



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Université de Metz
UER des Sciences

Laboratoire d'Ecologie
N° d'ordre:

THESE

Présentée à l'Université de Metz
en vue de l'obtention du
DOCTORAT de l'Université

ECOTOXICOLOGIE

par

Abdelmalek MAAROUF



BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE - METZ	
N° inv.	1988 0325
Cote	S/M3 88/16
Loc	Magasin

ETUDE EXPERIMENTALE DE LA BIOACCUMULATION ET DU
RELARGAGE DU ZINC CHEZ *DREISSENA POLYMORPHA*
(BIVALVE D'EAU DOUCE):

CINETIQUE ET MECANISME DE CONTAMINATION ET DE
DECONTAMINATION

Cette présentation définitive tient compte
des corrections souhaitées par le jury

Soutenue le jeudi 1 Decembre 1988 devant la commission d'examen:

Directeur : J.C. PIHAN, Professeur à l'Université de Metz
Rapporteurs : L. MOREL, Maître de conférence à l'ENSAIA de Nancy
O. RAVERA, Professeur, CCE, JRC, ISPRA (Italie)
P. VASSEUR, Professeur, CSE, Université de Metz
Examineur : R. COSSON, Attaché de recherche, CNRS Université
de Paris sud

A tous les biologistes qui m'ont initié à leur
sciences et dont certains,
me font l'honneur de juger ce travail.

A la mémoire de mon père

A ma mère

A mon frère

A ma soeur

A Marrackech

AVANT-PROPOS

Que tous ceux qui m'ont aidé et soutenu dans mes recherches soient assurés de ma réelle reconnaissance.

Monsieur le Professeur J.C. PIHAN, m'a initié à la recherche en assurant la direction de ce travail. Je tiens à lui exprimer le témoignage de mon respect et mes remerciements les plus sincères.

Monsieur le Professeur M. NOURISSON, m'a accueilli, voilà quatre ans dans son Laboratoire. Que la bienveillance qu'il a toujours manifesté à mon égard trouve, dans ces lignes, l'expression de ma profonde gratitude.

Je suis également très sensible à la présence dans mon jury des Professeurs Monsieur O. RAVERA et Mademoiselle P. VASSEUR, et de Monsieur L. MOREL, maître de conférence, qui ont voulu marquer leur intérêt pour ce travail et qui m'ont fait part de leurs critiques constructives.

Monsieur R. COSSON m'a permis d'effectuer un stage d'analyse polarographique dans son laboratoire et me fait l'honneur d'examiner ce travail et de siéger dans mon jury. Je tiens à lui exprimer, ici, mes sincères remerciements et le témoignage de mon amitié.

Je tiens également à remercier :

- Monsieur C. CROCHARD et Madame MN. BEAUVAIS pour leur aide dans la réalisation de l'étude histologique
- Monsieur L. LEGLIZE et Madame M. PELTRE de mettre à ma disposition leurs documents bibliographiques.
- Messieurs P. WAGNER et JF. POINSAINT qui m'ont fait bénéficier de leur expérience technique lors des sorties sur le terrain.
- Monsieur M. RIBETTE pour l'aide qu'il m'a apporté dans la réalisation technique des graphiques et des photographies qui illustrent ce mémoire.
- Mesdames D. BEAUFILS et M. OLIVIER pour la documentation.

Mes compagnons de travail, A. MOUABAD, A. TOURARI, M. BENYAHIA ont su créer une ambiance de travail efficace et sérieuse, les longues discussions que nous avons eu ensemble ont contribué à la bonne marche de mon travail. Je tiens à les remercier vivement.

Pour l'aide efficace et sérieuse qu'elle m'a apportée au cours de la période de préparation de mon exposé oral, je tiens à remercier S. MAZLANI.

Je garderai de bons souvenirs de toute l'équipe de recherche et de mes collègues du laboratoire qui m'ont, à différents titres, facilité la tâche.

Ce travail a été réalisé grâce à une bourse du gouvernement marocain et au soutien financier des contrats EDT-Cattenom 86/88, ATP-PIREN Ecotoxicologie 86/87 et à l'action intégrée Franco-Marocaine 87-282 entre la faculté des sciences de Metz, laboratoire d'écologie et de la faculté des sciences de Marrakech.

SOMMAIRE

AVANT-PROPOS	
INTRODUCTION	1
 Ière PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	 4
I. GEOCHIMIE DU ZINC (Zn).	4
I.1. Propriétés physico-chimiques.....	4
I.2. Sources et utilisations du Zn.....	4
I.3. Sources de contamination de l'environnement.....	5
I.4. Remèdes et traitements.....	5
II. DYNAMISME ET TOXICITE DU ZINC DANS LES MILIEUX AQUATIQUES	6
II.1. Compartiments "aquatiques".....	8
II.2. Compartiments "organismes vivants" (mollusques).....	11
II.2.1. <u>Adsorption</u> ,.....	11
II.2.2. <u>Absorption</u> ,.....	11
II.2.2.1. Bioaccumulation directe.....	12
II.2.2.2. Bioaccumulation indirecte.....	12
II.2.3. <u>Voies d'absorption</u>	14
II.2.3.1. Diffusion passive.....	14
II.2.3.2. Endocytose (Pino. et phagocytose).....	14
II.2.3.3. Transport actif.....	15
II.2.4. <u>Toxicité du Zinc</u> ,.....	18
II.2.4.1. Toxicité générale.....	18
II.2.4.2. Toxicité métabolique.....	20
II.2.4.3. Toxicité cellulaire et mécanismes d'action.....	21
III. MECANISMES DE DEFENSE CHEZ LES BIVALVES.	22
III.1. Réactions comportementales.....	24
III.2. Réactions métaboliques.....	24
III.2.1. <u>Concrétions minérales</u>	25
III.2.2. <u>Métalloprotéines</u>	26
III.2.2.1. Métallothionéines.....	26
III.2.2.1.1. Définition.....	26
III.2.2.1.2. Répartition.....	27

III.2.2.1.3. Induction et métabolisme.....	27.
III.2.2.1.4. Rôle.....	28
III.2.2.2. Métalloprotéines (non métallothionéines).....	29
III.3. Excrétion.....	30

IIème PARTIE : MATERIELS ET METHODES 32

I. MATERIELS BIOLOGIQUES	32
I.1. <i>Dreissena polymorpha</i>	32
I.1.1. <u>Systématique</u>	32
I.1.2. <u>Données biologiques</u>	34
I.1.3. <u>Exigences écologiques</u>	34
I.1.3.1. Facteurs physico-chimiques.....	35
I.1.3.1.1. La température.....	35
I.1.3.1.2. Le pH.....	35
I.1.3.1.3. L'oxygène dissous.....	35
I.1.3.1.4. La dureté.....	35
I.1.3.1.5. Le courant.....	36
I.1.3.1.6. La salinité.....	36
I.1.3.2. Facteurs nutritionnels.....	36
I.2. <i>Chlorella vulgaris</i>	39
II. DISPOSITIF EXPERIMENTAL	42
III. MODALITES DE CONTAMINATION	42
III.1. Choix de la station témoin.....	42
III.2. Salle d'expérience.....	44
III.3. Eau du milieu.....	44
III.4. Conditions expérimentales.....	44
III.5. Choix des concentrations en Zinc.....	46
III.6. Préparation de la nourriture.....	46
III.7. Techniques analytiques.....	50
III.7.1. <u>Choix des techniques</u>	50
III.7.1.1. Spectrométrie d'absorption atomique.....	50
III.7.1.2. Polarographie.....	51
III.7.1.3. Colorimétrie.....	51
III.7.2. <u>Préparation des échantillons</u>	52
III.7.2.1. Dosage du Zinc.....	52

III.7.2.1.1. Dans l'eau	52
III.7.2.1.2. Dans les moules: Mise au point d'une méthode analytique du Zinc dans la partie molle	52
III.7.2.2. Dosage des protéines soufrées.....	64
III.7.2.3. Dosage des protéines totales	66
III.7.2.4. Techniques histochimiques.....	66
 IV. EXPRESSION ET TRAITEMENT DES RESULTATS	68
IV.1. Critère d'évaluation de la toxicité du Zinc.....	68
IV.2. Critère d'évaluation de la rétention du Zinc par les moules.....	68
IV.3. Expression des résultats du dosage des protéines soufrées	69
IV.4. Expression des résultats du dosage des protéines totales.....	71
IV.5. Traitements statistiques des données.....	71
 III ^{ème} PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSIONS	75
 I. CINETIQUE DU ZINC DANS LE MILIEU	75
I.1. Evolution des teneurs en Zn en fonction du temps.....	75
I.2. Effet de l'EDTA	80
I.3. Effet de la température.....	80
 II. TOXICITE DU ZINC	82
II.1. Détermination de la CL5028j.....	82
II.2. Effet de l'EDTA sur la toxicité du Zinc	82
 III. CINETIQUE D'ACCUMULATION DU ZINC	85
III.1. Bioaccumulation du Zinc par la partie molle	85
III.1.1. <u>Dynamique de bioaccumulation</u>	85
III.1.1.1. Au printemps	85
III.1.1.2. En automne.....	90
III.1.1.3. En hiver.....	95
III.1.1.4. Réflexion sur la variation saisonnière.....	95
III.1.2. <u>Effet de l'EDTA</u>	104
III.1.2.1. Effet de l'EDTA sur la bioaccumulation du Zn	
III.1.2.2. Effet de l'EDTA sur la mobilisation ionique	

III.1.2.3. Effet de l'EDTA sur le poids	107
III.1.2.4. Effet de l'EDTA sur la mortalité.....	107
III.1.3. <u>Effet de la température</u>	111
III.1.3.1. Détermination de la TL50 _{48h}	111
III.1.3.2. Effet de la température sur la bioaccumu- lation du Zinc	111
III.1.4. <u>Effet de la nourriture</u>	115
III.1.4.1. Effet de la nourriture sur le poids.....	115
III.1.4.2. Effet de la nourriture sur de bioaccumu- lation du Zinc.....	117
III.1.5. <u>Effet du Plomb sur la cinétique de bioaccumu- lation du Zinc</u>	121
III.1.6. <u>Discussion des effets des facteurs externes</u>	124
III.1.7. <u>Répartition du Zinc dans la partie molle</u>	129
III.1.7.1. Quantification analytique.....	129
III.1.7.2. Détection histochimique.....	131
III.1.7.3. Réaction tissulaire.....	136
III.1.7.4. Discussion de la répartition tissulaire du Zn....	141
III.2. Cinétique d'accumulation du Zn par la coquille.....	143
III.2.1. <u>Dynamique de l'accumulation du Zn</u>	143
III.2.2. <u>Effet de l'EDTA</u>	146
III.2.3. <u>Effet de la température</u>	148
 IV. REPARTITION TISSULAIRE DES PROTEINES	148
IV.1. Protéines thermorésistantes soufrées (PTS) de type métallothionéines.....	148
IV.1.1. Répartition des PTS dans la partie molle.....	148
IV.1.2. Effet de la nourriture sur les teneurs en PTS.....	148
IV.1.3. Effet de la contamination avec le Zinc sur les teneurs en PTS.....	154
IV.2. Protéines thermorésistantes totales.....	154
IV.3. Discussion.....	155
 V. CINETIQUE DU RELARGAGE DU ZINC (Zn)	157
V.1. Relargage du Zn par la partie molle	157
V.1.1. <u>Dynamique du relargage</u>	157
V.1.1.1. Au printemps.....	157

V.1.1.2. En automne.....	157
V.1.1.3. En hiver.....	157
V.1.1.4. Réflexion sur la variation saisonnière...	160
V.1.2. <u>Effet de l'EDTA</u>	161
V.1.3. <u>Effet de la température</u>	163
V.1.4. <u>Effet de la nourriture</u>	166
V.1.5. <u>Effet de Plomb</u>	168
V.1.6. <u>Discussion de l'effet des facteurs externes</u> ...	168
V.1.7. Relargage par les organes.....	171
V.2. Relargage du Zinc par la coquille.....	173
V.2.1. <u>Dynamique du relargage</u>	173
V.2.2. <u>Effet de l'EDTA</u>	173
V.2.3. <u>Effet de la température</u>	173

IVème PARTIE : CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES 176

BIBLIOGRAPHIE 188

ANNEXES 215

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le progrès conjugué des sciences et des techniques a permis au monde d'évoluer d'une structure rurale traditionnelle et artisanale vers une structure urbaine, technicienne et industrialisée. Ces avances industrielles, agricoles et technologiques ont favorisé la surproduction et la surconsommation, ce qui est à l'origine de la pollution de l'atmosphère, des cours d'eau et des sols et pose aujourd'hui des problèmes parfois insolubles.

Les effets toxiques des résidus chimiques dans l'environnement peuvent être insoupçonnés dans le présent et se révéler nocifs à long terme.

Jusqu'à une époque encore récente, les connaissances sur la toxicité d'un produit chimique ne provenaient que des observations faites directement sur l'homme, à la suite d'accidents toxicologiques. Nous avons ainsi les exemples dramatiques des accidents qui ont touché le peuple japonais: maladie de "Minamata" due au Mercure, maladie "Itai-Itai" due au Cadmium, maladie de "yosho" due aux polychlorobiphényles,....

Ces crises ont poussé l'homme à mieux maîtriser la technique et mieux connaître son environnement. Ainsi toute approche passive des problèmes toxicologiques a été progressivement remplacée par l'expérimentation sur des organismes vivants non humains.

Cette prise de conscience commence à se répandre et marque le début d'une "révolution scientifique" sans précédent dans l'histoire de l'homme.

Parmi les substances chimiques rejetées dans l'environnement, il faut citer les métaux lourds qui, reconnus depuis fort longtemps comme éléments très toxiques et dont certains effets toxiques biologiques à long-terme sont encore mal définis, inquiètent les toxicologues.

Nous avons choisi d'étudier le Zinc stable comme agent de contamination, car c'est un métal lourd, anthropogène, hormétique pour l'organisme et très fréquemment décelé dans les milieux aquatiques marins et dulçaquicoles (BREMOND et PERRODON, 1979).

Souvent les études utilisent comme traceur, le Zn^{65} : isotope radioactif, ce qui constitue une approche indirecte de la con-

naissance du métabolisme de celui de l'élément stable. La plupart de ces études sont menées sur le terrain (BAUDIN, 1977 a et b).

Nous avons choisi comme support biologique aux expériences, *Dreissena polymorpha*, bivalve dulçaquicole très répandu dans les réseaux hydrographiques de la France et de l'Europe en général. Les travaux entrepris sur cette espèce au laboratoire d'écologie de Metz, depuis le début des années 1980 soulignent la forte capacité de cette espèce à accumuler les métaux lourds et en particulier le Zinc et le Plomb ainsi que son caractère résistant à ce genre de pollution (LEGLIZE et CROCHARD, 1987). Mais on connaît mal les mécanismes de contamination et de décontamination métallique chez cette espèce.

Notre travail porte donc sur l'étude monospécifique de la contamination dans un système aquatique, étude orientée plutôt vers une analyse des différentes étapes du mécanisme de la bioaccumulation et du relargage du Zinc stable par la Dreissène.

Nous avons également étudié l'effet de certains facteurs intervenant dans la biologie de l'organisme et dans la détermination et la régulation de la rétention, du stockage et/ou de l'excrétion du Zinc par la dreissène:

- *- Facteur biotique : - saison
 - nourriture
- *- Facteur abiotique physique : temperature
- *- Facteur abiotique chimique organique : EDTA
- *- Facteur abiotique chimique mineral : Plomb

Notre objectif n'est pas de reconstituer les conditions du milieu naturel, mais d'étudier l'effet de certains facteurs suivant une approche analytique quantitative et qualitative de l'absorption métallique directe (Via l'eau) puis du relargage.

La première partie de ce travail sera réservée à la recherche bibliographique sur le dynamisme de la physico-chimie du Zinc dans les milieux aquatiques et de sa toxicité vis-à-vis des mollusques de ces milieux. Les mécanismes de défense mis en jeu par ces derniers ont été également développés dans cette analyse.

En début de partie expérimentale, nous avons fait une mise au point expérimentale de la méthode analytique du Zinc dans la partie molle.

Les résultats expérimentaux sont présentés en deux parties concernant successivement la bioaccumulation et le relargage du Zinc par la partie molle et la coquille. Parallèlement l'effet des facteurs externes sur ces deux processus biologiques, a été recherché.

La compréhension des inter-relations existant entre d'une part la variabilité des cinétiques d'accumulation et de relargage, et, d'autre part les paramètres biotiques et abiotiques, est nécessaire à toute approche écotoxicologique visant à mieux cerner les mécanismes mis en jeu.

Pour suivre le devenir intratissulaire du Zn accumulé par la moule, et mieux comprendre la signification biologique de la détoxification métabolique, nous avons réalisé un suivi analytique et histochimique du métal dans différents organes. Suivant le même objectif, la répartition tissulaire des protéines très proches des métallothionéines (MT) a été quantifiée. Les études entreprises sur les mollusques soulignent l'importance des MT dans la détoxification de l'organisme dans le sens qu'elles assurent une rétention intracellulaire des métaux lourds accumulés, et en particulier du Zinc et du Cadmium.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I^{ère} PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. GEOCHIMIE DU ZINC (Zn)

I.1. Propriétés physico-chimiques

Chimiquement le Zinc est un métal mou, blanc, appartenant au groupe IIB de la classification périodique (éléments de transition). Ses principales propriétés physico-chimiques sont:

*- Nombre atomique:	Zn = 30
*- Masse atomique :	Ma = 65,37
*- Valence électronique:	n = 2
*- Masse spécifique(solide 20°C) =	7,14 g/cm ³
*- Point de fusion :	= 419,5°C
*- Point d'ébullition	= 907°C

I.2. Sources et utilisations du Zinc

Les principales sources naturelles de Zinc sont la sphalérite (sulfate de Zn), la calamine (carbonate de Zn) et certains minerais avec lesquels il est souvent associé au cadmium et parfois au plomb, au fer et à l'étain (BREMOND et PERRODON, 1979).

Le Zinc a plusieurs utilisations essentielles et diverses. Une fois extrait, il est raffiné en un métal pur et stable. L'industrie du Zinc est très développée; selon PALLY et FOULQUIER, 1976 il est particulièrement utilisé dans :

- *- Les alliages avec Cu, Ni, Al et Hg.
- *- Le revêtement du fer ou de l'acier par galvanisation, pulvérisation ou peinture.
- *- L'industrie des pigments (sous forme d'oxyde), des peintures (sous forme de sulfure), du caoutchouc, des produits luminescents, de certains produits pharmaceutiques et cosmétiques, de certains insecticides.
- *- L'imprimerie et la teinture.

I.3. Sources de contamination de l'environnement

Les sources naturelles du Zinc et ses utilisations sont à l'origine de la contamination de l'environnement par cet élément. On distingue ainsi :

- *- Les mines et les raffineries de Zn et Pb (émission dans l'atmosphère et rejets dans les cours d'eau)
- *- Les rejets urbains, industriels et principalement les ateliers de galvanoplastie et les usines de fabrication des colorants (rejets dans les cours d'eau)
- *- Les engrais phosphatés et les insecticides (pénétration dans les sols et contamination des cours d'eau)
- *- Les canalisations en laiton ou en fer galvanisé attaquées par les eaux riches en chlorures et en sulfates présents à des teneurs relativement faibles (2ppm). Le Zinc communique à l'eau une opalescence variable avec la dureté, et au-dessus d'un certain seuil de concentration, sa présence donne à l'eau un goût désagréable astringent (RODIER, 1976).

II.4. Remèdes et traitements

Compte tenu des effets toxiques des métaux, effets directs ou indirects, à long terme ou à court terme, il est apparu nécessaire de fixer des limites de concentrations tolérables dans le milieu aquatique.

Pour le Zinc, L'OMS (1984) recommande dans l'eau de boisson les limites suivantes:

- *- Concentration maximale acceptable : 5,0ppm
- *- Concentration maximale admissible : 15,0ppm
- *- Concentration maximale d'approvisionnement en eau : 1,5ppm

Les eaux usées contenant des quantités importantes de Zinc doivent être traitées avant d'être déversées dans le milieu naturel.

Dans la pratique du traitement, les métaux sont précipités sous forme d'hydroxydes. Le Zinc est précipité soit par la soude ou le lait de chaux (dans une gamme de pH entre 7,6 et 9,5) soit par le carbonate de soude (dans une gamme de pH de 7,4 à 8,5) (BREMONT et PERRODON, 1979).

Les sels de Zn, tels que les chlorures et les sulfates sont extrêmement solubles dans l'eau. Il y a donc des risques importants de les retrouver partiellement dans les cours d'eau. Par contre les carbonates, les hydroxydes et les sulfures sont insolubles. Il est facile de les éliminer avant le déversement dans les milieux naturels.

Les procédés par échangeurs d'ions sont également utilisés (LEVESQUE, 1978).

Les organismes aquatiques qui ont une forte activité de bioaccumulation, de biomagnification ou de stockage des métaux lourds, surtout sous des formes insolubles, jouent un rôle important dans l'élimination de ces éléments de l'environnement aquatique (SIMKISS, 1977).

II. DYNAMISME ET TOXICITE DU ZN DANS LES MILIEUX AQUATIQUES

En général, le Zinc n'est présent qu'en très faible quantité dans les eaux de surface. Les teneurs moyennes des milieux océaniques en dehors de toute pollution ont été évaluées pour le Zn à environ 20 ppb (D'SILVA et KUREISHY, 1978), à 200 ppb dans les eaux continentales et à 100 ppb dans les eaux de boisson (MAROOF et al., 1987).

Du fait de l'industrialisation, les eaux reçoivent continuellement des apports métalliques. Il en résulte une contamination importante des zones littorales, les estuaires et les rivières traversant les régions industrielles ou minières (RAMADE, 1977)

En cas de pollution, la teneur en Zinc peut atteindre 10 mg/l en phase dissoute et 100 g/kg dans les matières en suspension (PIHAN et al., 1981).

Dans l'environnement aquatique, le Zinc libre ou lié, existe dans deux compartiments:

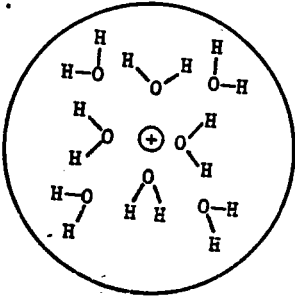
ETATS	DIMENSIONS (μm)	FORMES PHYSICO-CHIMIQUES (avec exemples)
DISSOUS LIBRE	$< 0,001$	- <u>ions simples hydratés</u>: entourés d'un certain nombre de molécules d'eau (R. HORNE, 1969) : 
DISSOUS COMPLEXE	$< 0,001$	- <u>ions complexes inorganiques</u> - <u>complexes de coordination</u> $\text{Zn}(\text{NH}_3)_4^{++}$ - <u>complexe d'association ou paire d'ions</u> $\text{Cd}^{++} + \text{Cl}^- \quad \text{CdCl}^+$ - <u>ions complexes organiques</u> (chelates) - <u>polymères</u> (faible degré de "polymérisation")
COLLOIDES	$0,001 - 0,1$	- <u>substances minérales</u> $\text{Fe}(\text{OH})_3$ - <u>produits d'hydrolyse</u> $\text{M}(\text{OH})_n$ et de <u>précipitation</u> (coagulation) - <u>polymères</u> (haut degré de "polymérisation")
PARTICULES	$0,1 - 50$	- <u>particules minérales</u> : argiles, silts - <u>particules organiques</u> : détritus, microorganismes, agrégats moléculaires

Tableau 1 : Spéciation physico-chimique des métaux dans l'eau (adapté de GILLAIN, 1981).

- *- Le compartiment "aquatique"(l'eau et le sédiment).
- *- Le compartiment "organismes vivants".

II.1. Compartiments aquatiques

Dans l'eau, le Zinc présente quatre états physico-chimiques distincts (tableau 1) :

- *- Etat dissous libre
- *- Etat complexé
- *- Etat colloïdal
- *- Etat particulaire

On appelle "métal total" l'ensemble de ces quatre états. En pratique, la frontière opérationnelle entre l'état dissous et l'état particulaire est de 0.45 μm , et c'est l'ensemble des formes dissoutes libres et complexées (diam. < 0.001 μ) qui constituent les vraies solutions.

Les proportions des différentes formes dépendent de l'équilibre physico-chimique dans le milieu et des caractéristiques de l'eau : O_2 dissous, $T^\circ\text{C}$, pH, dureté, salinité, présence ou non de particules minérales ou organiques.

La solubilité du Zinc est inversement proportionnelle au pH (ELLIOTT et LINN, 1987 ; WHITE, 1987). A pH 8: 10 % du Zinc total dans l'eau est sous forme libre. Cette proportion augmente à 50 % pour un pH de 6.5 et à 100 % pour un pH inférieur à 4.5 (WERNER, 1987).

Cet effet du pH sur la solubilité du Zinc dans l'eau est fonction du potentiel Rédox du milieu (fig. 1).

Par contre la température n'a qu'un faible effet sur l'équilibre des différentes formes physico-chimiques du Zinc (WERNER, 1987).

La classification de NIEBOER et RICHARDSON (1980) (fig.2) permet de distinguer des métaux doux, durs et intermédiaires, en fonction de leur réactivité en milieu organique ; critère qui expliquerait aussi leur comportement dans les systèmes biologiques. D'après cette classification, plus un métal est doux, plus

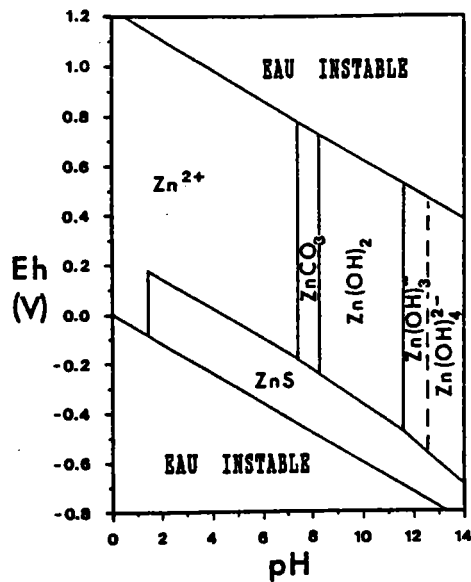


Fig. 1 : Champs de stabilité des espèces métalliques du Zinc, prédominants dans un système : $\text{Zn} + \text{CO}_2 + \text{S} + \text{H}_2\text{O}$ à 25°C et à 1 atm, en fonction du pH et du potentiel redox (d'après HEM, 1972).

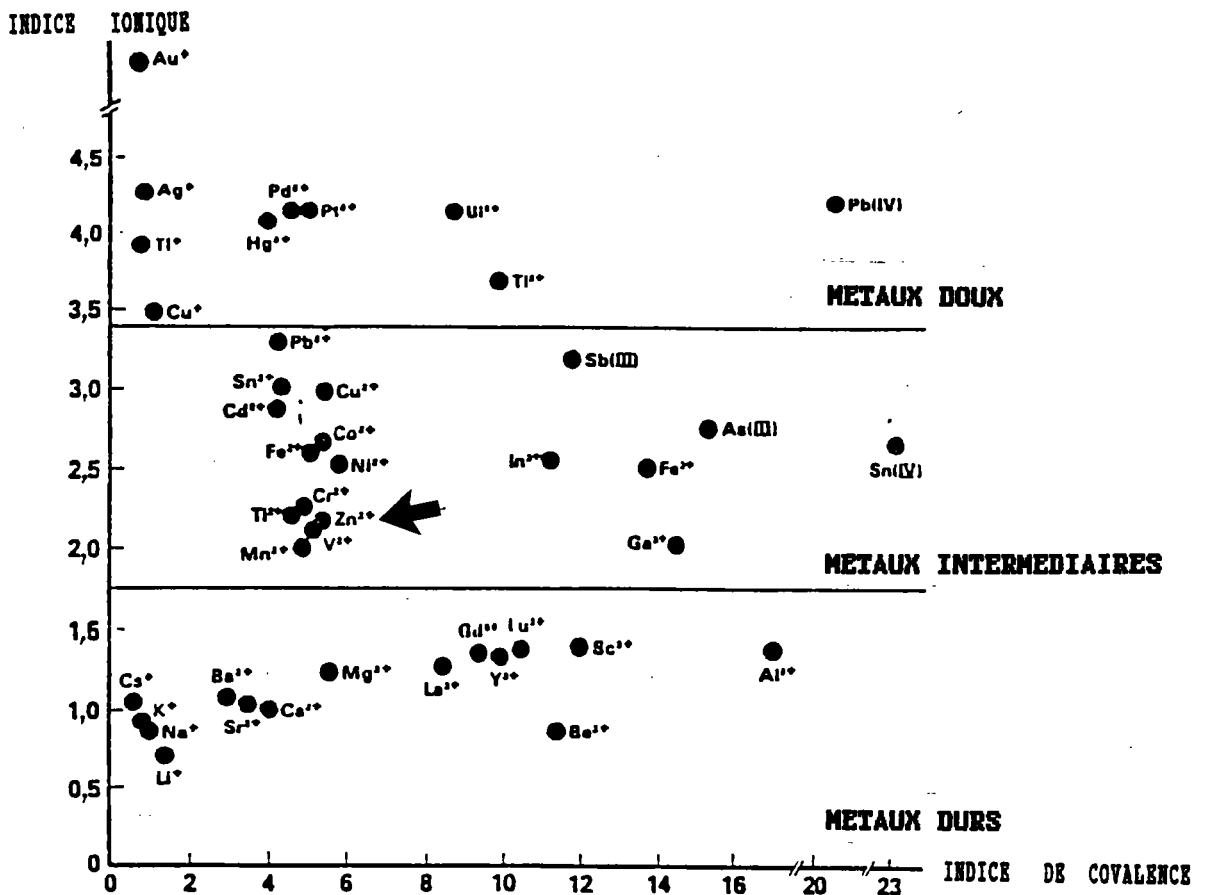


Fig. 2 : Classification de NIEBOER et RICHARDSON (1980).

il a tendance à former des liaisons covalentes. Par contre, plus il est dur, plus il a tendance à former des liaisons ioniques.

Le Zinc est un métal intermédiaire avec un caractère dur relativement marqué qui lui permet de s'adsorber ou de se lier souvent par des liaisons ioniques.

Ce critère permet de placer les métaux, soit selon leur pouvoir d'adsorption dans l'ordre décroissant suivant : $Hg > Cd > Zn$ (NEUFELD *et al.*, 1975), soit selon le degré de solubilité dans l'ordre décroissant suivant : $Cu > Cd > Zn > Fe$ (COLLIN, 1979).

Dans les sédiments, on retrouve des quantités assez importantes de Zinc dans la fraction des carbonates et oxydes, mais quand la concentration augmente, le Zinc se lie plus facilement à la matrice organique et aux sulfures (WELTES *et al.*, 1983).

Ce comportement d'adsorption du Zinc et de tous les autres métaux divalents sur les matières en suspension et sur les sédiments est de même nature que sur les oxydes et les hydroxydes solides (BOURG et MOUVET, 1984).

Les formes complexées sont fortement restreintes par les chlorures (SALOMONS *et* MOOK, 1980), par contre elles sont très favorisées par la présence des complexants organiques ou minéraux : humus, particules solides ou colloïdales (BECKER, 1983 ; WERNER, 1987 ; BLUST *et al.*, 1986).

La complexation ou l'adsorption sur les matières en suspension diminue la biodisponibilité des métaux lourds et donc virtuellement leur toxicité. Ainsi le Zinc peut atteindre dans les systèmes aquatiques des concentrations très supérieures aux limites maximales admises par les normes européennes sans avoir pour autant des effets marqués sur la vie aquatique (LEE et JONES, 1981).

Il est évident que tous les complexants n'ont pas la même force de complexation (BLUST *et al.*, 1986). La toxicité dépend aussi des formes du complexe considéré (BLOCK et PART, 1986).

Certains organismes vivants ont la capacité de sécréter des complexants organiques, exudats qui ont la caractéristique de complexer les métaux lourds. C'est le cas chez plusieurs micro-organismes (IMBER *et al.*, 1985) et certains macrophytes tel que *Zea* (MENCH *et al.*, 1985; MOREL *et al.*, 1986).

II.2. Compartiment "organismes vivants"; plus spécialement les mollusques

Chez les mollusques, les échanges des métaux lourds avec le milieu se font par deux processus : l'adsorption et l'absorption, souvent désignés dans la littérature sous une nomenclature commune par les termes de "fixation", "sorption" ou "uptake".

II.2.1. Adsorption

C'est un phénomène correspondant à la fixation des métaux sur les surfaces de la coquille ou de la partie molle. Ce type de fixation est régi par des lois physico-chimiques et n'entraîne souvent aucune toxicité vis-à-vis de l'organisme.

Chez les microorganismes, le Zinc s'adsorbe sur les croûtes d'hydroxydes ferriques (GUNKEL, 1986).

Chez les bivalves, il y a toujours à l'équilibre, plus de Zinc absorbé qu'adsorbé sur la partie molle. Cette dernière fraction constitue 8% du Zinc total du milieu et 20 à 30% du Zinc fixé par l'organisme (BAUDIN, 1977a).

L'adsorption est plus ou moins importante selon les métaux, chez la Dreissène par exemple, le taux d'adsorption du cadmium sur la coquille peut atteindre 43% du Cadmium total fixé par cet organisme : coquille + partie molle + liquide intravalvaire (BIAS et KARBE, 1985).

II.2.2. Absorption

C'est la bioaccumulation proprement dite qui correspond à une accumulation biologique définie comme étant la capacité d'un organisme d'accumuler un élément chimique à partir de son environnement (RAMADE, 1977).

L'incorporation des métaux lourds dans les systèmes biologiques se fait par l'intermédiaire de trois vecteurs: l'eau, les particules en suspension et la nourriture.

II.2.2.1. Bioaccumulation directe

C'est l'accumulation par l'intermédiaire de l'eau, en contact direct avec l'organisme. C'est la voie la plus importante de fixation des métaux lourds chez les mollusques et l'unique voie chez les producteurs primaires (RAMADE, 1977).

Chez les bivalves filtreurs, les activités métaboliques de respiration, de filtration et d'ouverture des valves augmentent le contact de la partie molle avec le milieu. L'accumulation directe est donc intensifiée surtout dans les organes à fonction respiratoire, digestive, de stockage et d'excrétion. De ce fait la bioaccumulation est favorisée chez les bivalves par rapport aux gastéropodes (LOBEL et al., 1982).

II.2.2.2. Bioaccumulation indirecte

C'est l'accumulation métallique par l'intermédiaire des particules en suspension, du sédiment ou de la nourriture ingérées par l'organisme. Les animaux appartenant aux niveaux trophiques les plus élevés dans la chaîne alimentaire sont les plus exposés à ce type de contamination. Le taux de fixation des métaux par voie indirecte, dépend intimement de la quantité adsorbée ou absorbée par ces particules.

Les travaux de FOULQUIER et al. (1973) sur *Anodonta cygnea*, permettent de classer les organes d'après le pouvoir d'accumulation du Zn^{65} par ordre décroissant: Branchies internes > Branchies externes > Siphons > Palpes labiaux > Bords du manteau > Masse viscérale > Masse musculaire.

Chez *Mytilus edulis*, l'organotropisme vis-à-vis du Zinc donne la classification par ordre décroissant: Reins > Glandes digestives > Branchies > Muscle adducteur postérieur = manteau = pied (LOBEL, 1987).

Le Zinc figure parmi les oligo-éléments les plus représentés dans l'organisme des mollusques vivants dans des sites non pollués. Selon IRLAND et WOOTTON, (1977), la classification par ordre d'abondance décroissant est la suivante: $Zn > Cu > Mn$.

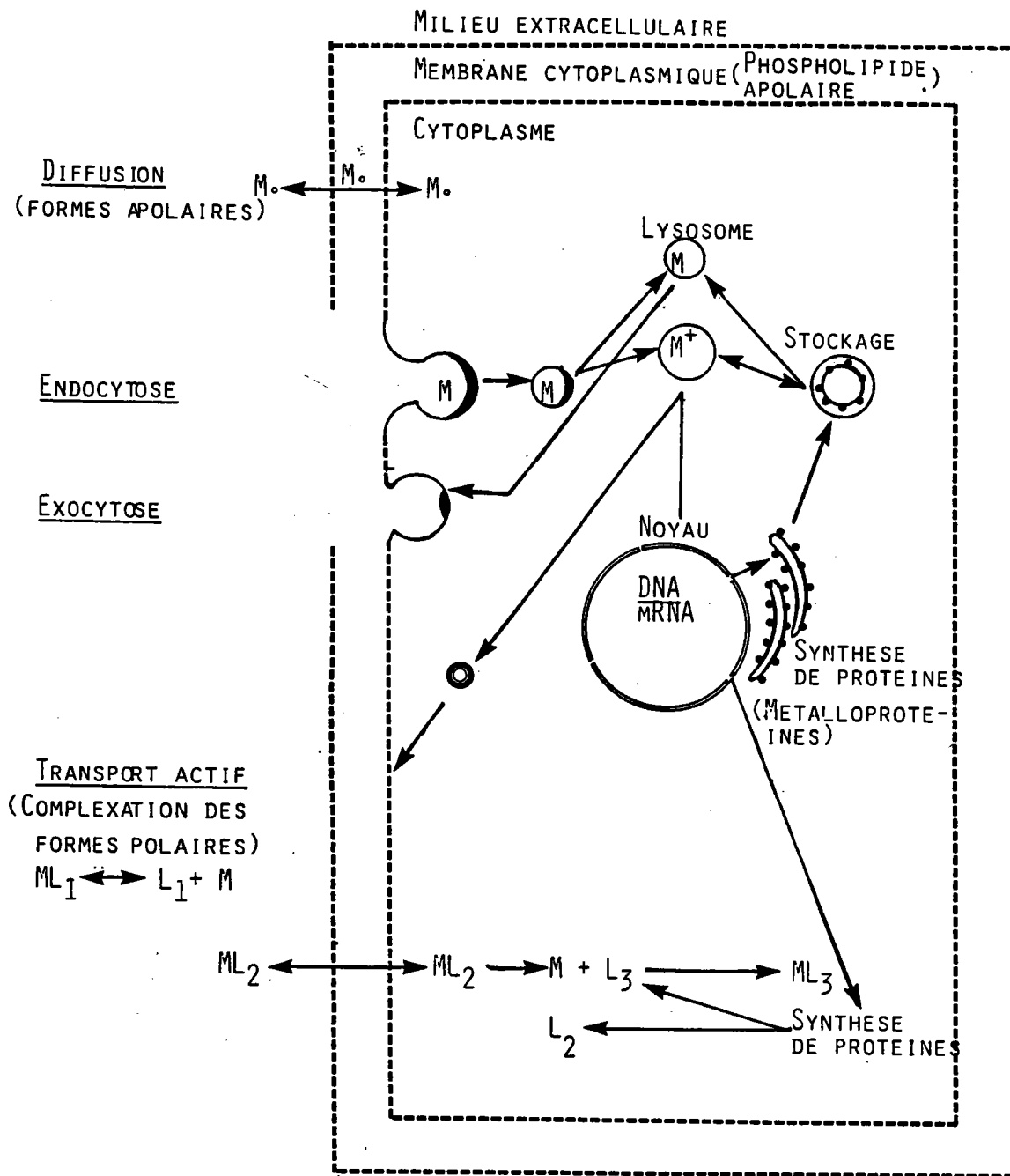


FIG. 3 MECANISMES DE FIXATION, D'EXCRETION ET DE METABOLISATION DES IONS METALLIQUES PAR LA CELLULE (D'APRES GEORGE ET al. , 1985; LUOMA, 1983; WILLIAMS, 1981).

KENNEDY (1986) complète en donnant la classification: Zn > Fer > Cu > Mn > K > Mg > Ca.

Pour la même concentration métallique dans le milieu, le Zn s'accumule plus rapidement que d'autres métaux lourds, tels que le Cu chez *Mytilus viridis* (D'SILVA et KUREISHY, 1978) et le Cu, le Cd ou le Pb chez *Helix aspersa* Muller (COUGHTY et MARTIN, 1977).

II.2.3. Voies d'absorption (Fig. 3)

Les modèles explicatifs des mécanismes d'accumulation et de métabolisation des métaux lourds chez les organismes aquatiques, envisagent trois processus indépendants pour le transport transmembranaire: la diffusion transmembranaire passive, l'endocytose et le transport actif (GEORGE et PIRIE, 1980 ; SIMKISS et al., 1982 ; BOUDOU, 1982 ; LUOMA, 1983).

II.2.3.1. Diffusion transmembranaire passive

C'est une diffusion en raison d'un gradient de concentration, dans un champ électrique ou sous l'influence de la pression. Ce processus exige un caractère lipophile de l'élément métallique transporté car les ions inorganiques à l'état libre sont largement lipo-phobes, d'où leur entraînement par un solvant ou par un autre soluté sous une forme liée (BOUDOU, 1982).

II.2.3.2. Endocytose (pino- et phagocytose)

Par rapport au transport transmembranaire, cette voie est énergétiquement plus économique dans le cas des granules insolubles. Il dispense l'organisme d'un gaspillage énergétique lors d'une éventuelle excrétion.

Chez les poissons, la pinocytose joue un rôle principal dans l'absorption des macromolécules au niveau du deuxième segment de l'intestin (BOUDOU, 1982).

Chez *Mytilus edulis*, les vésicules chargées en Zinc représentent 20% du volume cellulaire (GEORGE et PIRIE, 1980). Dans le cas des granules solubles, cette voie est énergie-dépendante. C'est le cas chez *Mytilus edulis*, avec transport et stockage du

fer dans les cellules épithéliales branchiales, palpo-labiales, intestinales et rénales (GEORGE et al., 1976).

Ces deux processus (diffusion et endocytose) ne peuvent expliquer à eux seuls les fortes quantités rencontrées, surtout dans les organes d'absorption et de stockage des métaux, tel que le rein et l'intestin, qui peuvent contenir jusqu'à $10^3 \mu\text{g/g}$ de Zn, soit 30 % du Zn total contenu dans l'organisme des bivalves marins.

II.2.3.3. Transport actif

Le transport actif s'effectue par le moyen de transporteurs transmembranaires de nature protéique. Ce système est très efficace pour les concentrations dissoutes les moins élevées et pour compenser le flux bidirectionnel par simple diffusion (SIMKISS et al., 1982).

Les ligands qui traversent la membrane plasmique ont une cinétique de prise qui peut être augmentée par le potentiel rédox ou par des gradients de pH dans la cellule.

Selon WILLIAMS (1981) (Fig. 3), les métaux dans l'environnement aquatique peuvent être fixés par un ligand (L_1). La cellule synthétise un ligand (L_2) qui transporte les ions métalliques à travers la membrane plasmique. Dans le cytoplasme, un autre ligand (L_3) fixe les métaux. Ces deux derniers ligands (L_2 et L_3) permettent à la cellule d'accumuler sélectivement les ions inorganiques par un processus régulé par la synthèse ou la dégradation de ligands appropriés. Cette succession de ligands augmente la force de fixation des métaux lourds par la cellule.

Dans le cas du transport du fer, il existe chez les mammifères, un transporteur organique spécifique: la transferrine délivrée par la cellule, et un site récepteur au niveau membranaire, par où le fer entre dans le cytoplasme, puis est stocké dans les molécules de ferritine. Le fer est fixé sous forme d'oxyde ferreux (Fe^{++}), et libéré dans le cytoplasme comme oxyde ferrique (Fe^{+++}) (SIMKISS et al., 1982).

C'est le cas aussi du transport du Calcium chez les crustacés (SIMKISS, 1976).

Auteurs	Espèces	Tissus	Concentrations mg/kg PS
BENJAMIN <i>et al.</i> , 1968 (Atlantique)	<i>Crassostrea virginica</i>	Partie molle	180
D'SILVA et KUREISHY, 1978 (Inde)	<i>Mytilus edulis</i>	Partie molle	14
HINCH et STEPHENSON, 1987 (Canada)	<i>Elliptio complanata</i>	Partie molle	134-156
IKUTA, 1968 (Japon)	Huitre	Partie molle Branchies Muscle Reste	250 330 50 230
IRELAND et WOOTTON, 1977	<i>Littorina littorea</i>	Partie molle Gonade + glandes digestives Reste Coquille	92 111 87 3
KENNEDY, 1986 (New Zeland)	<i>Perna canaliculis</i> <i>Mytilus edulis</i> Huitre	Partie molle Partie molle Partie molle	70 80 850
KOGA, 1934 (Japon)	Huitre	Partie molle Manteau Branchies Hépatopancréas Muscle Reste	60 70 135 66 43 115
SCRUDATO et ESTES, 1976	<i>Crassostrea virginica</i>	Partie molle	135

Tableau 2 : Répartition du Zinc chez les Mollusques.

Auteurs	Organes	Zn mg/kg PS
KOGA, 1934 (Mammifères supérieurs)	Foie	80-127
	Pancréas	135-250
	Rate	135-136
	Rein	76-114
	Estomac	55
	Intestin	65
	Coeur	59
	Poumon	63
	Cerveau	57- 74
	Muscle	115
	Testicule	65- 99
	Glandes surrénales	121
	Glandes thyroïdiennes	71
	Glandes lymphatiques	145
	Sang	24
Vivoli et al., 1967 (Chez l'homme)	Serum	90 ug/100 ml
	Urine	343 "
	Cheveux	180 "

Tableau 1 : Teneurs en Zinc des organes chez les mammifères supérieurs et chez l'homme non intoxiqués.

Le nombre de collisions entre les métaux et la surface cellulaire externe est un facteur déterminant dans le transport actif et l'endocytose. Les fortes concentrations des espèces métalliques dans l'eau favorisent cette collision. CRIST *et al.* (1981) montrent que les métaux déplacent les protons en s'adsorbant sur la paroi cellulaire. Cet échange ionique permet de classer les ions suivant leur force d'adsorption par ordre décroissant: $\text{Cu}^{++} > \text{Sr}^{++} > \text{Zn}^{++} > \text{Mg}^{++} > \text{Na}^+$.

II.2.4. Toxicité du Zinc

Le Zinc constitue un oligo-élément présent dans tout organisme vivant et essentiel pour son fonctionnement métabolique (Tableau 2-3).

Cependant, les quantités excessives par rapport aux besoins biologiques en Zn peuvent exercer une toxicité qui dépend des conditions physico-chimiques du milieu et de l'espèce. C'est en fait, envers les organismes aquatiques que la toxicité du Zn est la plus grande mais généralement cet effet est différé ; les poissons soumis à une pollution accidentelle en Zn ne meurent que quelques jours après (BREMOND et PERRODON, 1979).

II.2.4.1. Toxicité générale

Chez les mollusques, les premiers effets du Zinc se manifestent au niveau comportemental. Une augmentation de la concentration du métal dans le milieu entraîne une fermeture des valves plus ou moins longue suivant la concentration métallique (DOHERTY *et al.*, 1987). Ceci est à la base d'un test de toxicité développé chez les bivalves. A 500 ppm de Zn, il y a inhibition de l'activité de fouissement chez *Macoma balthica* (ELDON *et al.*, 1980).

Les fortes teneurs et les expositions prolongées au Zn, entraînent la mortalité des organismes. Les différents tests sur invertébrés aquatiques ont donné les valeurs de CL50 reportées dans le tableau 4

Dans la littérature, les valeurs de CL50 permettent de classer d'une part les ions métalliques suivant leur degré de toxicité

Auteurs	Espèces	CL 50 Zn en ppm	Ordre décroissant de toxicité des métaux lourds
ABEL, 1976	<i>Mytilus</i> sp	96 h : 7,8	Cu > Zn
AMIARD-TRIQUET et al., 1986	<i>Mytilus edulis</i>	96 h : >5,0	Cu > Cd > Zn
CALABRESSE et al., 1974	<i>Mercenaria mercenaria</i>	0,166	Hg > Si > Zn > Ni > Pb
D'SILVA et KUREISHY, 1978	<i>Mytilus viridis</i>	48 h : 2,31	Cu > Zn
WATLING, 1981	<i>Perna perna</i> <i>Chloromytilus meridionalis</i> <i>Crassostrea mar- garitacea</i> <i>Crassostrea gi- gas</i>	4 j : > 1,2 21 j : > 0,2 4 j : > 2,5 21 j : > 0,5	Cu > Pb > Cd > Zn
NEBEKER et al., 1986	<i>Physa gyrina</i> (gastéropode)	96 h : 1,27 30 j : 0,771	Cu > Ni > Zn
MARTIN et al., 1986	<i>Asellus aqua- ticus</i> (isopode) <i>Crangonyx pseu- dograoidis</i> (amphipode)	96 h : 18,1 96 h : 19,8	Hg > Cd > Al > Cu > Zn Pb > Ni > Mn > Cr
POMMERY et al., 1985	<i>Daphnia magna</i> (crustacé infé- rieur)	30 j : 0,05	Cd > Cu > Zn

Tableau 4 : Valeurs de CL 50 du Zinc chez les invertébrés aquatiques d'eau douce ou marine.

(h = heures et j = jours)

et, d'autre part, les organismes selon leur degré de sensibilité. Le tableau 4 permet de faire les observations suivantes :

- *- Vis-à-vis du Zinc, les bivalves du genre *Mytilus* ont une sensibilité intermédiaire entre celle des gastéropodes comme *Physa gyrina* et celle des crustacés du genre *Asellus*. Parmi les exemples donnés, les Daphnies sont les plus sensibles au Zn.
- *- Par rapport aux autres métaux lourds, le Zn a un degré de toxicité moyen vis-à-vis des mollusques, toxicité qui reste toujours inférieure à celle du Cu du Pb et du Cd (WATLING, 1981).

L'effet des métaux lourds dépend aussi de l'âge des individus. C'est pendant les stades embryonnaires et larvaires que les mollusques sont les plus sensibles (CALABRESE et al., 1974)

II.2.4.2. Toxicité métabolique

Au niveau métabolique, le Zinc réduit l'activité de filtration chez de nombreux bivalves. Chez les moules, ABEL (1976) montre que la concentration qui réduit de moitié le taux de filtration (CRF50), est de 1,6 ppm pour le Zn, alors que elle est de 0,15 ppm pour le Cu. Chez d'autres bivalves plus sensibles, cette constante atteint à peine 1 ppm (WATLING, 1981).

Chez *Dreissena polymorpha*, le Zn provoque une augmentation de consommation d'oxygène. Par contre il n'a aucun effet sur l'activité de filtration même pour une exposition de quatre semaines à 2ppm de Zn dans le milieu (MOUABAD, 1986; PIHAN et al., 1988)

Chez *Macoma balthica* le Zn provoque des altérations et des coupures au niveau des siphons (ELDON et al., 1980). Par contre au niveau respiratoire, BROWN et al. (1972) ont montré qu'il modifie très peu le taux de consommation d'oxygène.

Chez *Mytilus edulis* une diminution du taux de croissance obtenue à partir de 10 ppb de Zn, peut atteindre 50% de réduction avec 60 ppb (STROMGREN, 1982).

Cet effet se traduit aussi par une réduction de l'activité de la glande byssale ; un taux de 1,8 ppm de Zn réduit de moitié la production des filaments du byssus chez la moule (ABEL, 1976).

Un effet analogue du Zn et du Pb sur la croissance est observé chez le gastéropode: *Arion ater* (MARIGOMEZ et al., 1986).

D'autres effets secondaires du Zn peuvent être observés, tel que la modification de la sensibilité des organismes aquatiques à d'autres stress externes. Une préexposition ou une accumulation préalable du Zn par *Mytilus edulis* diminue la résistance de celle-ci à une augmentation de température du milieu ambiant (COTTER et al., 1982).

Chez l'amphipode *Gammarus pulex*, une préexposition de 14 jours à 0,01 ppm de Zn, augmente sa résistance à une intoxication par le Cd (HOWELL, 1985).

II.2.4.3. Toxicité cellulaire et mécanismes d'action

L'étude de la toxicité au niveau cellulaire permet d'entrevoir le mode d'action du Zn et de connaître les mécanismes mis en jeu.

Chez les protozoaires, on a pu constater que 1 ppm de Zn a un effet stimulateur sur la nitrification, alors que 10 ppm ont un effet contraire (BREMOND et PERRODON, 1979).

Chez l'Euglène, un excès ou un déficit de Zn inhibe toute activité photosynthétique, respiratoire et de croissance (DE FILLIPIS et al., 1981; VYMAZAL, 1985).

Chez *Chlorella pyrenoidosa*, la CL50_{24h} est de 13 ppm (BRAUWERS, 1982).

Chez les mollusques, au niveau cellulaire la réponse aux contaminations par le Zn varie suivant les espèces et le type de cellule considéré. Les éléments figurés du sang sont spécialement étudiés. Une exposition de *Crassostrea virginica* à 1 ou 5 ppm de Zn, n'entraîne pas la destruction des hémocytes et leur habilité phagocytaire reste intacte (CHENG et SULLIVAN, 1984).

Chez les amœbocytes, cellules ultra-spécialisées dans la fixation des métaux lourds, les teneurs en Zn peuvent atteindre 25000 mg/kg (MARTOJA et MARTOJA, 1984).

Cependant chez *Mytilus edulis*, le Zn peut agir au niveau lysosomal, ce qui peut expliquer la diminution de la résistance de cette espèce à d'autres stress environnementaux (COTTER et al., 1982).

Au niveau de la lignée germinale, le Zn inhibe le développement des ovocytes chez *Mytilus edulis* et provoque de nombreuses lésions des gamètes. Au niveau germinale, le Zn montre une toxicité plus accrue que le Cd (MYINT et TYLER, 1982).

Chez les bivalves en général, le Zn n'agit ni sur l'activité ciliaire, ni sur les enzymes respiratoires. Il semble donc que la toxicité du Zn au niveau respiratoire, passe par son action inhibitrice des processus énergétiques plutôt que par les interférences avec les systèmes respiratoires (ABEL, 1976).

Une étude de cytotoxicité *in vitro* des métaux sur la lignée fibroblastique caudale des poissons montre que 0,19 et 0,64 mM de Zn réduisent de 50% la fixation du rouge neutre par les cellules BF-2 et RTG-2 respectivement. Ce test a permis de classer les métaux lourds par ordre décroissant de cytotoxicité : $\text{Si} > \text{Hg} > \text{Cd} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Co} > \text{Ni} > \text{Pb} > \text{Mn} > \text{Cr}$ (BABICH et al., 1986).

Des études de l'activité des Mg^{++} , Ca^{++} , Na^{++} , K^+ et $\text{Na}^+-\text{NH}_4^+$ -ATPase de microsomes branchiaux de la truite arc-en-ciel montrent que, c'est sur la $\text{Na}^+-\text{NH}_4^+$ -ATPase, que le Zn semble avoir le plus d'effet. La Mg^{++} et la Ca^{++} -ATPase sont les moins inhibées par des concentrations semblables en Zn (WATSON et al., 1981).

Au niveau moléculaire, les métaux lourds peuvent agir en perturbant la distribution uniforme des charges électroniques II de l'acide benzoïque : système aromatique représentant un grand groupe de ligands aromatiques dans les enzymes (LEWANDOWSKI, 1988).

III. MECANISMES DE DEFENSE CHEZ LES BIVALVES

Face aux agressions externes, les organismes vivants manifestent une réaction de défense. En cas de contamination par les éléments métalliques, les bivalves détectent rapidement la présence de toxique dans leur milieu et réagissent en prenant des attitudes de protection comportementales ou métaboliques.

		Cellules ayant des échanges avec le milieu extérieur		Cellules ayant des échanges avec le milieu intérieur	
Nature de l'accumulation		Bioaccumulation		Bioaccumulation	
Sites cellulaires		Naturelle	Induite	Naturelle	Induite
MOLLUSQUES	extra-cellulaire	sphérocristaux 	—	sphérocristaux	—
		lamelles basales	—	—	—
	intra-cellulaire	sphérocristaux	—	sphérocristaux	—
		vacuoles digestives 	—	métallothio- néines 	— métallothio- néines
NON MOLLUSQUES	extra-cellulaire	Dentures 	—	Agglomérats	
		(Annélides)	—	(vertébrés)	
	intra-cellulaire	sphérocristaux (foerms)	—	pigments (insectes)	
		vacuoles digestives (arachnides)	—	—	
		pigments (insectes) 	—		

Tableau 5 : Principaux sites et formes de bioaccumulation du Zinc
(d'après MARTOJA et MARTOJA, 1984).

Ces réactions se traduisent souvent soit par une diminution des échanges avec le milieu extérieur, soit par formation de concrétions minérales ou synthèse de métalloprotéines (Tableau 5) dans des organes cibles ou en fin, tout simplement, par excrétion de l'excédent métallique dans le milieu extérieur.

