans l'échantillon récolté sont représentatives de la contamination moyenne des matières en suspension durant la période de fonctionnement du dispositif L'intérêt et la validité de l'information fournie par les matières en suspension décantées sont actuellement évalués dans le cadre d'une étude d'intercalibration des méthodes d'échantillonnage des matières en suspension menée par EDF et le Groupe De Recherche sur la Seine (GDR Seine).

Le second outil est un modèle mathématique, élaboré par P. **Ciffroy** (EDF-DER) à partir d'expériences de calibration menées au CREUM, qui permet de simuler les échanges de métaux entre le milieu et l'organisme. La conception de ce modèle permet de fournir une estimation de la concentration moyenne d'exposition en métal dissous présent dans le milieu à partir des concentrations **déterminées** dans des échantillons de mousses exposées pendant plusieurs jours.

Auteur : Bruno CLAVERI \*

Année : 1995

---

**Titre : Les bryophytes aquatiques comme traceurs de la contamination métallique des eaux continentales. Influence de différents paramètres sur l'accumulation des métaux et développement d'un Module d'Intégration de la Micropollution (M.I.M.).**

---

## Résumé

. Par leur grande capacité à accumuler les métaux, les bryophytes aquatiques fournissent une indication sur le niveau de contamination du milieu. La localisation cellulaire du métal par des méthodes chimiques et histologiques **permet** de décrire les différentes étapes du processus d'accumulation des métaux. Trois fractions métalliques sont ainsi distinguées correspondant à trois compartiments cellulaires. Le passage et le flux de métal d'un compartiment à l'autre dépendent de l'existence d'un gradient de concentration et sont assujettis aux mécanismes **physico-chimiques** et biologiques mis en jeu lors du transfert de l'élément. Si le passage du métal au travers de la membrane est effectif, il n'est pas attribué à un phénomène d'absorption **actif**. Une variation de la température de l'eau, facteur primordial influençant l'état physiologique de l'organisme, n'a en effet aucune conséquence sur l'accumulation du cuivre. L'étude de l'influence du régime d'écoulement de l'eau sur les cinétiques d'accumulation des métaux montrent que les bryophytes n'accumulent pas uniquement en fonction de la concentration d'exposition en métal mais aussi en fonction du flux de métal. Ce paramètre nécessite d'être pris en compte à la fois dans le schéma décrivant le mécanisme d'accumulation et dans la méthodologie.

L'optimisation de la méthode **faisant** appel aux bryophytes pour l'évaluation de la contamination a abouti à l'élaboration de deux outils : un modèle mathématique décrivant les échanges de cuivre à l'interface eau-bryophytes et un module **expérimental** exploitable *in situ*. La conception de ces deux outils **offrent** de nouvelles perspectives d'utilisation de cet organisme. L'emploi de ces outils sur une station d'étude fournit simultanément plusieurs informations relatives au degré de contamination du milieu.

---

**Mots-clés :** Bryophytes aquatiques - Métaux traces - traceurs - Localisation cellulaire - Vitesse du courant - Méthode d'intégration de la micropollution - Modélisation