III.1. Réactions comportementales

Chez les bivalves mis en présence d'ions métalliques, la réaction de défense immédiate est la fermeture des valves qui leur permet de s'isoler de leur environnement (DAVENPORT, 1977 ; DOHERTY et al., 1987).

Chez *Mytilus edulis*, une variation continue ou discontinue de la salinité ou du taux de Cuivre dans le milieu entraîne la fermeture des valves et une rétraction des bords du manteau (DAVENPORT et MANLEY 1978; HVILSON, 1983).

Ce genre de réaction entraîne une diminution du taux de respiration et de filtration , jusqu'à en provoquer l'inhibition totale (ABEL, 1976 ; et MANLEY, 1983).

Chez la Dreissène, une exposition au Zinc se répercute sur le mode de filtration par un changement net du rythme d'émission des courants exhalants. De plus, l'ouverture des valves est incomplète (MOUABAD, 1986).

Un dernier moyen de lutte contre les intoxications par les ions métalliques, avant leur pénétration dans l'organisme des mollusques serait la sécrétion de mucus au niveau des branchies et de l'intestin (BRYAN, 1971).

Chez *Mytilus*, le mucus permet de fixer les formes particulières, mais aussi les formes dissoutes parfois préférentiellement (GEORGE, 1980). De ce fait, il joue un rôle auto-épurateur en favorisant la fixation et l'élimination d'une partie des radionucléides avec les pseudofécès (FRAIZIER, 1975).

III.2. Réactions métaboliques

Quand les mollusques et en particulier les bivalves fixés ne peuvent pas se soustraire du contact direct ou indirect avec les ions métalliques présents dans leur environnement, ils les accu-

mulent à des niveaux variables en fonction du temps et des ions disponibles (LOBEL, 1987).

L'organisme développe un mécanisme de défense par immobilisation des métaux. Cette immobilisation peut se faire en fixant ces métaux dans des concrétions minérales intra ou extra-cellulaires (BROWN, 1982), ou dans des structures organiques protéiques possédant des sites dont l'affinité est plus ou moins forte suivant les ions métalliques et le type de protéines mis en jeu (VIARENGO et al., 1981-1987).

III.2.1. Concrétions minérales

Il s'agit de concrétions synthétisées par de nombreux organismes intoxiqués par les métaux lourds et dont la nature chimique est variable.

Les études analytiques et histologiques ont identifié chez les mollusques des dépôts métalliques sous plusieurs formes :

- *- Forme cristallographique ayant une forme cristallisée bien définie. Il s'agit d'une vraie biominéralisation en sphérocristaux (WALKER et al., 1975).
- *- De granules amorphes (DOYLE et BLAKE, 1977).
- *- De vésicules limitées par des membranes. Il s'agit d'une compartimentation qui isole ces ions métalliques du reste de l'espace cellulaire ou tissulaire (GEORGE et PIRIE, 1980).

Chez les bivalves, des concrétions à contenu métallique ont été signalées chez *Mercenaria mercenaria* (NEFF, 1972), chez *Mytilus edulis* (GEORGE et al., 1976), et chez *Ostrea edulis* (COOMBS, 1972).

Les organes à fonction digestive, de stockage, d'excrétion et ceux en contact direct avec le milieu externe (branchies et manteau) sont les sites les plus riches en concrétions métalliques (GEORGE et PIRIE, 1980 ; ZATTA, 1985).

Les néphrolithes sont le siège d'une forte accumulation de Zn, Fe, Mg, Mn, Al, Co, Ba, et de Si (SIMKISS, 1979). Ils sont de bons indicateurs de certaines pollutions métalliques.

Chez les mollusques, ces deux sortes de piégeage des métaux lourds par biominéralisation et par compartimentation expliquent en partie la signification de l'accumulation et contribuent à la compréhension des mécanismes de détoxification intracellulaire des métaux lourds accumulés (SIMKISS, 1976-1977).

Le devenir de ces concrétions est lié à la capacité de l'organisme de les excréter vers la lumière des organes excréteurs ou vers l'espace inter-cellulaire où elles peuvent jouer un rôle important comme réserve minérale (SILVERMAN et al ., 1986).

D'autre part, il peut y avoir immobilisation du métal par précipitation sous forme de dépôts fortement insolubles. Selon SIMKISS (1977), cette dernière voie représente une économie d'énergie par rapport au passage dans les cellules.

Récemment MARTOJA (1988) a montré l'importance des précipités d'argent sous forme de sulfates chez les polychètes et les mollusques.

III.2.2. Les métalloprotéines (MP)

On distingue deux catégories de métalloprotéines qui diffèrent tant par leurs propriétés physico-chimiques et biochimiques que par leurs fonctions métaboliques dans l'organisme : Les métallothionéines et les métalloprotéines non métallothionéines.

III.2.2.1. Métallothionéines (MT)

III.2.2.1.1. Définition

Ce sont des protéines à forte affinité vis-à-vis des métaux lourds, d'où leur forte teneur en Cd et en Zn . Mais les trois propriétés fondamentales qui les caractérisent des autres métalloprotéines sont (MARGOSHES et VALLEE, 1957):

- *- Le faible poids moléculaire : environ 10 000
- *- La composition en acides aminés riches en cystéine (de l'ordre de 30 % des résidus acides aminés), et dépourvue d'acides aromatiques et d'histidine.
- *- Le spectre d'absorption en ultra-violet à 250 nm .

III.2.2.1.2. Répartition

Les MT sont largement réparties dans le règne animal et végétal. Actuellement de nombreux travaux s'y intéressent dans l'objectif de déterminer leur fonction "normale" et leur métabolisme (ONOSAKA *et al.*, 1984 ; ENGEL, 1987).

Des protéines, dont les propriétés biochimiques les rapprochent beaucoup des MT, ont été isolées de l'homogénat de foie, de reins et de muqueuse intestinale des mammifères (CASTERLINE *et al.*, 1975 ; ONOSAKA *et al.*, 1983), des poissons (BROWN, 1977 ; BRADLEY *et al.*, 1985 ; OLSSON *et* HAUX, 1985) et des crustacés (ENGEL, 1987).

COSSON *et al.*, (1986) ont mis en évidence des protéines de type MT chez deux invertébrés des sources hydrothermales ; le pogonophore *Riftia pachyptila*, et l'annélide polychète *Alvinella pompejana*, avec une forte concentration dans les tissus riches en bactéries.

Plusieurs auteurs montrent la présence dans les tissus de bivalves exposés aux métaux lourds : Cu, Cd, Hg, Mg et probablement le Zn, d'une protéine soluble à faible poids moléculaire, capable de complexer ces cations métalliques (NOEL-LAMBOT *et al.*, 1978 ; VIARENGO *et al.*, 1980-1981 ; ROESIJADI, 1980 ; LOBEL *et* PAYNE, 1984). Mais chez *Mytilus edulis*, le suivi du métabolisme du Zn, après contamination, ne montre pas de Zn-métallothionéines, ni dans les voies de fixation, de transport ou de stockage, ni dans les tissus d'excrétion (GEORGE *et* PIRIE., 1980).

III.2.2.1.3. Induction et métabolisme des MT

Les données disponibles à présent sur les bivalves cosmopolites indiquent qu'une exposition principalement au Cd, métal xénobiotique toxique et au Cu, métal hormétique, déclenche l'induction de néosynthèse des thionéines capables de complexer ces métaux sous une forme non cytotoxique (TALBOT *et* MAGEE, 1978).

Chez *Cardium sp.*, COSSON (1987) a observé que la teneur en métallothionéine dans la partie molle est corrélée à sa teneur en

Zn. Ce dernier apparaît comme un inducteur primaire pour la synthèse des MT.

Chez ces organismes, quatre tissus principaux sont le siège d'une grande concentration de protéines de type métallothionéines ; le système digestif, les branchies, les reins et secondairement les éléments figurés du sang (les amœbocytes en particulier) (JULSHMAN et ANDERSON, 1983 ; VIARENGO *et al.*, 1981b-1982 ; GEORGE, 1983 ; MARTOJA et MARTIN, 1985).

Pour déclencher cette induction, les métaux semblent agir au niveau nucléaire ou en stimulant la translation de l'ARNm thionéine au niveau ribosomal (VIARENGO, 1985).

Au niveau cellulaire, la présence des MT est souvent liée à des caractéristiques ultrastructurales, telle que l'observation des lysosomes qui seraient le siège de leur dégradation (MARTOJA et MARTOJA, 1984). Cette dégradation des MT au niveau des lysosomes II donne lieu à des lysosomes III, corps résiduels riches en protéines, en Ca, en Cd et en groupements sulfhydrylés (GEORGE, 1983).

Au niveau tissulaire, la fonction physiologique qui lie les compartiments hépatiques, rénaux et sanguins est la filtration à travers les glomérules rénaux, ce qui permet au sang de se débarrasser de sa charge en Cd-MT (SQUIBB *et al.*, 1979).

III.2.2.1.4. Rôles des MT

Le rôle le plus certain des MT chez les mammifères est de fixer le Cd et donc d'annuler sa toxicité. Ceci a été vérifié aussi pour le Zn et le Cu chez le rat et la souris en particulier (ARIZON, *et al.*, 1982 ; ONOSAKA *et al.*, 1983-1984).

Ainsi les MT permettent d'augmenter la tolérance des organismes exposés aux métaux, soit en fixant l'excès métallique au niveau de la muqueuse intestinale si la contamination a eu lieu par voie orale, c'est le cas chez les mammifères (LEDERER, 1985), soit en immobilisant cet excès métallique au niveau hépatique, sanguin ou rénal si la contamination est directe (BRADLEY *et al.*, 1985 ; VIARENGO *et al.*, 1987). Dans ce cas, bien que la concentration métallique dans la cellule puisse être anormalement élevée, la plupart des métaux existent sous une forme non toxique,

fixés aux thionéines néosynthétisées. C'est seulement dans le cas où le flux entrant des métaux vers les cellules excède la quantité des MT synthétisées, que la toxicité cellulaire a lieu.

Les propriétés et la nature inductible des MT impliquent que ces protéines possèdent une fonction protectrice vis-à-vis de l'effet toxique des métaux, chez les mollusques aussi (NOEL-LAMBOT *et al.*, 1978-1980)

Contrairement au rôle toxicologique et physiologique favorable des MT, du point de vue écologique, nous devons leur attribuer un rôle néfaste, dans la mesure où en favorisant la fixation des métaux par les organismes, donc leur accumulation, elles augmentent le risque de contamination des animaux occupant les échelons supérieurs des chaînes alimentaires. Les MT sont donc des facteurs qui amplifient la biomagnification.

III.2.2. Les métalloprotéines (non métallothionéines)

Ce sont des complexes métal-protéines, qui ont un poids moléculaire élevé ou moyen (>10000), et qui absorbent l'ultraviolet à 280 nm du fait de la présence des acides aminés aromatiques.

Dans cette catégorie, nous classons toutes les métalloenzymes caractérisées par le fait que le métal leur est lié d'une manière très stable et qu'il ne s'élimine pas lors de la purification (LEDERER, 1985).

Le Zinc joue un rôle dans ces systèmes enzymatiques. Chez l'huître, neuf métalloenzymes du Zn ont été identifiées dont l'anhydrase carbonique, la phosphatase alcaline, la carboxypeptidase A, la déshydrogénase malique et l' α -mannosidase (WOLFF, 1970 ; COOMBS, 1972).

D'autres métalloenzymes zinciques ayant un rôle fondamental dans les équilibres métaboliques et les transferts ioniques cellulaires, ont été isolées chez les mammifères (MARTOJA et MARTIN, 1985).

Chez le *Nereis diversicolor*, polychète marin, NEJMEDDINE (1987) a confirmé l'existence de deux protéines capables de complexer le Cd, l'une de haut poids moléculaire et l'autre de faible poids moléculaire (MPII).

III.3. Excrétion

D'autres fonctions physiologiques normales permettent à l'organisme de se débarrasser de ses charges métalliques excédentaires. On note principalement:

- *- La formation et le rejet périodique de l'exosquelette chez les crustacés (ZATTA, 1985); la formation de la coquille chez les mollusques (NEFF, 1972).
- *- La défécation, l'exocytose des granules rénaux dans l'urine et la diapédèse des amœbocytes (BRYAN, 1971; GEORGE et PIRIE, 1980) chez les mollusques.
- *- L'émission de gamètes chez la femelle des mollusques. Chez *Mytilus edulis*, LOBEL et WRIGHT, (1982) trouvent une charge excessive en Zinc dans les gonades femelles.

La décontamination peut s'effectuer aussi à travers la surface du manteau et des branchies par suite du phénomène de diffusion ou d'exocytose (BRYAN, 1971).

La cinétique du relargage des métaux lourds et du Zn en particulier, est un phénomène biologique lent par rapport à leur accumulation (SCRUDATO et ESTES, 1976 ; RIISGARD *et al.*, 1985). Elle se déroule en plusieurs phases, variables en nombre, suivant les espèces métalliques et les organismes considérés: 2 pour le Zn^{65} chez *Mytilus edulis*, *Mytilus galloprovincialis*, *Cardium glaucum*, et chez le poisson *Cyprinus carpio* (BAUDIN, 1977b-1985); 3 pour le Zn^{65} chez *Mytilus edulis* (FRAIZIER, 1975) et chez *Gammarus Homarus americanus* (WAIWOOD *et al.*, 1987).

Les mêmes caractéristiques de la cinétique de relargage ont été vérifiées expérimentalement chez *Dreissena polymorpha* pour le Cd (BIAS et KARBE, 1985) et in situ, pour le Zn et le Pb (LEGLIZE et CROCHARD, 1987).

Les caractéristiques physico-chimiques du milieu agissent considérablement sur la cinétique de relargage métallique par les organismes aquatiques (JONES *et al.*, 1986).

D'autre part, cette cinétique de relargage dépend aussi des voies d'intoxication (directes ou trophiques) et de la nature du

sel métallique utilisé lors de la contamination (BAUDIN, 1977a ; BOUDOU, 1982).

La plupart des travaux se sont intéressés à la bioaccumulation pour tester la toxicité des métaux lourds et mieux comprendre les mécanismes ainsi que les facteurs biotiques et abiotiques mis en jeu.

Le contrôle de la qualité de l'eau à l'aide d'organismes "sentinelles" dans les sites à haut risque de contamination a beaucoup encouragé cette première voie de recherche. Les données sur l'excrétion des métaux lourds par les organismes aquatiques restent donc largement déficitaires.

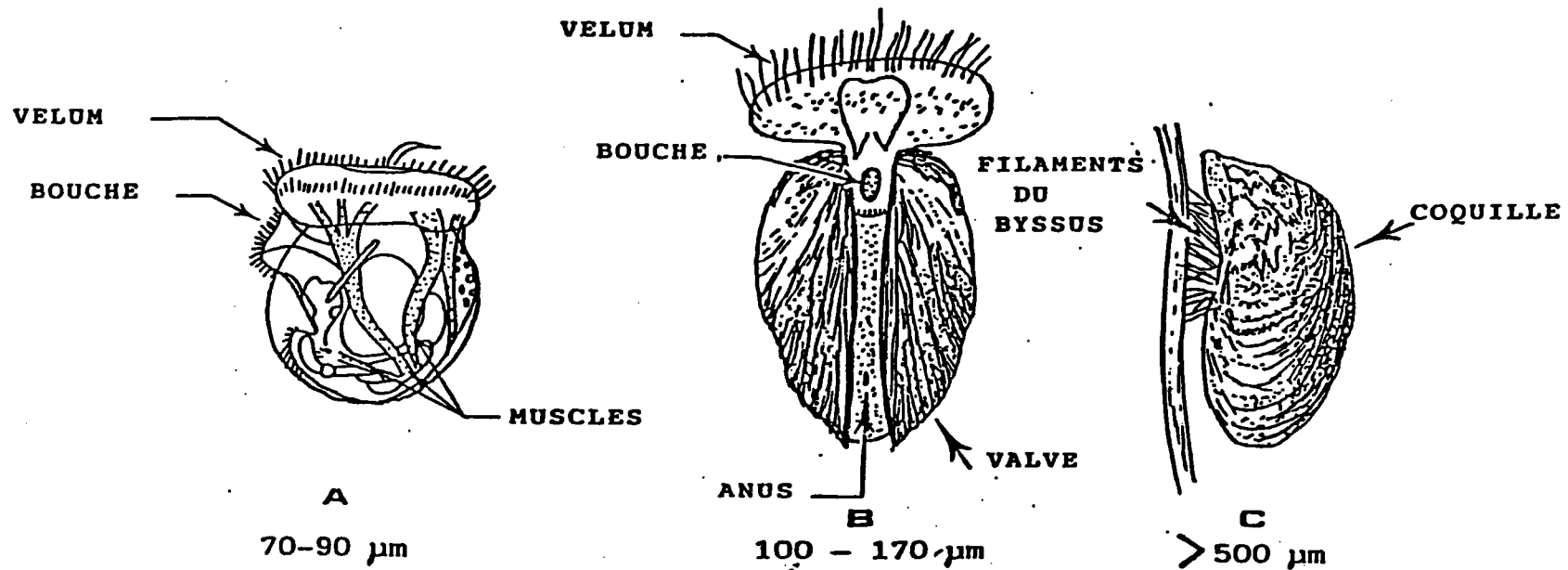


Fig. 4 : Stades de développement de *Dreissena polymorpha* (PALLAS).

A : Larve trocophore

B : Larve "coquille"

C : Jeune moule

II^{ème} PARTIE : MATERIELS ET METHODES

I. MATERIELS BIOLOGIQUES

I.1. *Dreissena polymorpha* (Fig. 4)

Ce bivalve, utilisé comme support biologique pour les tests écotoxicologiques, a une appartenance systématique aisément identifiable.

I.1.1. Systématique

- Embranchement: Mollusque
- Classe : Lamellibranche (bivalve, acéphale)
- Ordre : Eulamellibranche
- Super famille: Dreissenoidae
- Classe : Dreissenidae
- Genre : *Dreissena*
- Espèce : *polymorpha* (PALLAS 1771)

Communément appelée moule zébrée ou migratrice, elle se caractérise morphologiquement par une coquille mytiliforme et équivalve, d'une couleur verdâtre ou brunâtre, ornée de bandes brunes disposées en zig-zag et garnie de stries de croissance (fig. 4).

Le manteau présente une ouverture pédieuse et deux courts siphons ciliés ; le siphon inhalant et le siphon exhalant.

Il faut noter que les importantes capacités d'adaptation de cette espèce constituent une caractéristique fondamentale.

Selon MORTON, (1969), l'espèce présente de nombreux caractères primitifs parmi lesquels :

- *- La possession d'un "stade véligère libre"
- *- Une glande byssale fonctionnelle
- *- Une simple fusion de manteau

I.1.2. Rappel biologique et physiologique

Du point de vue biologique, les animaux sont bisexués avec quelques cas d'hermaphrodisme (WALZ, 1978; TOURARI *et al.*, sous presse). La fécondation est externe et les oeufs donnent naissance à une larve trocophore puis à une larve véligère nageuse grâce à un velum (fig. 4).

Le passage à un stade benthique se fait parallèlement au développement de la coquille et se termine par la fixation des individus, avec une mortalité de 99% (LEWANDOWSKI, 1976).

La maturité sexuelle est généralement atteinte à la fin du premier hiver chez les animaux dont la taille est de 9 à 10mm (WALZ, 1978).

La reproduction commence au printemps et s'étale durant la saison chaude. C'est la température qui déclenche le processus avec un seuil qui varie de +12°C à +16°C suivant les auteurs (BREITIG, 1969 et KORNOBIS, 1977).

WALZ, en 1978, a montré expérimentalement l'induction chimique de la ponte, ce qui permet une synchronisation et une plus grande probabilité de fertilisation.

I.1.3. Exigences écologiques

La Dreissène a une grande répartition spatiale et connaît une grande expansion géographique, ce qui fait d'elle l'objet de nombreuses études, visant à déterminer ses caractères biologiques, physiologiques et écologiques.

L'utilisation expérimentale au laboratoire exige d'éviter les stress qui peuvent perturber la physiologie et le comportement normaux de l'animal donc de rester dans les limites de tolérance de l'espèce sinon à son optimum.

Parmi les facteurs les plus importants, on note les propriétés physico-chimiques du milieu et le facteur nutritionnel.

I.1.3.1. Facteurs physico-chimiques

I.1.3.1.1. La température

" "

La Dreissène vit bien entre +13 et +15°C. Sa reproduction et sa croissance exigent une température supérieure à +10°C.

Au laboratoire, WALZ en 1978, a défini un optimum de croissance entre +10 et +15°C. La TL₅₀_{24h} est de +32,7°C (TOURARI, 1988)

I.1.3.1.2. Le pH

In situ, la Dreissène est rencontrée même dans des cours d'eau dont le pH atteint 9 (NOURISSON et al., 1986). Par contre, elle est très sensible aux pH acides.

Les essais de lutte chimique contre l'expansion de la Dreissène dans les conduites de distribution d'eau potable montrent que la Dreissène a une sensibilité plus grande que d'autres mollusques, pour certains acides (PROTEAU et LABAT, 1979).

Enfin, le taux de filtration chez la Dreissène dépend beaucoup des valeurs de pH dans le milieu (MORTON, 1971).

I.1.3.1.3. L'Oxygène dissous

C'est une espèce peu oxyphile, qui résiste bien aux mauvaises conditions d'oxygénation en développant des mécanismes métaboliques adaptés (BIRGER et MALAKEVSKAJA, 1978).

La prise d'oxygène s'effectue par les branchies mais le manteau joue aussi un grand rôle dans cette fonction (MORTON, 1969).

I.1.3.1.4. La dureté

L'optimum se situe entre 25 et 125 mg de Ca/l. La Dreissène a une tolérance assez large vis-à-vis de ce facteur mais au-dessous de 20 mg de Ca/l, l'animal ne peut survivre.

I.1.3.1.5. La salinité

La moule zébrée est une espèce euryhaline puisqu'elle supporte une salinité allant de 0 à 17‰ (ZHADIN, 1952), mais elle ne supporte pas une teneur en chlorure supérieure à 250 mg/l (WOLFF, 1970).

I.1.3.1.6. Le courant

En général, elle ne supporte pas les forts courants d'eau. En zone lacustre littorale peu profonde, le mouvement des masses d'eau peut empêcher la fixation par une augmentation significative des matières en suspension (STANCZYKOWSKA et al., 1975) ou rejeter les larves sur les rives des lacs.

Ce facteur est la cause de densités de populations de Dreissène plus faibles en eau courante.

I.1.3.2. Facteur nutritionnel

Au sein de la chaîne trophique, la Dreissène se situe au niveau des consommateurs de 1^{er} ordre. C'est un filtreur discontinu à régime alimentaire de type microphage.

L'eau et les particules alimentaires en suspension (bactéries, algues, diatomées, oeufs et larves d'invertébrés, détritiques et fibres végétales...) sont acheminées vers les branchies par l'intermédiaire du siphon inhalant qui joue le rôle de premier filtre. Au niveau branchial, une partie des matières en suspension est dirigée vers le tractus digestif. Le reste agglutiné par le mucus constitue les "pseudo-fécès" expulsés à l'extérieur par le siphon inhalant. L'activité ciliaire détermine les différents courants : respiratoires, nourriciers et excréteurs. Ce mécanisme a été particulièrement étudié par MORTON, 1971.

Le facteur nutritionnel a un grand effet sur la répartition et la croissance de la Dreissène.

La composition biochimique et la taille des particules du phytoplancton influencent également le taux de filtration et d'assimilation (MORTON, 1971 et MATTICE et al., 1972).

Auteurs	Bivalves	Qualité de nourriture	Quantité de nourriture
MATTICE <i>et al.</i> , 1972	<i>Dreissena polymorpha</i>	Seston : dominance d'algues bleues et de diatomées	20-40.10 ³ cell./ml
WINTER 1975	<i>Mytilus edulis</i>	<i>Dunaliella marina</i> Butcher	20-40.10 ³ cell./ml
STANCZYKOWSKA, 1977	<i>Dreissena polymorpha</i>	Planctons: diamètre > 1 µ	
BIRGER et MALA-KEVSKAJA, 1978	<i>Dreissena p</i> <i>Dreissena b</i> <i>Gabba p</i>	<i>Microcystis aeruginosa</i>	10 à 25 g PF/l 10 à 25 g PF/l 10 à 25 g PF/l
D'SILVA et KU-REISHY, 1978	<i>Mytilus viridis</i>	<i>Synechosystis</i> sp	4.10 ³ cell./ml
WALZ, 1978	<i>Dreissena polymorpha</i>	Diatomée sp	0,1-0,5 de carbone/l
COSSON, 1979	<i>Mytilus edulis</i>	<i>Platymonas sneeia</i> : (lyophilis)	0,1-0,5 de carbone/l
TEN WINKEL et DAVIDS, 1982	<i>Dreissena polymorpha</i>	Diatomées 15-40 µ	0,1-0,5 de carbone/l
GILLET <i>et al.</i> , 1982	<i>Dreissena polymorpha</i>	<i>Scenedesmus quadricauda</i> <i>Scenedesmus subspiculatus</i>	0,1-0,5 de carbone/l
FRITZ <i>et al.</i> , 1984	<i>Crassostrea virginica</i> (larve)	Coccoides-flagellés Diatomées centriques et pennales	0,1-0,5 de carbone/l
STRÖMBERG et CARY, 1984	<i>Mytilus edulis</i>	<i>Isochrysis</i> g. <i>Tetraselmis</i> s. <i>Thalassiosira</i> p.	2,5-20.10 ⁴ cell./ml
HIS <i>et al.</i> , 1985	<i>Crassostrea virginica</i> (larve)	<i>Isochrysis</i> aff.g. ou <i>Chaetoceros</i> C.	50.10 ³ cell./ml
FOE et KNIGHT, 1985	<i>Corbicula fluviatilis</i>	<i>Ankistrodesmus</i> + sédiment	5.10 ⁵ cell./ml
FOE et KNIGHT, 1986	<i>Corbicula fluviatilis</i>	<i>Chlorella vulgaris</i> autres sp algales	9.10 ⁵ cell./ml

Tableau 6 : Variation quantitative et qualitative de la nourriture chez les bivalves.
PF: poids frais cell: cellule.

Pour l'expérimentation au laboratoire, le problème de la nourriture des bivalves filtreurs reste une difficulté primordiale à résoudre. Il faut réaliser des cultures d'algues unicellulaires dont la nature spécifique et quantitative est très variable suivant les auteurs (Tableau 6).

Ces cultures étant onéreuses, beaucoup de chercheurs utilisent des aliments organiques artificiels : sang, farines végétales ou animales, algues broyées ou lyophilisées (MASSON, 1976, LANGDON et BOLTON, 1984).

Cependant, la plupart des études entreprises sur la filtration et le suivi de la croissance de la Dreissène et des bivalves en général montrent que le meilleur rendement est obtenu en utilisant comme nourriture les cultures d'algues unicellulaires (MASSON, 1976 ; FOE et KNIGHT, 1985-1986).

Selon STANCZYKOWSKA (1977), la Dreissène préfère les particules de petite taille sans toutefois descendre au-dessous de 1 μm , car un minimum de turbidité est nécessaire à la stimulation des récepteurs sensoriels (MORTON, 1971).

Une étude au laboratoire sur le rôle des systèmes de sélection successifs, d'abord dans la cavité palléale puis dans l'estomac de la Dreissène, a montré qu'il y a une préférence des particules d'une taille de 15 à 40 μm . SECCHI (1984) a par ailleurs montré que le tri au niveau de l'estomac influence très nettement la bioaccumulation métallique dans la glande digestive, selon qu'il y a ou non transit dans les diverticules digestifs.

Par ailleurs, ce système de sélection fonctionne plus efficacement en présence de simples mixtures algales qu'en présence du plancton du lac (TEN WINKEL et DAVIDS, 1982).

En utilisant des monocultures d'algues d'unicellulaires, la meilleure croissance pondérale est obtenue en utilisant 4.10^4 cell./ml pour *Mytilus edulis*, 5.10^5 cell./ml à 9.10^5 cell./ml pour *Corbicula fluminea* (WINTER, 1975 et FOE et KNIGHT, 1985-1986).

Le seuil supérieur est de 1.10^6 cell./ml. Cette quantité a été retenue pour nourrir les dreissènes avec une monoculture de *Chlorella vulgaris* (voir chapitre I-2).

I.2. *Chlorella vulgaris*

La souche utilisée est répertoriée 211/11b au centre d'algues et de protozoaires de Cambridge. Elle peut être procurée par d'autres algothèques.

La chlorelle est un eucaryote unicellulaire dont la systématique est la suivante :

Espèce	: chlorophytes
Classe	: chlorophycées
Sous classe	: chlorophycidés
Ordre	: chlorococcales
Famille	: ocystacées
Genre	: <i>Chlorella</i>
Espèce	: <i>vulgaris</i> (211/11b)

Le choix de la nourriture a été guidé par deux caractéristiques :

*- les propriétés morphologiques : la chlorelle est une algue unicellulaire solitaire, non flagellée de forme ellipsoïdale ou sphérique. A l'état adulte, sa taille varie entre 2 à 10µm, ce qui se rapproche beaucoup de la classe de taille préférentielle de la Dreissène (MORTON, 1971 ; STANCZYKOWSKA, 1977 et TEN WINKEL et DAVIDS, 1982). De plus, la paroi algale est mince, ce qui facilite son ingestion.

*- les propriétés écologiques : c'est une espèce commune dans les écosystèmes limniques, ce qui indique que cette algue n'a pas d'exigences nutritionnelles très strictes en ce qui concerne des nutriments principaux et les substances de croissance.

C'est une espèce qui n'est pas thermophile et dont le pH minimum de croissance est de 4. En absence d'oxygène, elle développe une activité anaérobie.

Sa culture intensive est donc relativement facile à réaliser et de nombreux chercheurs l'ont utilisée pour la nutrition des daphnies (MUGEL et FERARD, 1978 ; BELKHADIR, 1979 ; BOUDOU, 1982 ; FERRARD, 1987) et des bivalves (FOE et KNIGHT, 1986).

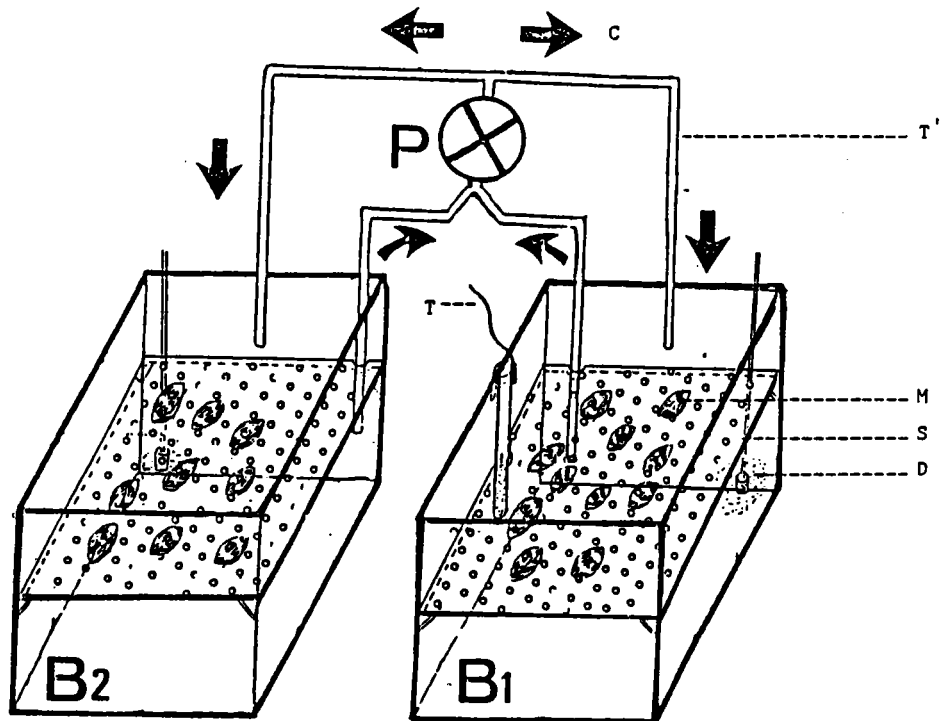


Fig. 5 : Dispositif expérimental : système dynamique fermé

- B : Bac de 30l
- C : Circulation du milieu
- D : Diffuseur d'oxygène
- M : Moules
- P : Pompe
- S : Support en PVC rigide (perforé)
- T : Thermoplongeur
- T' : Tuyau

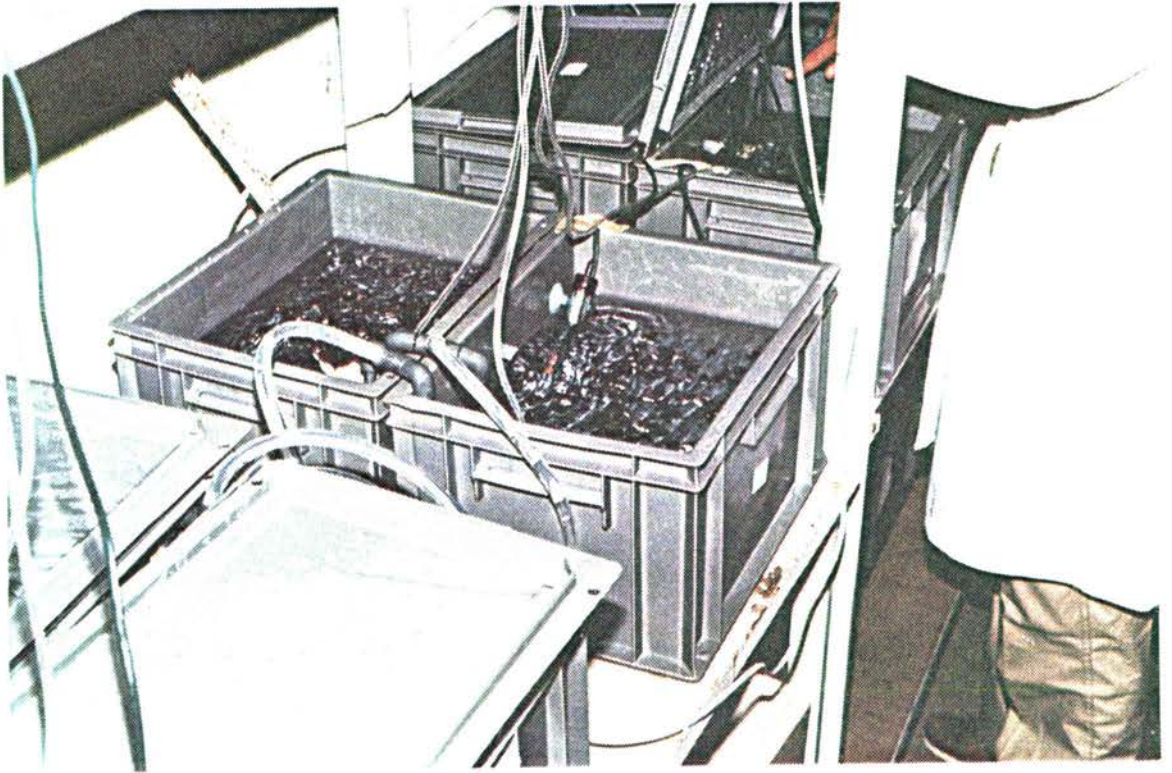


Fig. 6 : Dispositif expérimental : système dynamique fermé .

II. DISPOSITIF EXPERIMENTAL (Fig. 5-6)

Des essais nous ont amené à choisir un dispositif constitué de deux bacs en polyéthylène communiquant par un pont en PVC souple.

Dans chaque bac de 15 litres, les moules sont placées sur un support en PVC rigide perforé pour faciliter une bonne circulation de l'eau du milieu.

Une pompe d'aquarium (EHEIM) relie les deux bacs de la même unité et assure ainsi une bonne homogénéisation au sein de l'unité expérimentale.

Le milieu de ce système dynamique fermé est changé tous les 48 heures. Au cours de l'expérience en vue d'étudier l'interaction Zn/Pb, le changement est effectué toutes les 24 heures pour limiter les pertes métalliques dues principalement à la précipitation et à l'adsorption des deux métaux sur les surfaces du dispositif.

III. MODALITES DE CONTAMINATION

L'approche écotoxicologique en laboratoire se heurte à deux problèmes majeurs : celui du choix des stations témoins pour prélever les animaux témoins et celui du choix des concentrations d'intoxication. C'est pourquoi une première étude a porté sur la résolution de ces deux aspects.

III.1. Choix de la station témoin

Pour rechercher une station naturelle pouvant fournir des moules témoins, nous avons fait une prospection sur le réseau du bassin de la Moselle en prélevant des échantillons d'eau et de moules pour analyser les teneurs en métaux.

Suivant le bilan analytique global (tableau 7), la station de Villey-le-Sec dont les moules montrent une charge métallique moindre, a été retenue. Cette station est située en amont de plusieurs rejets sidérurgiques responsables de contamination métalliques (NOURISSON, 1985).

PARAMETRES		VILLEY-LE-SEC	POMPEY ECHELLE à poisson	POMPEY CANAL
D r e i s s e n e	PF mg	1100.2±400.8	760.4±104.6	849.9±190.0
	PS mg	170.5± 10.5	80.9± 20.9	79.8± 19.0
	PS/PF %	15.5± 3.3	10.6± 2.5	9.4± 2.1
	Zn mg/kg	158.9± 45.5	179.9± 17.4	129.3± 27.4
	Pb mg/kg	6.5± 1.9	14.5± 3.4	14.6± 8.4
	Cr mg/kg	1.5± 0.9	3.8± 1.0	2.5± 0.6
	Cu mg/kg	15.0± 5.0	20.1± 9.9	18.9± 5.3
	Fe mg/kg	55.9± 9.5	190.9± 9.1	199.8± 19.7
e a u	Zn mg/l	0.15±0.05	0.18±0.03	0.13±0.01
	Cu mg/l	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01
	Fe mg/l	0.10±0.02	0.10±0.02	0.12±0.02
	Chlore total mg/l	0.15±0.04	0.17±0.01	0.15±0.01
	Conductivité mS/cm	0.27±0.07	0.31±0.01	0.33±0.03
	Dureté totale mg/l Ca CO ₃	195.0±5.0	285.0±5.4	240.0±30.0

Tableau 7 : Données analytiques sur les trois stations (Choix de station témoin).
PF et PS : poids frais et poids sec.

Paramètres	Chlore total ug/l	Zn total ug/l	Dureté totale mg CaCO ₃ /l	Conductivité mS/cm	pH
Avant la filtration	20,0±5,0	150,0±50,0	260,0±10,0	0,45±0,10	7,6±0,4
Après la filtration	0,0±0,0	50,0±10,0	200,0±20	0,40±0,10	8,0±0,2

Tableau 8 : Qualité de l'eau de conduite avant et après la filtration sur charbon actif.

On note les effets favorables : déchloration et élimination du Zinc.

De plus, la récolte des moules au niveau de cette station est aisée, vu la grande densité des peuplements et l'accès facile en toute saison.

III.2. Salle d'expérimentation

Il s'agit d'une pièce de 20m² qui a été aménagée et réservée exclusivement aux essais d'intoxication sur la moule.

Le contrôle de la photopériode est assuré par une minuterie réglable manuellement avec une précision de 15mn, l'intensité de la lumière étant de 1500 lux.

III.3. Eau du milieu

Nous avons utilisé l'eau de conduite déchlorée par filtration sur colonne à charbon actif (Fig. 7), car le chlore de l'eau de ville peut causer, comme nous l'avons vérifié, une mortalité.

L'eau déchlorée d'une qualité légèrement différente par rapport à l'eau de conduite initiale (tableau 8), est mise en réserve dans un grand bac de 300 l, 24 heures avant chaque changement de milieu. Pendant ce temps de stockage, l'eau déchlorée est oxygénée et amenée à la température voulue pour les expériences.

III.4. Conditions expérimentales

Nous avons pris en considération les exigences écologiques citées précédemment afin de pouvoir travailler dans les conditions optimales ou tolérables pour la Dreissène.

Le milieu est oxygéné par un diffuseur d'air placé dans chaque bac. Un thermoplongeur immergé dans chaque unité permet de maintenir la température voulue.

Les conditions d'expérimentation sont les suivantes :

$T^{\circ}C = 19 \pm 1^{\circ}C$

$pH = 8,2 \pm 0,4$

Oxygène dissous > 80 % de saturation

Débit = 2,5 l/mn

Dureté totale = 220 ± 20 mg de $CaCO_3/l$

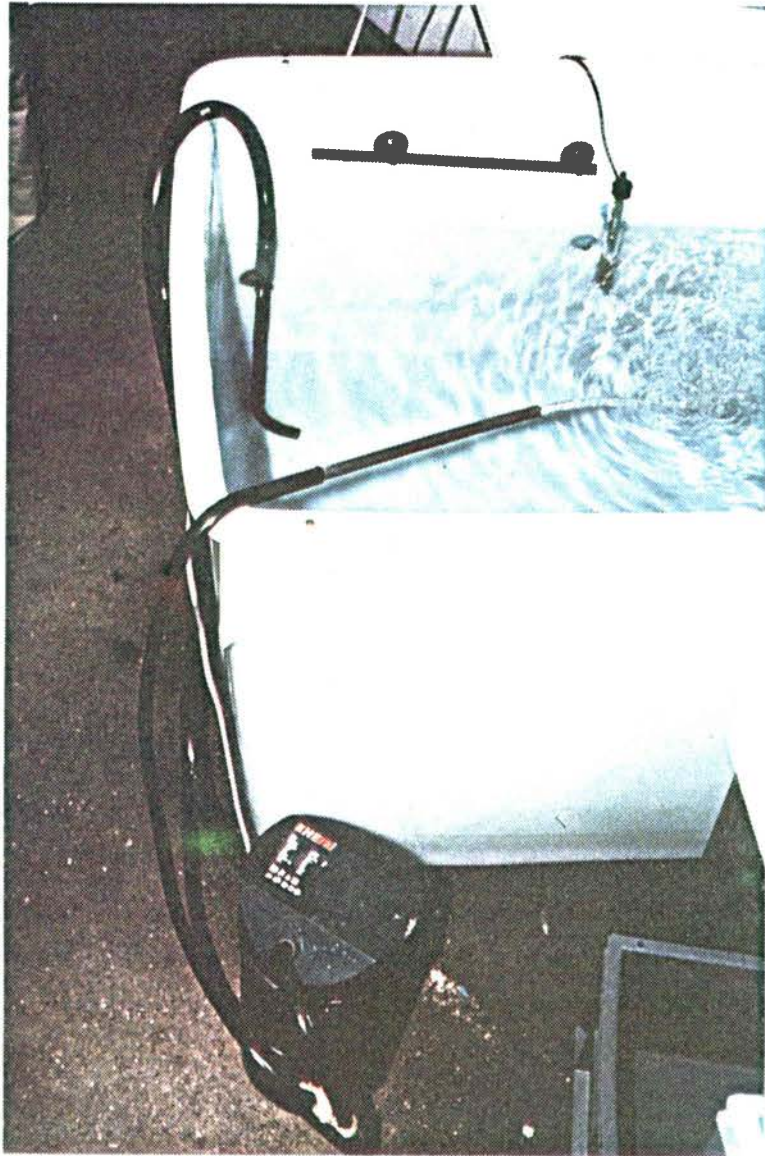


Fig. 7 : Eau déchlorée par filtration sur charbon actif.

Conductivité = $0,4 \pm 0,1$ mS/cm

III.5. Choix des concentrations en Zn

Les concentrations les plus élevées (2 et 4ppm) ont été choisies pour deux raisons:

*- d'une part pour dépasser les valeurs en Zn détectées sur le terrain, en prévision des problèmes futurs susceptibles de se produire accidentellement au voisinage des sites miniers et industriels, en effet les concentrations en Zinc dans les stations recevant une pollution métallique peuvent atteindre 10^3 ppm Zn total/l, mais la fraction dissoute reste largement inférieure à 1ppm.

*- d'autre part pour pouvoir accentuer d'éventuels phénomènes difficilement détectés aux concentrations les plus basses.

Une première étude a permis de déterminer la CL50 (concentration létale pour 50 % des individus des lots testés) dont la valeur est présentée dans le chap. II. des résultats.

La contamination des milieux se fait par dilution d'une solution mère d'acétate de Zn à 10^3 ppm dans l'eau distillée acidifiée à 1%. Ce sel de Zn est très soluble et ne présente pas les inconvénients du chlorure de Zn enrichissant le milieu en chlorures.

III.6. Préparation de la nourriture

Pour tester l'effet de la nourriture sur les processus de bioaccumulation et de relargage du Zn par les moules, nous avons réalisé un essai de contamination en nourrissant ces dernières environ quatre heures toutes les 48 heures par des cultures monospécifiques de Chlorelles, en dehors des périodes de contamination.

Pour avoir des solutions algales suffisantes, des cultures en continu ont été réalisées parallèlement aux essais de contamination des moules.

Le milieu de culture utilisé est celui de LEFEVRE-CZARDA (milieu LC) modifié par incorporation d'oligo-éléments retenue par la norme AFNOR (1980).

- <u>Solution de base :</u>		
Ca (NO ₃) ₂ . 4 H ₂ O		40 mg
K NO ₃		100 mg
Mg SO ₄ . 7 H ₂ O		30 mg
K ₂ HPO ₄		40 mg
H ₂ O qsp		1000 ml
- <u>Solution d'oligo-éléments I :</u>		
Cu SO ₄ . 5 H ₂ O		0,3 mg
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄		0,6 mg
Zn SO ₄ . 7H ₂ O		0,6 mg
Co Cl ₂ . 6H ₂ O		0,6 mg
Mn (NO ₃) ₂ . 4 H ₂ O		0,6 mg
C ₆ H ₈ C ₇ . H ₂ O		0,6 mg
H ₃ BO ₃		0,6 mg
H ₂ O qsp		10 ml
- <u>Solution d'oligo-éléments II :</u>		
Citrate de Fer		16,25 mg
Sulfate de Fer		6,25 mg
Perchlorure de Fer		6,25 mg
H ₂ O qsp		10 ml

Tableau 9 : Composition du milieu de culture des algues (Chlorella vulgaris).
Milieu de LEFEVRE-CZARDA, modifié par l'incorporation de 2 solutions d'oligo-éléments (0,5 ml de chaque solution par litre de solution de base).

Ce milieu est préparé à l'aide de 3 solutions de base concentrées (tableau 9). Il est ensuite stérilisé dans un autoclave pendant 20 minutes à $+120^{\circ}\text{C}$, puis stocké dans la chambre froide 16 heures au minimum avant l'ensemencement. Ce dernier est effectué stérilement à proximité d'une flamme, dans des ballons en verre d'une capacité de 2 litres à moitié remplis par le milieu de culture, bouchés à l'aide de coton cardé.

L'eau utilisée pour la confection du milieu de culture est une eau déminéralisée puis monodistillée.

La verrerie est nettoyée par lavages successifs à l'aide de détergents, puis avec de l'eau distillée acidifiée. Un rinçage final est effectué à l'eau distillée (2 fois).

Les cultures algales sont réalisées dans une chambre thermostatée d'une température de $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Elles reçoivent un flux lumineux de 1500 lux. La photopériode est de 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité. L'aération permanente assure une agitation des cultures.

Une semaine avant le démarrage des contaminations, le repiquage des cultures est réalisé régulièrement en continu toutes les 48 heures pour que la nourriture soit prête à chaque changement de milieu: toutes les 48 heures. Chaque culture algale utilisée est âgée de 7 jours.

Au moment de l'arrêt de chaque culture, deux échantillons sont mis de côté ; l'un sert au comptage de la concentration cellulaire, l'autre au repiquage. Le reste est centrifugé pour éliminer le surnageant. Le culot algal est fourni aux moules après une remise en solution dans de l'eau déchlorée.

Les numérations algales sont faites au Compteur de cellules qui est recommandé par l'OCDE (1983) pour ce genre de comptage cellulaire.

La Chlorelle se prête relativement bien à la numération au Compteur de cellule car la suspension algale est très homogène et ne forme pas d'amas importants.

Au comptage, on procède à une dilution de 50 μl dans 25 ml d'électrolyte, avec un minimum de 3 comptages successifs pour chaque échantillon algal.

Un blanc (électrolyte seul) est réalisé avant tout comptage et il en est tenu compte dans les calculs.

Techniques	Spectrométrie d'adsorption atomique		Polarographie à impulsion différentielle	Colorimétrie (BRADFORD, 1976)
Critères	de flamme	de four		
Eléments dosés	Zn, Cu, Fer Ca	Pb	métallothionéines (équivalents)	protéines totales
Sensibilité maximale	5.10^{-9} à 5.10^{-5}	5.10^{-9} à 5.10^{-5}	$1.29.10^{-9}$ M	5.10^{-6}
Erreur relative pour la concentration optimale	1 %	1 %	—	—
Interférences chimiques	rares	rares	—	rares
Préparation de l'échantillon	simple	simple	simple	simple
Durée du dosage (mn/échantillon)	1 à 5	1 à 5	5 à 10	2 à 5
Manipulation de l'appareil	simple	simple	simple	simple
Modèle de l'appareil utilisé	PERKIN ELMER 2360	PERKIN ELMER 350B	- électrode PAR 303 - analyseur polarographique PAR model 174	UVIKON K810

Tableau 10 : Comparaison technique des méthodes d'analyse quantitative.

III.7. Techniques analytiques

Trois techniques ont été retenues pour effectuer les analyses quantitatives :

- *- la spectrophotométrie d'absorption atomique pour le dosage du Zn ou des autres métaux.
- *- la polarographie impulsionnelle pour le dosage des protéines soufrées,
- *- la colorimétrie pour le dosage des protéines totales.

III.7.1. Choix des techniques (tableau 10)

III.7.1.1. Spectrophotométrie d'absorption atomique

La spectrophotométrie d'absorption et d'émission atomique a été normalisée pour le dosage des éléments métalliques dans les eaux.

Cette technique offre plusieurs possibilités analytiques avantageuses qui répondent bien aux exigences des analyses biochimiques qui doivent allier une grande sensibilité à une extrême spécificité.

A ces deux qualités s'ajoutent les avantages suivants :

- *- possibilité d'analyser directement la plupart des solutions sans extraction sélective ou ajout de colorants ou de complexants, ce qui limite les risques de contamination,
- *- possibilité d'automatisation des mesures de réalisation simple dans tous les cas où une dilution suffit. Cette simplicité de mise en oeuvre distingue la spectrométrie par absorption atomique des mesures colorimétriques qui nécessitent souvent l'ajout de nombreux réactifs, ainsi que des préparations physiques nombreuses: chauffage, extraction, filtration, dialyse.

- *- rapidité d'exécution : de l'ordre de quelques minutes par dosage, ce qui permet d'augmenter le nombre de répétitions.

III.7.1.2. Polarographie

Nous avons utilisé la polarographie à impulsion différentielle. La méthode a été mise au point par OLAFSON et SIM (1979) et adaptée pour la caractérisation (avec une électrode PAR 303 SMDE) et pour la quantification (avec une électrode classique en Hg) des métalloprotéines dans les extraits de tissus d'invertébrés (COSSON et THOMPSON, 1983).

Cette technique présente un avantage considérable car elle possède une grande sensibilité pour la détection des métalloprotéines et des protéines soufrées en général.

L'amélioration de la réponse polarographique permet d'abaisser d'un facteur 10 le seuil de détection de ces protéines. D'autre part, elle nécessite un appareillage simple et peu onéreux et elle permet des dosages rapides (jusqu'à 50 analyses/jour), sur un minimum d'échantillons (quelques microlitres), avec une forte sensibilité : $1,23 \times 10^{-9}$ M (THOMPSON et COSSON, 1984).

Cette étude a été réalisée au laboratoire de Monsieur le professeur RAMADE sous l'encadrement de Monsieur COSSON*.

III.7.1.3. Colorimétrie

Pour le dosage des protéines totales, nous avons utilisé la technique colorimétrique de BRADEFORD (1976). Elle a l'avantage de permettre des dosages rapides, reproductibles et sans interférence, ni avec les cations comme le sodium et le potassium, ni avec les carbohydrates comme le sucre.

Le tableau 10 résume les principaux avantages et inconvénients des trois techniques utilisées.

*- Adresse actuelle: Laboratoire de zoologie et d'écotoxicologie,
Bat.:442, Univ. de Paris-Sud, F91405 Orsay Cedex.

III.7.2. Préparation des échantillons

III.7.2.1. Dosage du Zinc

III.7.2.1.1. Dans l'eau

Les échantillons d'eau sont prélevés dans des tubes de 10ml et acidifiés à l'acide nitrique à 1%. Les dosages se font sur l'eau brute sans filtration préalable, sauf dans les études de l'évolution des concentrations en Zn dans les milieux.

Dans ce dernier cas, 4 échantillons de 10ml sont prélevés dans chaque bac expérimental. Deux de ces échantillons sont filtrés sur un filtre d'une porosité de $0,45\mu$. Après acidification à 1% avec l'acide nitrique, ces échantillons sont prêts pour le dosage

III.7.2.1.2. Dans les moules: Mise au point d'une méthode analytique du Zinc dans la partie molle.

Le dosage des métaux lourds ou d'autres minéraux dans un matériel biologique ou physique (eau, sédiment, ...) nécessite une préparation préalable de ce matériel.

Les méthodes de cette préparation varient selon les auteurs. IRLAND (1973) utilise chez les mollusques un traitement qui consiste à laisser stabuler une nuit, à rincer les parties molles, les sécher à 105°C avant de les broyer et de les digérer dans 5 ml d'Hcl 6N pour 100 mg de poids sec. Mais ce rinçage risque d'être une source d'hétérogénéité des résultats.

Le temps de stabulation et d'acclimatation est souvent prolongé d'un jour pour POPHAM et D'AURIA, (1982-1983) jusqu'à plusieurs jours: 2 jours pour LOBEL et al., (1982) et 7 jours pour D'SILVA et KUREISHY, (1978).

La digestion des parties molles est effectuée, soit dans de l'acide nitrique pur (LATOUCHE et MIX, 1982 ; RITZ et al., 1982), soit dans un mélange de ce dernier avec l'acide hyperchlorique (LOBEL et WRIGHT, 1982). Ce procédé de digestion ne peut constituer qu'une préminéralisation et sera suivi par la minérali-

sation proprement dite avec un mélange d'acide sulfurique/acide nitrique (KARBE et al., 1975).

Le temps et la température de cette attaque acide sont très variables suivant les auteurs et le système utilisé. PENSEL en 1984 ne détecte aucune différence significative entre la minéralisation des mousses aquatiques dans un système ouvert (plaque chauffante) et celle dans un système fermé (étuve).

Cette grande variabilité quantitative et qualitative des acides et du poids des échantillons minéralisés pose un problème de matrice pendant la phase analytique et, de ce fait, la comparaison des résultats des différents auteurs devient délicate. Une optimisation des conditions de préparation des échantillons et de leur minéralisation pour le dosage est nécessaire.

D'après les références bibliographiques, nous distinguons trois phases fondamentales dans cette préparation des échantillons:

- *- Phase I : Préminéralisation avec une variabilité dans :
 - le temps et le milieu de stabulation.
 - le lavage et l'égouttage des parties molles.
- *- Phase II : Minéralisation avec une variabilité dans :
 - la taille et le nombre d'échantillons à minéraliser
 - la quantité et la qualité d'acide utilisé
 - la durée et la température de minéralisation.
 - le système de minéralisation, système ouvert sur la plaque chauffante ou fermé en étuve.
- *- Phase III: Postminéralisation avec une variabilité dans:
 - le facteur instrumental
 - le facteur chimique
 - le facteur physique

Dans ce travail, nous avons retenu de définir les phases I et II. La phase III concerne la technique analytique (dosage) pour laquelle nous nous sommes placés dans les conditions standards définies par les normes d'utilisation du spectrophotomètre d'absorption atomique.

III.7.2.1.2.1. Temps de stabulation et effet du lavage de la
partie molle

III.7.2.1.2.1.1. Procédure

Pour tester ces deux variables, le protocole est le suivant :

PRELEVEMENT Station de référence sur la Moselle.

Classe de taille : 18-22 mm.



STABULATION Dans une salle climatisée ($16 \pm 1^{\circ}\text{C}$)
Milieu : filtrat de l'eau de station (0,45u)
Durée de stabulation : allant de 0 à 144 heures
Echantillonnage : 6 échantillons de 5 moules.



LAVAGE De la partie molle non séparée de la coquille
(jets d'eau distillée)
3 échantillons des 6 ne sont pas lavés.



EGOUTTAGE Sur papier joseph pendant 5mn
Les parties molles de chaque échantillon sont
mises dans des tubes de 20ml.



SECHAGE 48h à 70°C (étuve).



BROYAGE Au mortier (porcelaine).
Prélèvement de 100 mg de poudre de chaque
échantillon



MINERALISATION

16h à 70°C en étuve.



Dans 4 ml d'acide nitrique 18N, dilué à 50%

DILUTION Ajustement du volume à 19 ml (l'eau distillée).



DOSAGE Au S.A.A. modèle PERKIN ELMER 2380 (flamme).

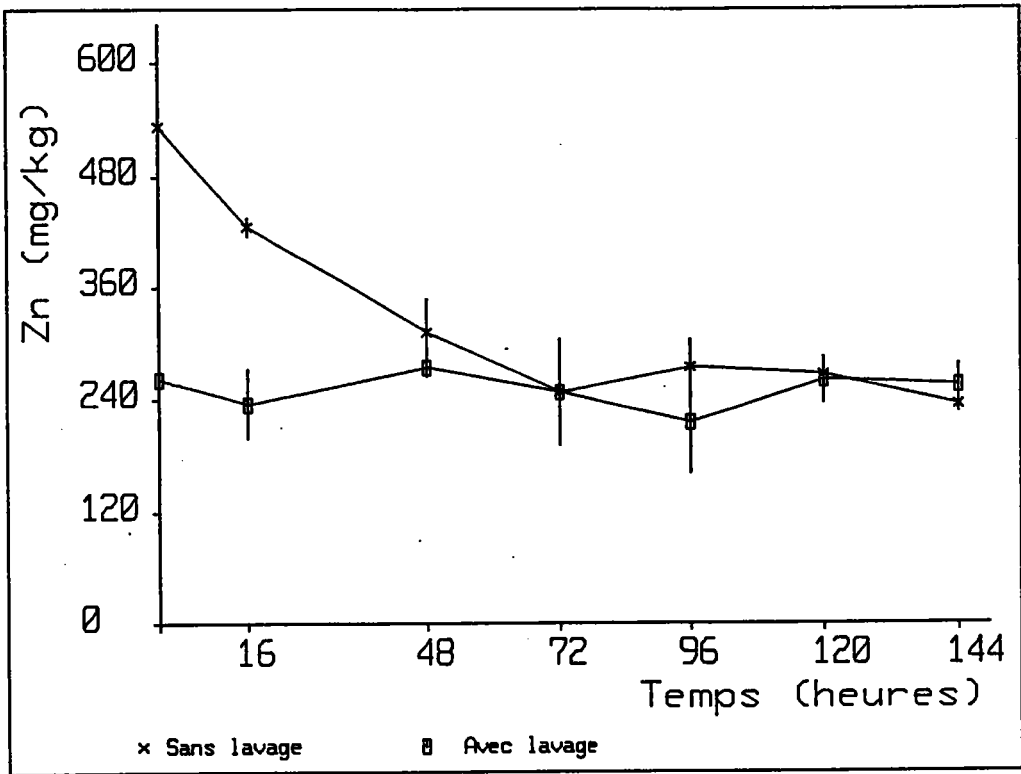


Fig. 8 : Teneurs en Zinc dans les moules en fonction du temps de stabulation .

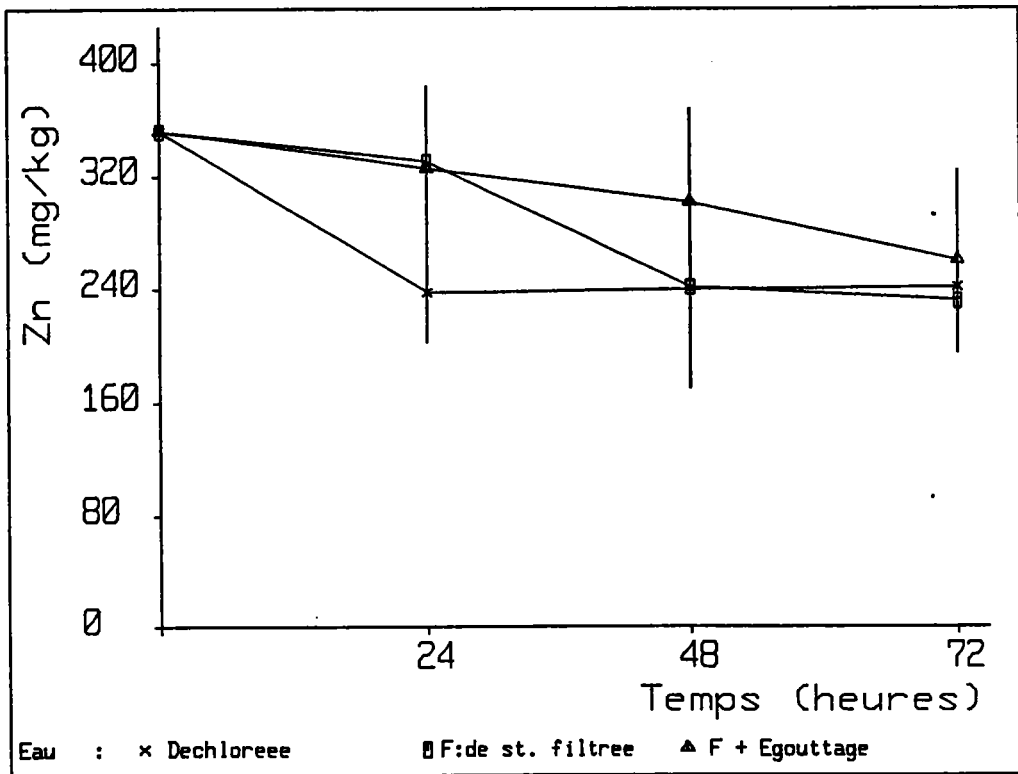


Fig. 9 : Teneurs en Zinc dans les moules en fonction du milieu de stabulation .
F: eau de station (st.) filtrée (0,45um).

III.7.2.1.2.1.2. Résultats

La figure 8 montre une diminution continue de la teneur en Zinc dans les échantillons de moules non lavées, au cours des trois premiers jours. Après 72 h, les moules ont libéré environ 50% de leur teneur initiale en Zn (tableau 11). Les teneurs rejoignent alors celles des échantillons lavés ; il y a donc un processus d'"autolavage".

Le lavage permet par contre de se débarrasser de 50 % de la charge en Zn dès le premier traitement après le prélèvement . Pendant les 7 jours de stabulation, le taux de Zn dans les moules lavées est constant et est égal à celui détecté chez les moules non lavées après 3 jours de stabulation. Le Zn éliminé chez ces dernières pendant ces 3 jours était donc adsorbé sur la partie molle.

Nous pouvons donc conclure qu'une stabulation de 3 jours au minimum est nécessaire pour un traitement sans lavage préalable des moules. Au-dessous de cette durée, les quantités en Zn adsorbées entraînent une surestimation des teneurs métalliques déclarées comme "absorbées" par les tissus de la moule.

Un lavage, dès la récolte des moules, dispenserait donc d'une attente de 3 jours de stabulation pour pouvoir doser le Zn absorbé par les moules, mais ce lavage risque d'être très hétérogène, d'où l'allure en dents de scie de la courbe "avec lavage" (fig.8) et le fort coefficient de variation (23 %) sur les résultats analytiques du Zn. Le principe d'une stabulation a donc été retenu.

III.7.2.1.2.2. Milieux de stabulation

III.7.2.1.2.2.1. Procédure

Nous avons essayé deux milieux utilisés couramment dans les expérimentations au laboratoire:

- Le filtrat de l'eau de station sur membrane millipore (0,45u)
- L'eau de conduite déchlorée par filtration sur charbon actif .

Temps/Heures	0	16	48	72	96	120	144	TET %
Traitement								
sans lavage	0	20,2	21,4	11,9	-4,7	1,2	6,0	56
avec lavage	51,2	4,8	-7,1	4,8	4,0	-8,4	1,2	52,5

Tableau 11 : Effet du lavage sur les taux d'élimination (%) du Zinc pendant la stabulation.

TET : Taux d'élimination totale (%)

Temps/Heures	24	48	72	TET %
Milieu de stabulation				
Eau déchlorée	32,4	5,9	7,4	45,7
Eau de station filtrée (0,45u)	-0,7	25,6	6,4	31,3
Eau de station filtrée + égouttage	-0,5	2,9	11,9	14,3

Tableau 12 : Taux d'élimination (TET %) du Zinc en fonction du temps et des milieux de stabulation.

TET % : Taux d'élimination totale

Remarque : La rétention du Zinc par l'eau inter-valvaire est de 38,3 %.

Temps de stabulation dans l'eau déchlorée	0 heure	24 heures	48 heures
Témoins	161,1±37,7 CV % = 23,6	155,8±21,5 CV % = 13,8	164±30,6 CV % = 18,6
contaminées	237,7±42,9 CV % = 23,6	171,6±21,7 CV % = 12,6	178,5±32,9 CV % = 18,4
Taux d'élimination T.E. %	--	+ 27,8	- 4,0

Tableau 13 : Teneurs en Zinc dans la partie molle (mg/kg) en fonction du temps de stabulation après une contamination des moules pendant 48h à 2ppm de Zn.

Pour estimer le taux de rétention métallique de l'eau intervalvaire, un troisième type de traitement des échantillons a été effectué sans égouttage. Le nombre d'échantillons est augmenté à 5.

III.7.2.1.2.2.2. Résultats

La figure 9 montre que la purge du Zn adsorbé est plus rapide dans le cas d'une stabulation dans l'eau déchlorée. Le taux d'élimination du métal après 24h de séjour dans ce milieu est de 32%, alors qu'il faut 48h pour atteindre un taux équivalent dans l'eau de station filtrée (tableau 12).

Cette différence de vitesse d'auto-lavage des moules est due à la différence de la charge métallique dissoute dans chaque milieu.

Avec un traitement sans égouttage, le taux d'élimination du Zn après 48h dans l'eau de station filtrée, est de 14%. Ce taux double dans le traitement avec égouttage (tableau 12). L'eau intervalvaire retient des quantités non négligeables de Zinc qui peuvent atteindre 25% du Zinc contenu dans les parties molles.

Pour vérifier la nécessité d'une stabulation avant chaque analyse, dans le cas d'une intoxication au laboratoire, un essai de contamination à 2 ppm de Zn pendant 48h a été réalisé dans des conditions statiques. Les résultats mentionnés dans le tableau 13, montrent qu'après une intoxication, une stabulation de 24h dans l'eau déchlorée permet d'éliminer 27% du Zn adsorbé par les tissus pendant les 48h d'intoxication.

III.7.2.1.2.3. Poids sec (PS) à minéraliser/volume d'acide(VA) / temps de minéralisation (t/h)

III.7.2.1.2.3.1. Procédure

Nous avons suivi la même procédure que précédemment, en tenant compte des résultats: stabulation pendant 3 jours dans l'eau de station filtrée, sans lavage des parties molles pendant la dissection.

Pour mettre en évidence les variations dues aux trois variables: PS/VA/t, sans négliger les interactions éventuelles,

X1	X2	X3	NO	Zn	s	CV	Cu	s	CV	Fer	s	CV
				mg/kg	mg/kg	%	mg/kg	mg/kg	%	mg/kg	mg/kg	%
		16	1	262.2	64.1	24.5	34.2	5.4	15.7	3027.3	2128.6	70.3
		2										
		40	2	195.1	4.7	2.4	68.4	3.1	4.5	2584.0	1119.5	42.9
50												
		16	3	304.0	61.1	20.1	45.6	14.2	31.2	2983.0	1577.4	52.9
		8										
		40	4	220.4	9.3	4.2	40.5	3.6	13.5	2850.0	1467.6	51.5
		16	5	166.6	6.0	3.6	23.5	0.5	2.1	1435.6	175.9	12.3
		2										
		40	6	153.3	3.9	2.6	29.2	0.5	1.6	1359.6	137.7	11.0
200												
		16	7	157.1	2.5	1.6	25.3	0.9	3.5	1871.5	825.2	44.1
		8										
		40	8	166.9	10.5	6.3	25.4	1.2	4.6	1719.5	604.6	35.0

TABLEAU 15: TENEURS EN ZINC, CUIVRE ET EN FER CHEZ LA DREISSENE EN FONCTION DU POIDS SEC DES ECHANTILLONS (X1), DU VOLUME D'ACIDE NITRIQUE (X2) ET DU TEMPS DE MINERALISATION (X3).

PS mg	Zn mg/kg	s mg/kg	CV %	P/Zn50 %
50	218.8	54.9	25.1	
75	177.0	11.9	6.7	19.1
100	164.7	21.4	4.6	24.7
200	169.3	14.3	8.5	22.6

TABLEAU 16: TENEURS EN ZINC CHEZ LA DREISSENE EN FONCTION DU POIDS SEC DES ECHANTILLONS (PS)

P/Zn 50%: Pourcentage de sous-estimation par rapport à la valeur obtenue avec un poids de 50 mg.

$$Pi/Zn\ 50\% = \frac{Zni - Zn\ 50}{Zn\ 50} \times 100$$

nous avons choisi deux modalités pour chaque variable, suivant le plan expérimental résumé dans le tableau 14.

Poids sec (PS) (mg)	Volume d'acide nitrique (VA) 18N dilué à 50% (ml)	Temps/heures (t/h)	N°
50	2	16	1
		40	2
	8	16	3
		40	4
200	2	16	5
		40	6
	8	16	7
		40	8

Tableau 14 : Plan expérimental avec trois variables: PS (mg)/ VA (ml)/ t (h), avec deux modalités pour chacune.

Remarque: voir chap. IV.5.(2^{ème} partie) le principe de la méthode statistique.

III.7.1.2.3.2. Résultats

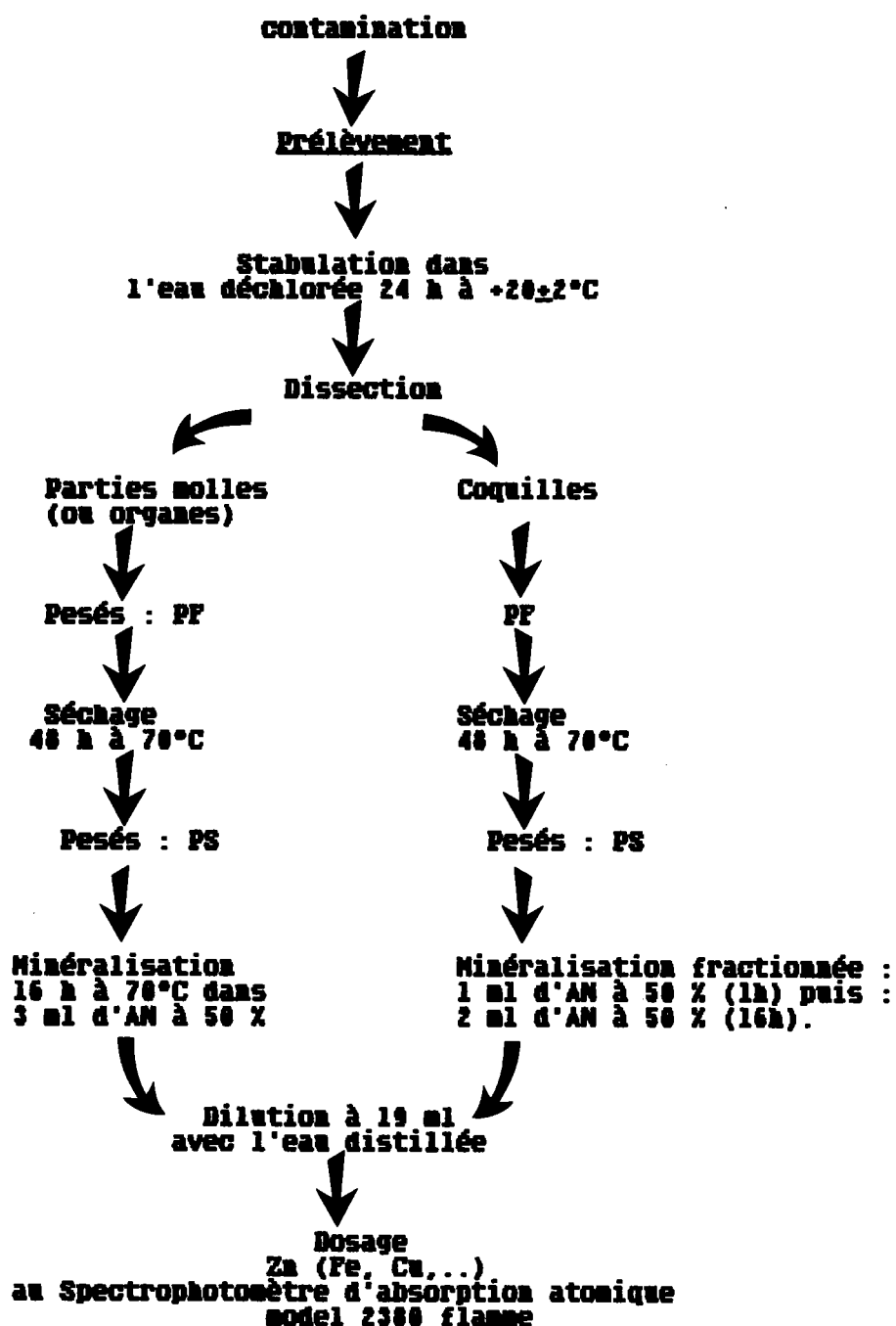
Le tableau 15 montre que généralement pour les 3 métaux: Zn, Cu et Fe:

*- Les teneurs moyennes et les coefficients de variation des teneurs métalliques obtenues avec un poids sec de 50mg, sont supérieures à leurs équivalents respectifs obtenus avec un poids sec de 200mg.

* Les teneurs moyennes et les coefficients de variation obtenus pour un temps de 16h de minéralisation sont supérieurs à leurs équivalents respectifs obtenus pour un temps de 40h de minéralisation.

* les teneurs moyennes obtenues avec une quantité de 8ml d'acide nitrique sont plus élevées que celles détectées avec 2ml.

**Figure 10 : Technique préparatoire pour le dosage du Zinc
(métaux lourds en général).**



Pour vérifier la significativité de l'effet de ces 3 facteurs sur les résultats analytiques du Zn, du Cu et du Fe, le test de Snedecor montre que seul le poids sec agit significativement ($p=0,95$). Dans le cas du Zn, il y a en plus une interaction positive du poids sec avec le temps de minéralisation ($+X_1X_2$), mais sa contribution est 100 fois inférieure à celui du poids sec tout seul. les équations de régression s'établissent comme suit:

* Zn : $Y = 203,2 - 42,2 X_1 + 18,4 X_1X_2$.

* Cu : $Y = 36,5 - 10,7 X_1$.

* Fe : $Y = 2228,8 - 632,3 X_1$.

Avec Y = teneur métallique dans les moules en mg/kg de PS.

X_1 = poids sec (PS) des moules en mg.

X_2 = temps de minéralisation en heures.

Pour vérifier l'effet du poids sec minéralisé sur les résultats analytiques du Zn dans les moules, une répétition est faite avec 4 poids secs différents en augmentant le nombre d'échantillons à 6. La minéralisation a duré 16h avec 4ml d'acide nitrique. Le tableau de résultats n°16 vérifie bien les remarques déjà faites sur l'effet du poids sec: coefficient de variation supérieur à 20% pour les valeurs obtenues avec un PS de 50mg, et inférieur à 10% pour celles obtenues avec 75, 100 ou 200mg. Selon la classification de SCHAEFFER et al. (1987), on passe d'une variation standard forte ($20 < CV\% < 30$) à une variation standard faible ($CV\% < 10$).

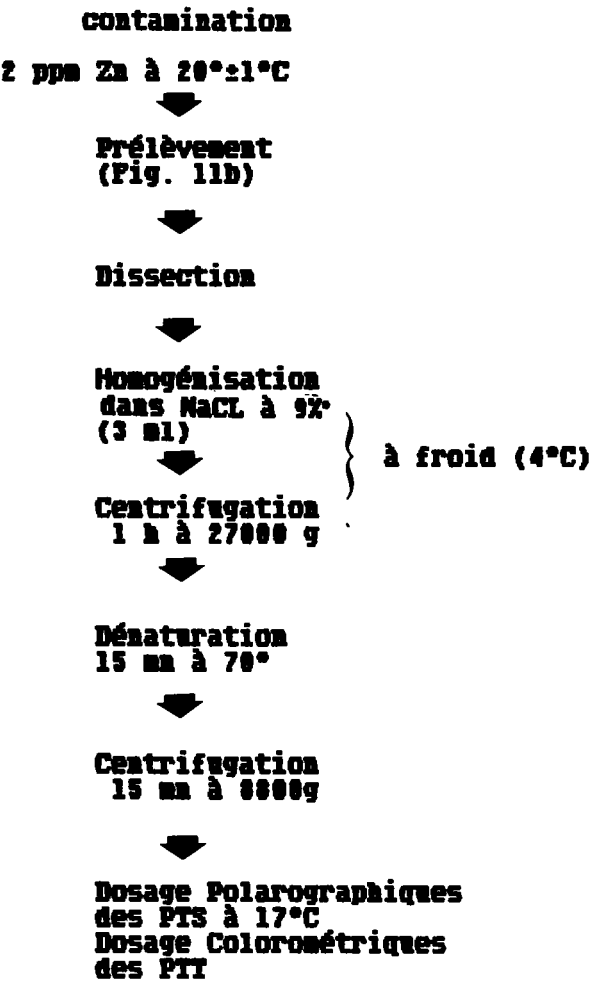
Ces résultats montrent aussi que la concentration en Zn dans les moules dépend du poids sec minéralisé. Les dosages effectués sur des échantillons dont le PS est de 200, 100 ou 75mg, donnent des concentrations tissulaires (mg Zn/kg de PS) qui ne diffèrent pas significativement entre elles ($p = 0,99$), par contre ces concentrations métalliques augmentent de 20% avec un PS de 50mg.

CONCLUSIONS PRATIQUES (Fig. 10)

Les essais préliminaires nous ont permis de retenir:

- *- L'eau déchlorée comme milieu de stabulation.
- *- Un temps minimum de 24h de stabulation pour une purge maximale des charges zinciques adsorbées sur la partie molle ou incorporées dans le tube digestif.

Figure 11a : Technique préparatoire pour le dosage des protéines dans les tissus de moules.



- *- Un traitement avec égouttage pour éliminer l'eau inter-valvaire dont la charge en Zn peut dépasser 20% du Zn intra-tissulaire.
- *- Un poids sec de 75mg au minimum pour chaque échantillon. Cette valeur correspond au poids de la partie molle de 3 moules au minimum et sans jeûne prolongé.

L'effet du volume d'acide nitrique n'étant pas significatif, nous avons retenu un volume moyen de 3 ml d'acide, et un temps de minéralisation de 24h pour la digestion des parties molles. La figure 12 résume les différentes étapes techniques de la préparation des échantillons en vue du dosage du Zinc ou des autres métaux (Ca, Cu, Fe, ...).

Pour les coquilles, on procède à une minéralisation fractionnée en deux temps pour éviter des pertes de volume par effervescence et pour que la minéralisation soit totale et sans résidu. Deux coquilles, soit quatre valves par échantillon sont traitées, avec deux répétitions à chaque fois.

Après minéralisation, les échantillons sont dilués en complétant les volumes à 19ml avec de l'eau monodistillée.

III.7.2.2. Dosage des protéines soufrées (Fig. 11a)

Nous nous sommes intéressés aux protéines thermorésistantes jusqu'à une température de 70°C. Le principe d'analyse polarographique est basé sur la détection des groupements sulfhydryques. Ces caractéristiques les rapprochent des métallothionéines. De ce fait, nous exprimons nos résultats en terme de protéines thermorésistantes soufrées (PTS).

La figure 13a résume les différentes étapes de la préparation des échantillons en vue du dosage des PTS .

Pour éviter les facteurs limitants de la synthèse ou de la détection des PTS dans les parties molles, des résultats préliminaires nous ont permis d'orienter nos analyses comme suit:

- travailler sur des moules nourries pour ne pas limiter la synthèse protéique par l'effet prolongé du jeûne,
- choisir une concentration maximale en Zn, pour amplifier l'effet d'une induction si elle existe et accélérer

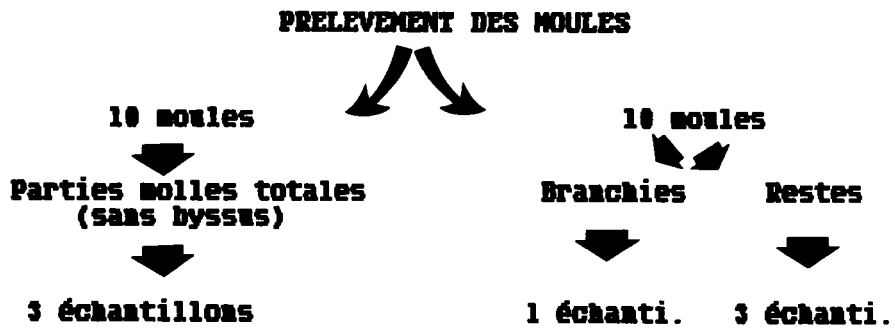


Fig. 11b: Echantillonnage expérimental en vue d'analyse des protéines.

Remarque: Echantillonnage identique chez les moules témoins et intoxiquées (nourries et non nourries).

rer son apparition pour qu'on puisse la détecter après le temps de contamination. Aussi, nous avons choisi une teneur de 2ppm Zn et un temps maximal d'exposition de moule au Zn allant de 15 à 21 jours,

- cibler les branchies parallèlement à la partie molle totale des moules. Chez de nombreux organismes aquatiques, la branchie est en effet le lieu d'une importante synthèse protéique (Voir Chap. III.2.2.)

Juste après chaque prélèvement, les parties molles, les branchies et le reste sont stockés dans des tubes de 20ml à -10°C.

La figure 13b donne la procédure d'échantillonnage. Le même échantillonnage est effectué chez les moules non nourries aux temps 0, 3, 15 et 21 jours de contamination.

Les branchies des 10 moules de chaque prélèvement sont rassemblées en un seul échantillon pour avoir une masse en poids frais suffisante pour les analyses.

IV.7.2.3. Dosage des protéines totales

La préparation des échantillons est la même que celle suivie pour le dosage des protéines soufrées (Fig. 11a), puisque le même échantillon peut servir aux deux dosages.

La technique colorimétrique permet des dosages sur un minimum de volume. Un volume de 5 à 20ml de chaque échantillon est complété à 800ml avec de l'eau distillée.

On ajoute 200ml du réactif "Biorad"; après agitation, on fait une lecture de la DO à 595 nm. La courbe étalon faite à l'aide des protéines bovines permet la lecture de la correspondance entre la DO et la quantité de protéines totales en mg.

III.8. Techniques histologiques

Pour l'étude microscopique, la localisation du Zinc fait appel à la méthode de MAGER utilisant la dithizone.

Après dissection des moules, les parties molles sont fixées au formol neutre à 10%, incluses à la paraffine et coupées à 7µm. En milieu acétonique, la dithizone forme avec le Zinc un complexe (dithizone) coloré en rouge.

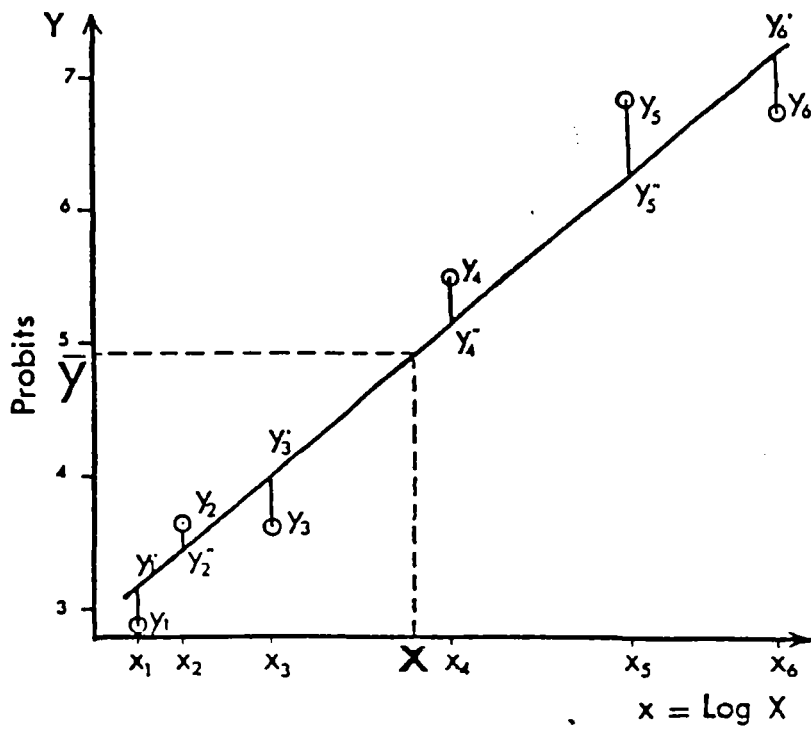


Fig. 12 : Droite de régression : Probit = $f(\text{Log } X)$ (d'après RAMADE, 1977).
 X = élément toxique testé.

L'observation histologique du mucus est faite à l'aide de la méthode de MOWRY qui permet de le colorer en bleu sur coupes. Les colorations étant labiles, les clichés sont réalisés dans l'heure qui suit la coloration.

IV. EXPRESSION DES RESULTATS

IV.1. Critère d'évaluation de la toxicité du Zinc

La toxicité du Zinc est estimée par la détermination de la concentration létale pour 50% d'un lot de moules d'une population homogène. Cette constante est déterminée sur une période de 28 jours ($CL_{50_{28j}}$) et dans les mêmes conditions expérimentales que celles utilisées pour le suivi de la cinétique d'accumulation et du relargage du Zn.

Cette méthode est utilisée aussi pour évaluer l'effet létal d'un facteur physique sur un organisme. Ainsi, nous avons pu déterminer la température létale pour 50% des individus d'un lot pour une période de 48 jours ($TL_{50_{48j}}$).

Les calculs sont faits selon la méthode de probit (LITCHFIELD et WILCOXON, 1949) à l'aide d'un programme sur ordinateur.

La droite de corrélation du probit empirique aux logarithmes des concentrations en Zn ou des valeurs d'un facteur donné, permet une lecture simple de la CL 50 (fig. 12).

La CL 50 est lue sur l'axe des abscisses et présentée avec un intervalle de confiance de : $[CL_{50} - s, CL_{50} + s]$, selon RAMADE, (1977).

IV.2. Critère d'évaluation de la rétention du Zinc

Le spectromètre d'absorption atomique permet un affichage direct des concentrations des solutions dosées en mg/l, que nous exprimons en mg/kg ou en ug/g à l'aide de la formule suivante :

$$C(\text{mg/kg}) = \frac{c(\text{mg/l}) \cdot V(l)}{PS \text{ (mg)}}$$

C = concentration du Zn dans les moules exprimée en mg/kg de PS
c = concentration du Zn dans le minéralisat exprimée en mg/l
V = volume du minéralisat en litre
PS = poids sec de l'échantillon de moules minéralisé, en mg

Pour caractériser la cinétique d'accumulation, la plupart des auteurs utilisent le facteur de concentration (FC), le facteur d'accumulation (FA) ou l'indice de concentration (IC%), définis comme étant:

$$FC = \frac{C \text{ (mg/kg)}}{C' \text{ (mg/l)}} : \text{facteur de concentration (selon BAUDIN, 1977)}$$

$$FA = \frac{C \text{ (mg/kg)}}{C_i \text{ (mg/kg)}} : \text{facteur d'accumulation}$$

$$IC(\%) = \frac{FC}{FC_t} \times 100 : \text{indice de concentration (selon AMIARD-TRIQUET et al., 1986)}$$

avec :

C(mg/kg) = concentration du Zn dans les moules en mg/kg PS
C'(mg/l) = concentration du Zn dans le milieu, en mg/l
C_i(mg/kg) = concentration initiale du Zn dans les moules
FC_t = facteur de concentration chez les moules témoins

Pour le relargage du Zn par l'organisme, des auteurs cherchent souvent le temps que mettent les animaux contaminés pour libérer la moitié de la quantité du toxique accumulé.

Il s'agit donc du temps de demi-vie biologique calculable même pour des métaux froids.

IV.3. Expression des résultats des dosages de protéines soufrées

Les dosages de ces protéines par polarographie à impulsion différentielle donne un polarogramme ondulatoire dont la hauteur des ondes est proportionnelle à la concentration des protéines dosées.

Selon la technique des ajouts dosés, une courbe étalon permet de calculer directement les quantités totales de protéines dans les échantillons exprimées en mg.

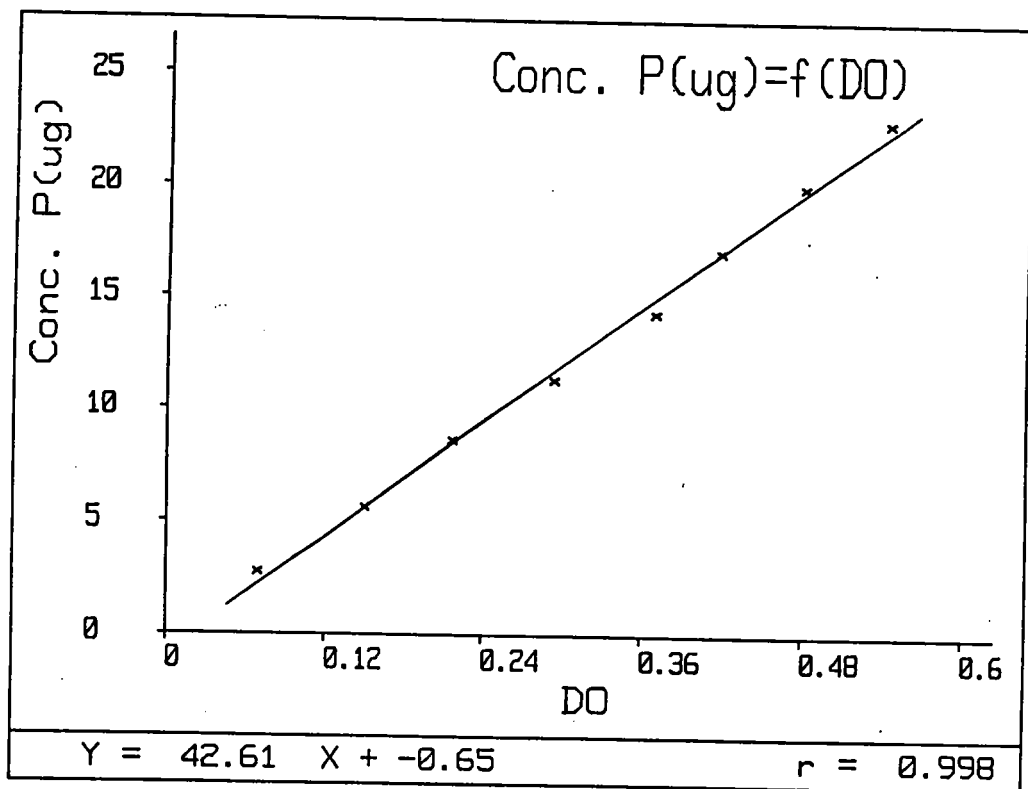


Fig. 13 : Droite de régression : Densité optique (DO) en fonction de la concentration (conc.) des protéines (ug) .

La formule suivante permet alors de calculer les concentrations en mg/g PF.

$$C(\text{mg/g}) = \frac{C(\text{mg}) \cdot V(\text{ml})}{V_d(\text{ml}) \cdot \text{PF}(\text{g})}$$

C(mg/g) = concentration des protéines (en mg) dans les moules (PF)

C(mg) = quantité totale des protéines dans chaque échantillon dosé

V (ml) = volume des échantillons après leur préparation au dosage

V_d(ml) = volume prélevé de chaque échantillon en vue du dosage

PF(g) = poids frais des parties molles de la Dreissène

IV.4. Expression des résultats des protéines totales

Pour déterminer les quantités totales (brutes) des protéines totales (PT) dans chaque échantillon, nous avons dressé une courbe étalon de l'évolution de la densité optique (DO) en fonction de la quantité totale en protéines bovines. Ce calcul se fait par une simple lecture sur la figure ou à l'aide de l'équation de la droite de régression (fig.13).

La détermination de la concentration se fait avec la même formule que pour les protéines soufrées.

IV.5. Traitements statistiques

Tous les résultats des analyses sont représentés par leur moyenne. Le coefficient de variations (CV%) permet de savoir le pourcentage de cette variation sur le nombre d'échantillons traités.

$$CV(\%) = \frac{s}{m} \times 100 \text{ avec } \begin{cases} s = \text{écart-type} \\ m = \text{moyenne} \end{cases} \quad \begin{matrix} \\ (m\grave{e}me \text{ unit}\acute{e}) \end{matrix}$$

Le traitement statistique des résultats est fait à l'aide des méthodes suivantes:

*- la test de Student permet la comparaison de deux moyennes

Essai n°	Variables			Réponse Y
	X ₁	X ₂	X ₃	
1	- 1	- 1	- 1	Y ₁
2	- 1	- 1	+ 1	Y ₂
3	- 1	+ 1	- 1	Y ₃
4	- 1	+ 1	+ 1	Y ₄
5	+ 1	- 1	- 1	Y ₅
6	+ 1	- 1	+ 1	Y ₆
7	+ 1	+ 1	- 1	Y ₇
8	+ 1	+ 1	+ 1	Y ₈

Tableau 17 : Plan factoriel 2x2x2: 3 variables à 2 modalités chacune (8 essais).

*- le test de Snedecor ou Fisher-Snedecor permet la comparaison de deux variances observées.

*- La regression multiple: un programme sur ordinateur (BOIS, 1984) permet de calculer à partir de données fournies par un plan factoriel complet, un polynome de degré N (nombre d'expérimentations indépendantes).

Dans le cas d'un plan factoriel complet à 3 variables contrôlées (X_1 , X_2 , X_3) avec 2 modalités chacune, le nombre d'essais à effectuer est de $2 \times 2 \times 2$, soit 8 essais. L'organisation du plan en blocs imbriqués assure son orthogonalité (non-covariance des variables contrôlées). Dans le tableau de résultats (Tableau 17), les modalités de chaque variable explicative remplacées par les valeurs codées -1 ou +1. Les valeurs de Y (réponse) sont reportées sur ce tableau.

L'exécution des calculs à l'aide du programme donne une équation de la forme suivante:

$$Y = D_0 + D_1X_1 + D_2X_2 + D_3X_3 + D_{12}X_1X_2 + D_{13}X_1X_3 + D_{23}X_2X_3 + D_{123}X_1X_2X_3 + \dots$$

Ce polynome n'est pas linéaire et comprend des termes produits. Les coefficients (b_n) de chaque terme sont rangés par ordre décroissant de leur contribution à la régression, puis testés à l'aide du test de Snedecor qui compare la contribution de chaque coefficient à la variance expérimentale (sous l'hypothèse nulle d'égalité des deux).

Les termes linéaires sont appelés "effet principaux" ou "direct". Les produits X_iX_j sont à interpréter comme "interactions", dites interactions doubles. Les autres produits croisés de trois variables et plus (interactions triples et multiples) méritent une discussion mais il est difficile de leur donner une interprétation physique.

*- le test de Cochran permet de vérifier l'égalité des variances de plusieurs groupes de données. Les groupes doivent être de la même taille. On calcule le rapport G de la variance la plus élevée sur la somme de toutes les variances. Ce rapport doit être comparé à une valeur tabulée. Ce test est utilisé avant la regression multiple pour vérifier que l'hypothèse d'homogénéité des variances, requise par le test de Snedecor, est valide.

RESULTATS

&

DISCUSSIONS

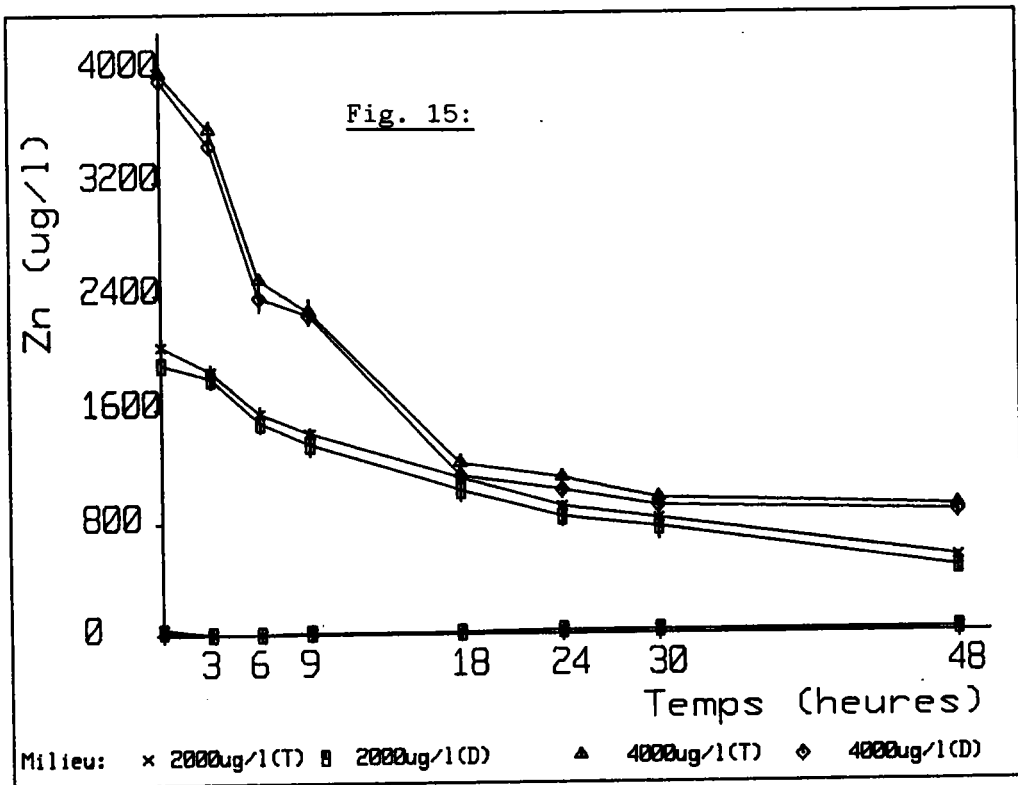
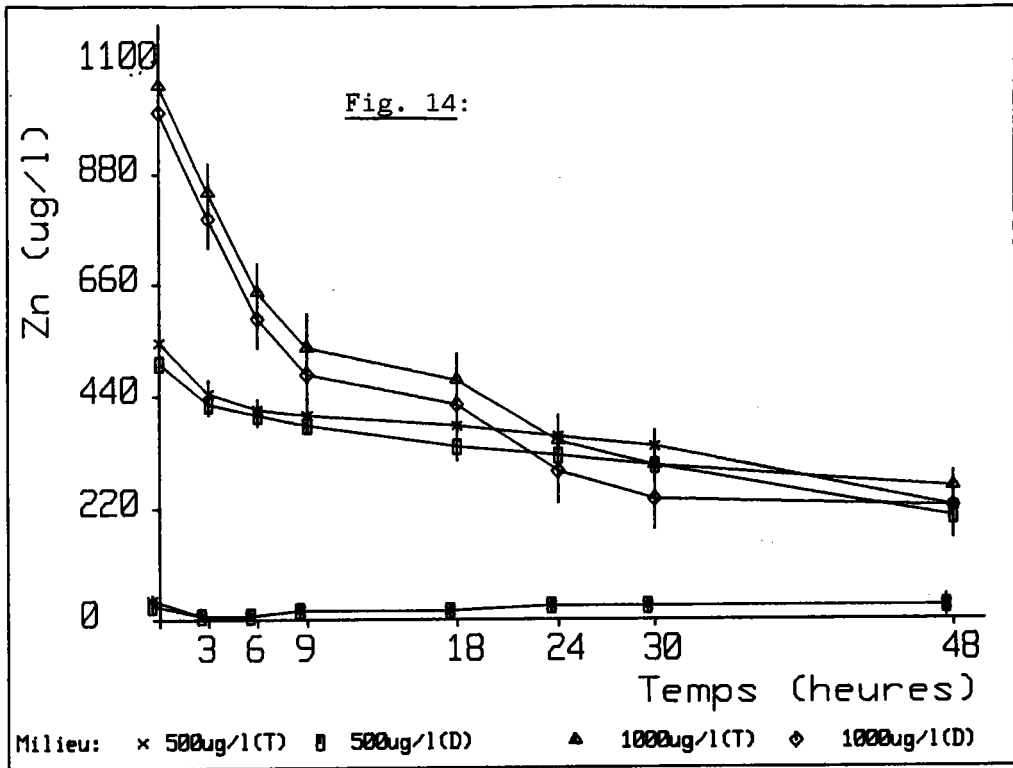


Fig. 14-15: Evolution des teneurs en Zinc total (T) et dissous (D) dans le milieu.

III^{ème} PARTIE: RESULTATS ET DISCUSSION

Nos résultats sont regroupés sous cinq chapitres. Le premier illustre la cinétique d'évolution du Zn dans le milieu de contamination. Le deuxième évalue la toxicité du Zinc vis-à-vis de *Dreissena* par détermination de la CL50_{28j}; puis la cinétique de contamination de la partie molle et de la coquille est présenté au troisième chapitre. Le quatrième est consacré à la répartition tissulaire des protéines équivalentes aux métallothionéines en fonction de la contamination des moules par le Zinc. La cinétique de décontamination métallique de la partie molle et de la coquille fait l'objet du cinquième chapitre.

I. CINETIQUE DU ZINC DANS LE MILIEU

I.1. Evolution des teneurs en Zinc en fonction du temps

Pour caractériser la solubilité du Zn dans les conditions expérimentales définies, l'évolution des teneurs en Zinc dissous et total dans une unité expérimentale a été suivi pendant un cycle de 48h.

Les figures 14 et 15 montrent une diminution continue des teneurs en Zn dans le milieu, pour les 4 concentrations testées: 500; 1000; 2000 et 4000ppb. Cette diminution est plus régulière pour 500ppb, et plus intense pendant les 9 premières heures pour les 3 autres concentrations. A la fin de chaque cycle de 48h, les taux de perte sont d'autant plus importants que la teneur initiale testée est grande: 60% du Zn initial pour 500ppb contre 80% pour les 3 autres concentrations (tableau 18).

Ces pertes par précipitation et adsorption du Zn sur les surfaces du dispositif expérimental sont favorisées par le pH du milieu qui est légèrement basique: $8,2 \pm 0,4$.

Il faut noter aussi qu'il n'y a pas de différence significative entre le métal total et le métal dissous, même si les courbes de Zinc total sont toujours situées légèrement au-dessus de celles du métal dissous (fig. 14-15).

Zn ppb	500		1000		2000		4000	
TEMPS/ heures	Total %	Diss- out %	T %	D %	T %	D %	T %	D %
0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
3	81.5	84.0	80.0	79.0	91.1	94.7	89.9	88.2
6	75.9	80.0	61.0	59.0	76.4	78.4	63.0	63.3
9	74.1	76.0	50.5	48.0	70.0	70.5	57.5	57.4
18	70.4	68.0	44.8	42.1	54.2	53.7	30.6	28.7
24	66.7	64.0	33.3	29.0	44.3	43.7	27.9	26.2
30	63.0	60.0	28.6	23.7	40.4	39.5	24.1	23.1
43	40.7	40.0	24.8	22.0	26.1	23.7	22.5	21.8

Tableau 18 : Evolution des teneurs (%) en Zinc total (T) et dissous (D) dans le milieu.

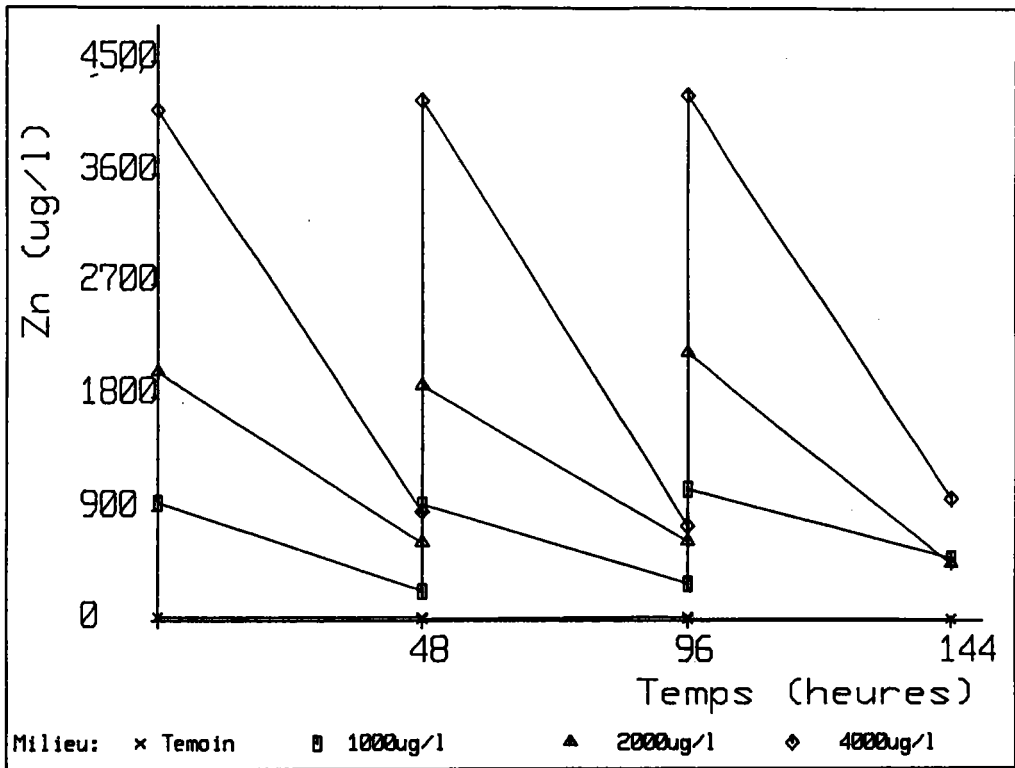


Fig. 16: Variation cyclique des teneurs initiales (I) et finales (F) en Zinc dans le milieu (3 cycles).

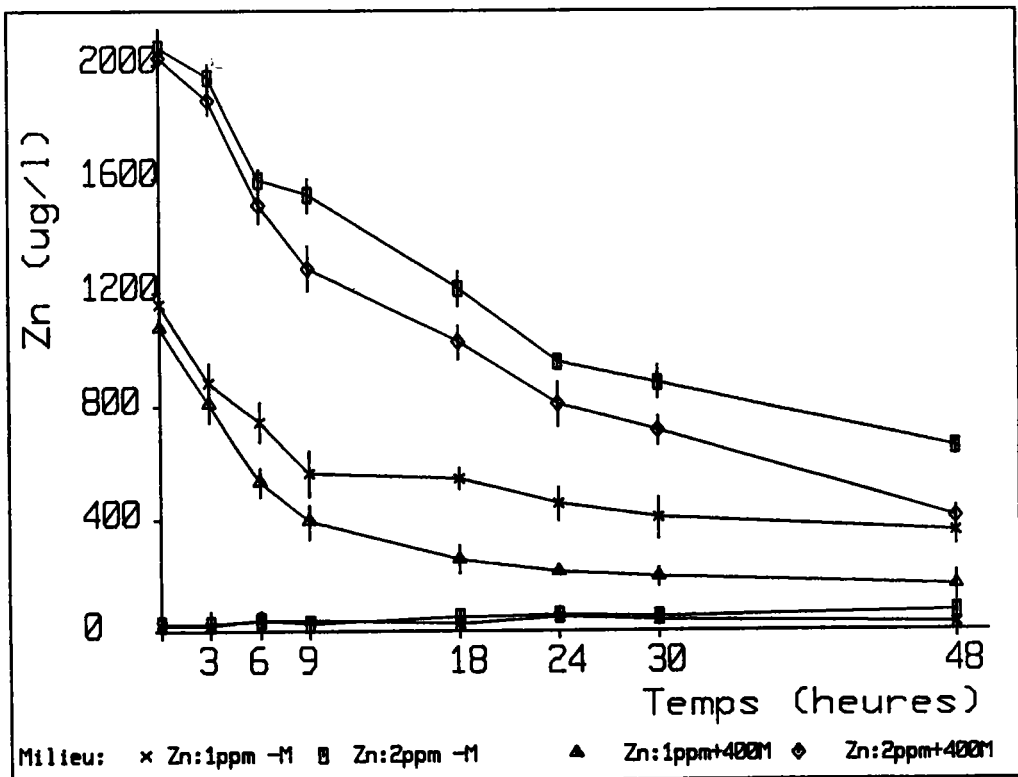


Fig. 17: Evolution des teneurs en Zinc total dans le milieu en presence et en absence des moules (M).

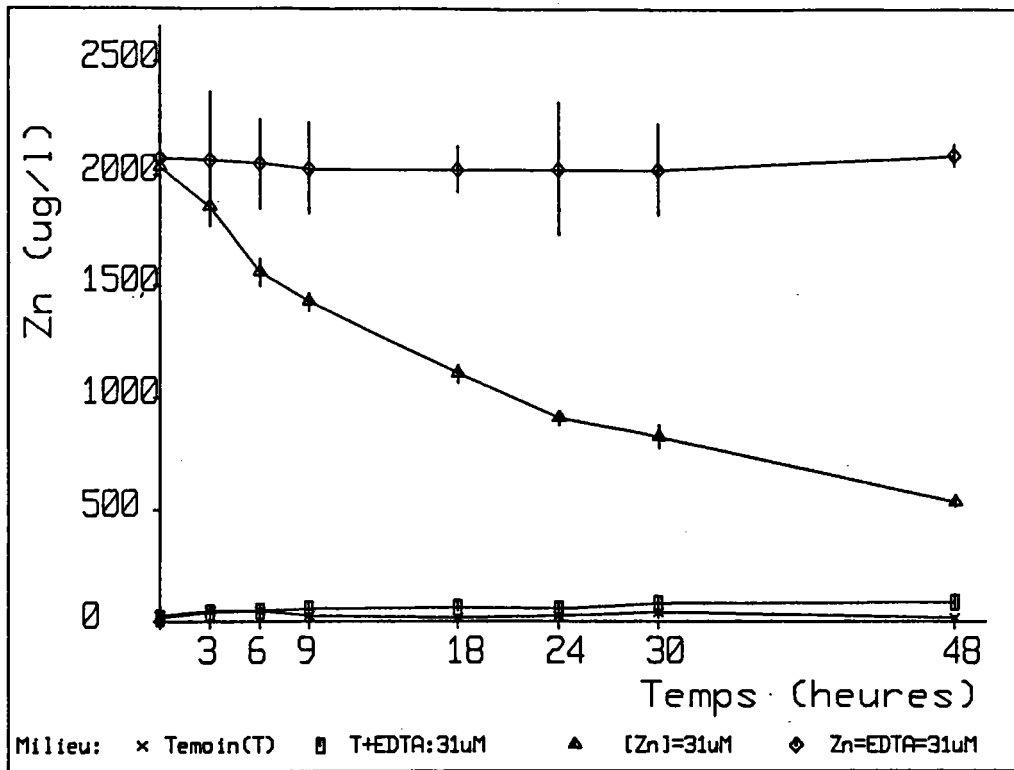


Fig. 18:

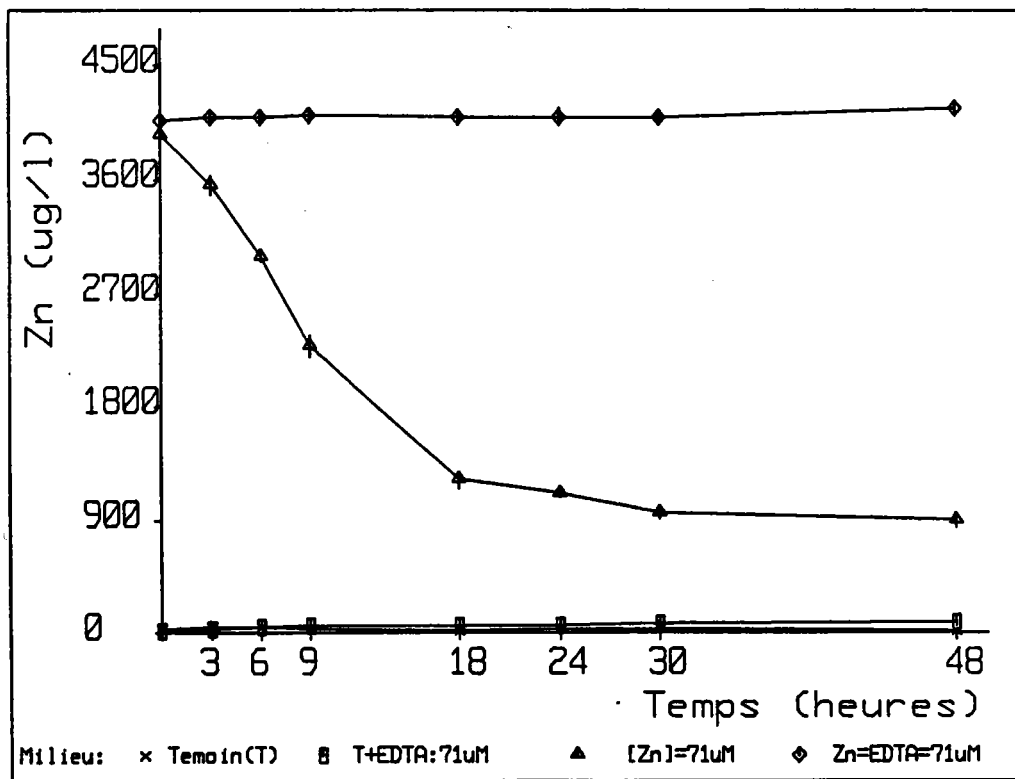


Fig. 19:

Fig. 18-19: Effet de l'EDTA sur les teneurs en Zinc total dans le milieu.

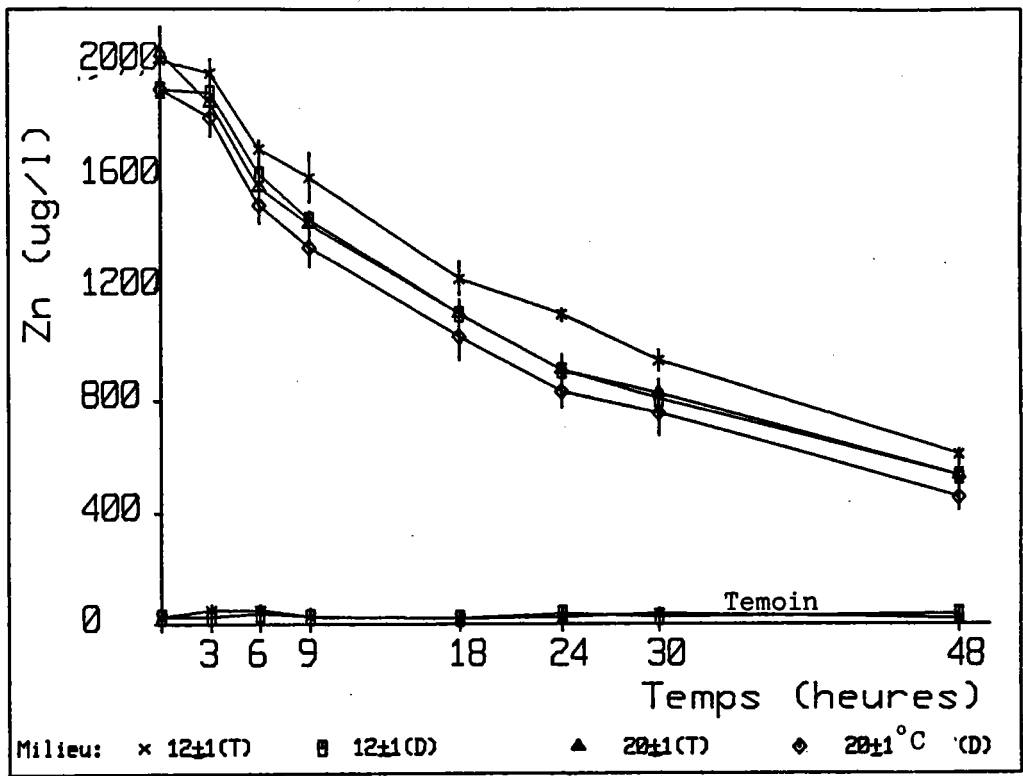


Fig. 20: Teneurs en Zinc total (T) et dissous (D) dans le milieu à 12 et à 20°C

Ce type de variation cyclique est constant dans le temps et se répète identique à lui même pour chaque changement du milieu tous les 48h (fig. 16).

Un essai avec 400 moules vivantes dans le milieu montre que nous avons la même cinétique, mais le taux de perte en Zn du milieu est légèrement supérieur à celui obtenu sans moule (fig. 17). Cette différence est due à l'épuisement du Zn par son absorption tissulaire et son adsorption sur les parties molles et sur les coquilles de ces organismes, ceci explique l'augmentation avec le temps de l'écart entre les courbes obtenues avec ou sans moule.

I.2. Effet de l'EDTA

Nous avons testé deux concentrations en Zinc: 2000 et 4000ppb, soit respectivement 31 et 71µM.

Les figures 18 et 19 montrent qu'en présence de la même concentration molaire que le Zn, l'EDTA permet d'éviter la précipitation et l'adsorption de ce métal, et par conséquent annule 80% de perte. Après 48h nous retrouvons une concentration finale identique à celle initialement injectée dans le milieu.

I.3. Effet de la température

Nous avons testé deux températures suffisamment écartées, afin de mettre en évidence l'effet de ce facteur physique sur la solubilité du Zn. Toutes les conditions étant par ailleurs identiques.

La figure 20 montre qu'à basse température (+12°C), nous avons plus de Zn dissous et total qu'à +20°C. Cet écart de 5 à 10% apparaît dès les premières heures après la contamination du milieu, et se maintient constant dans le temps. Vu la variation sur chaque moyenne qui atteint parfois les 10%, cette différence n'est pas significative. À +12°C, nous avons la même cinétique de précipitation et d'adsorption du Zn qu'à +20°C.

CONCENTRATIONS	SUJETS TESTES	SUJETS MORTS	% MORTALITE
8	20	2	10
9	20	5	25
10	20	6	30
12	20	14	70
15	20	15	90

Tableau 19 : Taux de mortalité cumulée (%) en fonction des concentrations en Zinc dans le milieu.

CL50 _{28j}	Intervalle de confiance	Droite de régression
10,881	[10,865 ; 10,897]	$y = 9,189 \log c - 4,342$

Tableau 20 : Valeur de la CL50_{28j} du Zinc chez Dreissena polymorpha.

Remarque : Le test de linéarité de la droite de régression est très significatif. ($X^2_{ob} < X^2_{th}$) : $r = 0,99 \%$

CL50 _{28j}	Intervalle de confiance	Droite de régression
17,713	[17,666 ; 17,760]	$Y = 2,997 \log C + 1,259$

Tableau 21 : Valeur de la CL50_{28j} du Zinc chez Dreissena polymorpha en présence de l'EDTA à concentration molaire égale avec celle du Zinc.

II. TOXICITE DU ZINC

II.1. Détermination de la CL50_{28j}

Après plusieurs essais préliminaires pour bien cerner la valeur de la CL50, nous avons choisi cinq concentrations allant de 8 à 15ppm et ayant donné des mortalités allant de 10 à 90%, (tableau 19).

La méthode des probits a permis de tracer la droite de régression des probits empiriques en fonction des valeurs logarithmiques des concentrations en Zn.

La valeur de la CL50_{28j} du Zn déterminée chez la Dreissène 10,881 + 0,016 ppm (Tableau 20) est largement supérieure à celle trouvée chez les autres mollusques (tableau 4). Chez *Crassostrea gigas* la CL50_{21j} de ce métal est de 0,5ppm (WATLING, 1981) et ne dépasse pas les 0,771ppm pour 30 jours d'exposition chez *Physa gyrina* (NEBEKER et al., 1986). Avec ces valeurs la toxicité du Zn est inférieure à celle du Pb, du Cd et surtout du Cu et du Hg. La CL50_{96h} de ces deux derniers métaux chez la Dreissène est respectivement de 0,19 et 0,43 ppm (MOUABAD, communication personnelle).

Ceci indique la faible toxicité de ce métal envers la Dreissène, et donc la forte résistance de cette espèce à ce métal, ce qui rend impossible la détermination de la CL50 à court terme (24h, 72h, 92h,...). Après 28 jours d'intoxication, la mortalité ne dépasse pas 10% pour 8ppm de Zn, et 30% pour 9 et 10ppm. Après 48h nous n'avons aucune mortalité, même en présence de 15ppm de Zn dans le milieu.

II.2. Effet de l'EDTA

Cet effet a été recherché dans les mêmes conditions expérimentales que celles utilisées pour la détermination de la CL50_{28j} du Zn seul. présent à la même concentration molaire que le Zinc, l'EDTA réduit environ de moitié la toxicité de ce métal; la valeur de la CL50_{28j} du Zn augmente de 10,881 ± 0,016 ppm en absence du complexant à 17,713 ± 0,047 ppm en sa présence.

La complexation du Zn par l'EDTA réduit les pertes métalliques dues à la précipitation et à l'adsorption, et maintient la

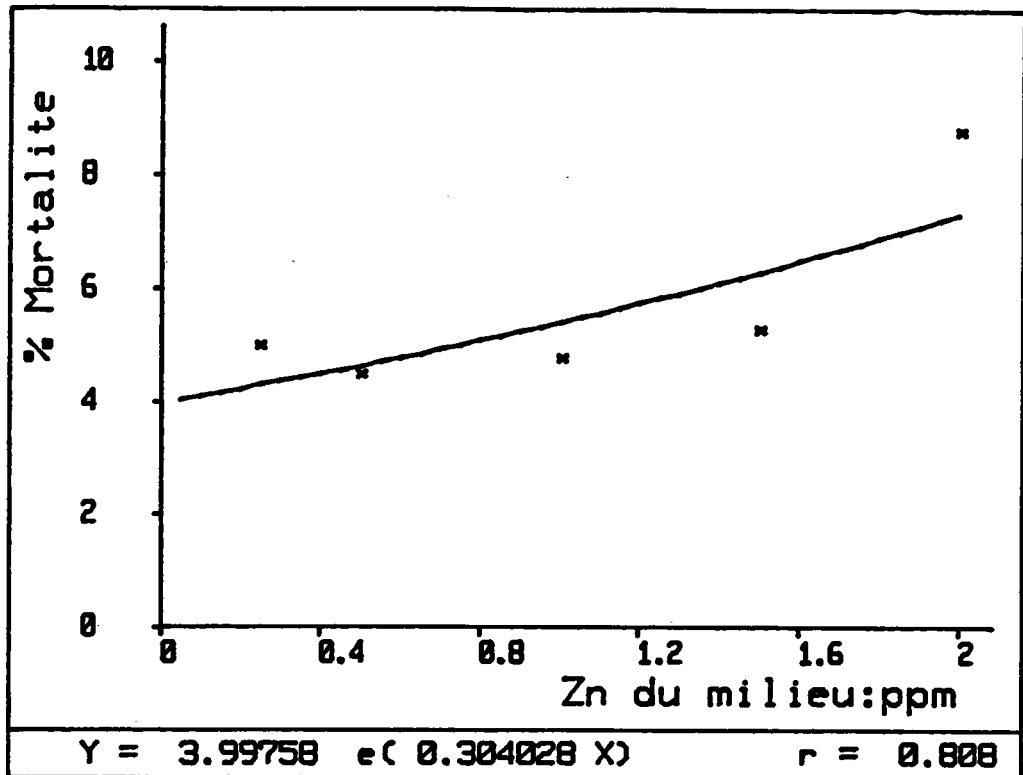


Fig. 21: Fonction de regression : Mortalite cumulee (%) en fonction de la concentration initiale en Zinc dans le milieu.

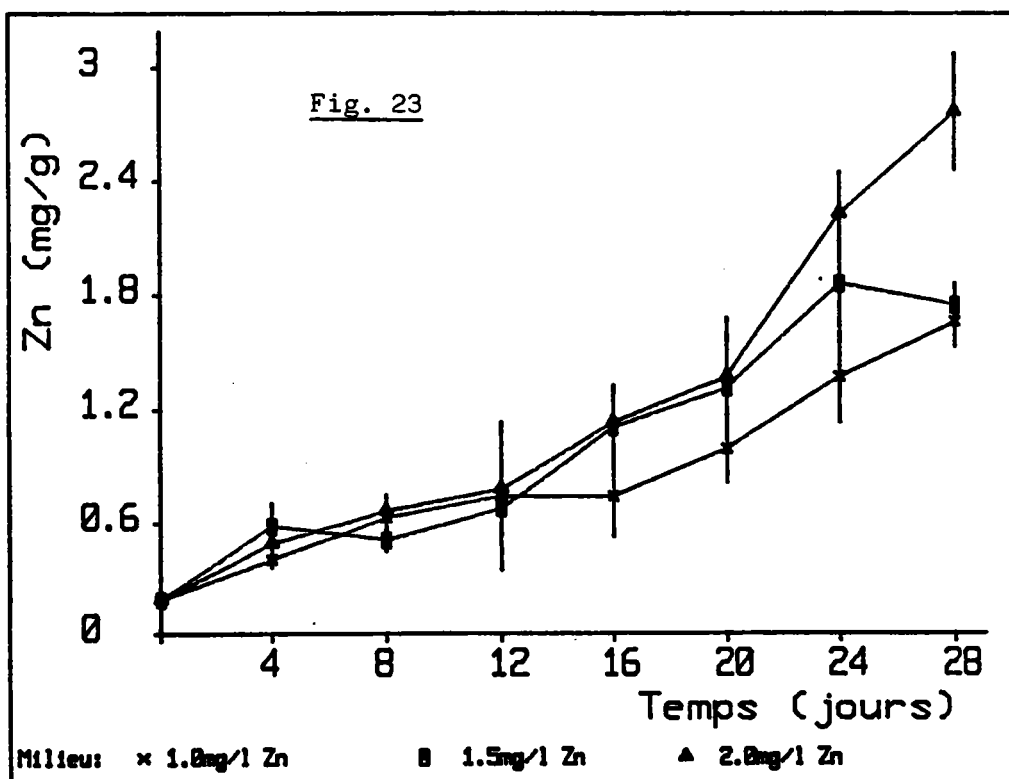
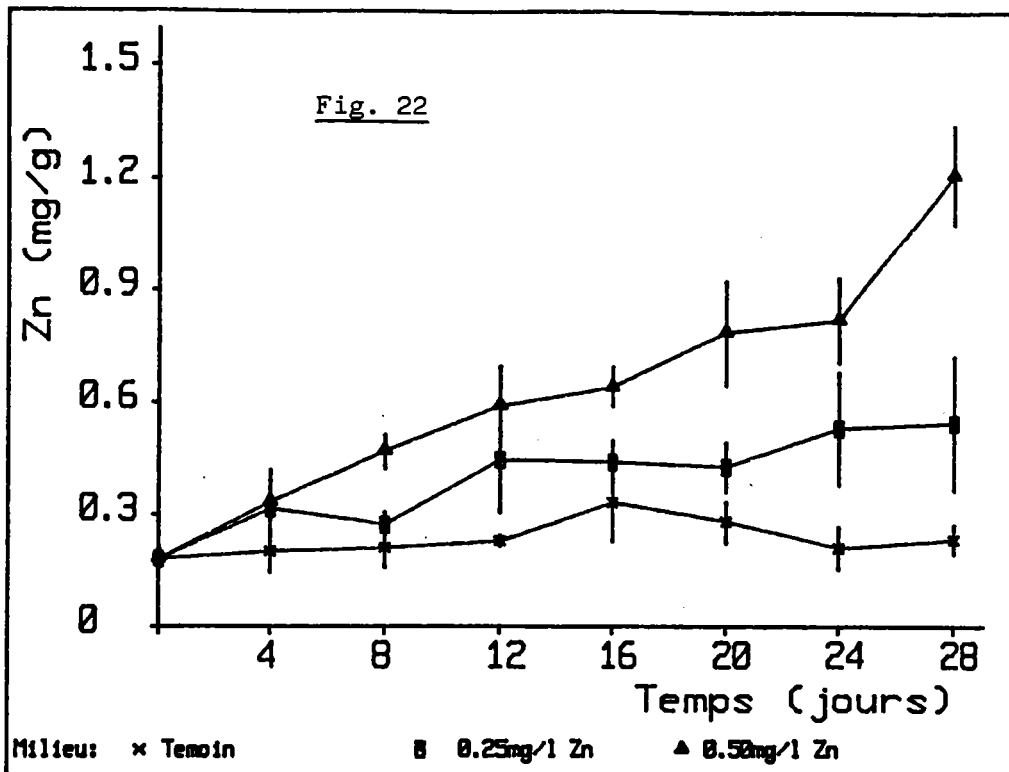


Fig. 22-23: Evolution des teneurs en Zinc dans les moules en fonction du temps et des concentrations en Zinc dans le milieu.

présence en solution du Zn dans le milieu. Devant cette réalité physico-chimique, deux hypothèses restent valables pour expliquer la diminution de la toxicité de ce métal sous sa forme complexée:

- *- soit il y a une diminution du contact physique et/ou de l'identification biochimique du Zn au niveau cellulaire, et donc une diminution de son absorption par les tissus.

- *- soit le complexe Zn-EDTA pénètre dans le milieu intratissulaire, mais sous cette forme, le Zn exerce une action toxique beaucoup plus faible que celle de sa forme libre.

Seule la comparaison de la bioaccumulation des deux formes du Zn, libre et complexée, permet de comprendre le mécanisme de la diminution de la toxicité du Zn en présence de l'EDTA.

III. CINETIQUE D'ACCUMULATION DU ZINC (Zn)

III.1. Bioaccumulation par de la partie molle

III.1.1. Dynamique de la bioaccumulation du Zn

III.1.1.I. Au printemps 05/1986

Nous avons testé cinq concentrations croissantes en Zn, dont la plus élevée est 2ppm, soit environ, le 5^{ème} de la CL50₂₈, déterminée précédemment. Le pourcentage de mortalité pendant l'expérience est resté inférieur à 10% (Fig. 21).

L'évolution des teneurs en Zinc dans la partie molle est proportionnelle au temps d'exposition (Fig. 22-23). Les charges métalliques finales (28^{ème} jour) dans les moules corrèlent linéairement avec les teneurs en Zinc injectées dans chaque milieu (Fig. 24).

La contamination évolue exponentiellement avec le temps ($r > 0,95$) et présente deux phases d'une durée très inégale. La première est très lente les 8 premiers jours et la seconde est très rapide et dure jusqu'à la fin de l'expérience (Fig. 25 à 28). Ceci à l'exception des résultats de la contamination avec la plus faible teneur en Zinc (0,25ppm) donnant une corrélation linéaire ($r = 0,921$) (fig.29).

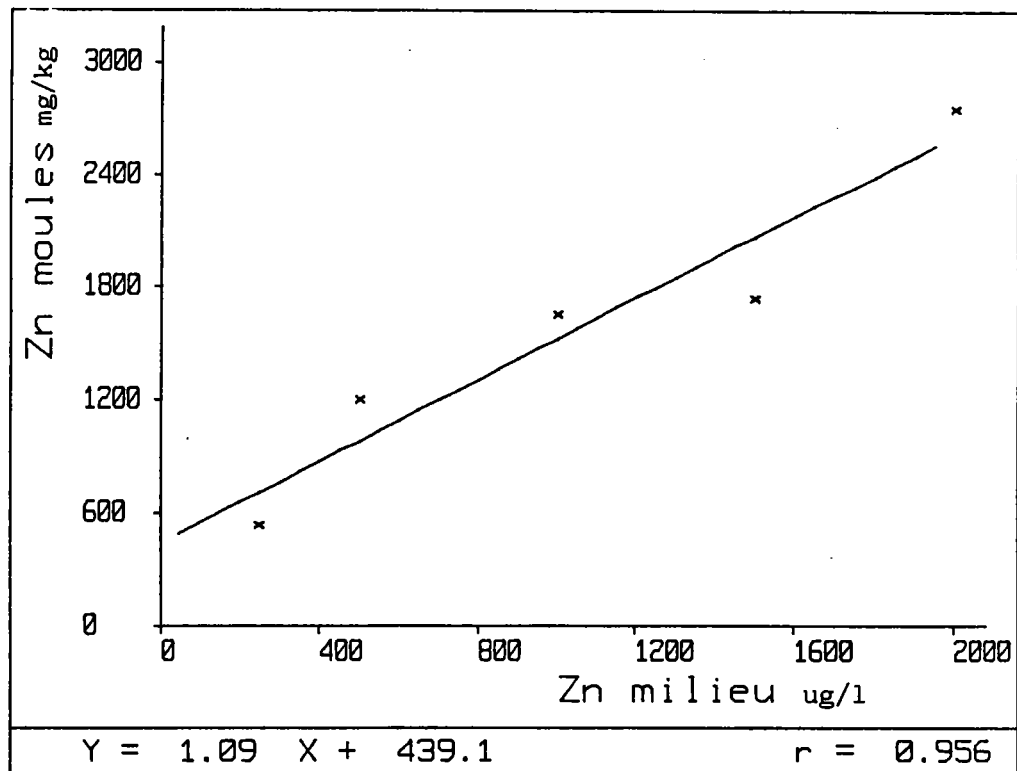
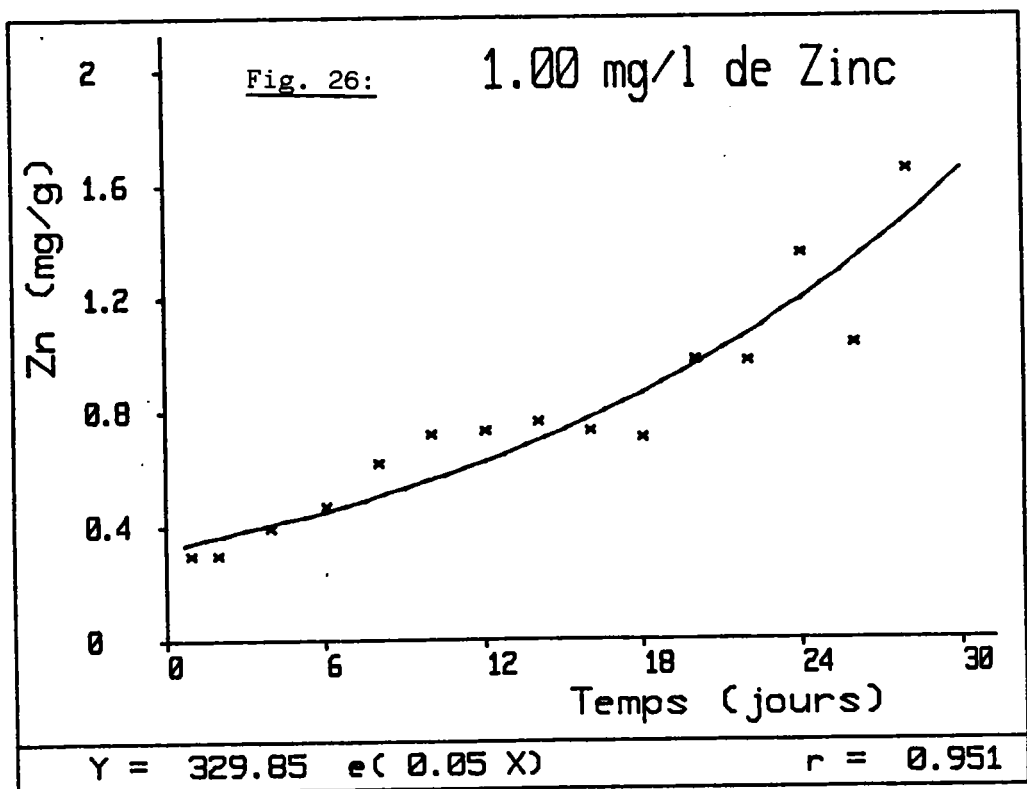
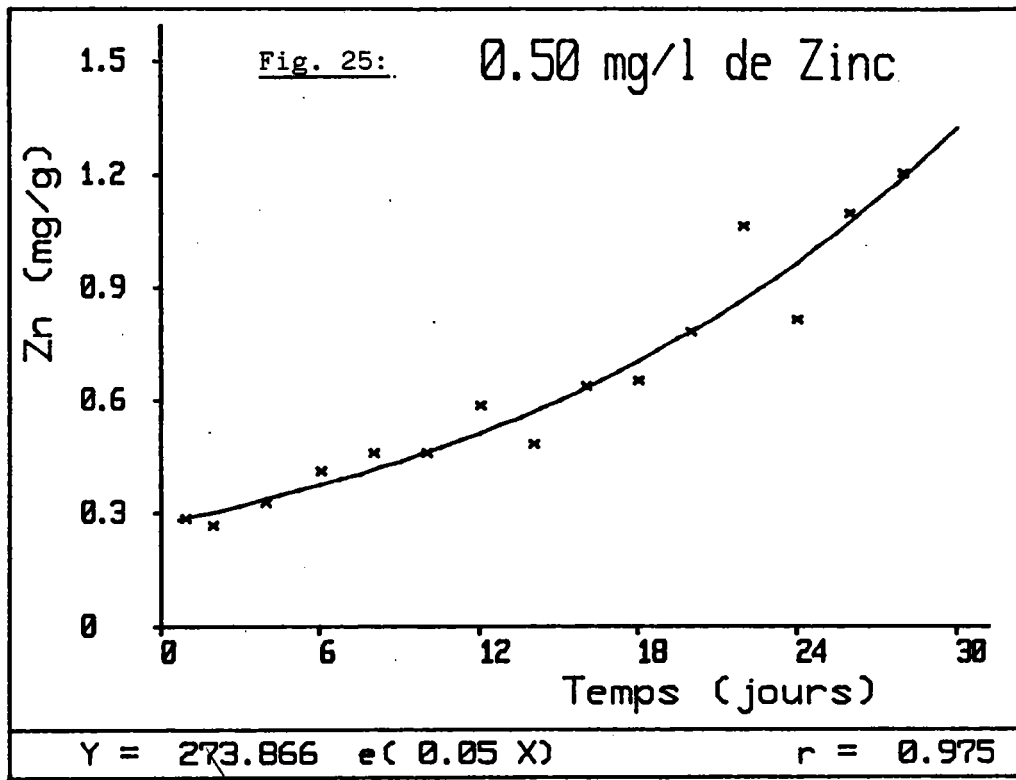
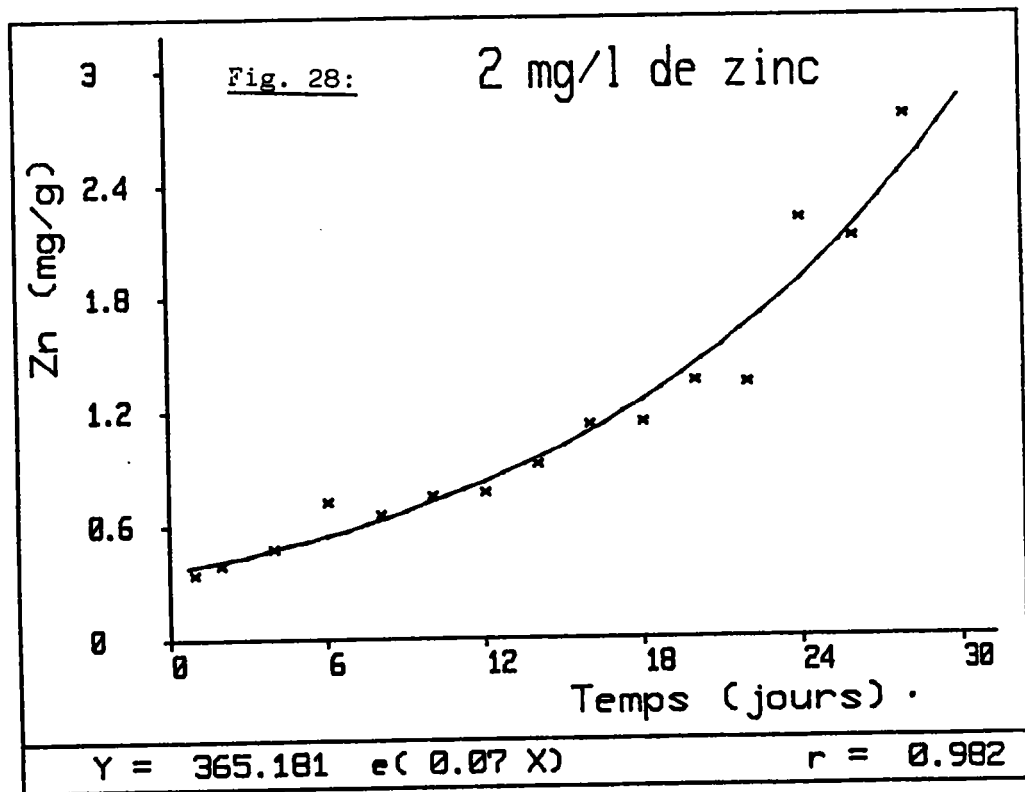
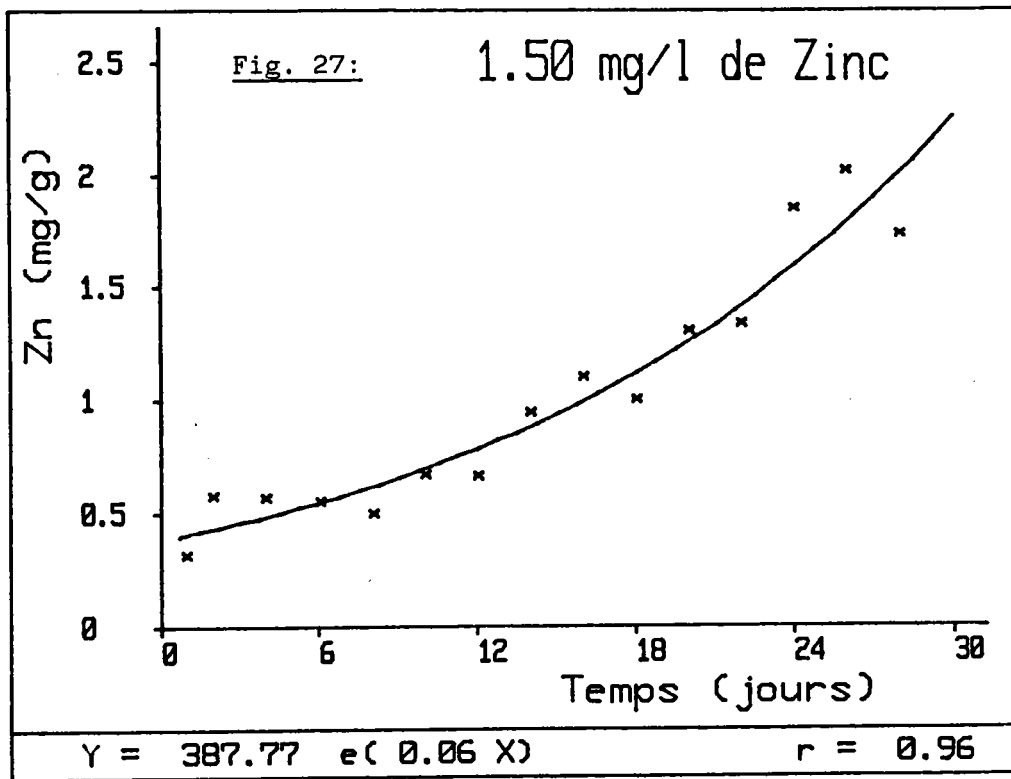
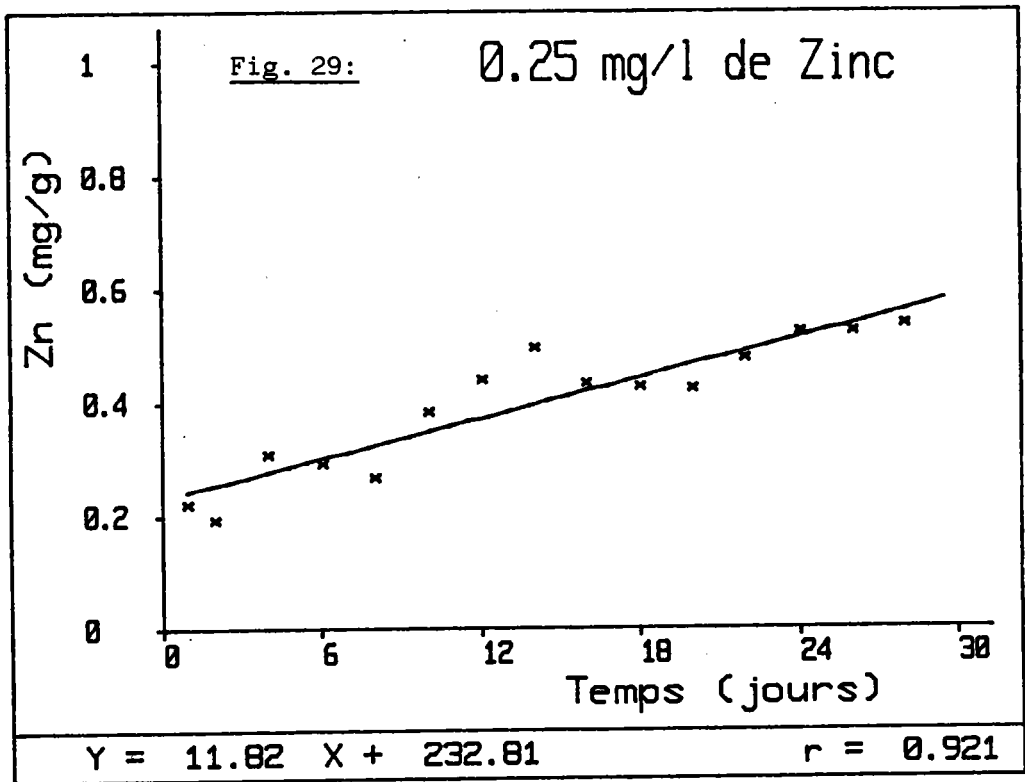


Fig. 24: Droite de regression: Teneurs finales (28^{ème} jour) en Zinc dans les moules (mg/kg) en fonction des concentrations métalliques initiales dans le milieu (mg/l).

Fig. 25-29: Courbe de regression: Teneurs en Zinc dans les moules en fonction du temps de contamination à 20°C (05/1986).







Après 28 jours d'exposition, les moules ont accumulé respectivement 540, 1200, 1650, 1740 et 2760mg/kg en présence de 0,25; 0,50; 1,00; 1,50 et 2,00ppm de Zinc. Les teneurs sont donc 2, 5, 6, 7 et 12 fois supérieures à celles constatées chez les témoins.

Les facteurs de concentration (FC) sont proportionnels au temps d'exposition et aux teneurs métalliques lorsqu'elles sont inférieures à 1ppm dans le milieu (Fig. 30). Au-delà de cette concentration, les FC baissent considérablement (Fig. 31).

Les valeurs maximales de FC obtenues au 28^{ème} jour sont de l'ordre de 6350 avec 1ppm de Zn, et de 5210 avec 2ppm. Par contre en présence de 1,50ppm de Zn, nous avons le même FC qu'avec 0,25ppm de Zn.

Les teneurs en Zn dans les témoins en début d'expérience, sont de l'ordre de 180mg/kg (Fig. 22). Après deux semaines de séjour dans l'eau déchlorée, elles sont de 320mg/kg. Cette augmentation peut être expliquée en partie par la diminution du poids appréciable par l'évolution du pourcentage du poids sec par rapport au poids frais (% PS/PF). Ce rapport est de 8 à 10% au temps t_0 , et diminue d'environ 2% chez les moules témoins (Fig. 32) et contaminées (Tableau 22-23) à la fin de l'expérience.

Cette chute du poids implique une surestimation des quantités accumulées. En outre, avec le temps, le pourcentage du poids sec continue à baisser et peut atteindre pour certains échantillons des valeurs de l'ordre de 50mg, ce qui pose deux problèmes analytiques soulevés précédemment dans la mise au point de la technique de minéralisation à savoir:

- *- Une surestimation supplémentaire des charges zinciques chez les moules contaminées qui est de l'ordre de 20% des teneurs en Zn chez les témoins.

- *- Une augmentation des coefficients de variation qui dépassent largement les 20%.

III.1.1.2. En automne 12/1986

Les figures 33-34 montrent une tendance asymptotique de la contamination des moules plus nette et plus significative avec 2ppm de Zn dans le milieu ($r= 0,912$) qu'avec 4ppm ($r= 0,674$),

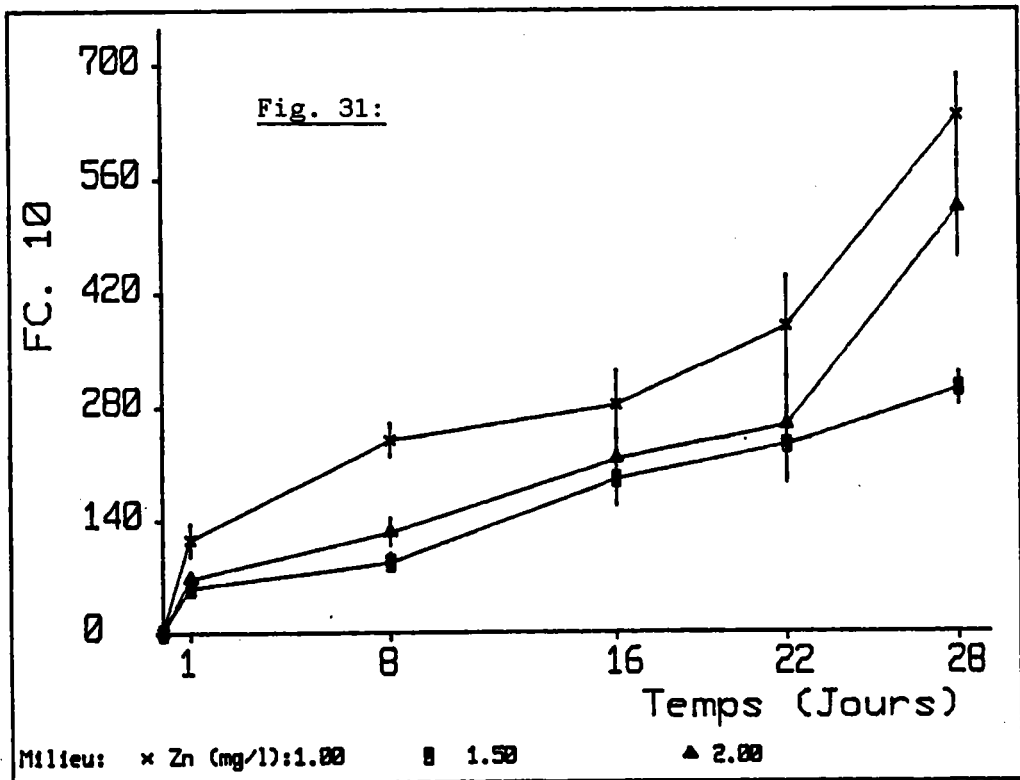
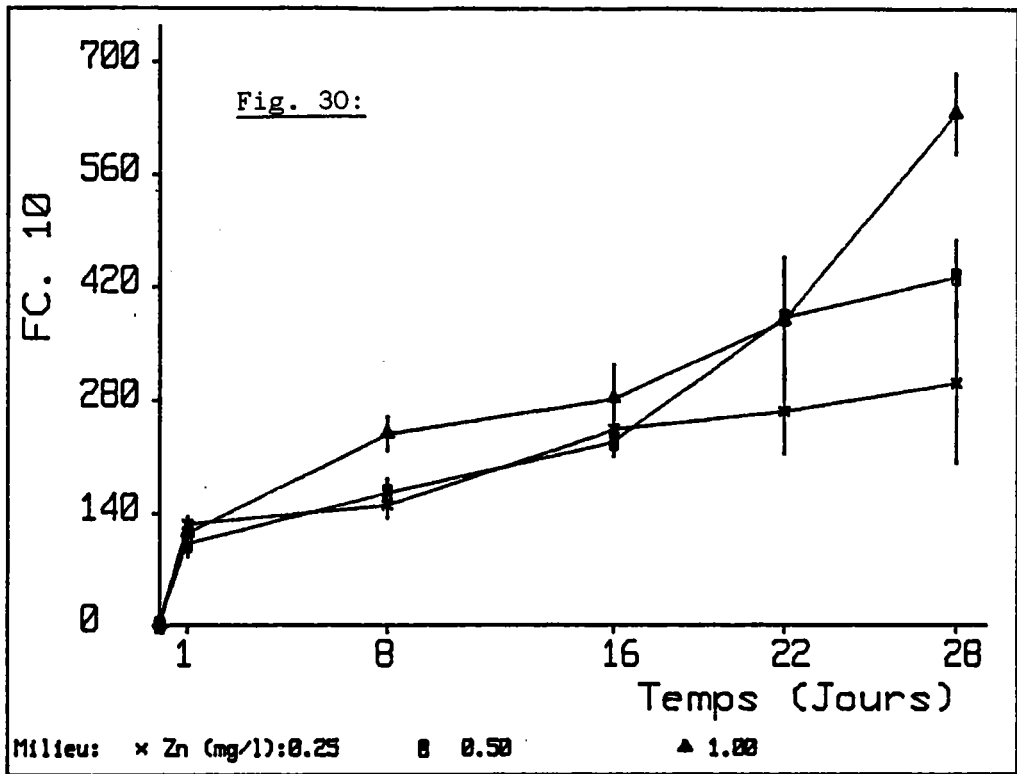


Fig. 30-31: Facteurs de concentration du Zinc chez la Dreissene en fonction des teneurs métalliques dans le milieu.

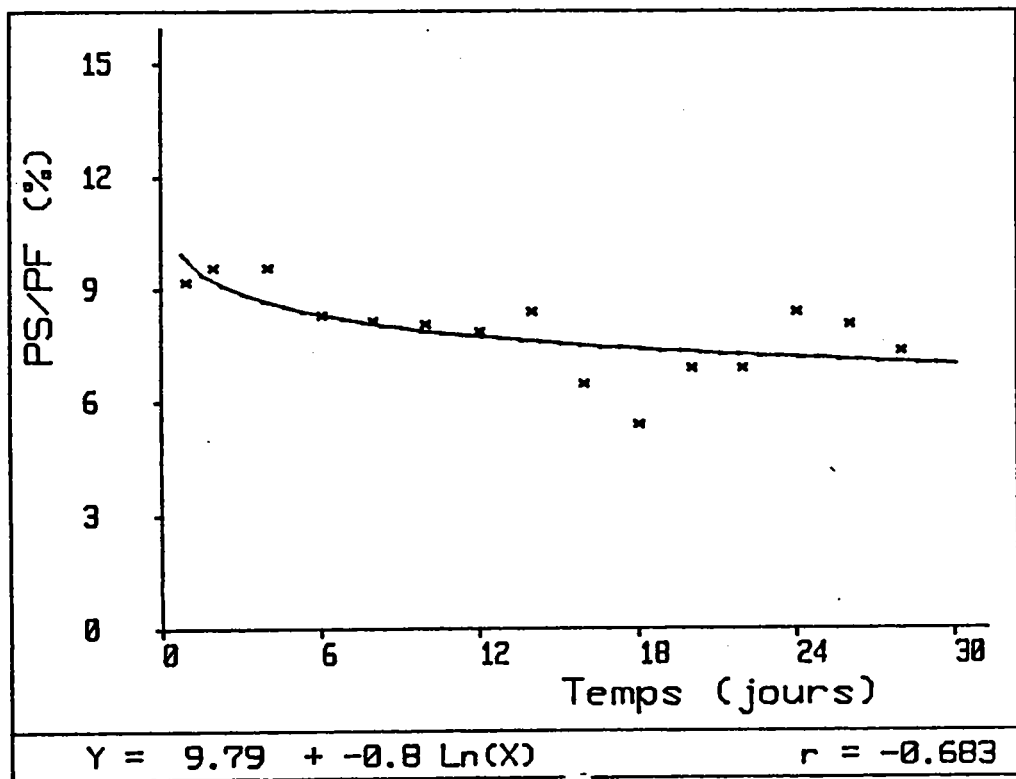


Fig. 32: Evolution du pourcentage du poids sec des parties molles (% PS/PF) en fonction du temps chez les moules témoins.

Zn:mg/l	Témoin		0.25		0.50	
Temps/j	m (mg)	s	m	s	m	s
0	10.0	1.1				
1	9.2	1.4	6.1	3.7	9.7	0.1
2	9.6	0.7	9.0	0.8	8.1	2.2
4	9.6	0.5	10.0	0.9	9.4	1.1
6	8.3	2.3	7.6	2.6	8.9	1.7
8	8.2	0.6	8.4	0.7	7.3	2.3
10	6.1	0.9	7.3	3.7	6.9	4.9
12	7.9	3.5	8.1	2.4	8.0	1.0
14	8.4	1.0	8.8	1.0	7.9	2.1
16	6.5	2.0	6.6	2.0	7.5	2.3
18	5.4	2.0	7.4	4.4	7.4	1.6
20	6.9	3.2	8.0	2.9	6.4	3.6
22	6.9	2.2	7.5	1.3	7.0	2.3
24	8.4	1.3	8.4	1.8	5.2	6.1
26	6.1	2.5	8.2	1.9	7.7	1.6
28	7.4	2.0	6.5	2.1	7.1	2.1

Tableau 22:

Zn:mg/l	1.00		1.50		2.00	
Temps/j	m (mg)	s	m	s	m	s
0	10.0	1.1				
1	10.4	0.7	8.8	2.2	10.0	0.4
2	8.1	1.5	7.1	2.2	7.6	2.1
4	9.5	0.8	8.3	2.3	9.5	1.2
6	9.3	0.5	8.2	1.6	8.3	2.1
8	6.6	1.3	9.4	1.0	8.1	1.2
10	7.1	2.9	6.4	0.3	6.8	0.3
12	6.6	2.7	9.2	0.6	6.7	2.5
14	6.7	2.4	8.1	1.9	7.7	2.0
16	6.7	0.9	7.6	1.6	8.1	1.0
18	7.8	1.3	7.4	3.2	8.9	0.3
20	6.7	1.7	9.2	1.3	7.8	2.1
22	3.6	5.7	6.1	2.2	7.8	1.9
24	7.8	1.6	7.7	4.1	8.2	3.3
26	3.5	6.9	7.9	2.6	8.1	1.1
28	7.1	2.5	6.9	1.5	7.6	1.1

Tableau 23:

Tableau 22-23: Evolution du pourcentage du poids des parties molles (% PS/PF) en fonction du temps (/jours) chez les moules témoins et contaminées.

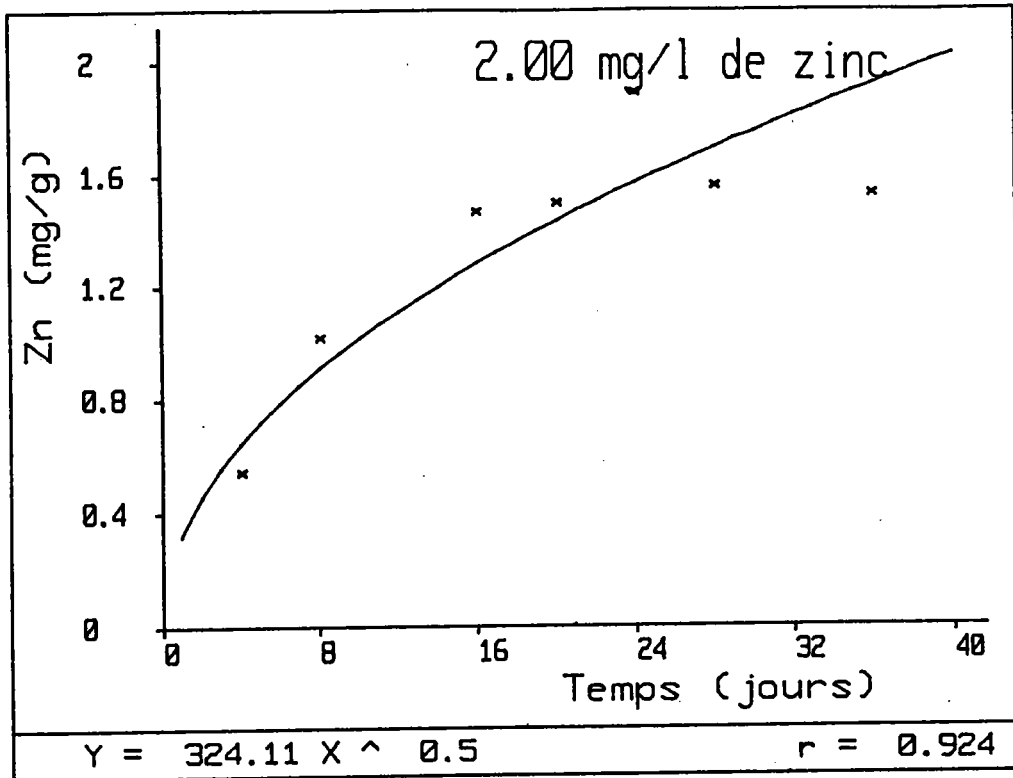


Fig. 33:

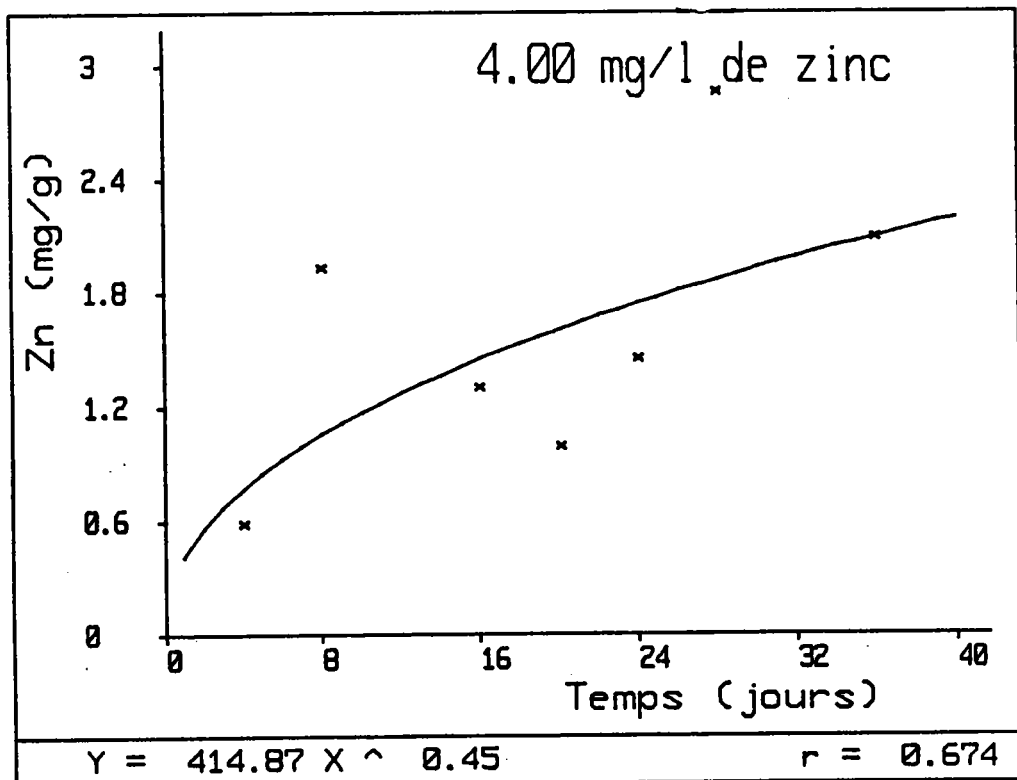


Fig. 34:

Fig. 33-34: Régression des teneurs en Zinc dans les moules en fonction du temps de contamination à 20°C (12/1986).

concentration pour laquelle nous observons une importante fluctuation des taux d'accumulation métallique. Cette fluctuation se traduit par une dispersion des points autour des courbes de corrélation (Fig. 34) et par un coefficient de précision (r^2) plus faible.

Le plateau de saturation est atteint dès le 16^{ème} jour d'exposition pour une accumulation de 1550mg/kg, soit un FC de 2950. Nous distinguons alors trois phases dans cette cinétique: une première très accélérée pendant les 8 premiers jours, une deuxième phase de ralentissement entre le 8^{ème} et le 16^{ème} jours, et une dernière: le plateau qui se maintient jusqu'à la fin de l'essai (28^{ème} j).

III.1.1.3. Hiver (02/1988)

Pour la contamination des moules, nous avons essayé deux concentrations déjà testées, 1 et 2ppm de Zn afin de pouvoir comparer entre elles, les cinétiques d'accumulation déterminées aux différentes saisons. Nous n'avons pas dépassé une concentration de 2ppm de Zinc pour éviter les fortes variations observées dans l'essai automnal en présence de 4ppm.

Pendant cette saison, la contamination des moules évolue linéairement avec le temps d'exposition (fig. 35-36).

A partir du 15^{ème} jour, nous observons un ralentissement de cette cinétique pour les teneurs testées, d'où la tendance asymptotique de cette cinétique entre le 15^{ème} et le 21^{ème} jour (Fig.37). Ceci peut indiquer le début d'une saturation incomplète.

III.1.1.4. Réflexions sur la variation saisonnière de la bioaccumulation (Tableau 24)

La comparaison des cinétiques d'accumulation du Zn par la moule dans les différents essais permet de faire des constatations à propos de la variation saisonnière de cette cinétique.

Ainsi les contaminations de la dreissène à +20°C en présence de 2ppm de Zn et dans les mêmes conditions expérimentales au prin-

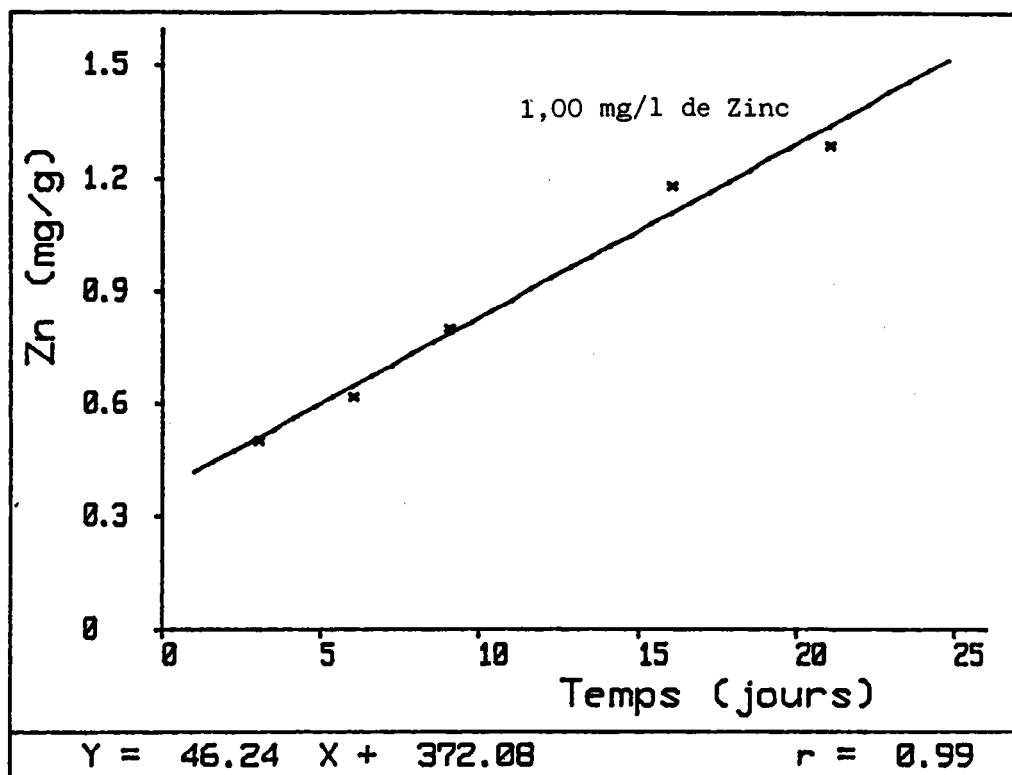


Fig. 35:

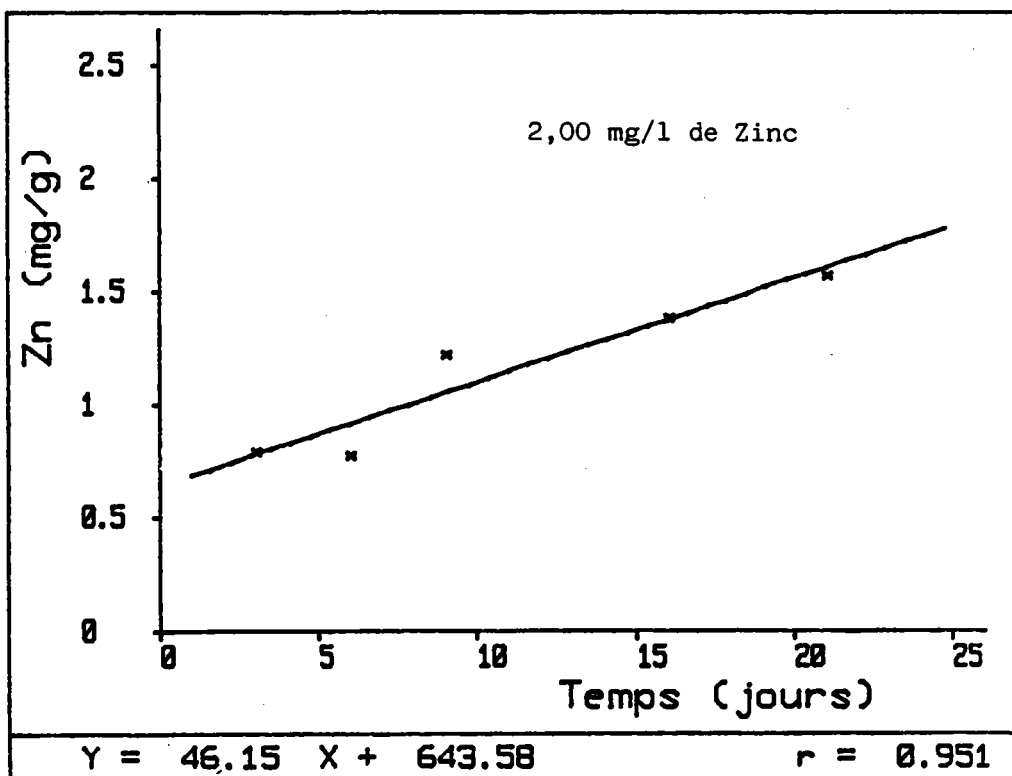


Fig. 36:

Fig. 35-36: Régression des teneurs en Zinc dans les moules en fonction du temps de contamination à 20°C (02/1988).

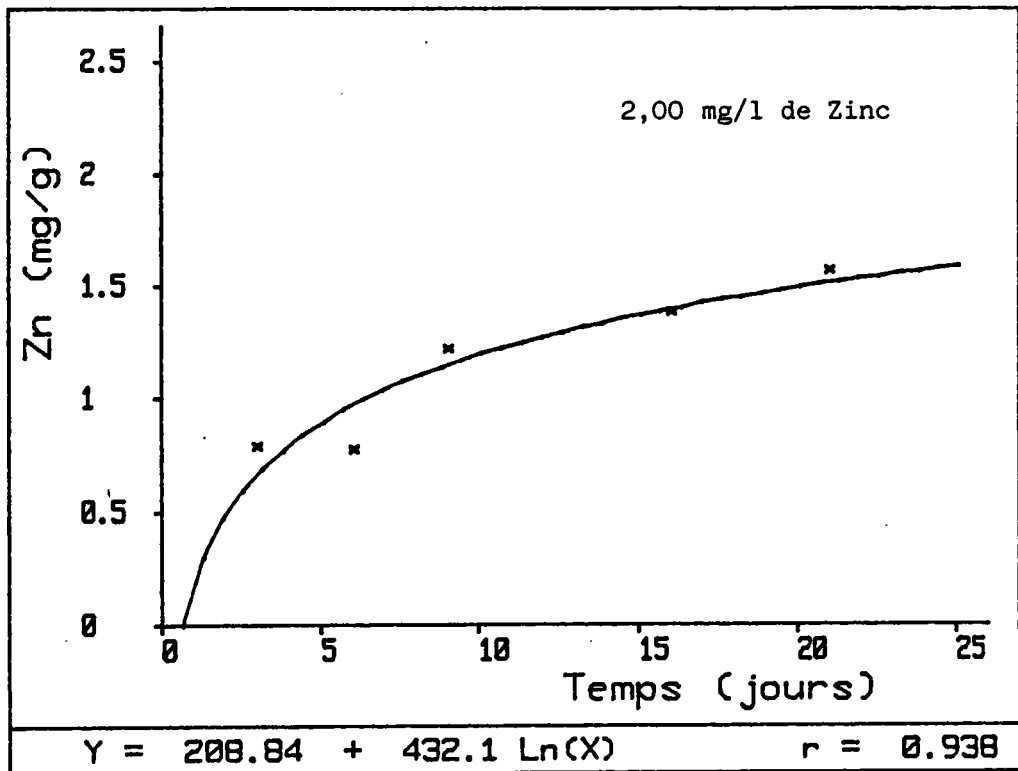


Fig. 37: Régression des teneurs en Zinc dans les moules en fonction du temps de contamination à 20°C (02/1988).

Date (saison)	05/1986 Printemps		12/1986 Automne		02/1988 Hiver	
(Zn) ppm	1	2	2	4	1	2
Durée (jours)	28		36		21	
y = équation de régression	$Y_1 = 329,85e(0,05X)$ $r_1 = 0,951$ $Y_2 = 365,181e(0,07X)$ $r_2 = 0,982$		$Y_2 = 324,11 X^{0,5}$ $r_2 = 0,924$ $Y_4 = 414,87 X^{0,45}$ $r_4 = 0,674$		$Y_1 = 46,24 X + 372,08$ $r_1 = 0,99$ $Y_2 = 46,15 X + 643,58$ $r_2 = 0,951$	
FC maximal	$FC_{1(20j)} = 986,6$ $FC_{1(28j)} = 6355,4$ $FC_{2(20j)} = 1359,0$ $FC_{2(28j)} = 5212,5$		$FC_{2(20j)} = 2835,3$ $FC_{2(28j)} = 2957,4$ $FC_{2(36j)} = 2896,8$ $FC_{4(36j)} = 2357,9$		$FC_{1(21j)} = 2081,2$ $FC_{2(21j)} = 2974,5$	
Cinétique d'accumulation	Exponentielle diphasique		Asymptotique triphasique (saturation)		Linéaire	
Remarques	Répétition : TK.32j à 2 ppm Zn le 05/1987 $Y = 328,333e(0,8-x)$ $r = 0,897$		Répétition : TK.15j à 1 ppm Zn le 11/1987 $Y = 114,56 X^{0,56}$ $r = 0,955$		Tendance asymptotique pour l'essai avec 1 ppm Zn: $Y = 269,17 X^{0,5}$ $r = 0,988$	

Tableau 24 : Comparaison saisonnière des cinétiques de contamination des moules par le Zinc.

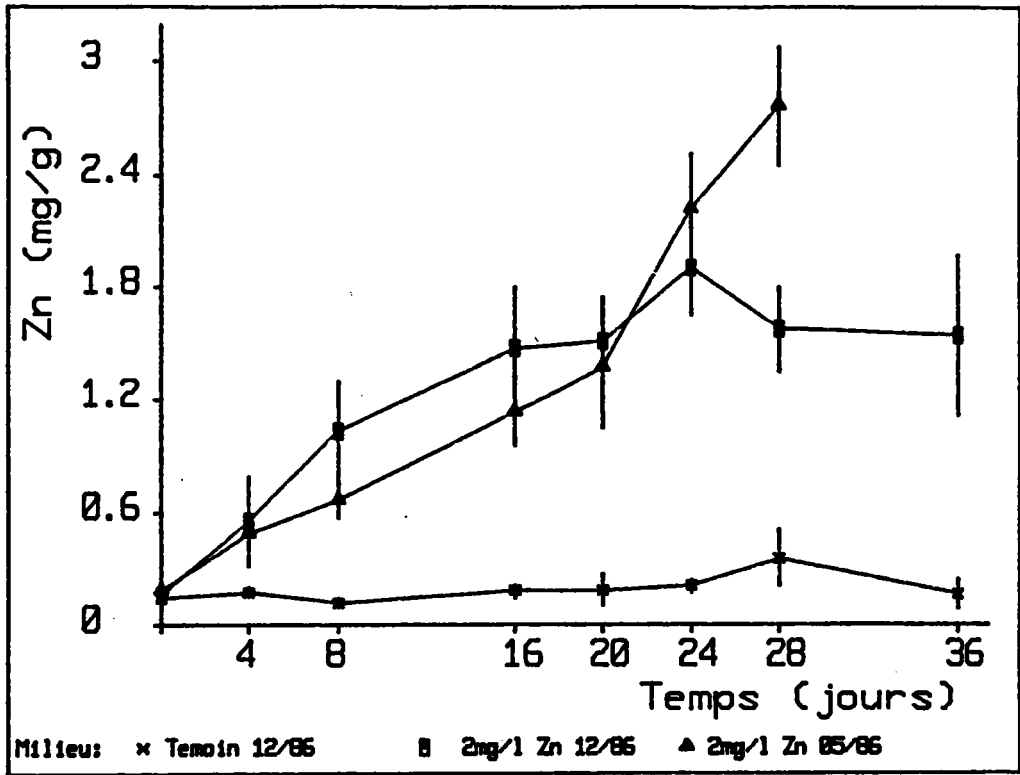


Fig. 38: Variation saisonnière de la cinétique de contamination de la Dreissène par le Zinc.
 -05/1986 Printemps
 -12/1986 Automne

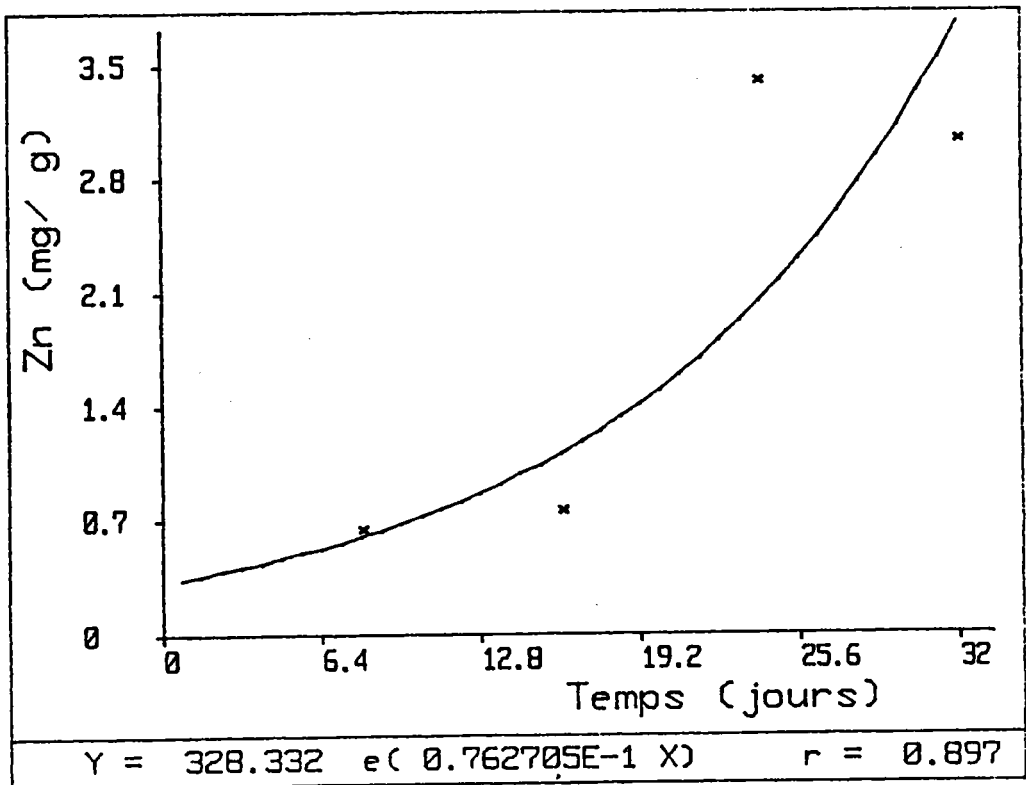


Fig. 39: Régression des teneurs en Zinc dans les moules en fonction du temps de contamination à 20°C (06/1987).

temps et en automne, montrent des différences quantitatives et qualitatives importantes (fig. 38).

En automne, la fixation du Zn par les parties molles se traduit par un facteur de concentration (FC) maximum de 2950 avec une accumulation de 1550mg/kg atteinte dès le 16^{ème} jour. De plus, elle se caractérise par une saturation tissulaire totale. Cette cinétique est triphasique (Fig. 33-34).

Les concentrations et les FC obtenus en automne sont largement inférieurs à ceux du printemps, saison pendant laquelle l'accumulation présente les caractéristiques d'une cinétique exponentielle diphasique avec une courte phase ralentie suivie d'une deuxième phase accélérée et longue (fig. 25-28).

La comparaison entre saisons, de la contamination métallique des moules (Y) nécessite d'introduire trois variables dans ce modèle expérimental: la saison (X_1 : automne(-1) et printemps(+1)), le temps d'exposition (X_2 : 0, 8, 16 et 24 jours) et la teneur en Zinc dans le milieu (X_3 : 0 et 2ppm). l'équation de régression obtenue est la suivante:

$$Y = 655,2 + 457,7X_2 + 160,3X_2 + 149,2X_2X_3 + 12,9X_1X_2 - 2,5X_1(X_2^3 - 8,2X_2).$$

Cette équation montre que le facteur "saison" a une interaction positive avec le temps d'exposition (X_1X_2). On peut donc affirmer que l'évolution des charges zinciques dans les moules contaminées varie de façon significative entre ces deux saisons (printemps, automne) et qu'elle est beaucoup plus importante au printemps. Le dernier polynôme de cette équation traduit aussi une interaction entre le facteur "saison" et "temps" (X_1X_2), et dont le signe dépend de la valeur attribuée à X_2 . Ceci signifie que la prolongation du temps de contamination à 16 ou à 24 jours, se traduit par un changement de la vitesse de bioaccumulation du Zinc. En effet la cinétique de contamination est de tendance exponentielle au printemps et logarithmique en automne. La figure 38 montre qu'entre le 20^{ème} et le 24^{ème} jours on obtient les mêmes concentrations métalliques pendant les deux saisons.

Chez les témoins il n'y a aucune différence significative, ce qui explique l'absence du facteur "saison" (X_1) dans les polynômes du premier degré de l'équation de régression.

Une répétition au printemps de l'année suivante (1987), de la contamination à +20°C avec 2ppm de Zn dans les mêmes conditions

Milieu Temps/ jours	2 ppm Zn à 20°C m ± s
8	1235,5 ± 135,1
16	1443,4 ± 521,1
24	6424,7 ± 673,4
32	5740,7 ± 1202,2

Tableau 25 : Facteurs de concentration (FC) du Zinc chez des moules contaminées par 2 ppm de Zinc à 20°C (06/1987).

expérimentales, prouve bien cette évolution exponentielle diphasique de la cinétique chez la dreissène (fig. 39). Les FC sont de l'ordre de 6424 au 24^{ème} jour et de 5740 au 32^{ème} (Tableau 25). Ces données peuvent être interprétées comme l'existence d'un début de plateau de saturation entre ces deux temps.

En hiver, la cinétique est linéaire avec un léger ralentissement d'accumulation entre le 15^{ème} et le 21^{ème} jour d'exposition (fig. 35-36). Les résultats analytiques du Zn sont largement inférieurs à ceux obtenus au printemps.

A titre de comparaison avec les études réalisées in situ, la transplantation de trois classes de taille de dreissènes (10, 15 et 20mm) sur l'Orne (affluent pollué de la Moselle), montre qu'en automne l'accumulation du Zn augmente rapidement pour atteindre un équilibre au bout de 20 à 30 jours avec une teneur de 400 à 420mg/kg. Ce plateau se maintient durant presque toute la durée de l'expérience (257 jours). En Moselle, les réponses de la dreissène pour le Zn et le Pb sont particulièrement répétitives (LEGLIZE et CROCHARD, 1987).

C'est pendant la période printemps-été qui marque la reprise de l'activité et notamment de la gamétogénèse, que le métabolisme de la dreissène est le plus intense (PIHAN *et al.*, 1988).

De même TOURARI et MOUABAD (1988) montrent expérimentalement à 20°C que l'activité respiratoire suit une variation saisonnière, avec des valeurs basses en automne-hiver et élevées au printemps-été, ce qui est corrélé parfaitement avec nos résultats.

La liaison des variations saisonnières de l'accumulation du Zn avec le cycle de reproduction chez les bivalves a souvent fait l'objet d'études (SIMPSON, 1979; WILLIAMSON, 1979; LOBEL *et al.*, 1982; POPHAN *et al.*, 1982-1983).

Les caractéristiques physico-chimiques du milieu (surtout la température et les conditions trophiques liées à la production primaire), diffèrent fondamentalement entre ces deux périodes de l'année; printemps-été et automne-hiver. L'étude de l'effet de la température et de la nourriture sur l'activité de bioaccumulation du Zn par la dreissène est indispensable pour mieux interpréter les variations saisonnières de cette activité.



mg/l	Zn µM	EDTA µM	[EDTA] [Zn] µM
0	0	0 355	-- --
2	31	0 31 155	0 1 5
4	71	0 71 355	0 1 5

Tableau 26 : Modalité de contamination des moules avec le Zinc et l'EDTA.

PARAMETRES	FC		FA		IC %	
Temps/jours	2	2'	2	2'	2	2'
4	1035,9	95,9	3,1	1,6	17,5	26,3
8	1930	95,9	8,4	1,6	47,2	26,2
16	2776,2	164,7	8,3	3,8	46,7	63,3
24	3531,3	141,9	9,2	2,9	51,9	48,9
36	2896,8	200,8	9,5	3,7	53,5	62,4

Tableau 27 : Effet de l'EDTA (31µM) sur la cinétique d'accumulation du Zinc par la Dreissène.
 FC et FA = facteur de concentration et d'accumulation.
 2 : contamination avec 2ppm de Zinc (31µM).
 2' : contamination avec 2ppm de Zinc en présence de 31µM d'EDTA.

III.1.2. Effets de l'EDTA (11/1986)

Nous avons montré précédemment que l'EDTA réduit la toxicité du Zinc vis-à-vis de la Dreissène. Le mode d'action de ce complexant met en jeu soit la modification de la cinétique d'accumulation du Zinc, soit celle du degré de toxicité métallique intracellulaire. Il est donc nécessaire d'étendre cette étude à l'action de ce complexant sur la contamination métallique des moules.

III.1.2.1. Effet de l'EDTA sur la bioaccumulation du Zn

Pour tester l'effet de ce complexant, nous avons choisi deux rapports molaires de l'EDTA avec le Zn (tableau 26):

Les résultats schématisés dans les figures 40-41 montrent que le Zinc s'accumule plus fortement dans les parties molles quand il est seul. Par contre sa complexation avec l'EDTA réduit considérablement cette contamination. Cette réduction est fonction de la proportion du métal par rapport au complexant. Les fortes concentrations en EDTA, 155 et 355 μM , annulent toute contamination des moules. Pendant les 36 jours d'exposition respectivement à 2 et à 4ppm de Zn, les teneurs tissulaires en Zn sont restées constantes et identiques aux valeurs initiales: 170mg/kg.

Par contre pour des concentrations molaires égales entre le Zn et l'EDTA, nous pouvons suivre une faible augmentation du Zn dans les tissus des animaux contaminés. En absence de l'EDTA les FC du Zinc sont 10 à 20 fois supérieurs qu'en sa présence (Tableau 27), mais les valeurs du FA et de l'IC (%) (paramètres pondérés) montrent que cette différence est beaucoup moindre. Pendant la phase de saturation (16^{ème}, 24^{ème} et 36^{ème} jours), la capacité d'accumulation métallique chez les moules contaminées est deux ou trois fois supérieure en absence de l'EDTA qu'en sa présence (31 μM) (Tableau 27).

Chez les témoins, la présence de l'EDTA entraîne la mobilisation de fortes quantités de Zn contenu dans les tissus. Cette élimination lente et continue du Zn réduit de 50% la charge zincique des moules témoins après 36 jours (fig. 42).

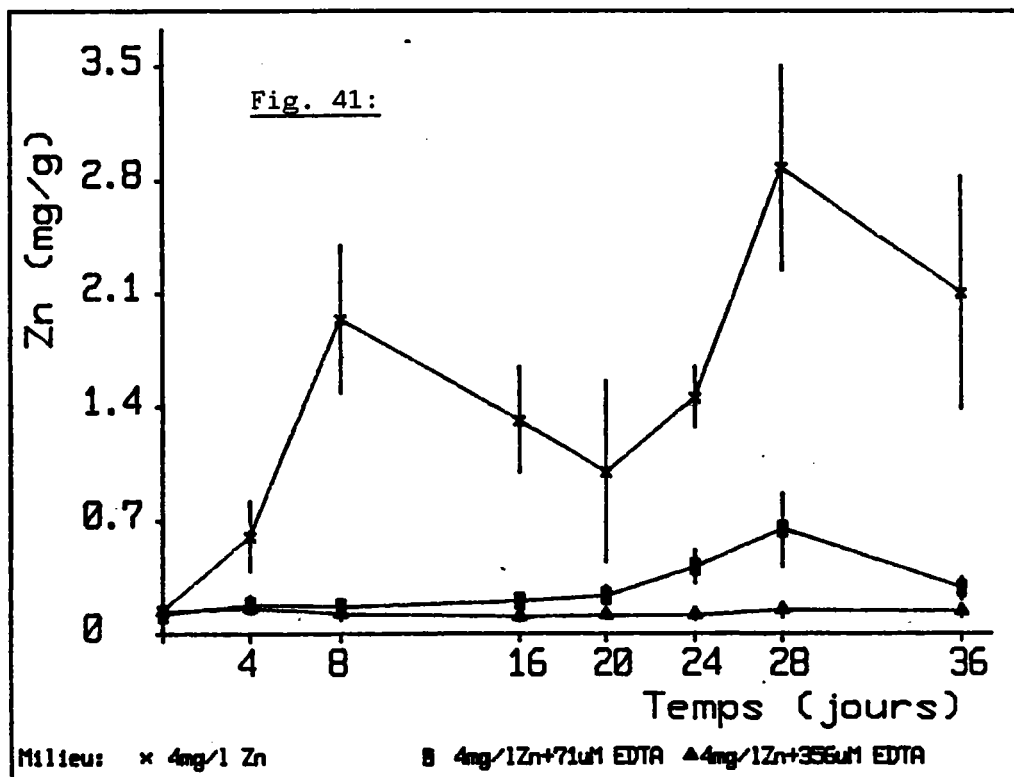
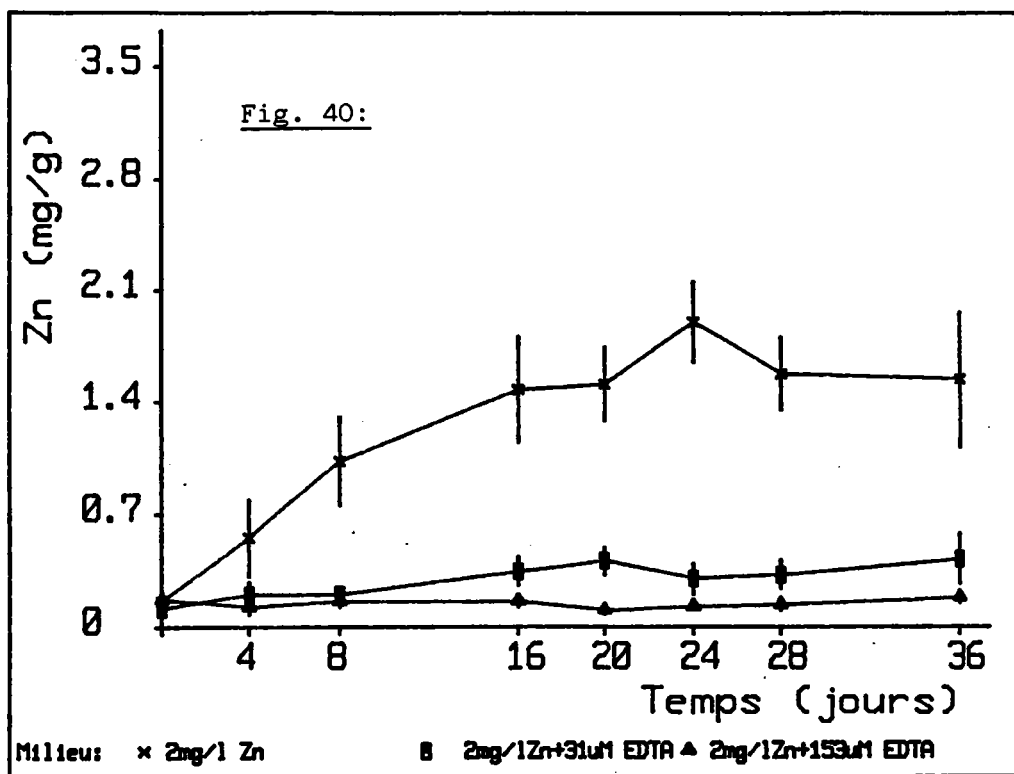


Fig. 40-41: Effet de l'EDTA sur la cinétique de contamination des moules par le Zinc

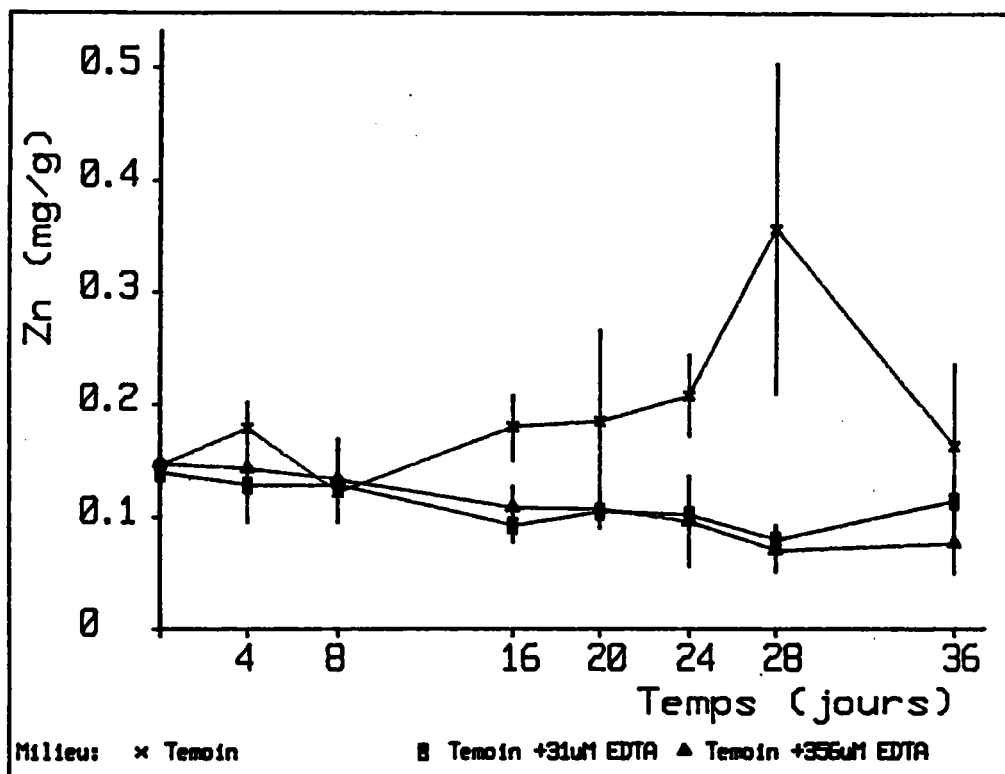


Fig. 42: Effet de l'EDTA sur les teneurs en Zinc tissulaire chez les moules témoins.

III.1.2.2. Effet de l'EDTA sur la mobilisation ionique

L'analyse d'autres oligo-éléments de la partie molle des témoins montre que l'EDTA accélère le relargage du Fe et entraîne une décalcification tissulaire (tableau 28).

Au 36^{ème} jour les moules ne libèrent que 50% de leur contenu initial en Fe, contre 80% en présence de l'EDTA. La décalcification est de 50%.

III.1.2.3. Effet de l'EDTA sur les pertes en poids:

La comparaison des pourcentages du poids sec par rapport au poids frais (% PS/PF) chez les témoins (Tableau 29) montre que ce rapport baisse de 10% à 5% en présence de 355uM d'EDTA, et de 9,3 à 7,9% en son absence avec un minimum pendant le 24^{ème} jour.

Ces pertes en poids sont bien corrélées avec la mobilisation ionique en Zn, en Fe, en Ca et fort probablement en d'autres oligo-éléments non dosés.

III.1.2.4. Effet de l'EDTA sur la mortalité:

Le pourcentage de mortalité cumulée sur 36 jours (Tableau 30), chez les moules exposées à 2 et à 4ppm de Zn est de 20%. L'ajout de l'EDTA à ces milieux contaminés réduit fortement cette mortalité qui devient comparable à celle trouvée chez les témoins (<10%). Cette diminution de toxicité du Zn complexé a déjà été vérifiée lors de la détermination de la CL50_{28j}.

Cependant chez les témoins en présence de 355uM d'EDTA, le taux de mortalité est très proche de celui retrouvé chez les contaminés (22%). A forte dose l'EDTA peut donc exercer une certaine toxicité. Malheureusement, nous n'avons pas pu déterminer la CL50 de cette molécule organique à cause de la non proportionnalité de la mortalité avec les teneurs en EDTA testées .

Oligo-éléments dosés : Fer		Calcium	
EDTA dans le milieu: 0		355uM	
Temps/jours		0	355uM
0	957,7±157,5	2500,5±600	
8	850,0±250	250,5±55,9	1800±590
16	733,9±13,9	340,5±140,9	1450±455,5
24	682,9±180	230,9±100	990,8±430
36	540,6±150,5	190,8±80,9	1250±665

Tableau 28 : Effet de l'EDTA (355uM) sur la composition des tissus de moules témoins en Fer et en Calcium.

Temps/j	0	4	8	16	20	24	28	36
T	9,3±0,7	9,0±0,9	8,1±1,2	7,7±1,7	8,0±0,5	6,1±0,3	7,8±1,5	7,9±0,9
T'	10,1±0,5	7,5±1,5	9,4±1,5	8,6±1,2	8,8±0,8	5,3±0,9	5,0±1,3	5,1±0,6

Tableau 29 : Effet de l'EDTA (355 uM) sur les pertes en poids (% PS/PF).

T = Moules témoins T' = Moules témoins exposées à 355 uM EDTA

Zn : uM	Moules témoins			Moules contaminées					
	0	0	0	31	31	31	71	71	71
EDTA : uM	0	31	355	0	31	135	0	71	355
MC %	6.3	6.0	22.3	19.0	1.5	6.0	20.8	4.8	7.5

Tableau 30 : Mortalité cumulée sur 32 jours (MC %) en fonction des teneurs en Zinc et en EDTA (uM) dans le milieu.

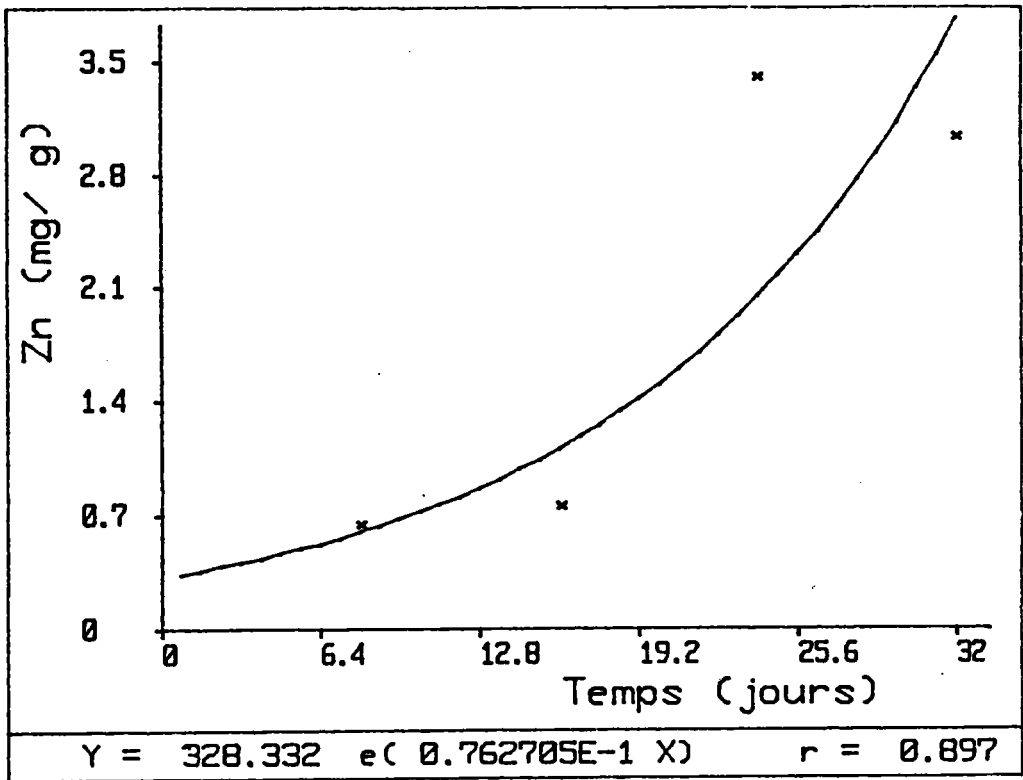


Fig. 43: Corrélation des teneurs en Zinc dans les moules en fonction du temps de contamination par 2ppm de Zinc à 20°C.

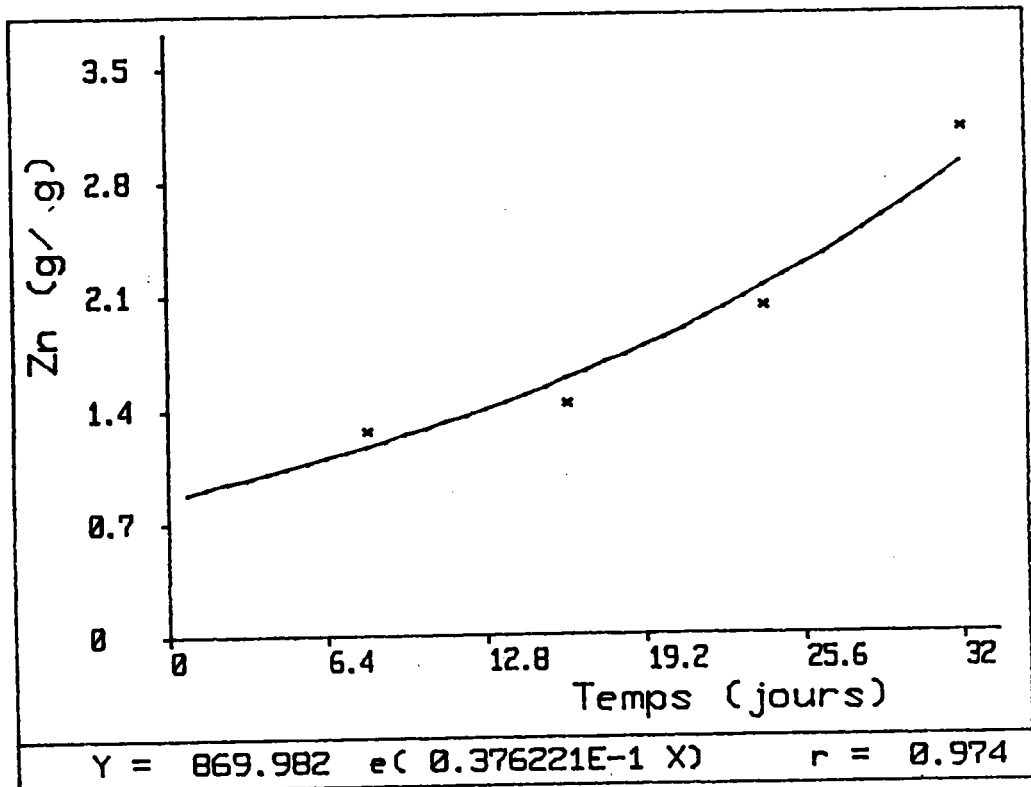


Fig. 44: Corrélation des teneurs en Zinc dans les moules en fonction du temps de contamination par 2ppm de Zinc à 15°C.

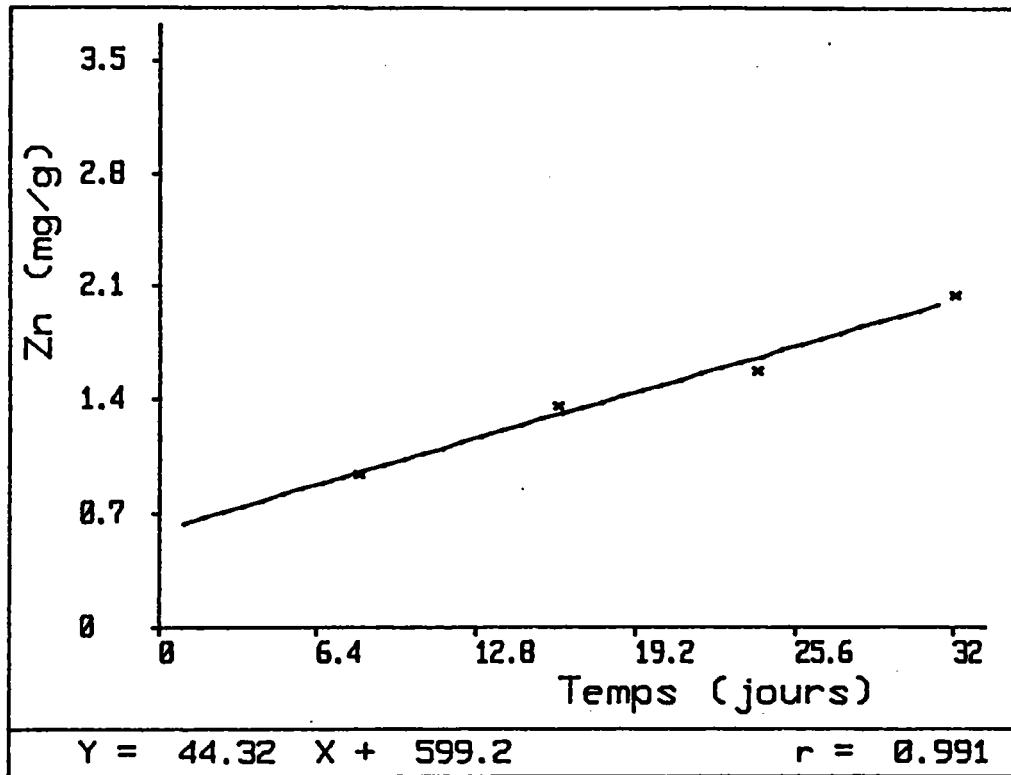


Fig. 45: Régression des teneurs en Zinc dans les moules en fonction du temps de contamination par 2ppm de Zinc à 12°C

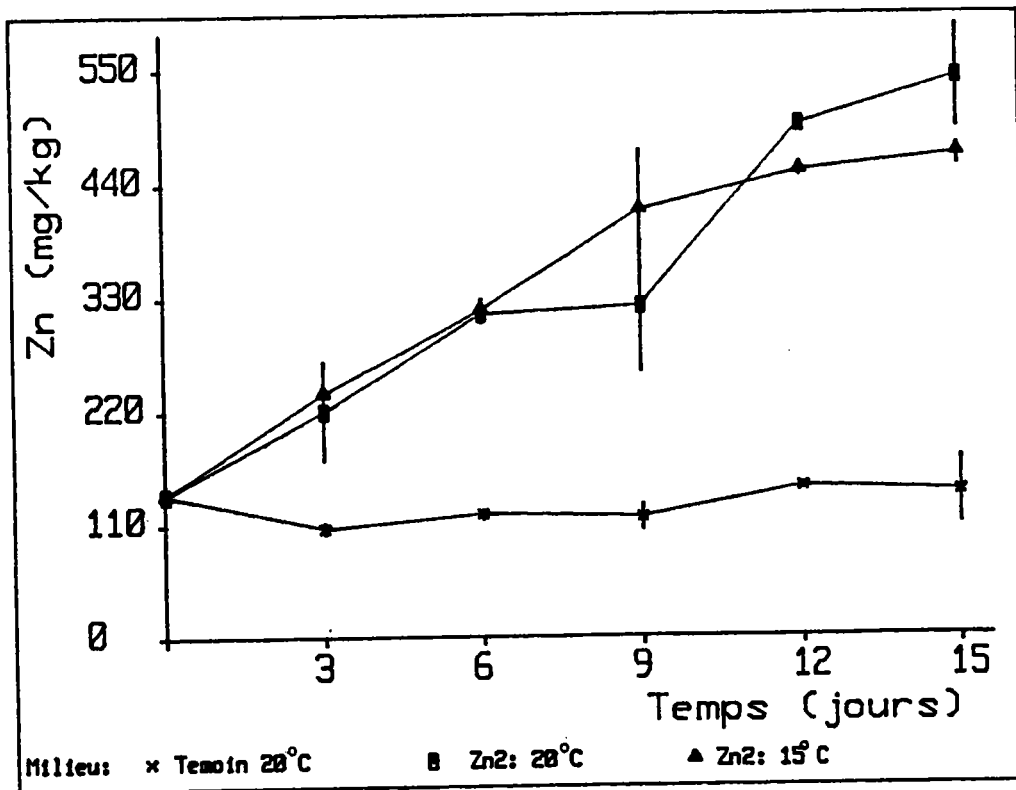


Fig. 46: Cinétique de contamination de la Dreissène par le Zinc à 20 et à 15°C.

III.1.3. Effets de la température (06/1987)

Pour déterminer l'effet de ce facteur physique sur la cinétique de contamination des moules par le Zn, nous avons été confrontés au problème du choix des températures à tester. La recherche de la température létale de 50% d'une population de dreissènes sur un cycle de 48 heures (TL50_{48h}) est donc indispensable.

III.1.3.1. Détermination de la TL50_{48h}:

La valeur de cette constante est de $32,076 \pm 0,006^{\circ}\text{C}$ (Tableau 31). La TL50_{24h} déterminée pendant la même saison de l'année précédente (juin/1986) et dans les mêmes conditions expérimentales est de $32,645 \pm 0,001^{\circ}\text{C}$ (TOURARI, 1988). Cette différence entre les deux constantes est due au temps d'exposition.

Dans les essais de contamination des moules avec le Zn, nous avons choisi des températures très basses par rapport à la TL50_{48h}, car l'effet létal de ce facteur abiotique peut être amplifié par une exposition prolongée de plusieurs semaines.

III.1.3.2. Effet de la température sur l'accumulation du Zn

Pour les trois températures (+12, +15 et +20°C), les teneurs en Zn dans la partie molle augmentent régulièrement avec le temps d'exposition, exponentiellement à +15 et à +20°C (Fig. 43-44), et linéairement à +12°C (fig. 45).

Entre le 24^{ème} jour et la fin de l'exposition (32j), ces teneurs augmentent de 1580 à 2050mg/kg à +12°C, de 2000 à 3100mg/kg à +15°C et baissent de 3400 à 3040mg/kg à +20°C. En général elles sont d'autant plus importantes que la température du milieu est élevée, sauf à +20°C qui montre une particularité avant le 16^{ème} jour avec des valeurs inférieures à celles obtenues à +12 et à +15°C. Une deuxième particularité réside dans le fait que chez les témoins de l'essai à +20°C, le taux de mortalité cumulée au 32^{ème} jours est très élevé: 40% (Tableau 32).

TL 50 (48 h)	Intervalle de confiance	Droite de régression
32,076°C	[32,070 ; 32,082]	$y = 21,41 \text{ Log}C + 31,806$

Tableau 33 Valeurs de TL5048h chez *Dreissena polymorpha*.

	Moules témoins			Moules contaminées		
Zn : ppm	0	0	0	2	2	2
T°C	12	15	20	12	15	20
MC %	3.0	3.5	40.0	7.5	9.0	43.0

Tableau 32 : Effet de la température (T°C) sur le taux de mortalité cumulée sur 32 jours chez des moules témoins et les moules contaminées à 2 ppm de Zn.

La variation des concentrations en Zn dans les moules en fonction des 3 variables: le temps d'exposition (X_1 : 0, 8, 16, 24 et 32 jours), la teneur en Zinc dans le milieu (X_2 : 0 et 2ppm) et les températures testées (X_3 : +12 et +20°C) donne l'équation de régression suivante:

$$Y = 780,1 + 516,5X_2 + 303,3X_1 + 262,7X_1X_2 + 80,6X_1X_3$$

cette équation montre une interaction positive significative entre le facteur "température" et le facteur "temps d'exposition", avec un facteur de contribution aussi important que celui du "temps".

L'évolution dans le temps de la contamination des parties molles est donc nettement favorisée par une augmentation de la température du milieu de +12 à +20°C. La différence des valeurs des facteurs de concentration (FC) vérifie bien cet effet en passant de +12 à +15°C (Tableau 33). Au 32ème jour, à +12°C, ce facteur est de $3414,5 \pm 1010,5$ et d'une valeur presque double à +15°C ($5866,0 \pm 1017,2$).

La comparaison des teneurs tissulaires en Zinc chez les moules contaminées à +15 et +20°C donne l'équation de régression suivante:

$$Y = 845 + 564,7X_2 + 331,2X_1 + 274,2X_1X_2 - 33X_2X_3(X_1^3 - 3,4X_1) - 28,8X_3$$

On remarque donc que dans cet équation l'interaction triple ($X_1X_2X_3$) se répète deux fois, l'une de signe positive et l'autre de signe négative. l'effet de la température sur la contamination (accélération ou ralentissement), dépend intimement du temps d'exposition (X_1). Avec une prolongation du temps, cet'effet se traduit donc par une accélération de la cinétique de contamination. Dans le dernier polynôme de cet équation, le facteur "température" (X_3) est de signe négatif, mais son facteur de contribution ($f_c = 16623,4$) est quatre fois inférieur à celui de l'interaction triple ($f_c = 62892,8$).

A +20°C la cinétique de contamination métallique des tissus évolue exponentiellement avec le temps d'exposition. La pente de cette cinétique est très faible pendant les 16 premiers jours avec des valeurs inférieures à celles obtenues à +12 et à +15°C. Au-delà de ce temps, les concentrations métalliques dans les tissus dépassent largement celles obtenues à +12 ou à +15°C.

Milieu Temps/jours	20°C		15°C		12°C	
	m	s	m	s	m	s
8	1235.5	185.1	2409.3	583.6	1569.8	233.3
16	1443.4	321.1	2723.0	631.1	2277.2	693.3
24	6424.7	673.4	3826.4	506.4	2638.2	1420.8
32	5740.9	1202.2	5866.0	1017.2	3419.5	1010.3

Tableau 33 : Effet de la température sur les facteurs de concentration (FC) du Zinc chez des moules contaminées en présence de 2 ppm de Zinc.

Temps/ Jours	Témoins				Zn : 1 mg/l				Zn : 2 mg/l			
	NN		N		NN		N		NN		N	
	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s
0	7.9	0.1	7.9	0.1	7.9	0.1	7.9	0.1	7.9	0.1	7.9	0.1
3	10.1	0.3	6.8	2.8	6.1	0.1	6.1	2.1	7.4	1.1	6.0	0.6
6	4.8	1.3	6.4	1.5	6.6	0.6	6.4	0.3	5.0	1.0	4.9	0.7
9	5.8	1.7	6.3	0.1	5.9	1.7	6.1	1.3	5.3	0.3	6.6	1.1
16	6.4	0.7	7.0	1.4	6.8	1.1	7.9	1.1	5.8	0.8	6.7	0.2
21	6.5	0.6	7.0	1.4	6.4	0.4	6.4	0.4	6.0	0.0	6.0	0.0

Tableau 34 : Pourcentage du poids sec (% PS/PF) de la partie molle chez les moules nourries (N) et non nourries (NN).

Dans un essai de contamination à +15 et à +20°C réalisé en automne de l'année suivante avec 1ppm de Zn pendant 15 jours, nous n'avons obtenu aucune différence significative quant à la cinétique d'accumulation du Zn (fig. 46).

III.1.4. Effet de la nourriture (02/1988)

Les moules sont nourries pendant environ 4 heures tous les 48 heures avec une solution algale de *Chlorella vulgaris* à 10^6 cell./ml. La nourriture est présentée en dehors des phases de contamination des moules. Le suivi de la cinétique d'accumulation du Zinc chez les individus nourris et non nourris, nous a permis d'évaluer simultanément les variations en poids dans les deux conditions.

III.1.4.1. Effet de la nourriture sur le poids

Les variations du poids de la partie molle sont évaluées par le pourcentage du poids sec par rapport au poids frais (% PS/PF). Dans des conditions trophiques optimales, ce rapport varie entre 9 et 10% chez les moules d'une classe de taille 18-22mm.

Chez les moules témoins on observe une diminution significative du poids, plus importante chez les moules non nourries et qui est de l'ordre de 2 à 3% après un séjour de 15 jours des moules dans leur milieu (Fig. 47). Par contre chez les moules contaminées le taux de diminution du poids est identique chez les nourries et les non nourries: 2 à 3% (Tableau 34). La contamination des moules par le Zinc agit également sur les variations de leur poids. Les données de l'évolution du poids ($Y = \% \text{ PS/PF}$) en fonction des 3 variables: le temps (X_1 : 0, 3, 6 et 9 jours), la teneur en Zinc dans le milieu (X_2 : 0, 1 et 2ppm) et la nourriture (X_3 : présente(+1) ou absente(-1)), a permis d'obtenir l'équation de régression la suivante:

$$Y = 6,65 - 0,36X_1 + 0,17(X_1^3 - 0,2X_1)(X_2^2 - 0,67) + 0,1X_1X_3 + 0,13X_1X_3(X_2^2 - 0,67).$$

Il existe une interaction positive significative entre les facteurs "nourriture" (X_3) et "temps" (X_1), ce qui explique l'action de la nourriture à réduire les pertes de poids des tissus. Dans

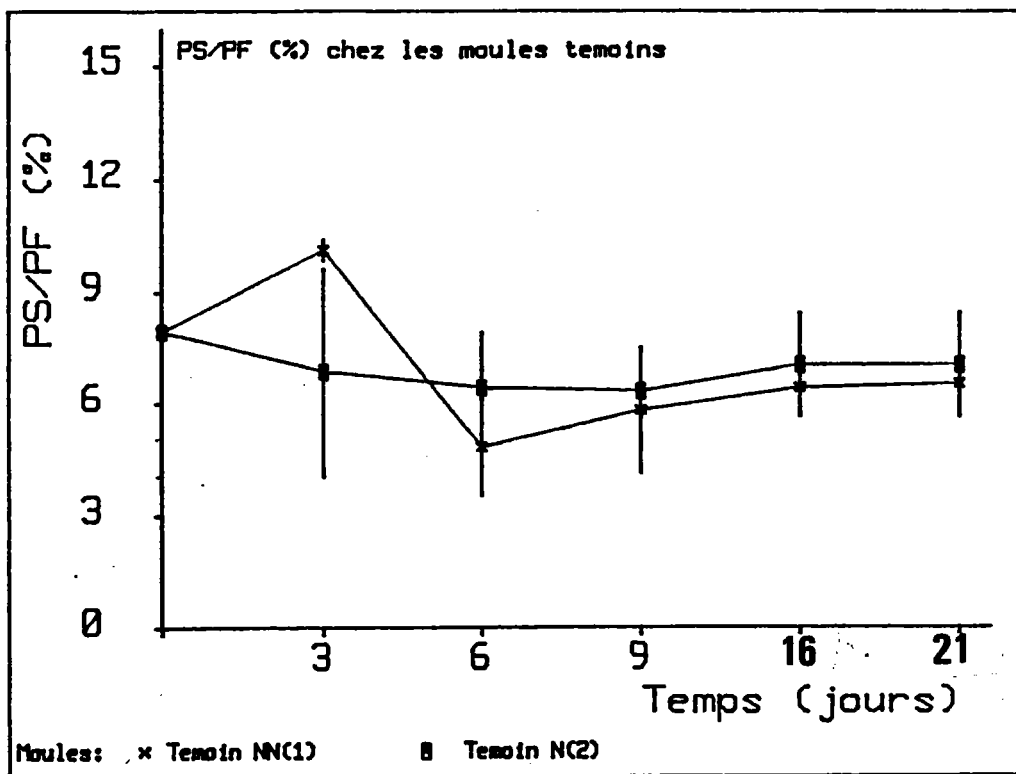


Fig. 47: Effet de la nourriture (N) sur l'évolution du pourcentage du poids sec (% PS/PF) de la partie molle chez les moules témoins.

N : Moules nourries

NN: Moules non nourries

d'autres polynomes de cette équation, l'interaction de ces deux facteurs (X_1X_2) est négative, mais leur facteur de contribution est beaucoup plus faible.

Le facteur "Zn du milieu" figure aussi parmi ceux dont l'effet sur la variation du poids sec est significatif.

Ces polynomes de l'équation de régression expliquent les différentes variations obtenues au niveau de la surface de réponse à une contamination par le Zn des moules nourries et non nourries (fig. 48-49).

III.1.4.2. Effet de la nourriture sur la cinétique d'accumulation du Zinc

Il s'agit de déterminer si l'effet d'éviter un jeûne prolongé en nourrissant les moules quelques heures avant chaque changement du milieu, modifie ou non la cinétique d'accumulation du Zn.

Les résultats analytiques du Zn schématisés par les figures 48 et 49 montrent que dès le 16^{ème} jour d'exposition une nette différence quantitative est mise en évidence entre les charges zinciques dans les moules non nourries et dans les moules nourries. Ces dernières en contiennent toujours moins, avec un écart plus important et plus régulier dans le temps chez celles contaminées par 1ppm de Zn. Les teneurs maximales sont de l'ordre de 1290mg/kg chez celles non nourries contre 980mg/kg chez les moules nourries; soit un écart de 300mg/kg.

La corrélation des résultats de la contamination métallique des moules avec les trois variables: le temps d'exposition (X_1 : 0, 3, 6 et 9 jours), les teneurs en Zinc utilisées (X_2 : 0, 1 et 2ppm) et la nourriture (X_3 : présente(+1) ou absente(-1)) permet d'élaborer l'équation de régression suivante:

$$Y = 515,4 + 249,7X_2 + 87,6X_1 + 69,2X_1X_2 - 13,1X_2X_3(X_1^2 - 8,2X_1) - 5,3X_3(X_1^3 - 8,2X_1).$$

Les polynomes de cette équation présentent une interaction triple entre les facteurs "nourriture"(X_3), le "temps d'exposition"(X_1) et "la teneur en Zn dans le milieu"(X_2). Le signe de ces interactions varie suivant les polynomes. L'effet de la nourriture sur l'évolution de la contamination directe des moules est

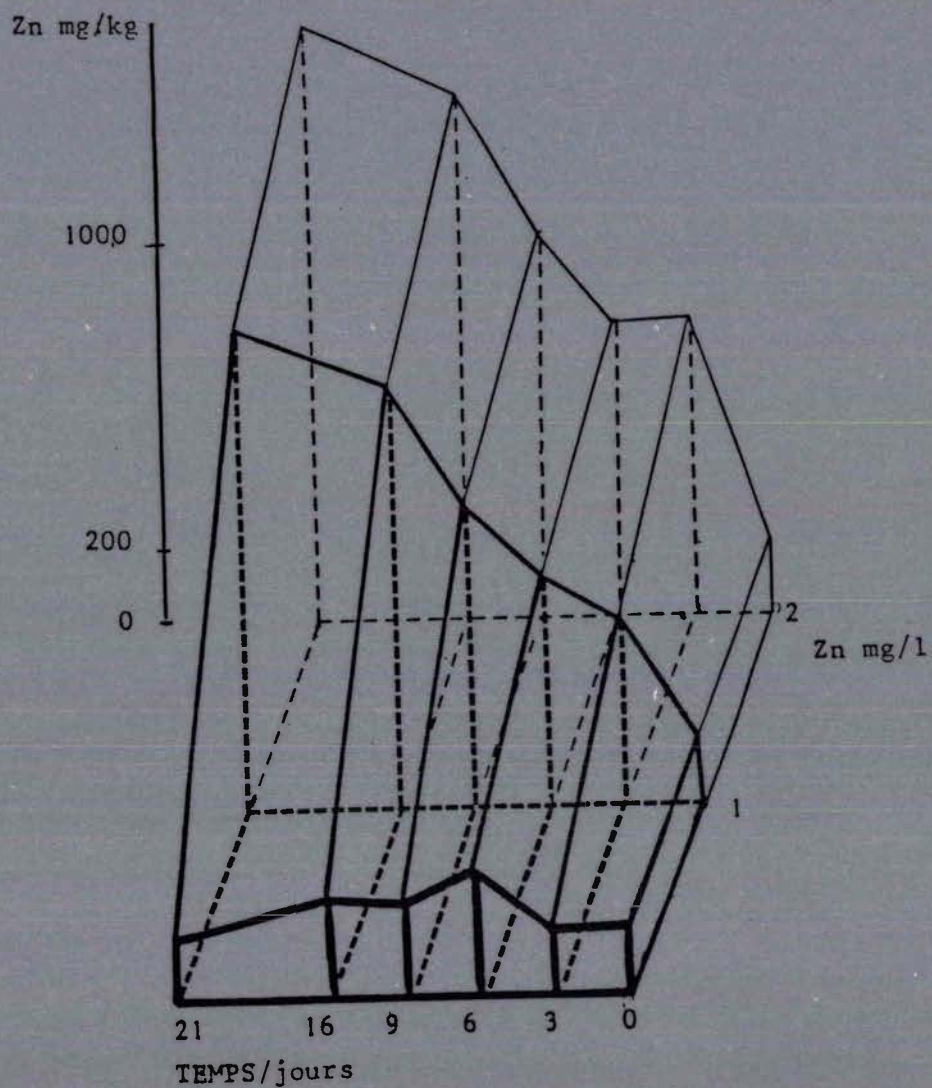


Fig. 48 : Evolution des teneurs en Zinc dans les moules non nourries, fonction du temps de contamination et des doses en Zinc dans milieu.

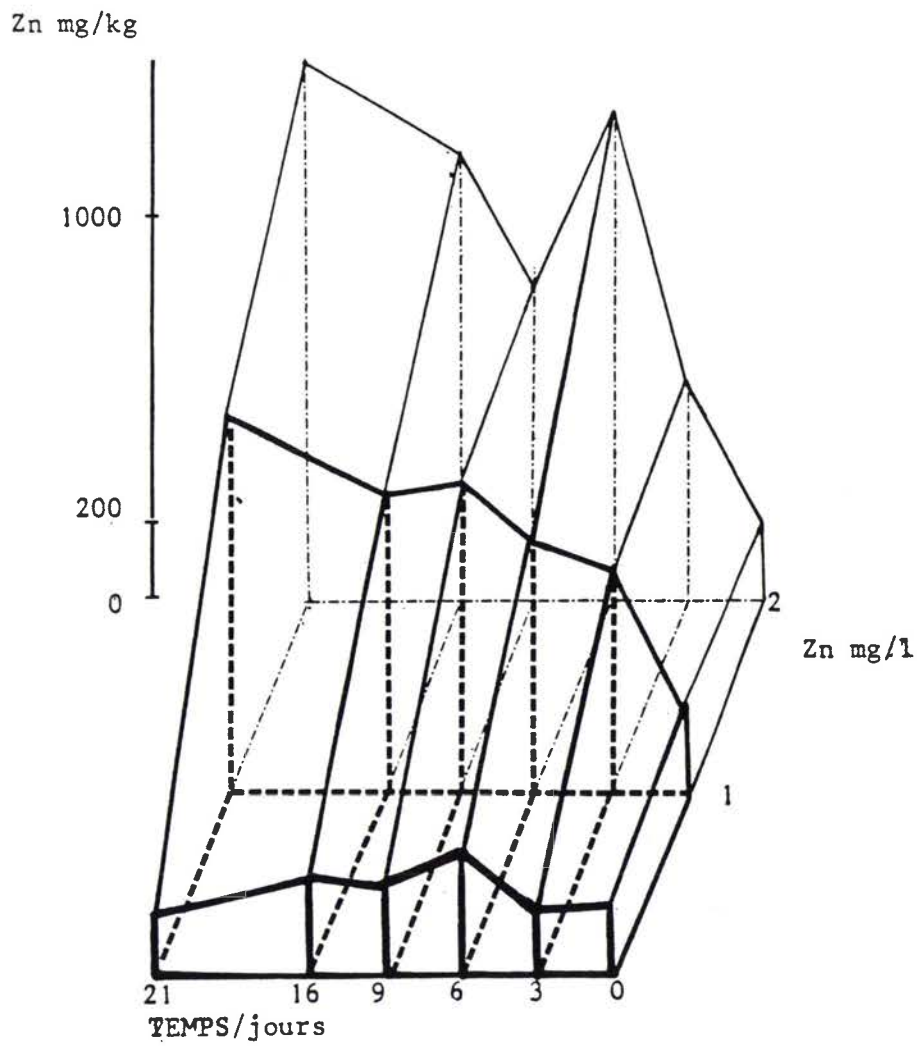


Fig. 49: Evolution des teneurs en Zinc dans les moules nourries en fonction du temps de contamination et des concentrations en Zinc dans le milieu.

donc intimement liée au temps et aux concentrations métalliques dans le milieu.

Chez les témoins, on observe toujours une faible augmentation continue du Zn tissulaire.

III.1.5. Effet du Plomb (11/1987)

Dans les milieux naturels les organismes sont en présence de plusieurs métaux lourds et les accumulent. Les interactions intermétalliques posent souvent des problèmes d'interprétation. C'est le cas par exemple de l'accumulation du Zn par *Mytilus edulis*, en présence du Fe (LOBEL, 1981).

Pour chercher l'incidence de la présence d'autres métaux lourds sur l'accumulation du Zn, nous avons retenu le Pb dont les mécanismes de fixation par la moule font l'objet d'une thèse en cours (BENYAHIA, sous presse).

Pour mettre en évidence les interactions intermétalliques éventuelles entre le Zn et le Pb nous avons suivi le plan expérimental résumé au tableau 35.

Pour limiter les problèmes de précipitation nous avons procédé à un changement du milieu toutes les 24 heures avec une augmentation de la taille des échantillons à 5 moules, pour pouvoir doser simultanément le Zn et le Pb.

Pendant les 15 jours d'exposition, la réponse de la dreissène à une contamination par le Zn est modifiée en présence du Pb.

Avec 0,325ppm de Zn, la figure 50 fait apparaître deux phases distinctes dans la cinétique d'accumulation du Zn par la moule:

a- Pendant les 9 premiers jours, cette cinétique est identique en absence ou en en présence du Pb.

b- Entre le 9^{ème} et le 15^{ème} (fin de l'essai) elle est plus ralentie en présence du Pb.

Par contre avec 1ppm de Zn la figure 51 montre une cinétique très variable qui évolue en dents de scie et ne permet pas de dégager aucun effet précis du Pb (Fig. 50 a et b).

Les résultats obtenus à partir de ce plan expérimental à trois variables: le temps (X_1 : 0, 3, 6, 9, 12 et 15 jours) , les teneurs en Zn (X_2 : 0 et 0.33ppm) et les teneurs en Pb dans le milieu (X_3 : 0,

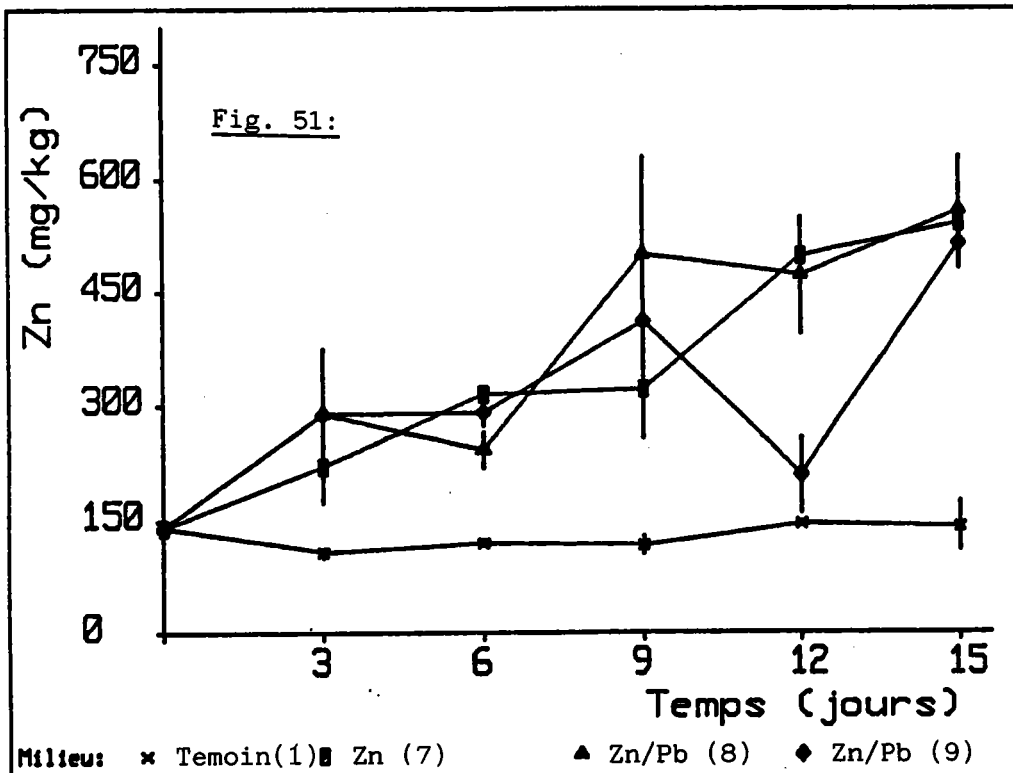
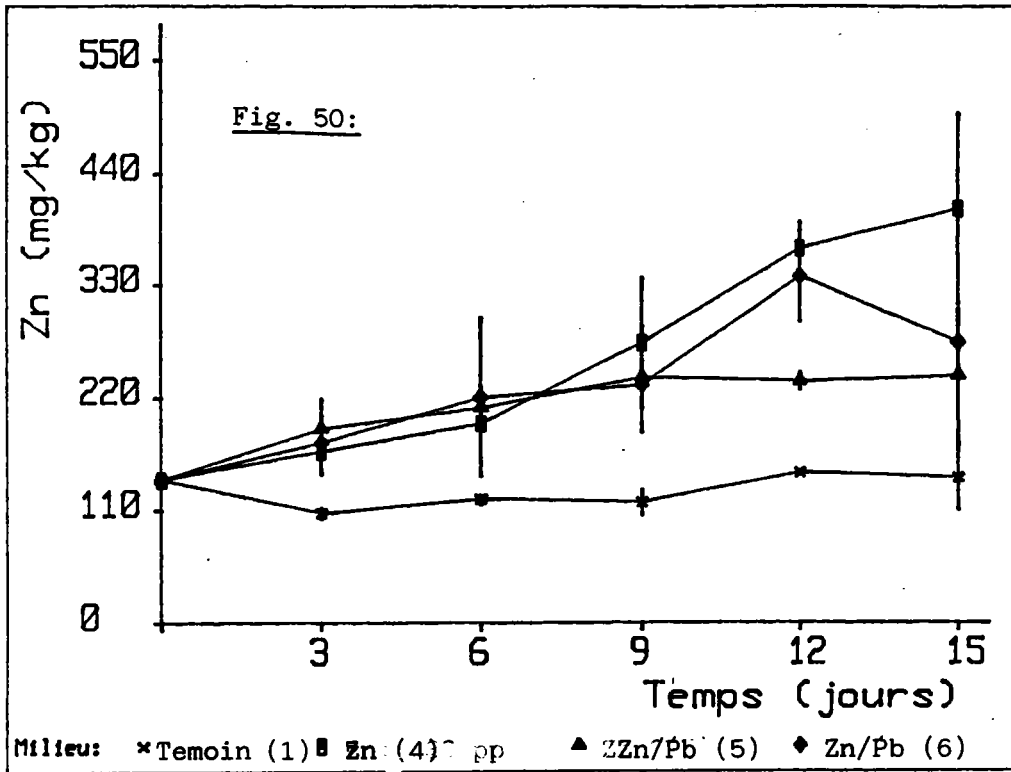


Fig. 50-51: Effet de la présence du Plomb dans le milieu sur la cinétique de contamination des moules par le Zinc.

Legende: Temoin(1) : 0ppm Zn + 0ppm Pb
 (Tableau 35) Zn (4) : 0,325ppm Zn + 0ppm Pb
 Zn (7) : 1,000ppm Zn + 0ppm Pb
 Zn/Pb (5) : 0,325ppm Zn + 0,5ppm Pb
 Zn/Pb (6) : 0,325ppm Zn + 1,0ppm Pb
 Zn/Pb (8) : 1,000ppm Zn + 0,5ppm Pb
 Zn/Pb (9) : 1,000ppm Zn + 1,0ppm Pb

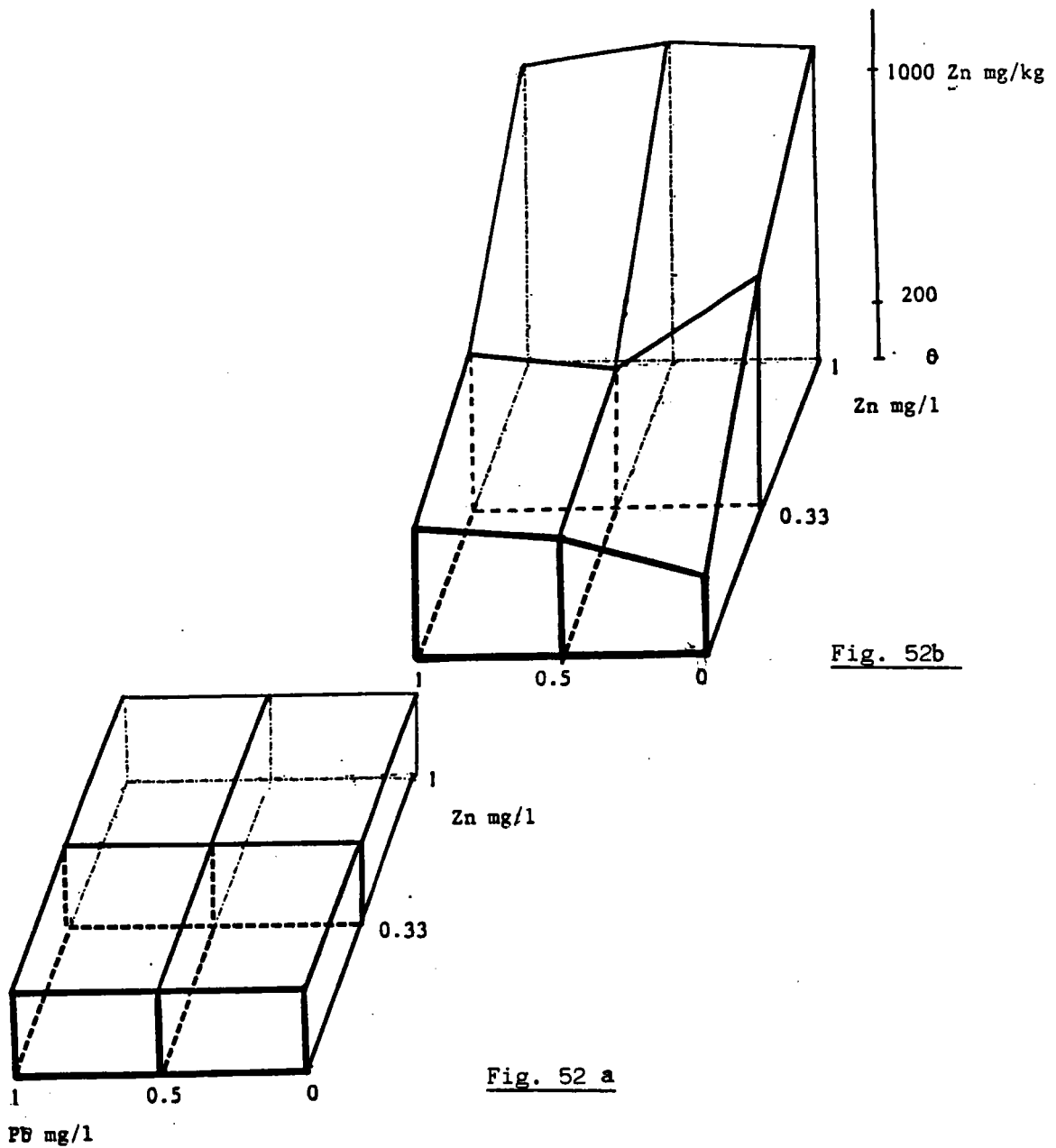


Fig. 52a-52b: Teneurs initiales (52a) et finales (52b)(15^{ème} jour) en Zinc chez la Dreissène en fonction des concentrations en Zinc et en Plomb dans le milieu.

0.5 et 1ppm) ont permis de calculer l'équation de régression suivante:

$$Y = 184 + 47.2X_2 + 11.5X_1 + 6.8X_1X_2 - 4.3X_1X_2X_3 - 1.2X_2(X_1^2 - 11.7) + 7.1X_1X_2(X_3^2 - 0.7) + 5.9X_1(X_3^2 - 0.7) - X_2X_3$$

Cet équation montre une interaction triple ($X_1X_2X_3$) entre le facteur "Pb du milieu" (X_3), le temps d'exposition (X_1) et les teneurs en Zn dans le milieu (X_2), mais leur signe dans l'équation de régression change suivant les termes. Il y a donc une grande dépendance de ces trois facteurs quant à leur effet sur la prise du Zn du milieu par la moule.

Dans un deuxième essai de contamination par 2ppm de Zn réalisé au printemps, la bioaccumulation tissulaire du Zn ne montre pas de différences significatives en présence ou en absence de 2ppm de Pb, même en prolongeant le temps d'exposition à 32 jours.

Ce deuxième essai étant réalisé au printemps, sa comparaison quantitative ou qualitative avec le premier essai réalisé en automne, quant à l'effet du Pb, n'est pas possible.

III.1.6. Discussion:

La résolution de tous les plans factoriels que nous avons traités dans l'étude de l'effet des facteurs externes sur la cinétique de bioaccumulation du Zn et de sa variation saisonnière prouve toujours l'effet significatif avec interaction positive de la concentration en Zn dans le milieu, du temps d'exposition.

La présence de l'EDTA dans le milieu induit une importante réduction de la toxicité du Zn en diminuant sa biodisponibilité et par conséquent sa bioaccumulation. Le processus qui lie ces deux phénomènes, à savoir la spéciation chimique du Zn dans le milieu et sa bioaccumulation par l'organisme, est l'environnement membranaire. Selon Williams (1981), le transport à travers la barrière membranaire est lié à une identification du métal par les transporteurs protéiques. Plus un élément chimique est liposoluble plus son assimilation par l'organisme est importante.

Pour les métaux du groupe B (Zn, Cu, Cd et Hg) cette liposolubilité dépend de plusieurs propriétés physico-chimiques du milieu: pH, degré de salinité, forme du complexe (BOUDOU, 1982).

Ainsi l'EDTA empêche toute précipitation ou adsorption du Zn: sa spéciation chimique sous la forme de complexe Zn-EDTA n'est plus identifiable et donc non bioaccumulable par l'organisme.

C'est le cas aussi chez d'autres mollusques (NELSON et DENKIN, 1985; HOLWERDA et al., 1988), du Zn^{65} chez *Anguilla anguilla* (FOULQUIER et LAMBRECHTS, 1980) et du Cu chez l'artémie (BLUST et al., 1986).

Ces résultats montrent que la présence de complexants organiques ou/et minéraux dans le milieu naturel fait diminuer la biodisponibilité du Zn pour la moule. Ainsi sa concentration peut dépasser largement la CL50_{28J} (10,881ppm) sans provoquer pour autant de perturbations physiologiques ou métaboliques ou d'augmentations significatives de la mortalité au sein des populations de dreissènes. Mais dans ces conditions, la proportionnalité entre les charges zinciques dans les moules et celles dans le milieu n'est plus vérifiable.

Cet effet de l'EDTA à diminuer la capacité d'assimilation du Zinc par la moule pourrait avoir pour origine l'effet direct de ce complexant à priver l'organisme d'un certain nombre d'oligoéléments indispensables pour l'activité des pompes à Zinc.

En effet nous avons mis en évidence la mobilisation tissulaire du Zn, du Fe et du Ca, et fort probablement d'autres oligoéléments non analysés, chez les témoins exposés à 355uM d'EDTA. Au bout de 36 jours, ces pertes ioniques par les tissus sont de l'ordre de 50% pour le Zn et le Ca, et de 80% pour le Fe.

Chez les bivalves, ces oligoéléments sont aussi indispensables au fonctionnement normal de plusieurs apoenzymes dans le métabolisme. C'est le cas par exemple du Zinc (coenzyme) pour l'anhydrase carbonique et la phosphatase alcaline (WOLFE, 1970; COOMBS, 1972), et du Fer pour l'hémocyanine; pigment respiratoire (MANGUM et al., 1987). Chez la Dreissène, L'hémocyanine pourrait jouer un rôle dans le métabolisme respiratoire, mais ceci n'est pas encore démontré.

Il est fort possible que chez la Dreissène, le mécanisme du transport du Zn est principalement de nature actif et implique un transporteur protéique à grande affinité avec le Zinc et sensible à un changement de la nature chimique du métal par complexation.

Il faut noter aussi qu'à forte teneurs (355uM), l'EDTA exerce une certaine toxicité chez les témoins en augmentant le taux de mortalité qui approche (20%) celui des contaminés avec 2 ou à 4ppm de Zn seul.

Chez les moules témoins exposées à 355uM d'EDTA, les fuites ioniques expliquent en partie, d'une part l'augmentation de mortalité, et d'autre part l'importance des pertes du poids tissulaire. Cette toxicité de l'EDTA doit inciter à éviter l'utilisation de cette molécule organique comme complexant dans toute expérimentation sur organisme vivants.

Chez *Crassostrea virginica*, CHENG (1988a) a plutôt observé un effet stimulateur de la synthèse d'hémocyanine par 15,8uM d'EDTA. Dans le cas où cette stimulation existe aussi chez les Dreissènes au contact de l'EDTA, les molécules d'hémocyanine néosynthétisées seraient non fonctionnelles en raison de la privation de l'organisme de ces oligoéléments. De plus il a été déjà démontré que l'EDTA n'entraîne aucune modification de l'activité respiratoire chez la Dreissène (MOUABAD, 1986)

Les deux observations que nous avons pu faire chez la Dreissène quant à l'effet de l'EDTA à savoir:

- *- une mobilisation tissulaire du Zn, Fe et Ca.
- *- une augmentation de la mortalité chez les

témoins.

laissent suggérer un mécanisme selon lequel l'EDTA est capable de traverser la membrane cellulaire pour agir, en privant l'organisme d'un certain nombre d'oligoéléments. Ainsi le schéma explicatif proposé par GUTIERREZ-GALINDO (1980a) doit être complété par cette troisième voie d'assimilation de l'EDTA seul.

En effet les travaux de MASON et al., (1988) sur le polychète *Neanthes arenaeodentata* montrent la possibilité chez cette espèce d'accumuler simultanément l'EDTA marqué au carbone 14, du Zn⁶⁵ et du Cd¹⁰⁹.

L'assimilation du Zn dépend aussi de la température ambiante du milieu. Une augmentation de celle-ci de 12 à 15°C, pendant une intoxication avec 2ppm de Zinc au printemps, amplifie la prise du métal. A 20°C, la cinétique de contamination est exponentielle et se caractérise par une forte pente après le 16^{ème} jour d'exposition. L'effet de la température semble être dépendant de la saison; en automne, un essai de contamination à 2ppm de Zn n'a montré aucune différence significative de la cinétique d'accumulation de ce métal à +15 et à +20°C. Il conviendrait donc de reproduire l'expérience au printemps et en automne, afin de

valider ou non cette variation saisonnière de l'effet de la température sur la contamination métallique de la Dreissène.

Plusieurs auteurs ont mis en évidence l'influence de la température du milieu sur la rétention métallique par les organismes aquatiques.

Chez le polychète marin *Nereis diversicolor* l'accumulation du Cd à +13 ou à +21°C, est beaucoup plus importante qu'à +4°C (NEJMEDINE, 1987; MASON et al., 1988).

Chez *Daphnia magna* la significativité de l'effet de la température sur la contamination par le Mercure dépend de sa spéciation chimique (BOUDOU, 1982).

L'augmentation avec la température de l'assimilation du Zinc ne met pas en cause la biodisponibilité de ce métal car dans le suivi des concentrations en Zn dans un milieu sans moule, nous avons montré qu'il y a toujours plus de Zn dissous et total à +12°C qu'à +20°C. Chez les moules d'eau douce la température doit donc intervenir au niveau cellulaire soit en activant le métabolisme cytoplasmique, soit en modifiant la composition biochimique membranaire (BORYSLAWSKYJ et al., 1988).

Suivant le modèle de transport actif du Zn, l'effet de la température s'explique par l'activation des transporteurs protéiques ou/et de leur synthèse intracellulaire.

Les travaux de BATES et al. (1983) sur l'accumulation du Zn par les organismes unicellulaires corroborent ce mode d'action de la température. Selon ces auteurs, le flux métallique à travers les membranes cellulaires baisse énormément au fur et à mesure que les cultures vieillissent et que le nombre de sites par unité de surface cellulaire diminue également.

Le Plomb a montré son influence significative sur l'accumulation du Zinc. La nature de cet effet dépend des concentrations en Zinc dans le milieu, et du temps d'exposition, mais c'est après le 9^{ème} jour de contact avec 0,325ppm de Zn que nous avons observé un ralentissement de la cinétique d'accumulation du Zinc en présence du Plomb dans le milieu.

Cette action du Plomb peut être l'effet d'une compétition entre les ions Zn^{++}/Pb^{++} pour des sites spécifiques à la surface cellulaire, comme c'est le cas pour les ions Zn^{++}/Cd^{++} et Zn^{++}/Cu^{++} chez la moule d'eau douce *Elliptia complanata* (HINCH et

STEPHENSEN, 1987), de même que les ions Zn^{++}/H^{+} chez les organismes unicellulaires (HARRISON et al., 1986).

Un modèle de transport transmembranaire actif du Zn par des ligands protéiques spécifiques à la nature chimique du Zn (libre ou complexé) et sensibles à la température du milieu et aux compétitions intermétalliques (Zn/Pb) semble être le plus conforme à nos résultats.

Ce modèle a été proposé chez les bivalves par plusieurs auteurs (WILLIAMS, 1981; SIMKISS et al., 1982; GEORGE et al., 1985; BRYAN et al., 1986). Mais parallèlement, d'autres voies de

transport peuvent coexister simultanément. L'importance de chacune d'elles par rapport aux autres, dépend des conditions physico-chimiques et trophiques du milieu qui contrôlent à la fois la spéciation chimique des métaux lourds et l'état d'activité métabolique des organismes.

Ainsi Mason et al., (1988) ont proposé un modèle de transport métallique selon lequel l'accumulation du Zn et du Cd par le polychète *Nereis diversicolor* pendant les premières heures d'exposition, est un processus passif et continu même en présence des inhibiteurs métaboliques, mais le transport actif est mis en jeu si on prolonge la durée d'exposition.

Ce travail présente aussi la cinétique significativement différente de l'accumulation du Zn par les moules nourries et non nourries. Ces dernières accumulent 200 à 300mg/kg de plus, et cet effet de la nourriture est dû essentiellement à son influence directe sur le poids et éventuellement à son effet sur l'activité de filtration.

La réduction des pertes corporelles en poids par la présence de la nourriture limite la surestimation des charges zinciques dans les moules. Une faible diminution du pourcentage en poids sec est cependant observée même chez les individus témoins nourris du fait que les conditions trophiques que nous avons utilisées ne sont pas optimales. *In situ* la Dreissène présente des exigences trophiques qui varient selon les saisons (STANCZYKOWSKA, 1977) et qui sont responsables des variations saisonnières du poids corporel (WALZ, 1979). Chez les bivalves, ces dernières variations sont généralement synchronisées avec le cycle gamétogénétique et principalement la vitellogénèse (GABBOTT, 1983).

Par contre chez les individus intoxiqués, le taux de diminution du poids est identique chez les moules nourries et non nourries en raison de l'effet "interaction" entre celui du jeûne et de la contamination avec le Zinc. En effet la contamination expérimentale avec le Zinc provoque la réduction du taux de filtration chez la Dreissène (EBERSVAILLER, 1988), ce qui permet aussi d'expliquer le faible niveau de contamination observé chez les moules nourries par rapport aux moules non nourries.

En outre, dans la cavité palléale et dans la lumière du tube digestif, le Zinc dissous dans les masses d'eau inhalées s'adsorbe entre autres, sur les particules alimentaires, sur le mucus et sur le pseudofèces. Cette adsorption limite le contact du métal avec l'organisme. L'excrétion de ces supports d'adsorption (mucus et pseudofèces) permet de réduire la contamination métallique des tissus.

III.1.7. Répartition du Zinc dans la partie molle

La détermination des organes d'accumulation du Zinc constitue une donnée intéressante, en particulier dans le cas des espèces très proches de celles qui entrent dans l'alimentation humaine.

Nous avons utilisé deux procédures: l'une analytique et l'autre histochimique.

III.1.7.1. Quantification du Zinc tissulaire:

Dans un essai de contamination avec 2ppm de Zn pratiqué en automne, nous avons suivi l'évolution du métal d'une part dans les trois organes les plus exposés au milieu: les branchies, le manteau, le byssus, et d'autre part dans "le reste" de la masse viscérale. La taille de l'animal ne permet pas une approche plus détaillée.

Le faible poids et la taille de ces prélèvements, nous a fait augmenter le nombre d'individus de chaque échantillon à 10 moules de la classe de taille 22-30 mm.

Tissus	PMT		Manteau		Branchies		Byssus		Reste	
Temps/ Jours	T	+ Zn 2ppm	T	+ Zn 2ppm	T	+ Zn 2ppm	T	+ Zn 2ppm	T	+ Zn 2ppm
0	140,9	140,9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
9	116,2	320,9	104,7	274,7	67,9	244,3	480,1	4804	154,6	181,4
15	261,4	541,1	152,8	648,3	171,3	587,0	806,3	5577	61,7	287,4

Tableau 36 : Répartition du Zinc dans la partie molle des Dreissènes contaminées par 2 ppm de Zinc et chez les témoins (T) en fonction du temps.

Tissus	PMT		Manteau		Branchies		Byssus		Reste	
Temps/ Jours	FC	IC %	FC	IC %	FC	IC %	FC	IC %	FC	IC %
9	605,5	15,3	518,3	24,8	460,9	33,9	9065,7	94,4	342,3	11,1
15	1020,9	11,5	1223,2	40,0	1107,5	32,3	10523,5	65,3	542,3	43,9

Tableau 37 : Facteurs de concentration (FC) et indices de concentration (IC %) du Zinc chez la Dreissène.

En parallèle à l'augmentation globale du Zinc dans les parties molles, nous avons observé une forte accumulation dans les tissus analysés (Tableau 36).

En fin d'expérimentation (15 jours), le byssus présente le plus fort facteur de concentration: 10523, soit 10 fois celui des branchies (Tableau 37). Il s'agirait plutôt d'une adsorption du métal sur les filaments du byssus, très exposés au Zinc du milieu ainsi qu'aux contaminations lors de la dissection des animaux, laquelle expliquerait aussi les fortes teneurs détectées dans le byssus des animaux témoins.

Après 15 jours d'exposition le manteau a accumulé légèrement plus que les branchies avec une teneur de 540mg/kg, alors que c'est la partie "reste" qui accumule le moins (287mg/kg).

Les facteurs de concentration (FC) ont permis de faire une classification des tissus suivant l'ordre décroissant de leur capacité de bioaccumulation du Zn: Byssus>> Manteau> Branchies> Partie molle totale> Reste.

Le rapport entre les FC permet d'apprécier l'importance de la différence de capacité d'accumulation métallique entre les organes. Les FC du manteau et des branchies sont respectivement 1,2 et 1,09 fois supérieurs à celui de la partie molle totale. Par contre le FC de la partie "Reste" est deux fois inférieur à celui de la partie molle totale.

III.1.7.2. Détection histochimique:

Les limites de la dissection imposées par la taille de l'animal, font qu'une analyse plus détaillée des voies de transport, de stockage ou d'excrétion du Zinc nécessite l'utilisation de techniques histochimiques.

La localisation histochimique du Zinc dans l'organisme a pu être faite dans trois types de tissus:

a- Les tissus en contact direct avec le milieu extérieur (planche I-II-III-IV):

C'est principalement dans l'épithélium des palpes labiaux, des branchies, du manteau et de la bosse de polichinelle qu'on observe le maximum de coloration rouge par la dithizone qui caractérise le Zinc diffus dans les cytoplasmes. A ce niveau la

PLANCHE I à VIII : Localisation histologique du Zinc chez les moules contaminées pendant 10 jours en présence de 200µ de Zinc dans le milieu.

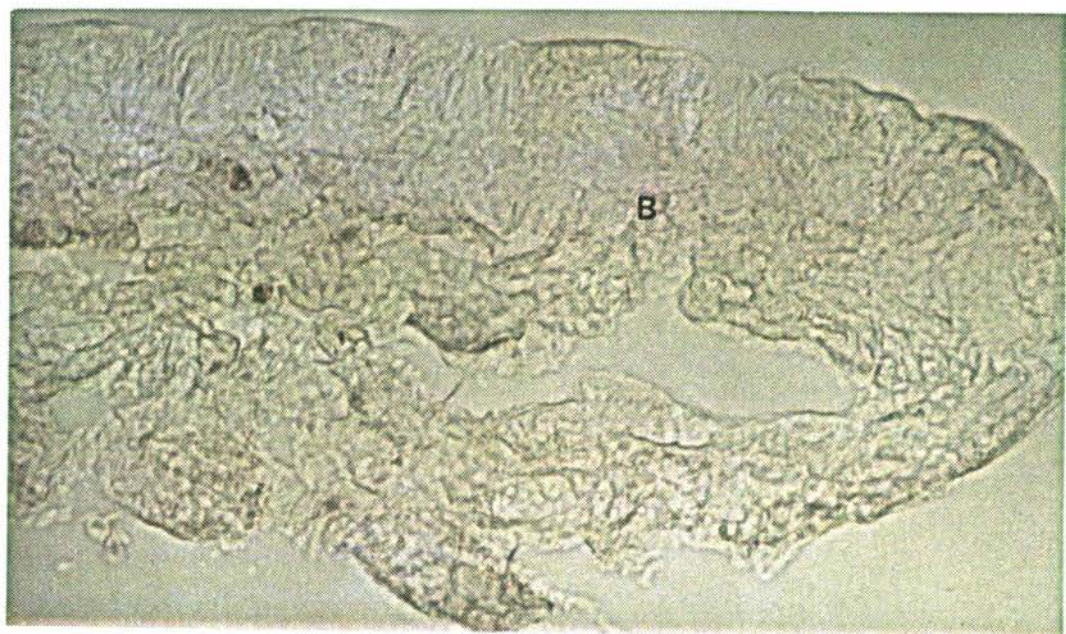
Coloration en rouge du Zinc par la méthode de MAGER à l'aide de la Dithizone.

PLANCHE I

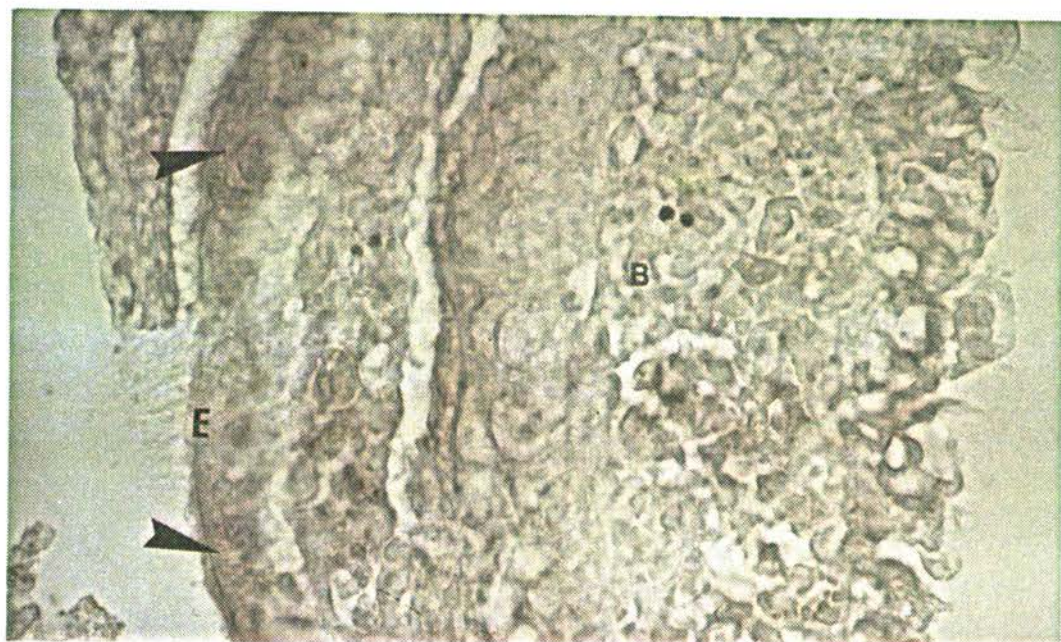
Fig. 1 : Branchies (B) d'une moule témoin:

On note l'absence de coloration rose (G x 100).

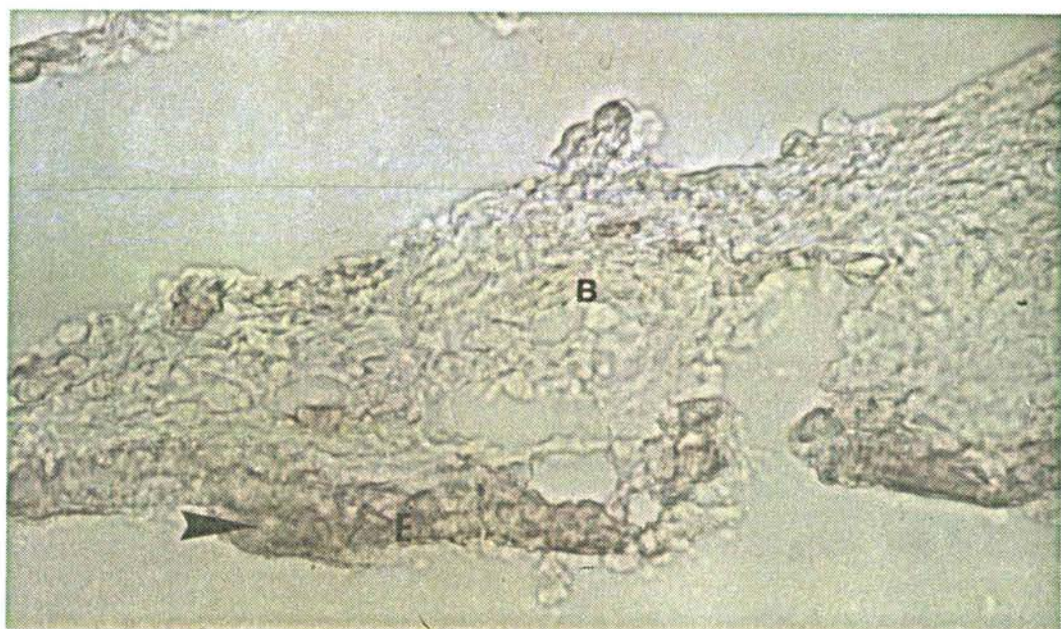
Fig. 2 et 3 : Branchies d'une moule contaminée. Les flèches indiquent la coloration du Zinc diffus dans l'épithélium branchial (G x 400)(E).



1



2



3

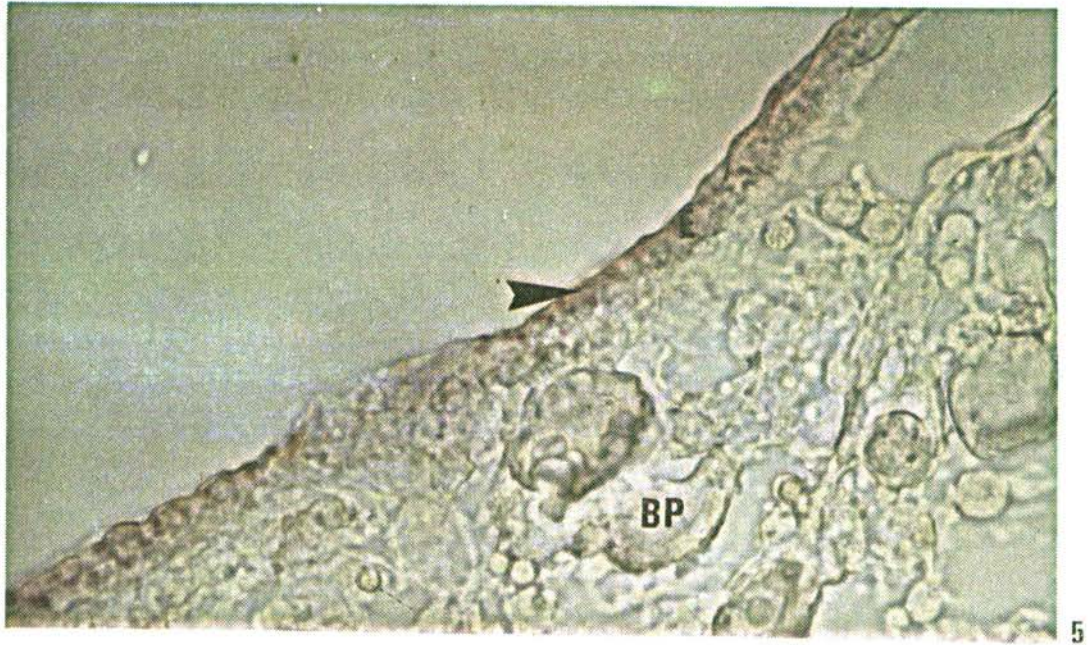
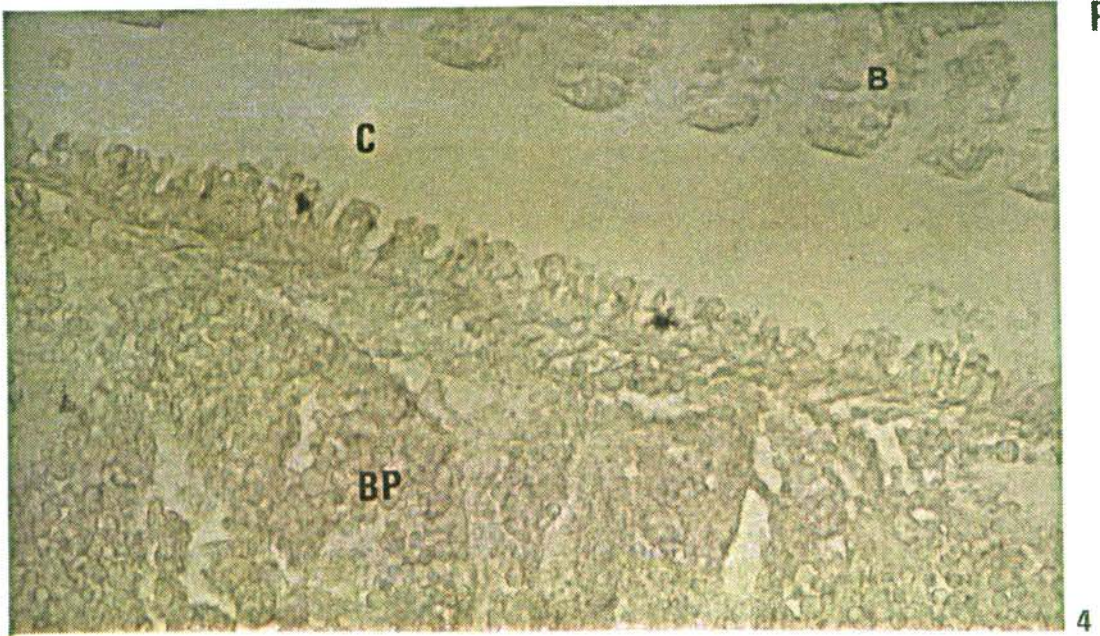


PLANCHE II

Fig. 4 : Coupe des branchies (B), de la cavité branchiale (C) et de la bosse de polichinelle (BP) d'une moule témoin (G x 250)

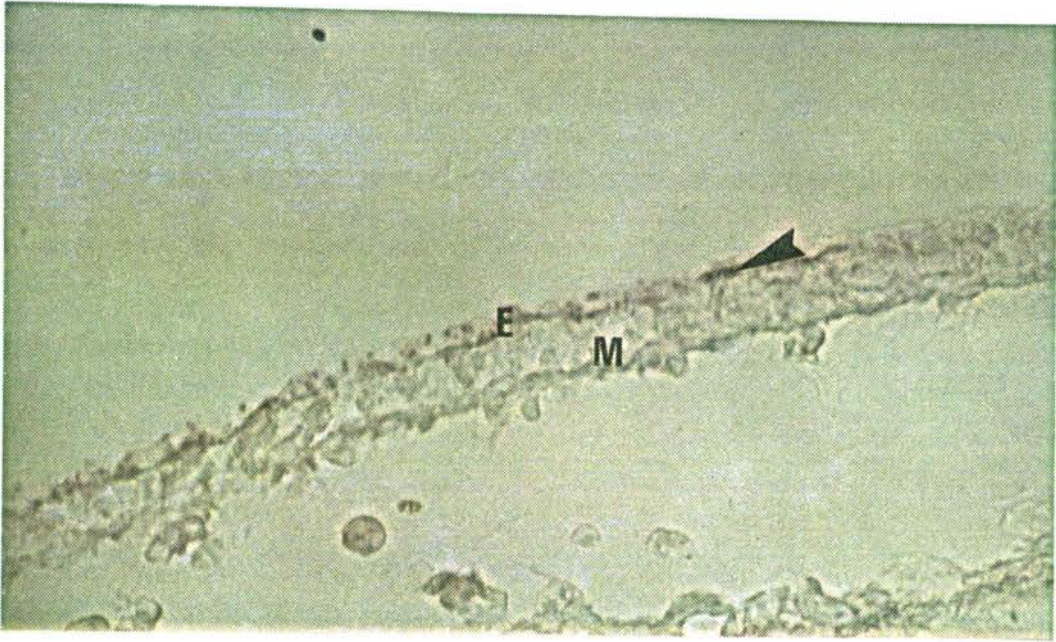
Fig. 5 : Bosse de polichinelle d'une moule contaminée. Coloration rose du Zinc (flèche) diffus dans l'épithélium (E) (G x 400).

PLANCHE III

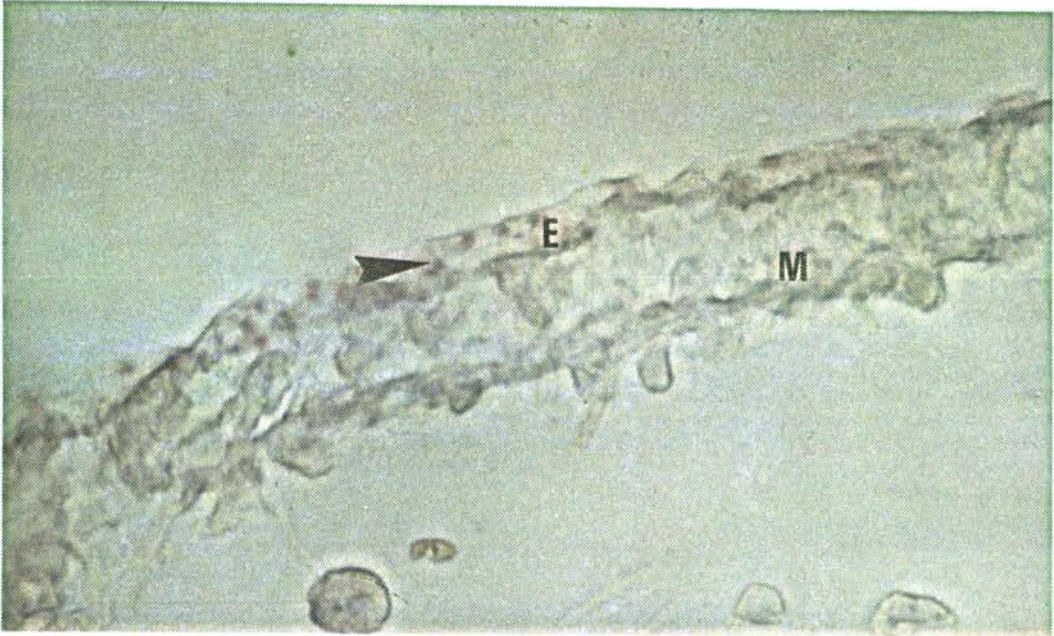
Fig. 6 : Manteau (M) d'une moule contaminée. Petits granules de Zinc dans l'épithélium (E) (G x 250).

Fig. 7 : Manteau (M) d'une moule contaminée. Détail des granules roses dans l'épithélium (flèche) (G x 400).

Fig. 8 : Palpe labial (PL). Coloration rose du Zinc diffus dans l'épithélium (E) (flèche) (G x 400).

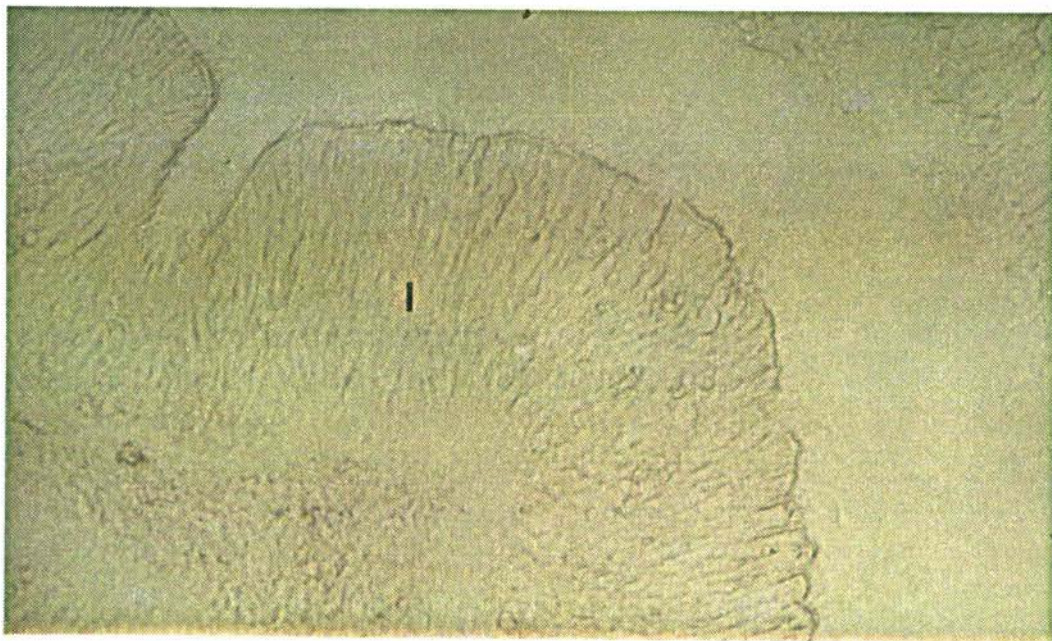


6

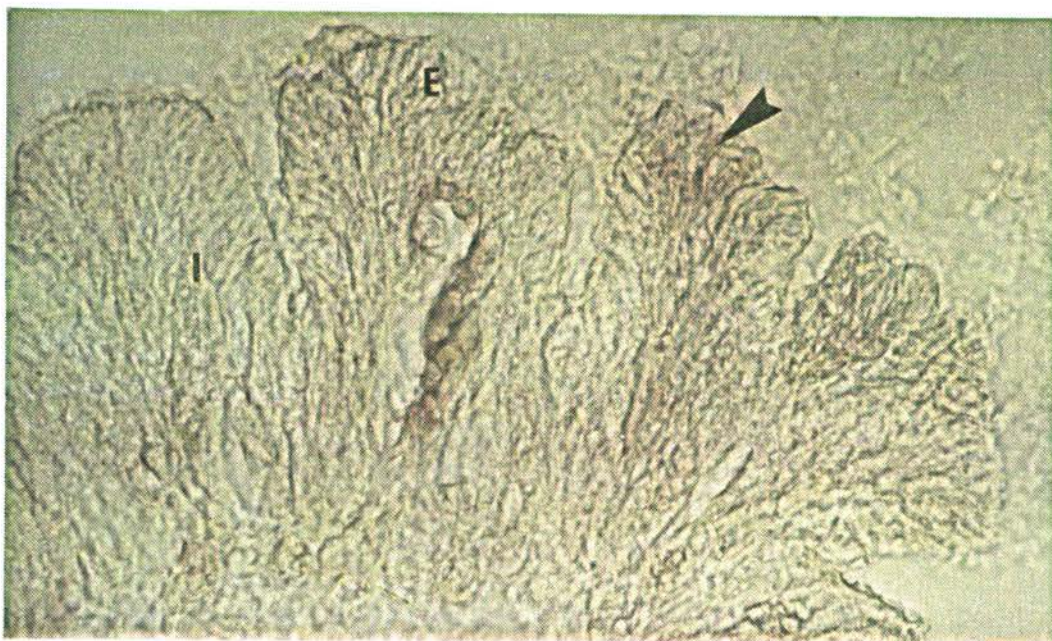


7





9



10

PLANCHE IV

Fig. 9 : Intestin (I) d'un individu témoin (G x 250).

Fig. 10 : Coloration rose du Zinc diffus (flèche) dans l'épithélium (E) de l'intestin (I).

prise directe du Zinc du milieu est très importante et révèle plutôt une voie de transit.

b- les cellules circulantes (planche V):

Il s'agit des granulocytes bien visibles dans les branchies, l'épithélium basal du tube digestif et l'hépatopancréas. Ces cellules se chargent de Zinc qu'elles transportent depuis les tissus en contact avec le milieu externe vers les reins et probablement vers les gonades et l'hépatopancréas.

Nous avons observé également une cellule chargée en Zinc dans la lumière du tube rénal.

c- Les tissus qui ne sont pas en contact direct avec le milieu extérieur (planche VI):

*- L'hépatopancréas: cette structure située autour de l'intestin moyen est rarement citée comme voie d'entrée ou de stockage des métaux lourds. La figure 14 (pl VI) montre une coloration rouge au centre d'une coupe transversale d'un diverticule hépatique.

*- Les reins: Des granulocytes chargés en Zinc sont observés dans les tubules proximaux et distaux.

III.1.7.3. Réactions tissulaires :

Au cours de nos observations en microscopie optique, nous n'avons pu détecter aucune anomalie structurale, à l'exception de certains ovocytes qui montrent plusieurs nucléoles (5 à 7).

La méthode de MOWRY a permis de montrer que les moules contaminées développent une réaction de défense, par sécrétion de mucus principalement, au niveau des tissus exposés directement au milieu extérieur. Les planches VII-VIII illustrent le détail de cellules à mucus au niveau du manteau, des branchies et des palpes labiaux. Par ailleurs, il a été observé une correspondance exacte entre la localisation d'une réaction positive à la dithizone et la localisation du mucus par la méthode de MOWRY.

PLANCHE V

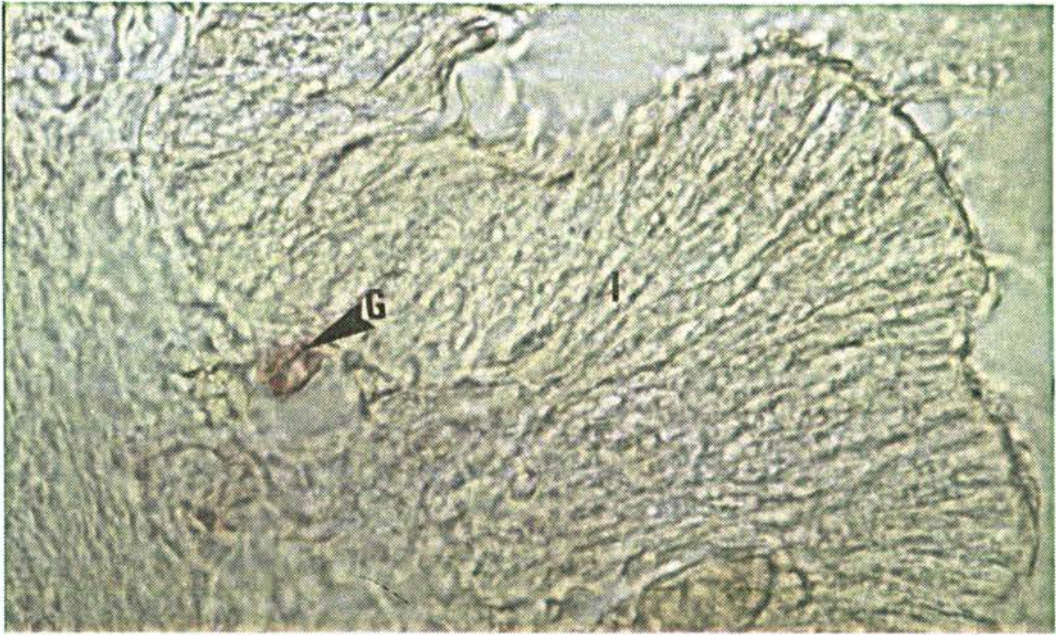
Fig.11 : Granulocyte (G) chargé en Zinc, localisé dans les branchies (B) (G x 400).

Fig.12 : Granulocyte (G) chargé en Zinc, localisé dans le tissu intestinal (I) (G x 400).

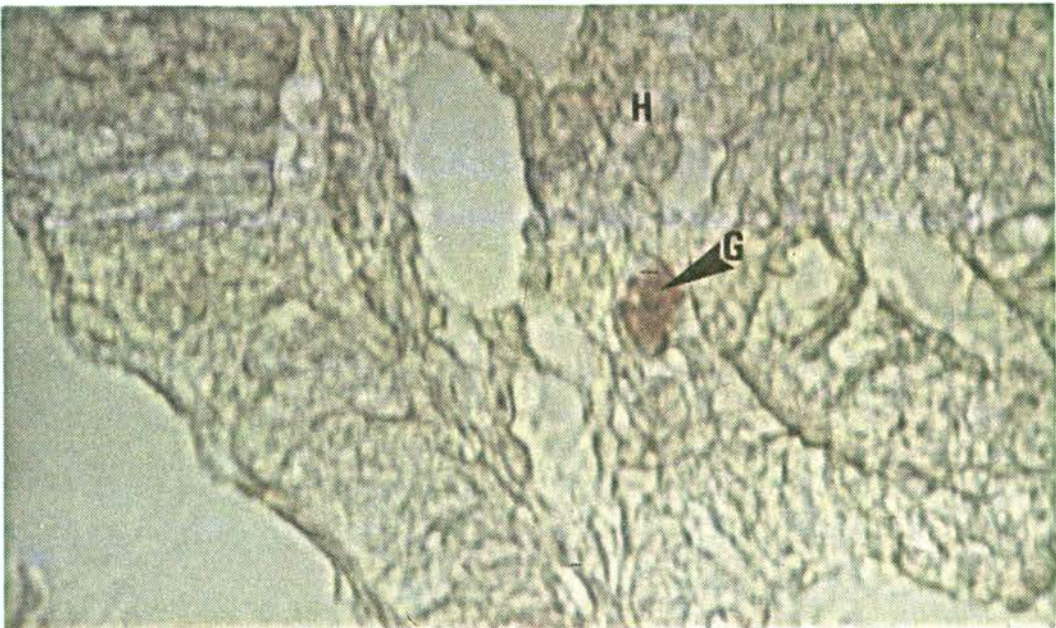
Fig.13 : Granulocyte (G) chargé en Zinc, localisé dans l'hépatopancréas (H) (G x 400).



11



12



13

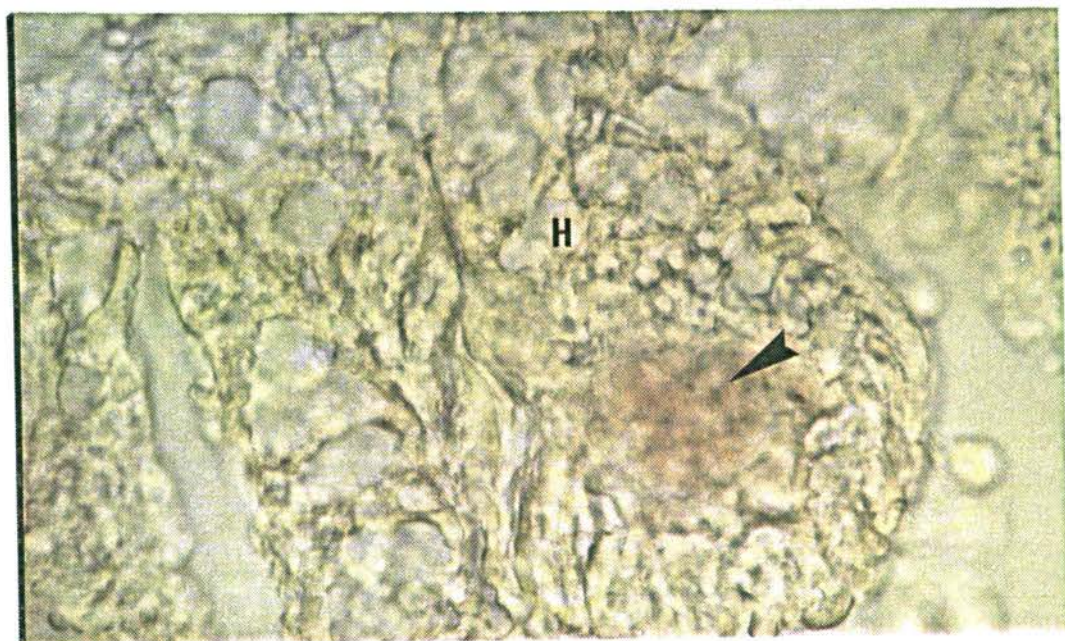
PLANCHE VI

Fig.14 : Coloration rose (flèche) du Zinc diffus dans la lumière de l'hépatopancréas (H) (G x 400).

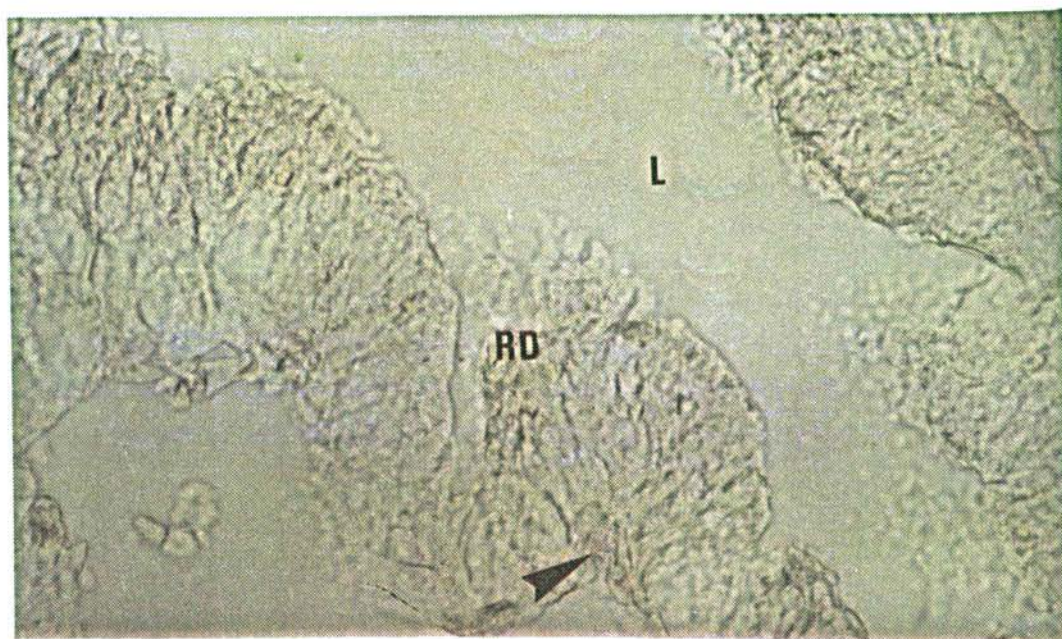
Fig.15 : Zinc diffus (flèche) dans le rein distal interne (RD) (G x 250).

Fig.16 : Zinc diffus dans le rein proximal (RP) (flèche) (G x 250).

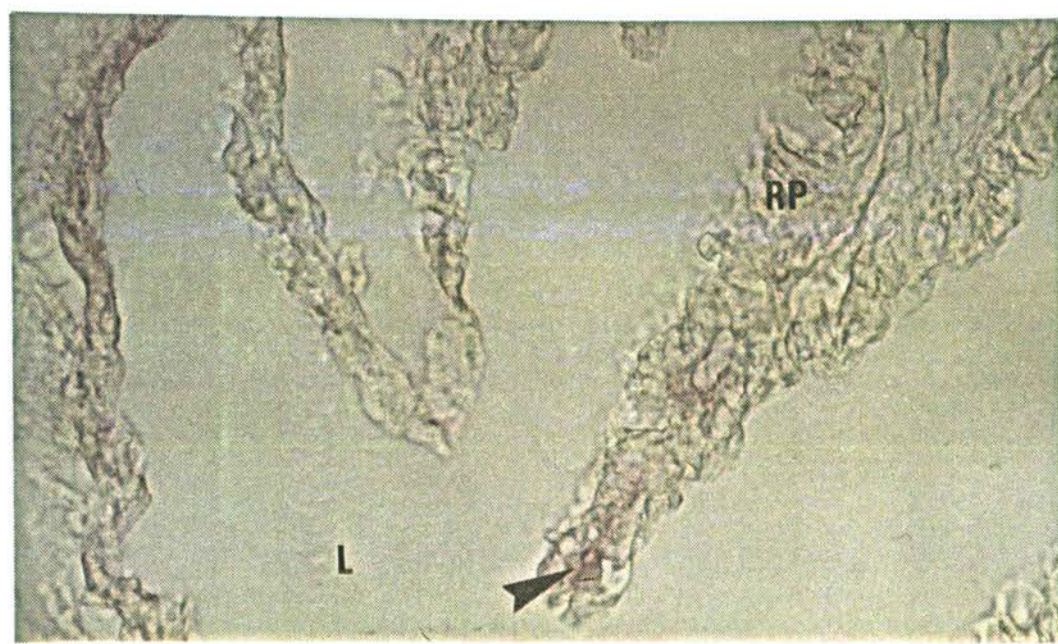
L : Lumière des tubes rénaux



14



15

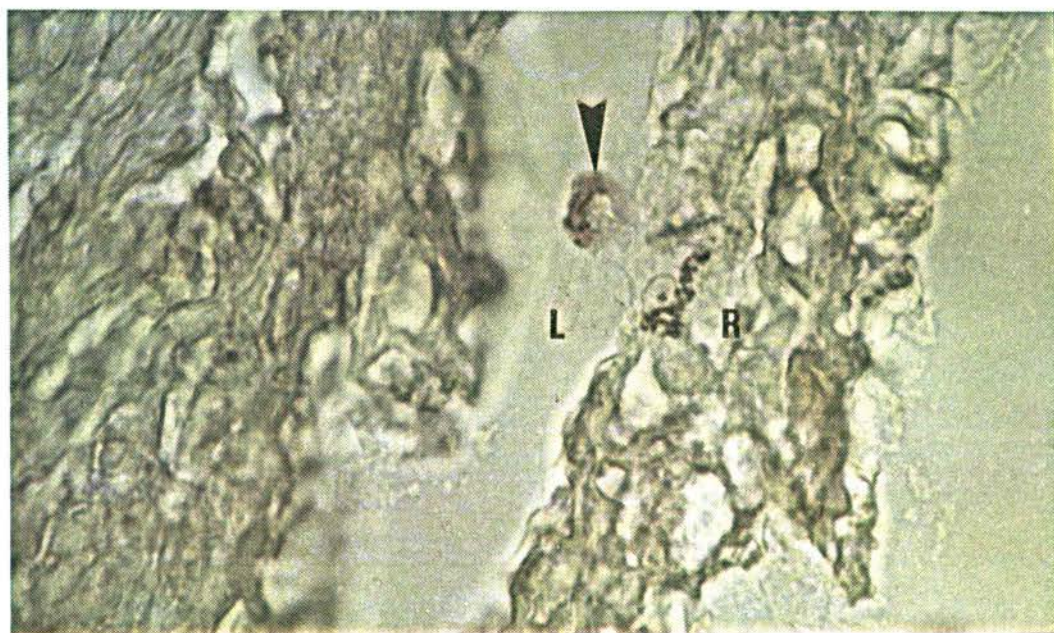


16

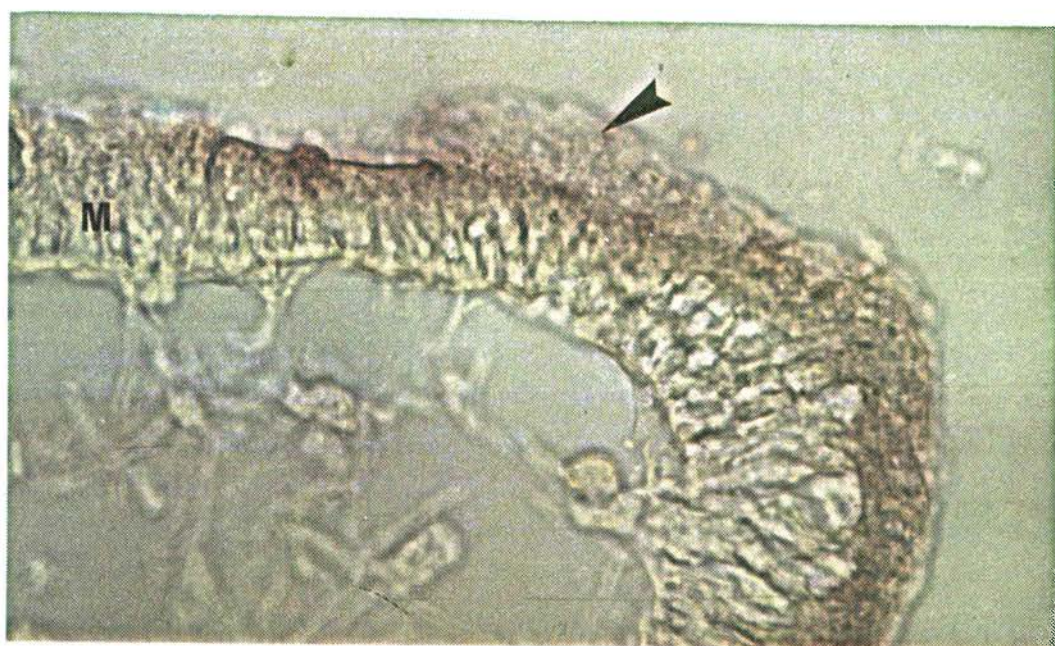
PLANCHE VII

Fig. 17 : La flèche montre une cellule chargée en Zinc, localisée dans la lumière renale (L) (G x 400).

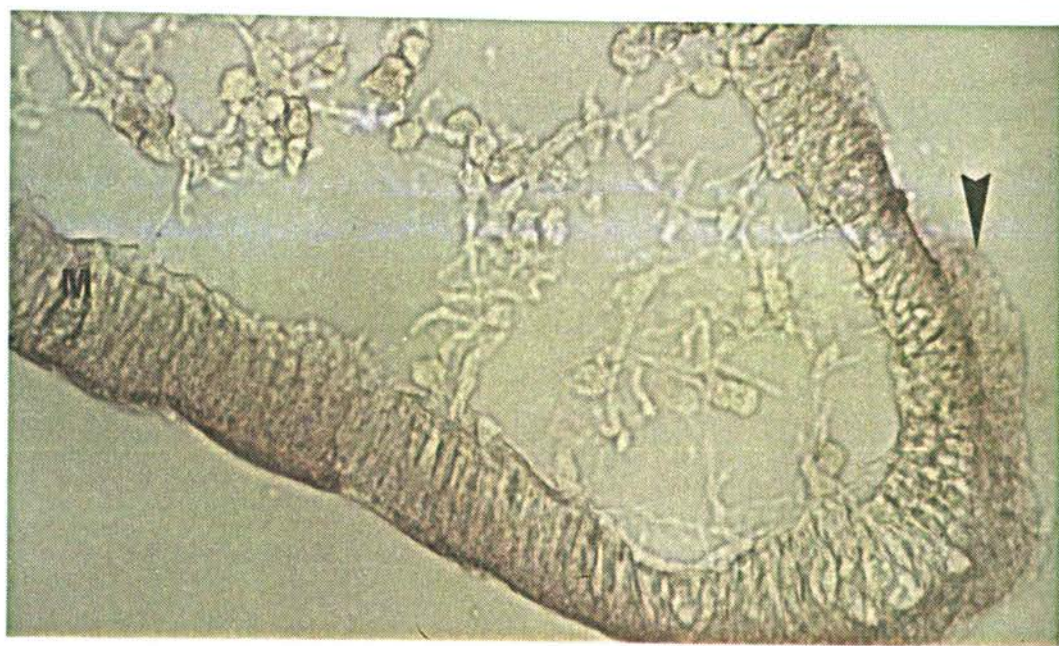
Fig. 18-19 : La flèche montre la fixation du Zinc par le mucus sécrété au niveau de l'épithélium du manteau (M) chez les moules intoxiquées (Gx400). On note une coloration plus foncée des cellules (C) à mucus chargées en Zinc.



17



18



19

PLANCHE VIII

Fig. 20 : Coupe d'une branchie témoin (G x 400).

Cellule à mucus (flèche C)

Fig. 21 : Coupe d'une branchie de moule contaminée (G x 400).

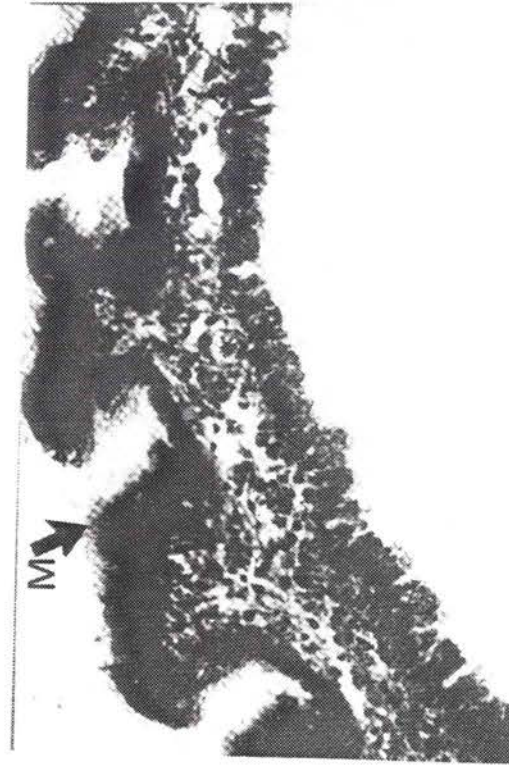
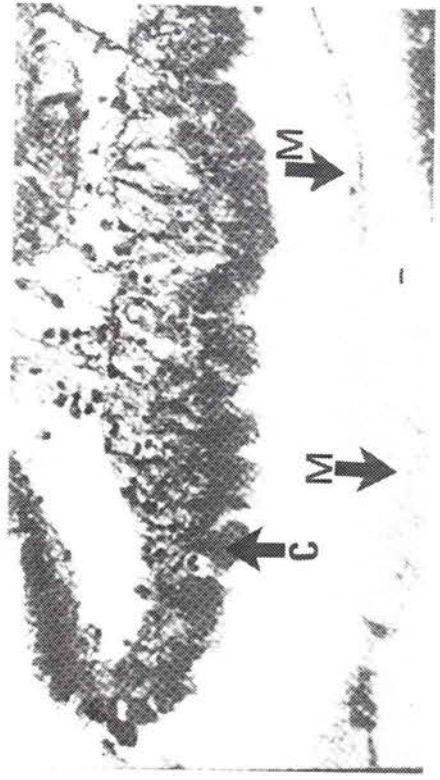
On note l'abondance des cellules à mucus (flèche C) et de sécrétion de mucus au niveau de la chambre supra-branchiale (flèche M).

Fig. 22 : Coupe au niveau des palpes labiaux témoins (G x 400).

Fig. 23 : Coupe au niveau des palpes labiaux d'une moule contaminée (G x 400).

On observe l'abondance de sécrétion de mucus (M) par rapport au témoin.

PL VIII



III.1.7.4. Discussion

Cette partie nous a permis de dresser l'organotropisme suivant vis-à-vis du Zn: Byssus>> Manteau> Branchies> Partie molle totale> Reste de la masse viscérale.

Dans la littérature les auteurs attribuent aux branchies une capacité de bioaccumulation des métaux lourds en général, beaucoup plus importante que celle des autres tissus, et cela que ce soit chez les bivalves marins (KOGA, 1934; IKUTA, 1968; VIARENGO *et al.*, 1985-1987; CHASSARD-BOUCHAUD *et al.*, 1986; LOBEL, 1987) ou dulçaquicoles (FOULQUIER *et al.*, 1973).

Chez la dreissène, les études *in situ*, prouvent l'importance des branchies et des siphons dans la fixation du Zn et du Cu par rapport à la bosse de polichinelle (DAUCE et HENARD, 1984). Mais cette capacité de fixation métallique varie suivant les métaux: Fe, Pb, etc...

Les filaments polysaccharidiques du byssus favorisent énormément l'adsorption du Zinc et peuvent causer, s'ils restent liés en partie à la partie molle, une augmentation des variations dans les résultats analytiques des métaux lourds.

Ces dosages ont été faits chacun sur un seul échantillon, ce qui ne permet pas de suivre l'ordre de grandeur de la variabilité pour chaque organe.

Les organes dans lesquels le Zinc a été localisé: branchies, manteau, palpes labiaux, intestin, hépatopancréas et reins, sont les sites les plus ciblés par les auteurs, du fait de leur importance métabolique et de leur interaction avec le milieu externe (BROWN, 1982; CHASSARD-BOUCHAUD *et al.*, 1983). Ces localisations ont amené les auteurs, et plus récemment RAIMBOW (1985) à proposer des schémas explicatifs des voies de transit des métaux lourds chez les bivalves.

Selon le schéma proposé par GEORGE (1980), le mucus constitue une voie qui facilite l'adsorption du Zn, le byssus, la construction de la coquille et l'activité rénale permettant l'élimination du métal accumulé tandis que les branchies, le manteau, et l'intestin sont les voies principales de son transit vers les organes internes via l'hémolymph.

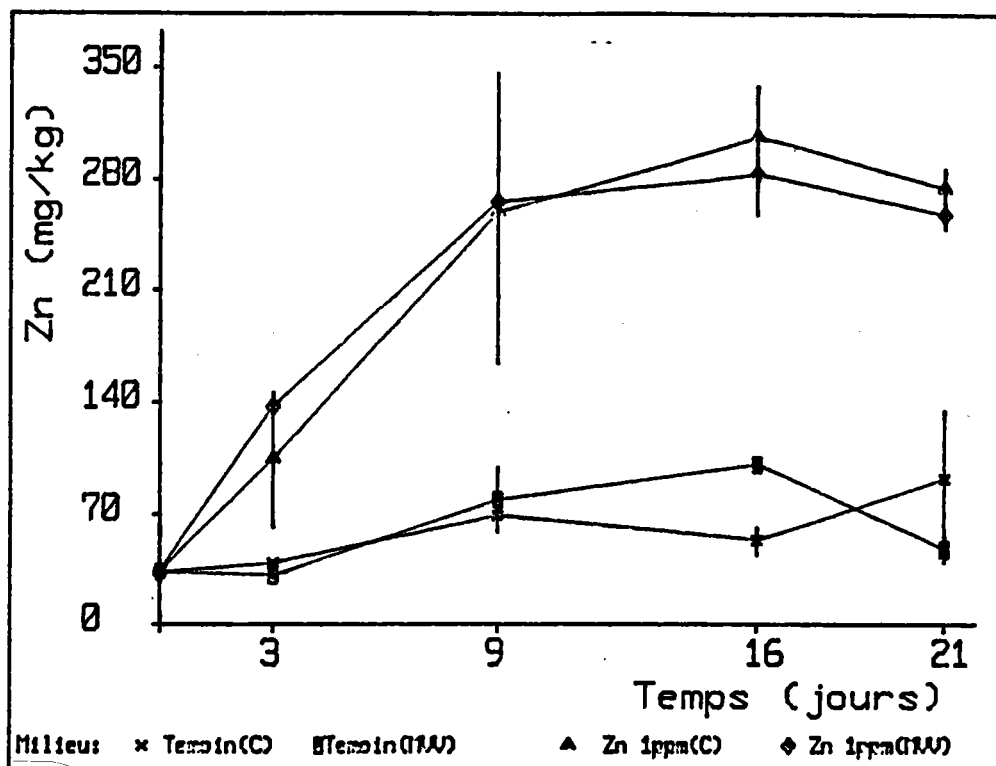


Fig. 53: Teneurs en Zinc dans la coquille de la Dreissène.

C : Coquilles isolées.

MVV: Coquilles de moules vivantes.

La sécrétion de mucus explique en grande partie la rétention métallique au niveau des branchies, du manteau, des palpes labiaux, du siphon et de l'intestin. Le mucus joue parallèlement un rôle protecteur à la surface des organes comme cela a été vérifié plus récemment chez la Dreissène (PIHAN *et al.*, 1988).

Cette étude devra être complétée par une quantification dans les sites tissulaires qui accumulent le Zn en tenant compte de la variation saisonnière, car le turnover et le flux des ions zinciques dans chaque organe sont intimement liés à l'activité métabolique de ces tissus (MASON, 1988). Actuellement une étude microanalytique sous rayonnement laser est en cours.

III.2. Accumulation par la coquille

III.2.1. Dynamique d'accumulation

La figure 53 montre que les coquilles isolées et celles des moules vivantes ont la même cinétique, de fixation du Zn de leur milieu. Les quantités fixées de ce métal augmentent avec le temps d'exposition jusqu'au 9^{ème} jour, un plateau de saturation est atteint entre le 9^{ème} et le 21^{ème} jour. La valeur maximale obtenue est de l'ordre 280 mg/Kg de PS des coquilles, ce qui correspond à une valeur 10 fois supérieure à leur teneur initiale en Zn.

Cette similitude de la cinétique de fixation du Zn sur les coquilles isolées et celles des moules vivantes montre qu'il s'agit d'une simple adsorption des ions métalliques sur la surface des valves qui ne dépend pas des activités vitales de la dreissène. En fait le taux élevé d'adsorption des ions métalliques chez les moules nourries par rapport à celles non nourries n'est pas significatif (Fig 54-55).

Le niveau du plateau de saturation obtenu à 280 mg/Kg est largement inférieur aux capacités potentielles de la coquille à fixer les ions Zn^{++} . Pendant les 24 heures de stabulation qui précède chaque analyse, les coquilles ont déjà libéré une partie de leur charge en Zinc.

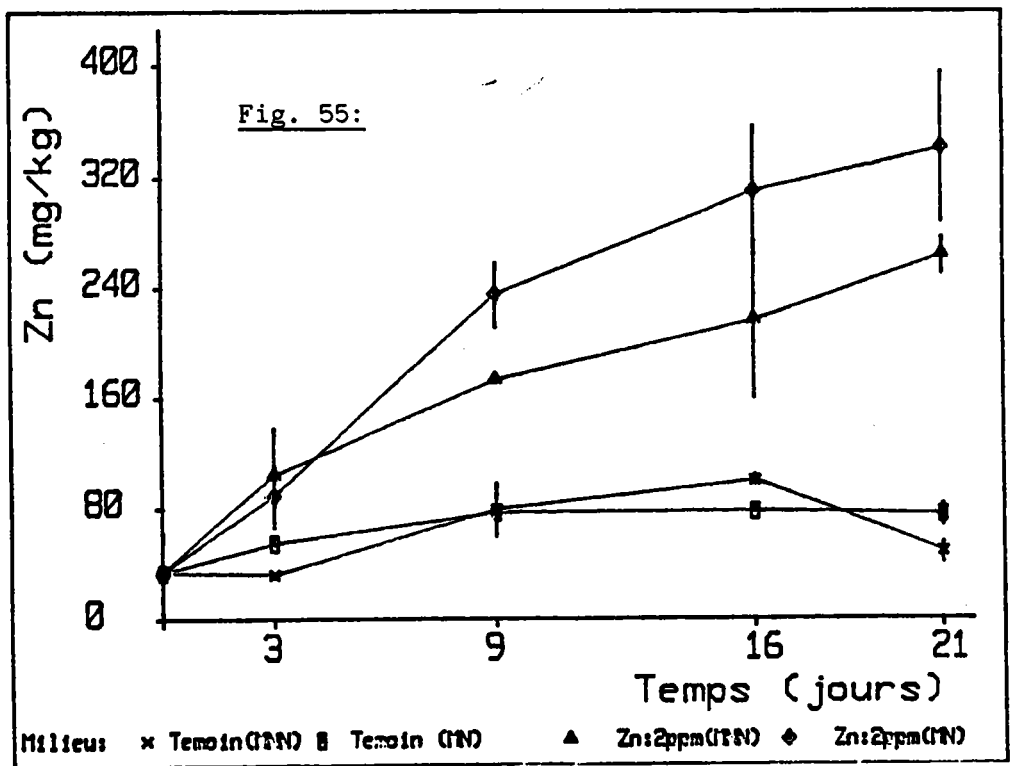
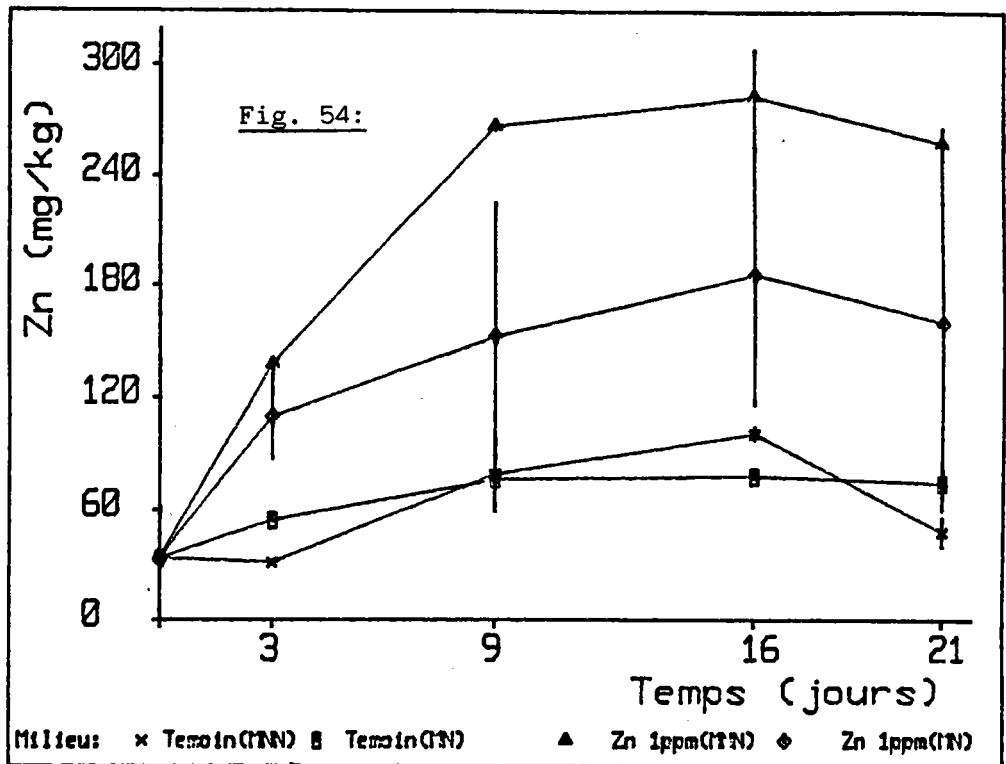


Fig. 54-55: Teneurs en Zinc adsorbé sur les coquilles de moules nourries (MN) et non nourries (MNN).

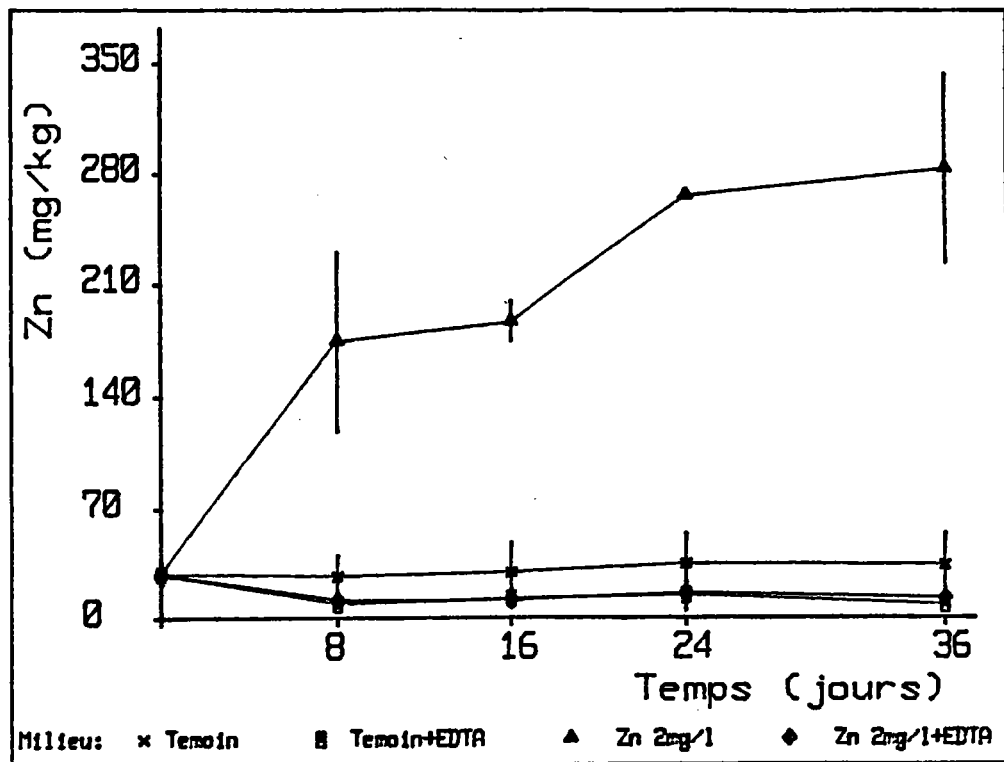


Fig. 56: Effet de l'EDTA sur l'adsorption du Zinc du milieu sur les coquilles.

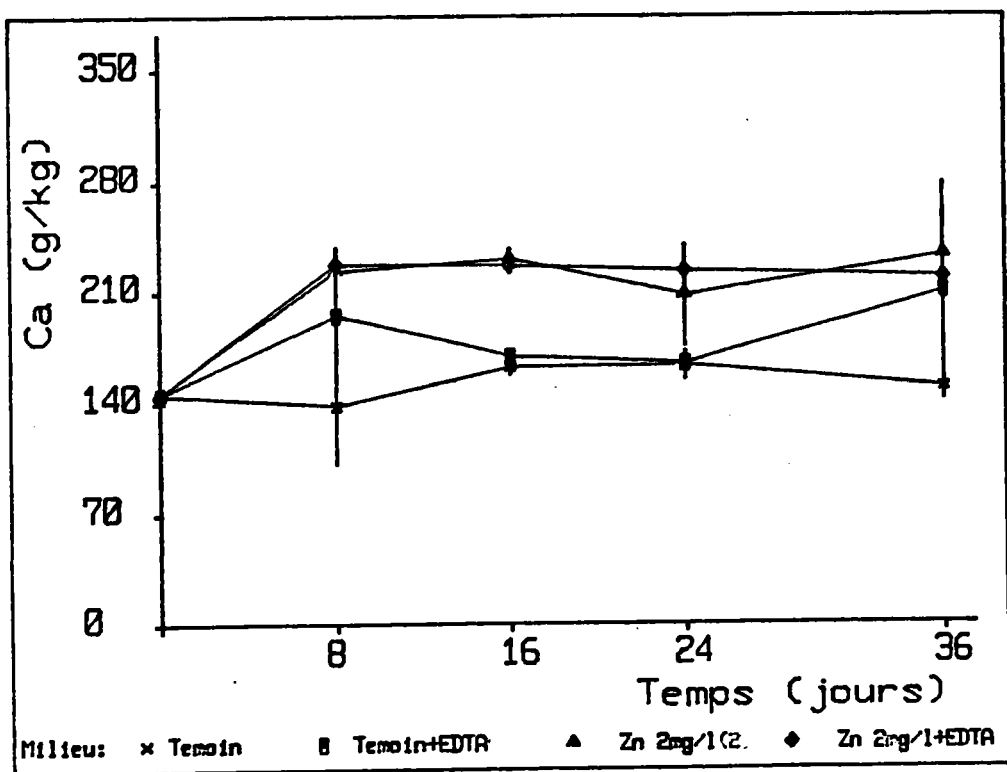


Fig. 57: Effet de l'EDTA sur la composition calcique de la coquille.

Dans un milieu à 2 ppm de Zn, la charge métallique des coquilles augmente à 350 mg/Kg après 21 jours d'exposition.

Nous remarquons que durant les trois semaines de l'essai, les témoins ont toujours eu une quantité minimale constante en Zn dans le temps: 30 à 50 mg/kg de poids sec des coquilles. Ces charges en Zn correspondent-elles à des ions adsorbés sur les coquilles des moules? ou s'agit-il des ions liés à la structure organo-minérale de la coquille?

Pour pouvoir trouver une réponse, nous avons essayé de mobiliser ce Zn des coquilles par l'EDTA en suivant leur composition calcique.

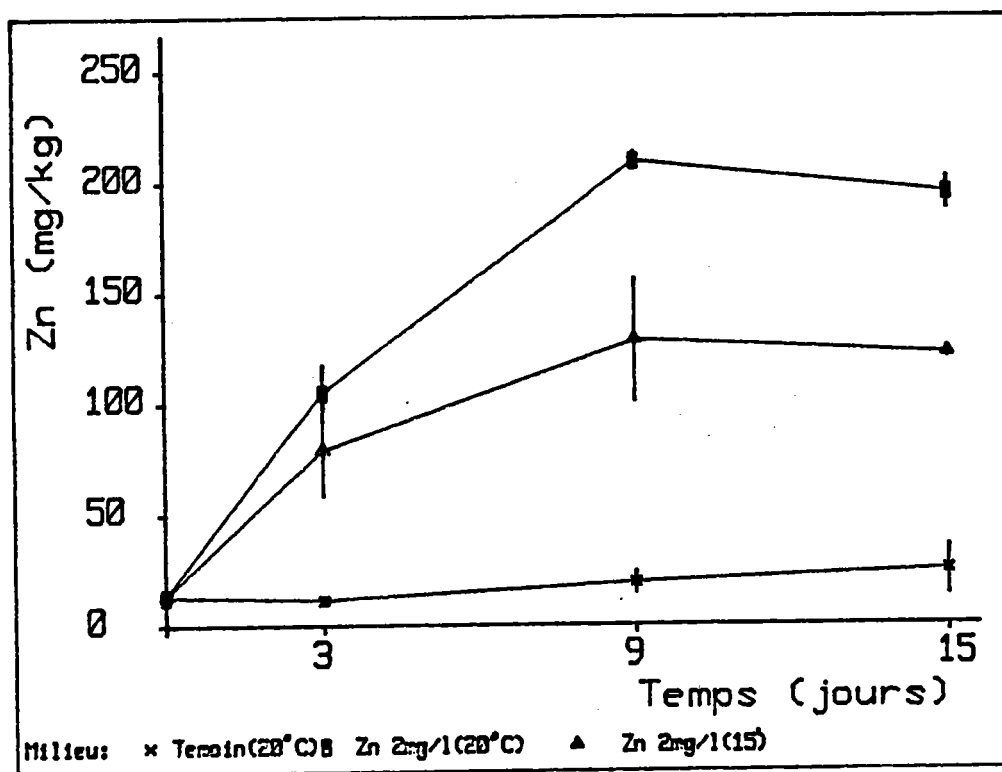
III.2.2. Effet de l'EDTA

Nous avons comparé l'évolution de l'adsorption du Zn sur les coquilles dans deux milieux expérimentaux contenant 2ppm de Zn chacun, soit une concentration molaire de 31uM. L'un de ces milieux contient 153uM d'EDTA soit 5 fois la concentration molaire en Zn. Son témoin équivalent contient 306uM d'EDTA.

La figure 56 montre que l'EDTA empêche toute adsorption du Zn du milieu sur les surfaces valvaires. Par rapport au milieu témoin sans EDTA, les coquilles de moules témoins qui ont été au contact avec ce complexant organique, ont relargué 50% de leur contenu initial en Zn dans les 8 premiers jours.

Après 36 jours, l'EDTA ne permet pas de mobiliser la totalité du Zn valvaire. Une quantité minimale est toujours détectable pendant le dosage: 10mg/kg. Il s'agit donc des ions qui rentrent dans la structure minéralogique du test de la coquille qui en contient 10mg de Zn/Kg de leur poids sec.

Le suivi de l'évolution des teneurs des coquilles en calcium: ion minéral majeur de la structure du test des coquilles (Fig. 57), montre qu'en présence de l'EDTA, ces teneurs calciques ne varient pas significativement par rapport aux témoins sans EDTA. Ce complexant n'entraîne aucune décalcification des coquilles même après 36 jours d'exposition. Leurs compositions moyennes en



Fig; 58: Effet de la température du milieu sur l'adsorption du Zinc sur la coquille.

calcium varient de 140 à 240g/Kg de poids sec soit 14 à 24x10³ fois plus que leurs teneurs en Zn.

III.2.3. Effet de la température

Nous avons comparé l'adsorption du Zn à deux températures: 15 et 20°C, dans un milieu à 2ppm de Zn.

La figure 58 montre qu'à faible température nous obtenons moins d'adsorption métallique sur les coquilles. Pour les deux températures l'adsorption augmente jusqu'au 9^{ème} jour et se maintient constante entre le 9^{ème} et 15^{ème} jour avec un écart moyen de 100mg/Kg en plus à 20°C, ce qui est en accord avec l'effet de la température sur la physico-chimie du Zn: diminution de la solubilité avec la température du milieu.

La température est un facteur physique qui n'a qu'un faible effet sur le dynamisme du Zinc dans un environnement aquatique. Le temps de contact des coquilles avec le Zn est important pour mettre en évidence cet effet thermique sur l'adsorption métallique au niveau des coquilles.

IV. REPARTITION DES PROTEINES DANS LA PARTIE MOLLE

IV.1. Protéines thermorésistantes soufrées (PTS)

IV.1.1. Répartition des PTS dans la partie molle

L'analyse polarographique à impulsion différentielle des branchies et de la partie molle totale et sans branchies, révèle la présence de PTS. Les résultats quantitatifs (fig. 59-62) montrent que ce sont les branchies qui en renferment toujours la plus forte concentration, alors que la partie molle totale en renferme le moins, aussi bien chez les moules témoins que chez les contaminées, en présence ou en l'absence de nourriture.

On observe également une augmentation des teneurs en PTS dans les trois parties analysées, surtout pendant le 9^{ème} et le 21^{ème} jour de l'expérience.

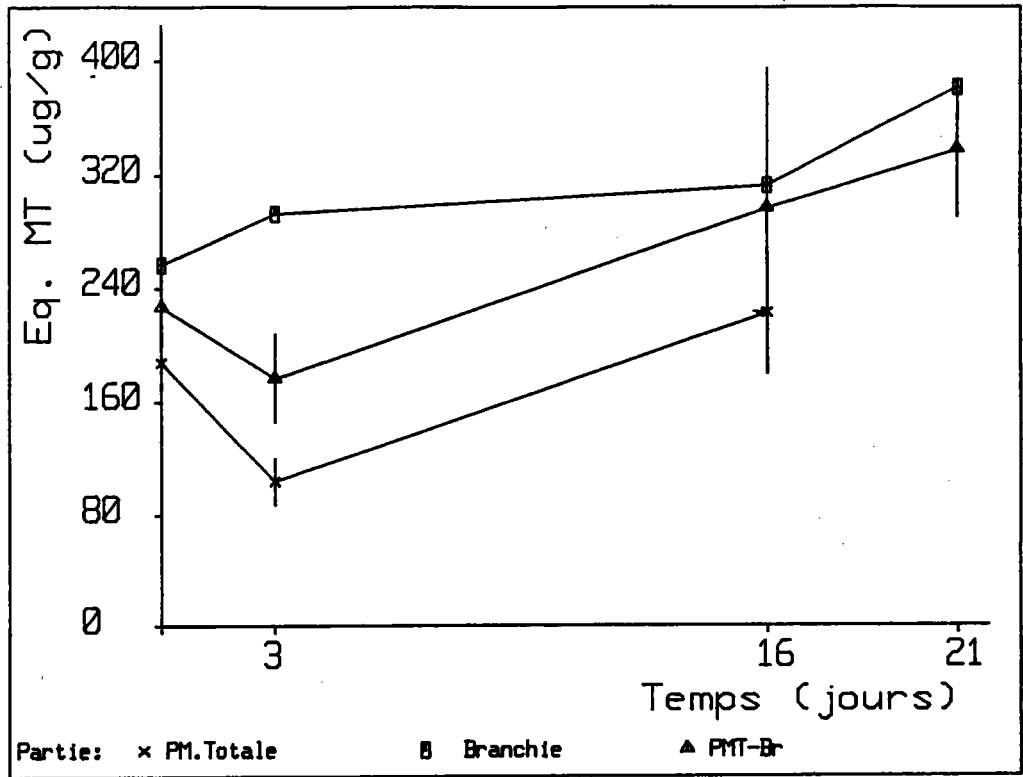


Fig. 59: Teneurs en PTS (équivalent métallothioniènes: Eq.MT) chez les moules témoins non nourries.

PMT : Partie molle totale (sans byssus)

Br : Branchies.

PMT-Br: Partie molle totale sans branchies.

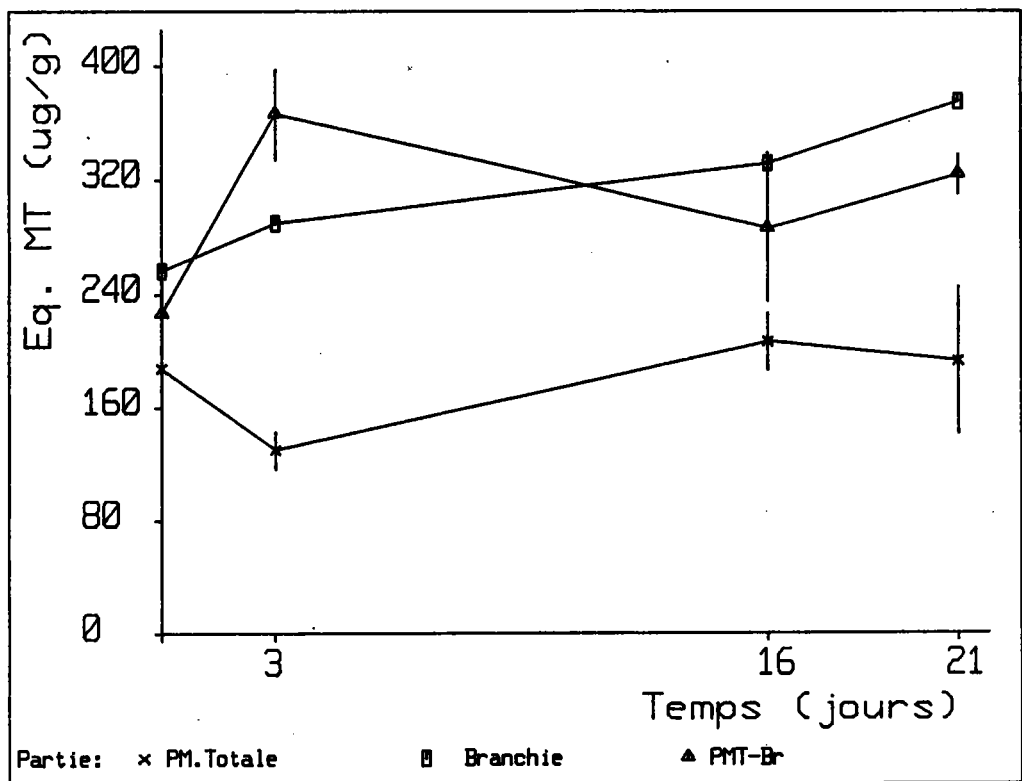


Fig. 60: Teneurs en PTS chez les molues non nourries et contaminées avec 2ppm de Zinc.

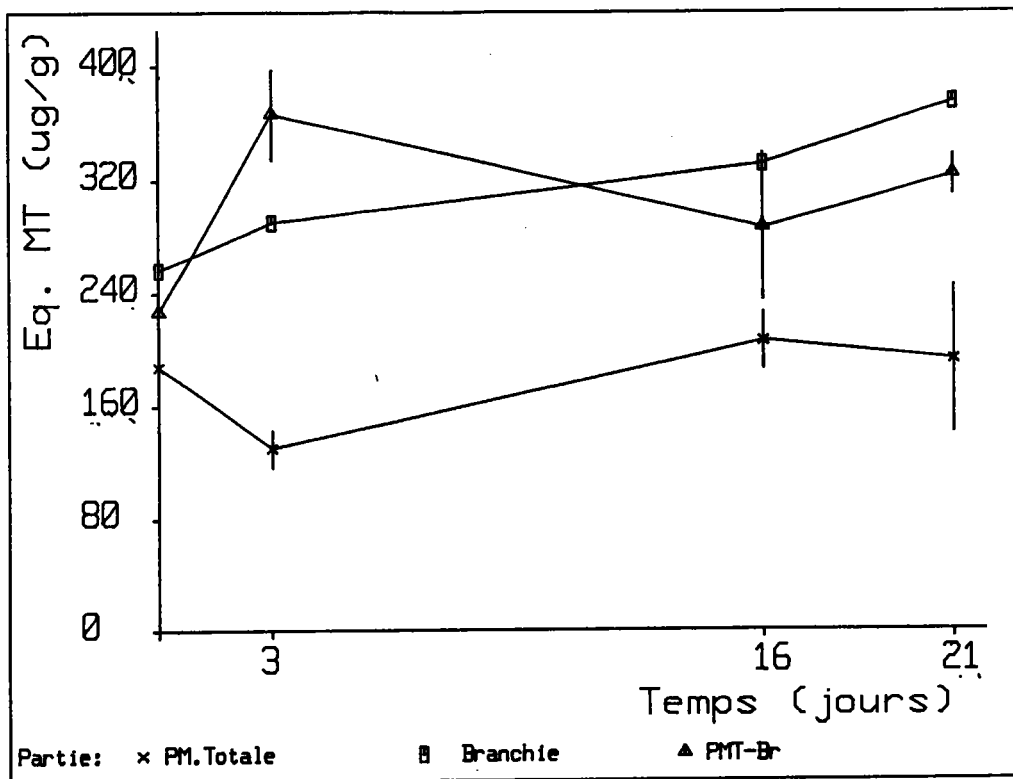


Fig. 61: Teneurs en PTS chez les moules témoins nourries

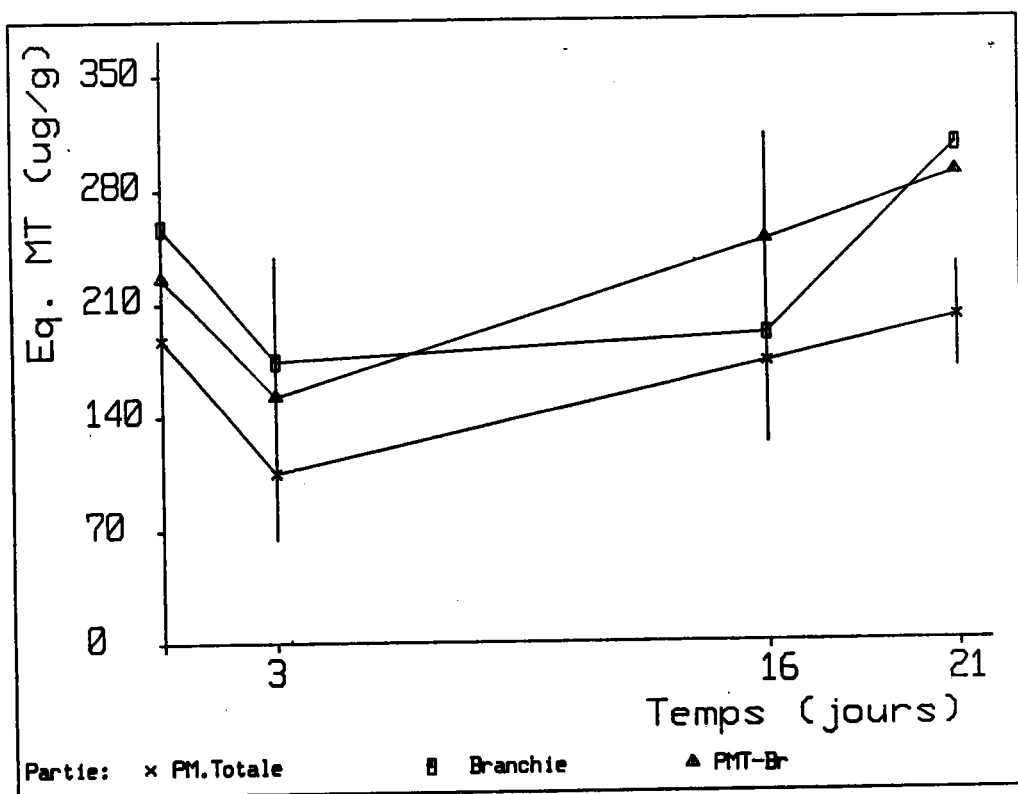


Fig. 62: Teneurs en PTS chez les moules nourries et contaminées avec 2ppm de Zinc.

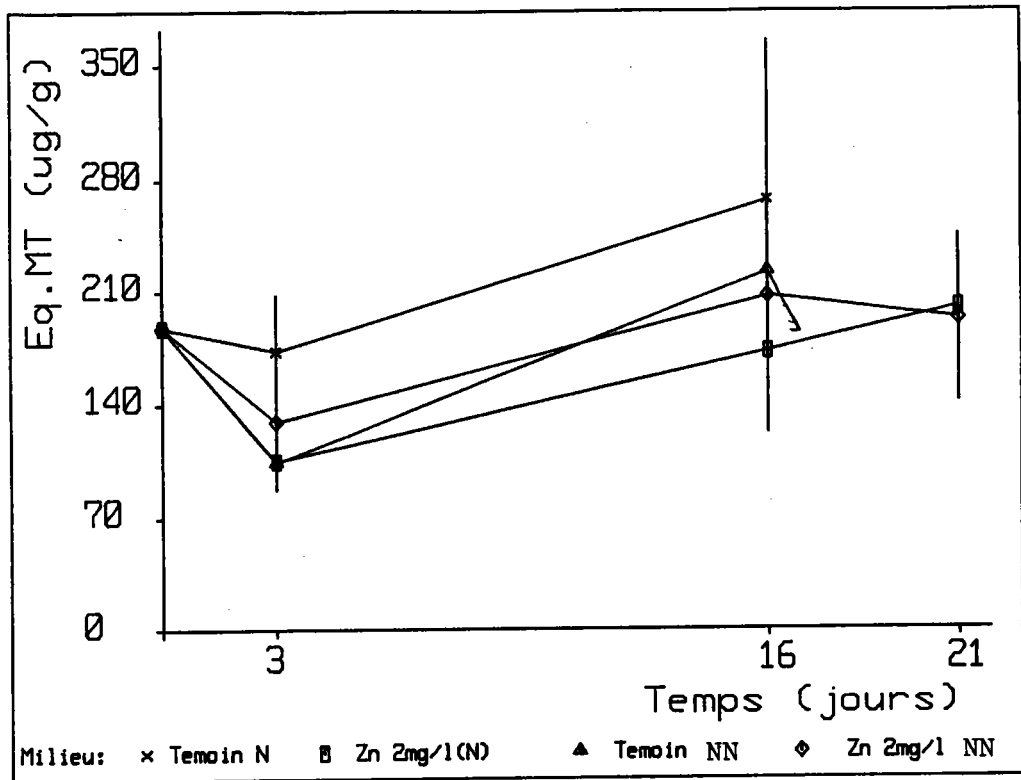


Fig. 63: Teneurs en PTS dans la partie molle totale (PMT) des moules nourries (N) et non nourries (NN).

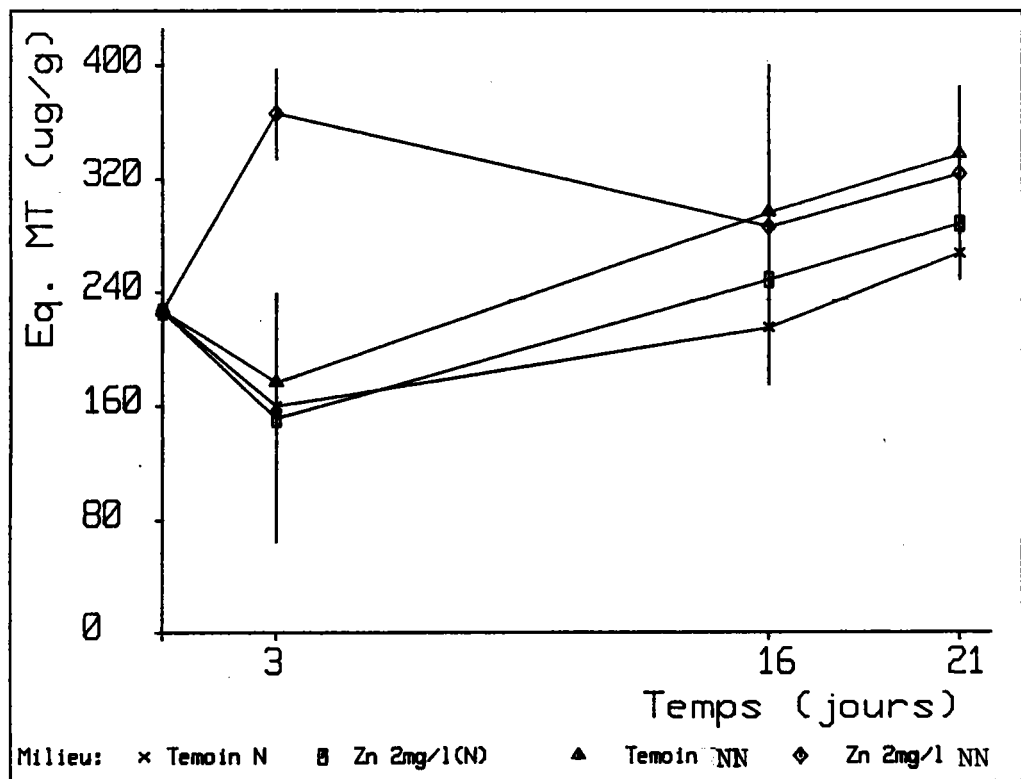


Fig. 64: Teneurs en PTS dans la partie molle sans branchies (PMT-Br) chez les moules nourries (N) et non nourries (NN)

La variation des résultats des PTS en fonction des quatre variables: le temps (X_1 : 0 et 3 ou 16 jours), la fraction analysée (X_2 : partie molle totale et sans branchie), les teneurs en Zinc dans le milieu (X_3 : 0 et 2ppm) et la nourriture (X_4 : présente ou absente), permettent d'établir les équations de régression suivantes:

$$Y_1 = 187,7 - 31X_2 \quad \text{pour } X_1: 0 \text{ et } 3j$$

$$Y_2 = 222 - 20,6X_2 + 16,5X_1 \quad \text{pour } X_1: 0 \text{ et } 16j.$$

Ces équations prouvent l'effet significatif du facteur "temps"(X_1) et du facteur "partie analysée"(X_2), avec un facteur de contribution plus important pour la fraction analysée (X_2) que pour le temps (X_1).

IV.1.2. Effet de la nourriture

Les équations Y_1 et Y_2 montrent qu'au niveau des parties molles et sans branchies la nourriture n'a aucun effet sur les teneurs en PTS. Par contre au niveau des branchies, les concentrations en PTS dans les branchies chez les moules non nourries sont toujours plus élevées que chez les moules nourries (fig. 63-64).

Les équations de régression calculées à partir des résultats des PTS dans les branchies en fonction des trois variables: le temps (X_1 : 0 et 3, 16 ou 21 jours), la teneur en Zinc dans le milieu (X_2 : 0 et 2ppm) et la nourriture (X_3 : présente ou absente) sont les suivantes:

$$\text{Pour } X_1: 0 \text{ et } 3j \quad Y_3 = 251,5 - 21,8X_2 - 21,8X_1X_3.$$

$$\text{Pour } X_1: 0 \text{ et } 16j \quad Y_4 = 267,9 - 20,6X_2.$$

$$\text{Pour } X_1: 0 \text{ et } 21j \quad Y_5 = 292,8 + 36,8X_1 - 23,8X_2 - 238X_1X_3.$$

La nourriture (X_3) a donc un effet significatif et présente une interaction négative avec le temps. Cette interaction, quand elle existe, a le même facteur de contribution que celui du facteur "nourriture".

L'évolution du poids frais des branchies utilisées pour le dosage des PTS, en fonction des trois variables: le temps (X_1 : 0 et 3, 16 ou 21 jours), la teneur en Zinc (X_2 : 0 et 2ppm) et la nourriture (X_3 : présente ou absente) donne les équations de régression suivantes:

$$\text{Pour } X_1: 0 \text{ et } 3j \quad Y = 524,6 + 30,9X_2 + 30,9X_1X_3 - 24,4X_1$$

$$\text{Pour } X_1: 0 \text{ et } 16j \quad Y = 562,1 - 18,6X_2 - 18,6X_1X_2 + 13,1X_1$$

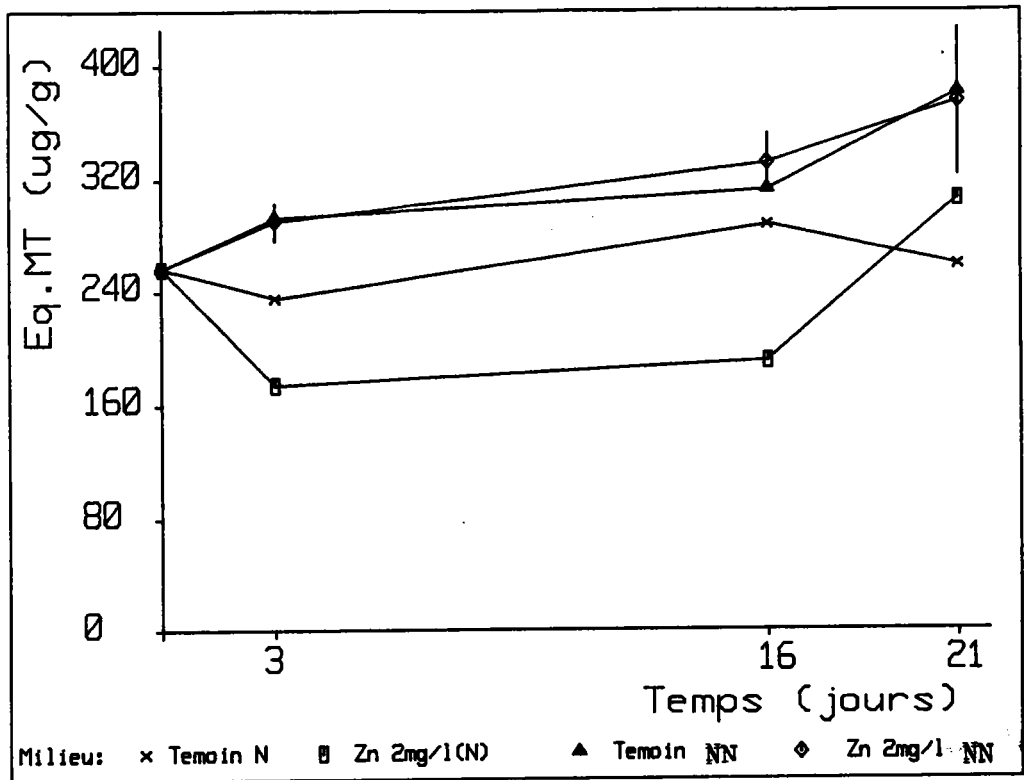


Fig. 65: Teneurs en PTS dans les branchies (Br) chez les moules nourries et non nourries (NN).

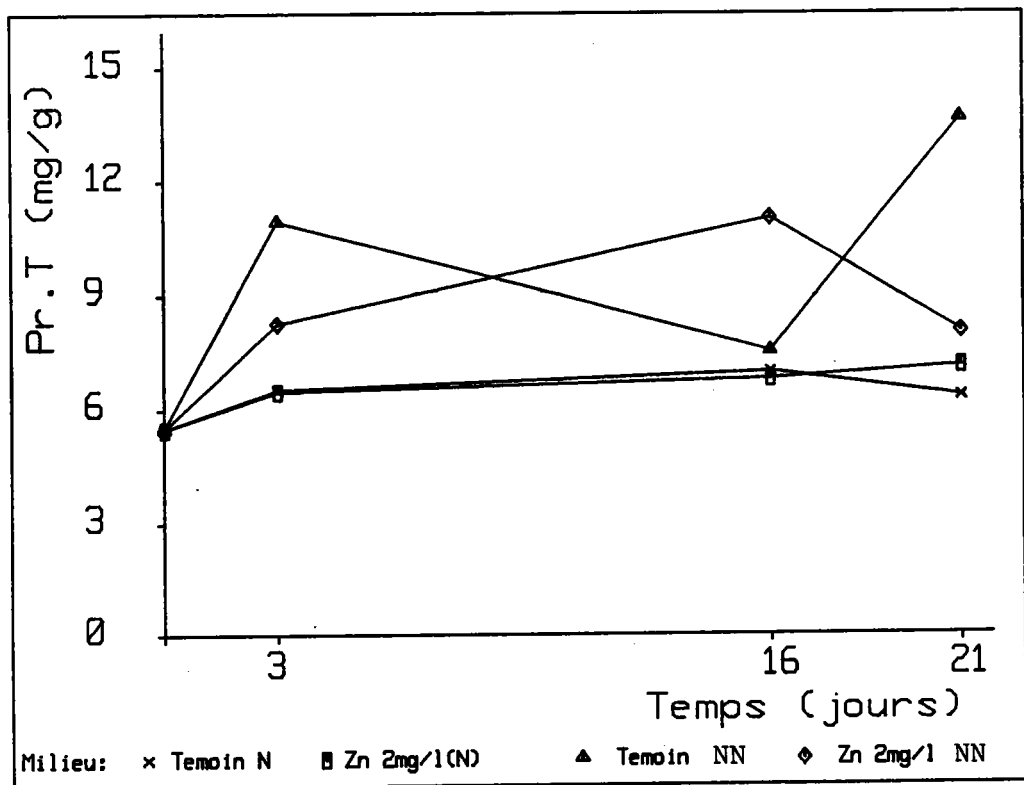


Fig. 66: Teneurs en Protéines totales (Pr.T) dans les branchies (Br) chez les moules nourries (N) et non nourries (NN).

Pour $X_1:0$ et 21j $Y = 510,1 + 67,7X_3 + 67,6X_1X_3$

Ces équations montrent que les pertes en poids des branchies en fonction du temps (X_1), sont limitées par la nourriture (X_3). On assiste à une interaction positive entre le temps et la nourriture. Ces équations présentent aussi l'effet significatif de la contamination par le Zinc (X_2) à diminuer le poids des branchies.

Cet effet directe de la nourriture sur le maintien du poids des branchies se répercute sur les concentrations en PTS, plus élevées dans les branchies des moules non nourries. On pense que le maintien du poids est assuré par des lipides, des glucides et/ou des protéines non soufrées.

IV.1.3. Effet de la contamination avec le Zn

L'exposition des moules à 2ppm de Zinc pendant 21 jours n'entraîne aucune modification significative des teneurs en PTS par rapport à celles des moules témoins (fig. 63-65). Ceci se traduit par l'absence du facteur "Teneurs en Zinc dans le milieu" dans les équations de régression des teneurs en PTS en fonction des facteurs externes; X_3 dans l'équation Y_1 et X_2 dans Y_2 , Y_3 et Y_4 .

Dans nos conditions expérimentales: contamination à moyen terme (21 jours) et par voie directe (via l'eau), le Zinc ne montre pas d'effet inducteur sur la synthèse de ce type de protéine chez la Dreissène.

IV.2. Protéines thermorésistantes totales (PTT):

Le dosage des protéines thermorésistantes totales (PTT) n'a été effectué que dans les branchies en raison de la bonne reproductibilité que nous avons pu obtenir.

La figure 66 montre que dans cet organe, les concentrations en PTT chez les moules non nourries (témoins et contaminées) augmentent avec le temps et sont légèrement supérieures chez les moules non nourries. par contre elles demeurent constantes chez

les moules nourries: 5,5 mg/g de poids frais des branchies, soit un pourcentage de 0,55%. Par contre il n'y a aucune différence entre les valeurs en PTT chez les contaminées et leurs témoins.

IV.3. Discussion:

Par rapport aux témoins, le Zn n'entraîne aucune modification des teneurs en PTS ou en PTT chez les dreissènes contaminées. Quatre hypothèses explicatives peuvent être formulées:

- *- Chez la dreissène il n'y a pas d'induction de la synthèse de ce type de protéines par le Zn comme c'est le cas par exemple chez *Mytilus edulis* (GEORGE et PIRIE, 1980).

- *- Cette induction n'est pas possible dans le cas d'une contamination directe (via l'eau) (TALLANDINI et al., 1985).

- *- La spécialisation de certains tissus dans la synthèse de protéines qui fixent les métaux lourds, nécessite l'analyse dans d'autres organes isolés tel que le complexe digestif (GEORGE et PIRIE, 1979; VIARENGO et al., 1985).

- *- La variation saisonnière de l'activité métabolique des organes fait que leur capacité de synthèse de protéines inductibles varie suivant l'époque de l'année comme c'est le cas chez *Mytilus edulis* (HARRISON et al., 1988).

Les teneurs en protéines sont rapportées au poids corporel de la Dreissene. Les faibles augmentations des teneurs en protéines observées chez les moules non nourries peuvent être un simple effet du jeûne prolongé ou des conditions trophiques non optimales. Afin d'assurer le maintien énergétique de l'organisme il y a une dégradation de la matière organique tissulaire. Cette dégradation est essentiellement lipidique et glucidique chez certains bivalves (ANSELL, 1972; PARACHE, 1985).

Cependant les travaux de STANCZYKOWSKA (1977) et de WALZ (1979) sur la Dreissène, montrent que lors de conditions trophiques défavorables, il y a une diminution des teneurs en protéines.

La poursuite de ce travail envisage l'identification de ces protéines pour vérifier certaines de leurs propriétés biochimiques et qui pourraient confirmer s'il s'agit ou non de métallothionéines: poids moléculaire, structure primaire, absorption dans l'ultraviolet. Par la suite il faudra tester leur possibilité à fixer le Zinc accumulé par la moule.

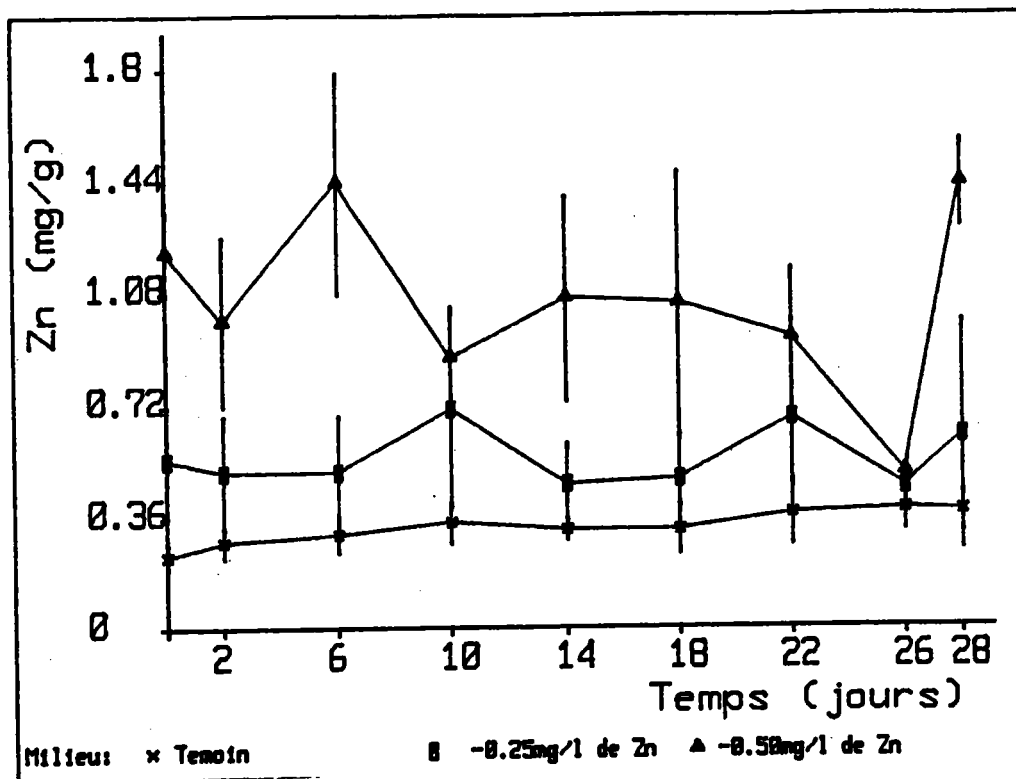


Fig. 67:

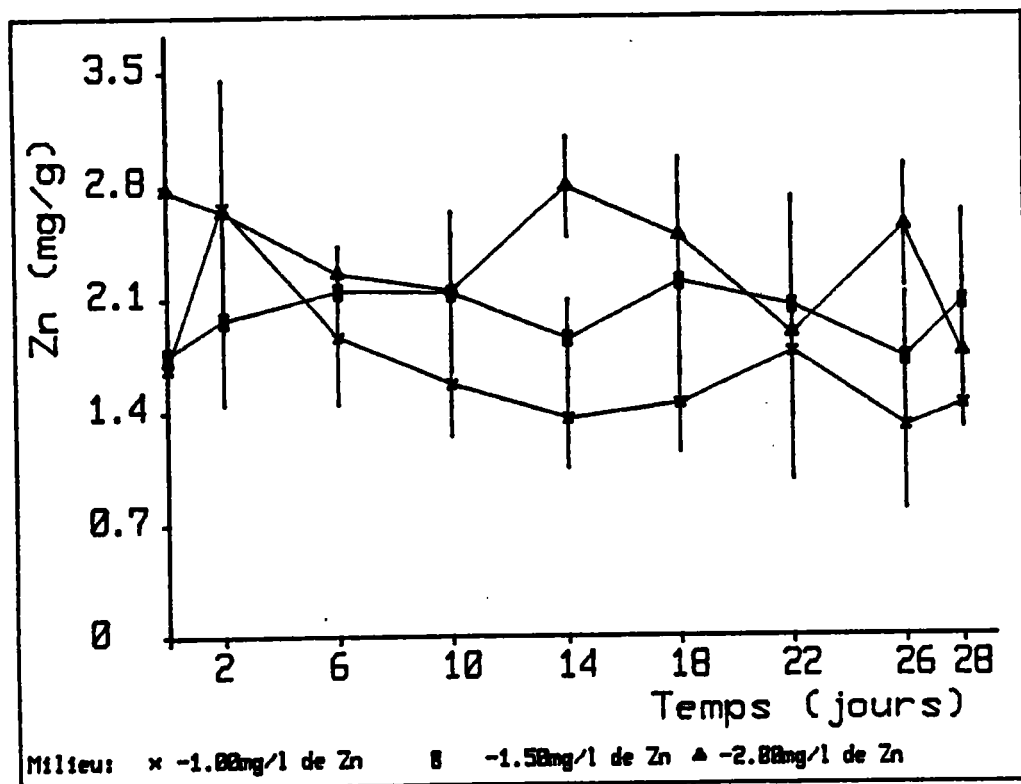


Fig. 68:

Fig. 67-68: Evolution des teneurs en Zinc tissulaire chez la Dreissène pendant la décontamination. (06/1986)

V. CINETIQUE DE RELARGAGE DU ZINC

V.1. Relargage par la partie molle:

V.1.1. Dynamique du relargage

V.1.1.1. Au printemps: (fig. 67-68)

La cinétique de relargage présente beaucoup de fluctuations dans le temps. Les coefficients de variation interéchantillons dépassent souvent les 20%.

Les taux de relargage du Zinc en cette saison sont presque nuls sauf pour les moules contaminées avec la plus forte concentration en Zn (2ppm), et dont une décontamination de 37% est observée entre le 26^{ème} et le 28^{ème} jour.

V.1.1.2. En automne: (fig. 69)

Deux lots de moules qui ont été contaminées par le Zinc pendant 36 jours, l'un à 2ppm (L2) et l'autre à 4ppm (L4), ont été remis dans l'eau déchlorée non contaminée.

Après 32 jours de décontamination, les taux de relargage sont identiques chez les deux lots (L2 et L4): 54%. La demi-vie biologique du Zn se situe donc entre le 29^{ème} et le 30^{ème} jour de décontamination.

Pour le lot L2, le relargage continu du Zinc par les parties molles a permis d'obtenir au 40^{ème} jour, des valeurs identiques à celles des témoins: 330 mg/kg. La totalité du Zinc accumulé pendant la contamination a été donc relargué.

V.1.1.3. En hiver: (Tableau 36)

L'essai a été réalisé sur deux lots de moules ayant été contaminées pendant 12 jours respectivement à 1 ppm (L1) et à 2 ppm (L2) de Zinc.

Au bout de 12 jours de décontamination le taux de relargage par le lot L2 est nul, alors qu'il est de 50% pour le lot L1; soit donc une demi-vie biologique de 12 jours pour ce dernier lot.

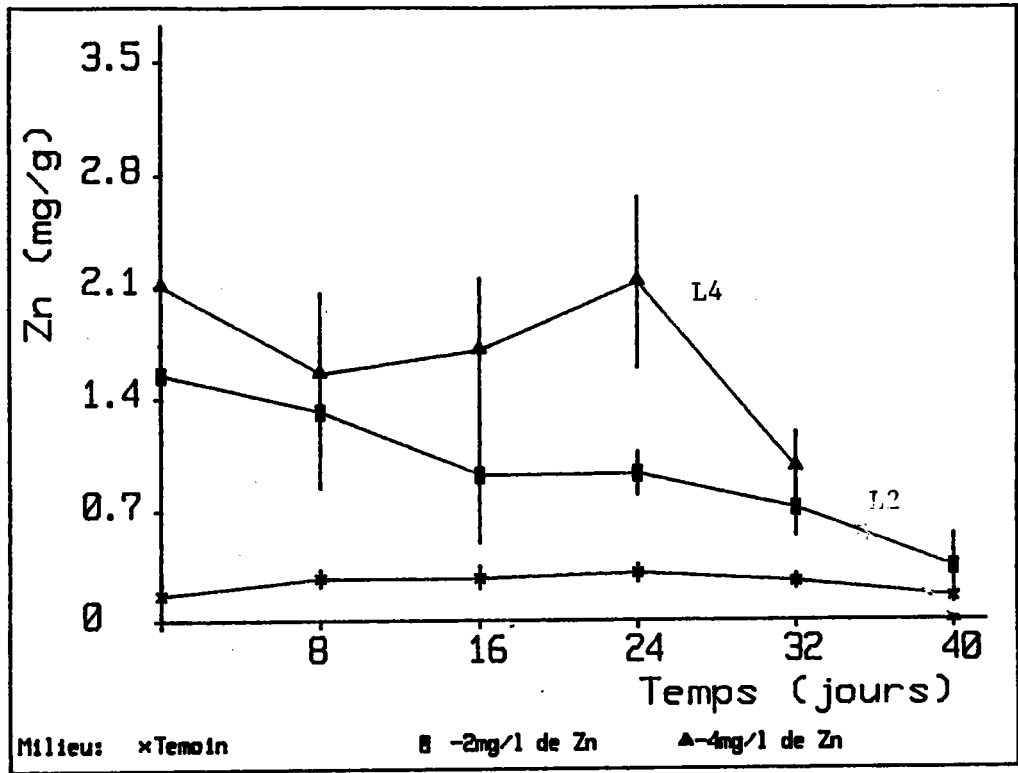


Fig. 69: Evolution des teneurs tissulaires en Zinc chez la Dreissène pendant la décontamination (12/1986).

Temps/ Jours	Témoïn			Moules contaminées					
				Lot L1NN			Lot L2NN		
	Moyenne mg/kg	s mg/kg	CV %	Moyenne mg/kg	s mg/kg	CV %	Moyenne mg/kg	s mg/kg	CV %
D 0	178.6	5.8	3.2	1290.0	14.1	1.1	1576.5	103.9	6.6
T 6	282.1	65.7	23.3	880.4	74.8	8.5	1490.0	130.0	8.7
X. 12	156.5	25.9	16.5	640.4	14.0	2.2	1606.5	82.5	5.1

Tableau 36 : Evolution des teneurs en Zinc chez les moules non nourries en fonction du temps de décontamination (DTM).

Zn dans le milieu de contamination (ppm)	Témoïn	0,25	0,50	1,00	1,50	2,00
Nombre de moules. Début de décontamination	195	188	190	189	187	183
Mortalité cumulée(%): 28 j	6,7	10,6	9,5	25,4	42,8	49,2

Tableau 37: Taux de mortalité pendant la décontamination (essai au printemps: 05/1986).

V.1.1.4. Réflexion sur la variation saisonnière:

Généralement, le relargage du Zn par les organismes aquatiques, les moules en particulier, est un processus biologique très lent, avec une grande variabilité dans le temps (BAUDIN, 1982-1983; BIAS et KARBE, 1985).

Il en est de même chez la Dreissène avec une variabilité saisonnière de cette cinétique. Au printemps, les teneurs tissulaires en Zn sont restées presque constantes durant les 28 jours de l'expérience (Fig. 67-68). Par contre en automne la décontamination des moules est proportionnelle au temps et est beaucoup plus importante. La demi-vie biologique se situe entre le 29^{ème} et le 30^{ème} jour chez les deux lots de moules testées (L2 et L4) (fig. 69).

En hiver, malgré la courte durée de la décontamination, 12 jours ont été suffisants pour que les moules du lot L1 relarguent 50% du Zinc qu'elles ont accumulées auparavant (Tableau 36).

Il apparaît donc que c'est au printemps, que la cinétique de décontamination est la plus lente, alors qu'elle est beaucoup plus rapide et plus importante en automne-hiver.

Ces résultats laissent suggérer que pendant le printemps, l'intensité de l'activité métabolique des protéines et de leur synthèse, favorise la rétention du Zn chez la moule. La décontamination est par conséquent très lente.

Chez *Mytilus edulis*, la variation saisonnière des teneurs en Zn tissulaire est liée à une variation de croissance du soma même si des variations d'origine germinale existent aussi (LOBEL, et WRIGHT, 1982). Cette interprétation resterait valable aussi chez la Dreissène, chez qui la synthèse des matières de réserve (les protéines en particulier) est plus intense au printemps (TOURARI, 1988).

Chez les mollusques en général, la rétention métallique due à la fixation des métaux lourds sur des sites et des ligands intracellulaires peut impliquer la présence des métalloprotéines et/ou des granules inorganiques (GEORGE et PIRIE, 1980; ROESIJADI, 1980; MARTOJA et MARTOJA, 1984). Parmi ces protéines, les métallothionéines jouent un rôle fondamental de détoxification

intracellulaire chez les mollusques contaminés par le Zinc (COSSON, 1987), ou le Cadmuim (BOUQUEGNEAU et al., 1984).

En effet chez *Murex trunculus* (Gastéropode), BOUQUEGNEAU et al., (1984) montrent que la fixation du Cd sur les métallothionéines est plus importante au mois d'avril (printemps) qu'au mois d'octobre (automne). Cette dynamique saisonnière peut être expliquée soit par une activation de ces protéines, soit par une accélération de leur synthèse métabolique.

Pendant la décontamination, les métaux lourds liés aux métallothionéines peuvent être libérés à nouveau, pour être redistribués entre des apoenzymes appropriées ou être excrétés au niveau rénal après leur dégradation cellulaire (VIARENGO, 1985).

Dans nos résultats analytiques dans les parties molles et dans les branchies nous n'avons déterminé aucune corrélation entre l'augmentation des charges en Zinc et les teneurs en protéines thermosensibles soufrées (PTS) assimilées aux métallothioniènes. Ces tissus contiennent toujours une quantité moyenne de 180 mg PTS/kg de poids frais qui dépasse souvent les 200 mg/kg dans les branchies.

Le rôle de ces PTS dans la fixation du Zn accumulé chez la dreissène, n'est pas encore vérifié. Ceci nécessite dans la suite du travail, l'isolement de ces protéines et l'identification de leurs caractéristiques biochimiques et physicochimiques (structure primaire, poids moléculaire, absorption en ultraviolet, pH iso-électrique) pour vérifier s'il s'agit ou non de métallothionéines. Ces éléments de réponse sont nécessaires pour mieux comprendre la dynamique saisonnière de contamination et de décontamination chez la dreissène.

Pendant les 28 jours de décontamination le taux de mortalité cumulé des moules témoins est de 6,7% alors qu'il dépassent largement les 20% (Tableau 37) surtout chez les moules ayant été contaminées par des doses supérieures ou égales à 1ppm de Zinc. Cette contamination les a fragilisées.

V.1.2. Effet de l'EDTA

Nous avons procédé à la technique de transplantation. Deux lots de moules, qui ont été contaminé pendant 36 jours

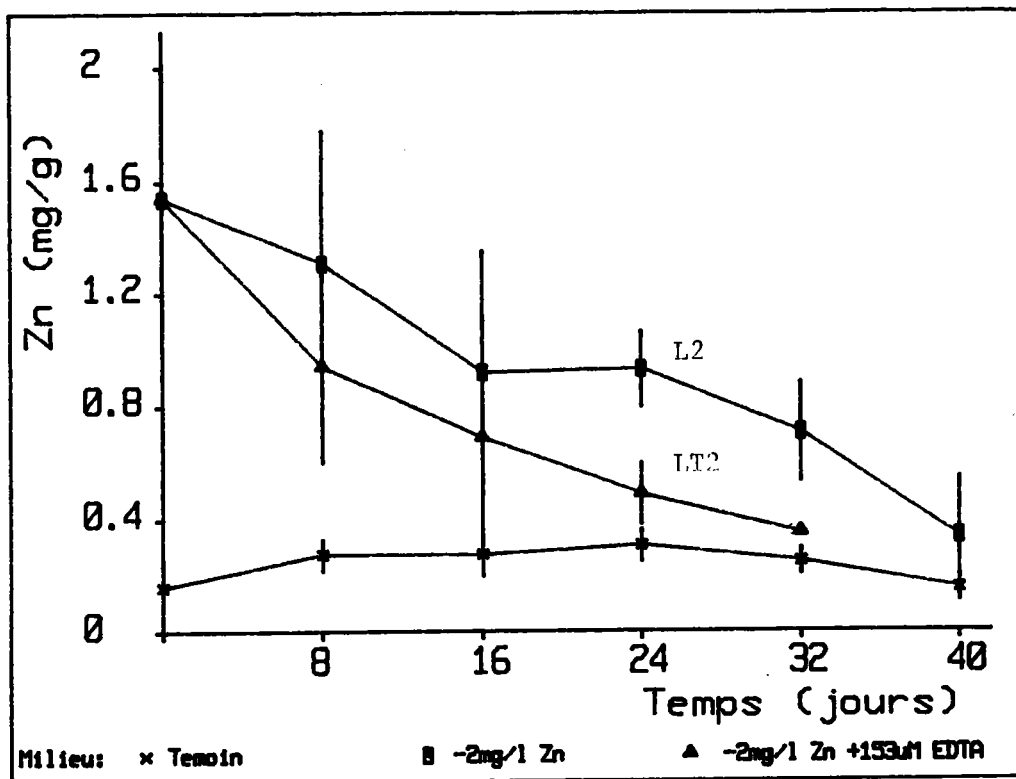


Fig. 70:

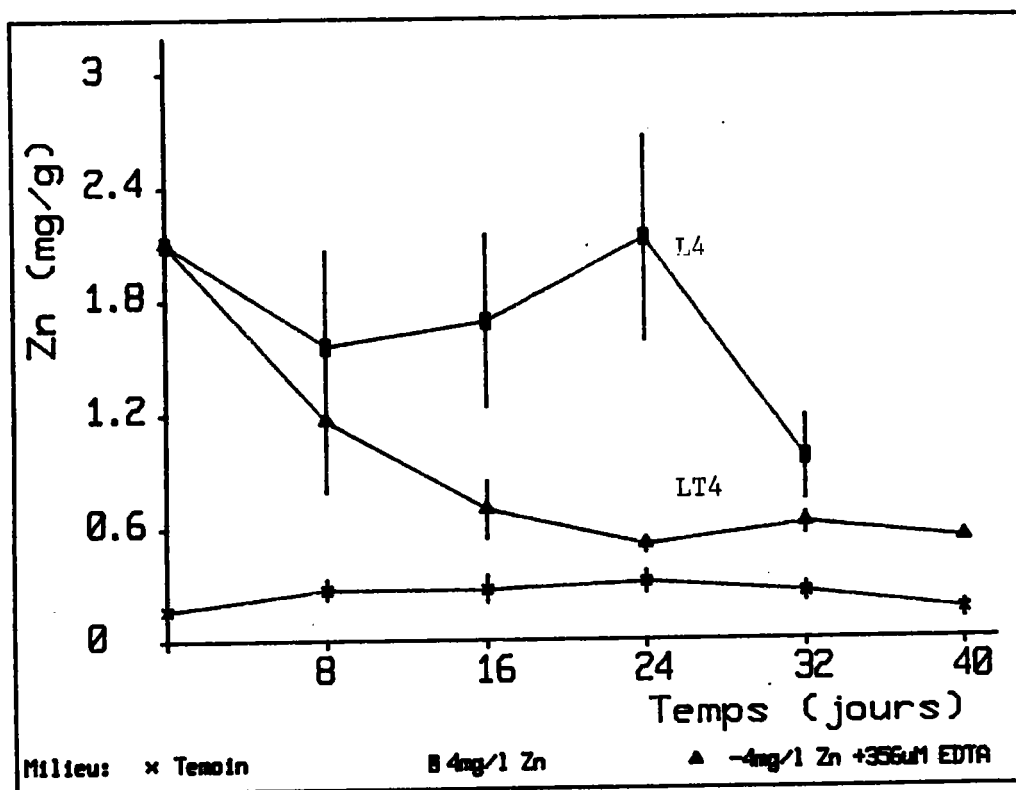


Fig. 71:

Fig. 70-71: Effet de l'EDTA sur la Cinétique de relargage du Zinc chez la Dreissène.

respectivement en présence de 2 et 4ppm de Zn, ont servi à fournir les lots de moules transplantés dans l'eau déchlorée non contaminée suivant les modalités ci-dessous:

	<u>Contamination</u>	<u>Décontamination</u>
Lot L2 :	avec 2ppm Zn	dans l'eau déchlorée
Lot L4 :	" 4ppm Zn	" " "
Lot LT2:	" 2ppm Zn	" " " + 155uM EDTA
Lot LT4:	" 4ppm Zn	" " " + 355uM EDTA

Les figures 70 -71 montrent qu'en présence de l'EDTA, le relargage du Zn par les moules est beaucoup plus important qu'en son absence. La demi-vie biologique calculée à partir des taux de relargage au 32^{ème} jour, est de 29,5 jours chez les moules des lots L2 et L4, et baisse à 22,5 et 20,5 jours respectivement chez les lots LT2 et LT4.

En présence du complexant, les coefficients de variation obtenus pour les données analytiques du Zn, sont plus faibles. En absence de complexants, le Zinc qui reste adsorbé sur la partie molle et les filaments de byssus, constitue une source majeure de variation. L'élimination de ce Zinc par sa complexation permet une réduction de la variation interéchantillons.

V.1.3. Effet de la température

La transplantation des moules qui ont été contaminées pendant 15 jours à 1ppm, dans des milieux de décontamination à différentes températures a permis d'obtenir les 4 lots suivants:

Lot L15 :	Moules contaminées à +15°C	} <u>Décontamination à +15°C</u>
" LT15:	" " " à +20°C	
" LT20:	" " " à +15°C	} <u>Décontamination à +20°C</u>
" L20 :	" " " à +20°C	

Quelle que soit la température du milieu de contamination ou de décontamination, la cinétique de relargage ne montre pas de

Témoïn				Moules contaminées par 2ppm de Zinc Lot LT20				Lot L15			
Décontami- nation à : 20°C				20°C				15°C			
Temps/ Jours	m + s mg/kg	CV %		m + s mg/kg	CV %			m + s mg/kg	CV %		
D	0	140.6 ± 32.0	22.8	465.9 ± 9.7	2.1			465.9 ± 9.7	2.1		
T											
X.	4	151.1 ± 6.4	4.3	512.6 ± 37.6	7.3			525.5 ± 153.5	29.3		
	8	158.7 ± 0.0	0.0	342.9 ± 06.5	31.1			553.0 ± 81.3	14.7		
	12	142.9 ± 28.5	19.9	421.7 ± 04.1	24.7			523.8 ± 96.8	18.5		

Tableau 38

Témoïn				Moules contaminées par 2ppm de Zinc Lot L20				Lot LT15			
Décontami- nation à : 20°C				20°C				15°C			
Temps/ Jours	m ± s mg/kg	CV %		m ± s mg/kg	CV %			m ± s mg/kg	CV %		
D	0	140.5 ± 32.0	22.8	541.1 ± 48.7	9.0			541.1 ± 48.7	9.0		
T											
X.	4	151.1 ± 6.4	4.3	619.2 ± 160.5	25.9			553.4 ± 236.5	42.7		
	8	158.7 ± 0.0	0.0	383.3 ± 32.2	8.4			654.4 ± 84.5	12.9		
	12	142.9 ± 28.5	19.9	404.4 ± 49.6	12.3			441.9 ± 59.3	13.4		

Tableau 39

Tableaux 38-39 : Evolution des teneurs en Zinc chez les moules en décontamination à 15 et à 20°C.

Lot L15 : Moules contaminées à +15°C } Décontamination à +15°C
 " LT15: " " à +20°C
 " LT20: " " à +15°C } Décontamination à +20°C
 " L20 : " " à +20°C

Temps/ Jours	Témoïn			Moules contaminées					
				Lot L1NN			Lot L2NN		
	Moyenne mg/kg	s mg/kg	CV %	Moyenne mg/kg	s mg/kg	CV %	Moyenne mg/kg	s mg/kg	CV %
D 0	178.6	5.8	3.2	1290.0	14.1	1.1	1576.5	103.9	6.6
T 6	282.1	65.7	23.3	880.4	74.8	8.5	1490.0	130.0	8.7
X 12	156.5	25.9	16.5	640.4	14.0	2.2	1606.5	82.5	5.1

Tableau 40 : Evolution des teneurs en Zinc chez les moules non nourries en fonction du temps de décontamination (DTX).

Temps/ Jours	Témoïn			Moules contaminées					
				Lot L1N			Lot L2N		
	Moyenne mg/kg	s mg/kg	CV %	Moyenne mg/kg	s mg/kg	CV %	Moyenne mg/kg	s mg/kg	CV %
D 0	229.8	87.4	38.0	988.0	24.0	2.4	1399.5	83.0	6.6
T 6	193.6	5.0	2.6	835.5	192.1	23.0	1150.0	170.0	14.8
X 12	120.0	15.8	13.2	663.3	51.6	7.8	922.8	254.7	27.6

Tableau 41 : Evolution des teneurs en Zinc chez les moules nourries en fonction du temps de décontamination (DTX).

L1NN: lot non nourri ayant été contaminé avec 1ppm de Zinc
L1N : " nourri " " " " 1ppm de Zinc
L2NN: " non nourri " " " " 2ppm de Zinc
L2N : " nourri " " " " 2ppm de Zinc

différence significative ($p = 0,95$) (Tableau 38-39). Les taux de relargage varient entre 0 et 20%, or les coefficients de variation dépassent souvent les 20%.

V.1.4. Effet de la nourriture:

Des moules ayant été contaminées pendant 21 jours, ont été mises dans l'eau déchlorée non contaminée. Les conditions trophiques sont maintenues identiques pendant la contamination et la décontamination à savoir la fourniture pendant 4 heures toutes les 48 heures à une solution algale de *Chlorella vulgaris* 10^6 cell./ml .

Nous avons ainsi ces 4 lots de moules suivants:

L1NN:	lot non nourri	ayant été contaminé	avec	1ppm	de Zinc
L1N :	"	nourri	"	"	" 1ppm de Zinc
L2NN:	"	non nourri	"	"	" 2ppm de Zinc
L2N :	"	nourri	"	"	" 2ppm de Zinc

Les tableaux 40-41 montrent qu'après 12 jours de décontamination, les moules du lot L1N, relarguent environ 32% contre 50% chez celles du lot L1NN. Chez les moules L2N et L2NN, la décontamination est presque nulle.

Pour la vérification d'une éventuelle interaction entre le facteur "nourriture" et le facteur "teneurs en Zn dans le milieu de contamination", nous avons suivi l'évolution du relargage du Zinc en fonction des trois variables: le facteur "temps de relargage" (X_1 : 0, 6 et 12 jours), le facteur "teneur en Zinc dans le milieu de contamination" (X_2 : 0, 1 et 2ppm) et le facteur "nourriture" (X_3 : présente ou absente). L'équation de régression obtenue est la suivante:

$$Y = 797,96 + 582,1 X_2 - 129,4 X_1 - 35,5(X_2^2 - 0,7)X_3.$$

Dans cette équation :

*- Le facteur "Temps" (X_1), apparait avec un coefficient négatif et traduit donc l'évolution du relargage avec une prolongation du temps de séjour des moules dans le milieu de décontamination.

*- Le facteur "teneur en Zn dans le milieu de contamination" (X_2), dont le coefficient est positif, signifie que les moules

Milieu		Zn : 0,325 mg/l Pb : 0 "			Zn : 0,325 mg/l Pb : 0,5 "			Zn : 0,325 mg/l Pb : 1 "		
Temps/ Jours		m mg/kg	s	CV %	m mg/kg	s	CV %	m mg/kg	s	CV %
D	0	404.0	93.6	23.2	240.0	65.5	27.3	271.8	23.6	8.7
T										
X.	4	335.6	3.8	1.1	309.8	66.3	21.4	249.1	4.8	1.9
	8	316.8	7.0	2.2	274.1	97.9	35.2	235.7	51.5	21.6
	12	348.3	61.7	17.7	236.6	64.1	27.1	274.0	12.3	4.5

Tableau 42

Milieu		Zn : 1 mg/l Pb : 0 "			Zn : 1 mg/l Pb : 0,5 "			Zn : 1 mg/l Pb : 1 "		
Temps/ Jours		m mg/kg	s	CV %	m mg/kg	s	CV %	m mg/kg	s	CV %
D	0	541.1	48.7	9.0	555.7	71.4	12.8	512.5	34.0	6.6
T										
X.	4	619.2	160	25.9	451.4	136.1	30.2	377.4	68.4	18.1
	8	383.3	32.2	8.4	291.7	28.2	9.7	286.5	7.7	2.7
	12	404.4	49.6	12.3	396.3	92.7	23.4	369.4	111.1	30.1

Tableau 43

Tableaux 42-43 : Relargage du Zinc chez les moules ayant été contaminées avec le Zinc et le Plomb.

contaminées avec la plus faible teneur en Zn et qui en contiennent le moins dans leurs tissus au début de la décontamination, relarguent plus rapidement.

*- Le facteur "Nourriture" (X_3), pris tout seul ralentit le relargage. Toutefois, il existe une interaction négative et significative entre ce dernier facteur et le facteur "teneur en Zn dans le milieu de contamination" (X_2). Cette interaction signifie qu'une augmentation de la teneur en Zn dans le milieu de contamination, agit dans le sens d'une augmentation de la décontamination chez les moules nourries, et d'une diminution chez les non nourries. Cette interaction explique statistiquement l'importance du taux de relargage chez les moules L1NN par rapport à celles du lot L1N, L2NN et L2N. Chez ces deux derniers lots, la décontamination est nulle.

V.1.5. Effet du Plomb

Nous avons suivi la cinétique de relargage chez des moules qui ont été contaminées pendant 15 jours en présence du Zinc associée ou non à 0,5 ou à 1ppm de Plomb. Le milieu de décontamination ne contient pas de métal (ni Zn, ni Pb); il s'agit donc d'étudier l'impact des charges en plomb dans les tissus de moules, sur la cinétique de relargage du Zinc pendant la phase de décontamination.

Le tableau 42-43 ne présente aucune différence significative ($p= 0,95$) quant à l'effet du Pb. Le taux de décontamination ne dépend que des charges en Zinc dans les tissus; il est de 25 à 28% chez les moules ayant été contaminées avec 1ppm de Zinc, par contre il est nul chez celles ayant été contaminées avec 0,325ppm de Zinc.

V.1.6. Discussion

La technique de transplantation a permis de mettre en évidence l'effet de l'EDTA qui accélère le relargage du Zn accumulé par les moules préalablement contaminées, ce qui rejoint notre conclusion concernant la possibilité pour ce complexant organique

de mobiliser les oligo-éléments (Zn, Fe, Ca,...) de l'organisme (chap. III-1-2).

Le même effet de l'EDTA a été démontré chez *Mytilus edulis* par GUTIERREZ-GALINDO (1980b) et chez *Crassostrea virginica* par VAN DOLAH et al. (1987) en ce qui concerne le cadmium.

La cinétique du relargage est ralentie en présence de nourriture. L'importance de cet effet dépend considérablement des charges tissulaires initiales en Zinc, du fait de l'interaction négative entre la nourriture et la teneur en Zinc avec laquelle les moules ont été contaminées pendant la phase de contamination. Cette interaction agit plutôt dans le sens d'une accélération de la décontamination chez les moules nourries.

Par contre, la température du milieu et les teneurs en Pb dans les tissus de moules n'ont aucun effet significatif sur la cinétique de décontamination.

Chez *Crassostrea virginica*, VAN DOLAH et al. (1987) ont pu montrer que le relargage du Cadmium augmente avec la température.

Il faut noter que lors de la décontamination, nos résultats analytiques des teneurs en Zn dans les moules présentent une variation standard forte ($20 < CV\% < 30$), voir très forte ($CV\% > 30$) suivant la classification de SCHAFFER et al. (1987). Ceci s'explique par plusieurs sources de variations:

- *- Chez les bivalves il existe une grande variabilité inter-individuelle de la capacité de rétention métallique à cause de la existence d'individus les uns dits "bons régulateurs" et les autres "grands accumulateurs" (LOBEL et WRIGHT, 1982). Leur influence peut être diminuée en augmentant l'effectif des échantillons.

- *- L'hétérogénéité du sex-ratio des individus de chaque échantillon, peut introduire aussi une variation importante (LOBEL, 1987).

- *- Indépendamment des facteurs écologiques, les branchies et les reins constituent une source majeure de variation des analyses dans les parties molles totales, variation qui peut atteindre 70% chez *Mytilus edulis* (LOBEL, 1987). Ceci montre la nécessité de faire des suivis sur les organes isolés lorsque cela est possible.

- *- Dans ce travail, nous avons déterminé que la diminution du poids surtout chez les moules non nourries, implique une suresti-

Tissus	PMT		Manteau		Branchies		Byssus		Reste	
Temps/ Jours	T	Cont.	T	Cont.	T	Cont.	T	Cont.	T	Cont.
D 0	261,5	541,1	152,8	648,3	171,3	587,0	806,3	5577	61,7	287,4
T										
X. 12	173,7	337,9	93,3	363,9	124,9	390,4	nd	76380	83,4	245,4

Tableau 44 : Relargage du Zinc par les différentes fractions de la partie molle chez des Dreissènes témoins (T) et contaminées (Cont.) par 2ppm Zinc .

PMT : partie molle totale.

mation des charges zinciques dans les tissus. A partir d'un certain poids critique (50mg), une augmentation supplémentaire de la dispersion des résultats, d'origine purement analytique, vient s'y ajouter (chap. III.7.2.1).

*- Pour pouvoir tester l'effet des facteurs externes (biotiques ou abiotiques) sur la cinétique de décontamination, il faut procéder à la technique de transplantation qui permet de fournir des lots de moules qui ont vécu dans les mêmes conditions de contamination. Ces lots sont donc homogènes et méthodologiquement comparables. La prolongation de la période de décontamination et le choix de conditions trophiques optimales sont aussi nécessaires pour pouvoir observer les effets qui n'apparaissent qu'à long terme.

V.1.7. Relargage par les organes (Tableau 44)

Après 12 jours de décontamination, les branchies et surtout le manteau relarguent les plus fortes teneurs en Zn, soit respectivement 33,5% et 43,6% de leur teneur métallique initiale.

Chez les invertébrés aquatiques, les branchies et le manteau possèdent deux voies de relargage des métaux lourds; une vers le milieu externe et l'autre vers l'hémolymphe qui les transporte vers les organes de stockage et d'excrétion, principalement l'hépatopancréas et les reins (BROWN, 1978; LOBEL, 1987) mais le flux vers le milieu externe est beaucoup plus important (WAIWOOD et al., 1987).

Le taux de relargage du Zn par la partie molle totale est intermédiaire entre celui des branchies et celui du manteau: 37,6%.

Au niveau de la partie "reste", la décontamination est trop faible: 14,6%, ce qui peut être expliqué par la présence d'organes à grand pouvoir de stockage ou de concentration de Zn, l'hépatopancréas et les reins en sont un bon exemple (BROWN, 1982).

Par contre au niveau du byssus, les teneurs en Zn continuent toujours à augmenter. On pense que ce Zn a pour origine la glande byssale qui joue ainsi un rôle épurateur, comme c'est le cas du relargage du Fer chez *Mytilus edulis* (GEORGE et al., 1976).

Milieu	Témoins			Moules contaminées					
				1ppm Zn			2ppm Zn		
temps/jours	m	s	CV%	m	s	CV%	m	s	CV%
0	63,7	4,0	6,2	355,6	20,9	5,9	263,2	31,5	12,0
12	92,2	8,6	9,3	211,3	4,4	3,0	264,8	4,9	1,9
TE %	-			40,6 %			0 %		

Tableau 45

Milieu	Témoins			Moules contaminées		
				2ppm Zn		
temps/jours	m	s	CV%	m	s	CV%
0	24,5	10,5	43,0	195,1	14,1	7,2
16	21,4	3,0	13,9	156,2	18,7	11,9
TE %	-			19,9 %		

Tableau 46

Tableau 45-46 : Relargage du zinc adsorbé sur les coquilles de moules à 20

TE % : Taux d'élimination (%)

Pour les organes, nous avons fait nos analyses sur un seul échantillon à chaque fois, ce qui ne nous permet pas de discuter le degré de variabilité. La comparaison avec les données des autres auteurs est par conséquent faite à titre indicatif.

V.2. Relargage du Zinc par la coquille

V.2.1. Dynamique du relargage

Après une contamination à 1ppm et à 2ppm de Zn, les moules sont remises dans l'eau déchlorée non contaminée.

Le taux de relargage du Zn par les coquilles est très variable, et se situe entre 0 et 40% de la teneur initiale, après 12 jours de décontamination pour un premier essai, et entre 0 et 20% après 16 jours de décontamination pour un deuxième essai (tableau 45-46)

V.2.2. Effet de l'EDTA:

Des moules qui ont été contaminées à 2ppm de Zn pendant 36 jour, sont partagées en deux lots; l'un qui subit 32 jours de décontamination dans l'eau déchlorée et l'autre la même durée en présence de 155uM d'EDTA .

La figure 72 montre que les coquilles relarguent 65% du Zn en présence de l'EDTA, contre 45% en l'absence de ce complexant. Cette cinétique n'est pas constante dans le temps, c'est pendant les 8 premiers jours que les coquilles libèrent la plus grande quantité de métal.

Chez les témoins, le taux de Zn de la coquille est resté constant en présence de l'EDTA: 10 mg/kg même après 68 jours d'exposition, ce qui prouve bien qu'il s'agit de métal lié structuralement aux valves (chap.III-2-2).

V.2.3. Effet de la température:

Après une contamination par deux 2ppm de Zinc de deux lots de moule, un à 15°C et l'autre à 20°C, nous avons procédé à une

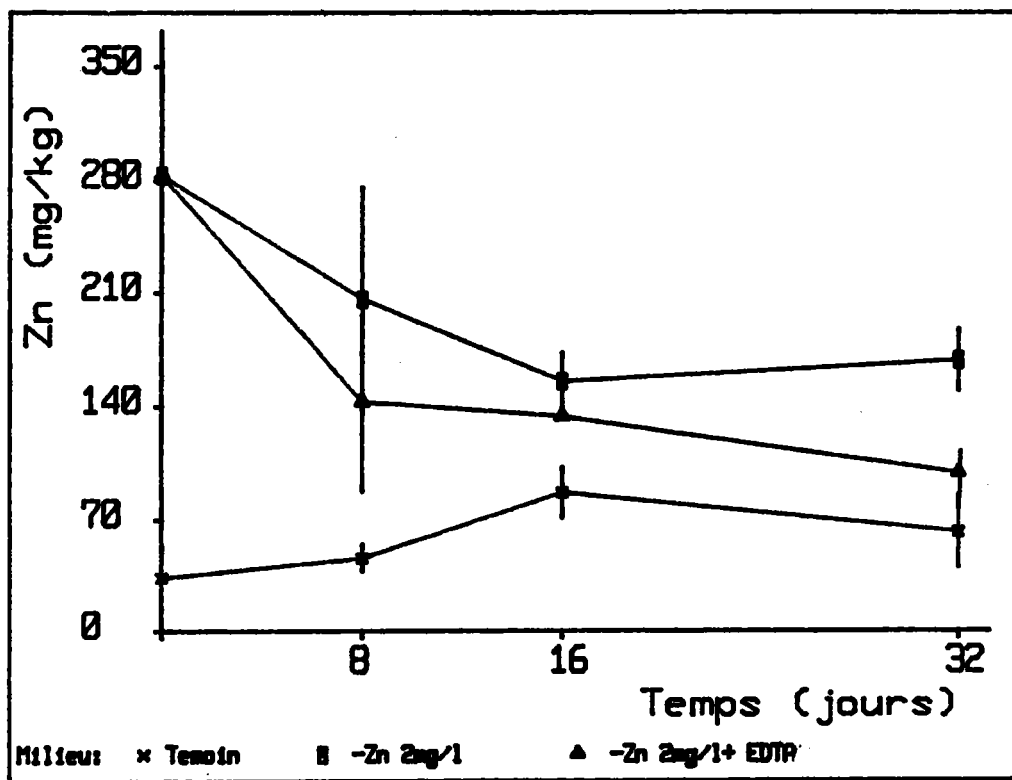


Fig. 72: Effet de l'EDTA sur la cinétique de relargage du Zinc adsorbé sur les coquilles chez la Dreissène

transplantation des moules de chaque lot dans un milieu non contaminé à 15 ou à 20°C:

Lot L15 : Moules contaminées à +15°C

" LT15: " " à +20°C } Décontamination à +15°C

" LT20: " " à +15°C

" L20 : " " à +20°C } Décontamination à +20°C

Le tableau 47 montre qu'après 16 jours de décontamination, les coquilles relarguent environ 20% de leur teneur initiale en Zn à +20°C et 27% à +15°C. Les résultats montrent une grandes variations.

Contamination 20°C			15°C			
Décontami- nation 20°C		15°C	15°C		20°C	
Temps/ Jours	m ± s mg/kg	CV %	m ± s mg/kg	CV %	m ± s mg/kg	CV %
0	170.3 ±14.8	8.6	170.3 ±14.8	8.6	121.6 ± 1.6	1.3
8	147.1 ±22.7	15.4	104.6 ±25.2	24.1	147.3 ± 8.7	5.9
12	184.1 ±25.9	14.1	183.5 ±46.4	25.3	80.8 ±29.2	36.1
16	226.4 ±99.9	44.1	124.6 ±43.4	34.8	121.6 ±38.2	31.4
					137.4 ±57.3	41.7

Tableau 47 : Effet de la température du milieu sur la cinétique de décontamination des coquilles chez des moules ayant été contaminées à 2ppm de Zinc.

CONCLUSIONS

&

PERSPECTIVES

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Nos résultats peuvent être regroupés autour de 8 thèmes principaux:

- *- Dynamique du Zinc dans le milieu de contamination.
- *- Toxicité du Zinc vis-à-vis de la Dreissène.
- *- Méthode analytique du dosage du Zn dans la partie molle.
- *- Cinétique d'accumulation métallique .
- *- Distribution tissulaire du Zinc.
- *- Mise en évidence de protéines de types métalloprotéines (PTS) dans les tissus de la Dreissène.
- *- Cinétique de relargage métallique.
- *- Effets des facteurs externes sur la contamination et la décontamination.

Ces résultats ont permis d'obtenir les conclusions suivantes:

DYNAMIQUE DU ZINC DANS LE MILIEU:

Le suivi de la cinétique du Zinc dans le milieu de contamination a permis d'évaluer l'importance des pertes métalliques dans les premières heures qui suivent la contamination. Ces pertes sont dues au transfert du Zn du compartiment "eau" au compartiment "surface du dispositif expérimental" par sa précipitation et son adsorption sur les surfaces. A l'équilibre, seuls 20 à 40 % restent en solution.

La complexation du Zn par l'EDTA permet de remettre en solution la totalité du Zn précipité ou adsorbé, alors qu'une diminution de la température de +20 à +12°C n'augmente que de très peu la fraction métallique soluble: 10% au maximum.

TOXICITE DU ZINC VIS-A-VIS DE LA DREISSENE:

La contamination des moules par le Zn entraîne une mortalité proportionnelle au temps d'exposition et aux teneurs testées, la CL50_{28j} est de 10,881 mg/l. Cette toxicité est fortement réduite par complexation du Zn avec l'EDTA, la CL50_{28j} augmente alors à

17,713 mg/l. Ces valeurs de CL50 sont exprimées en terme de Zn total initialement présent dans le milieu. Or la concentration chute avec le temps et tout le métal n'est pas réellement toxique et biodisponible.

METHODE ANALYTIQUE DU ZINC DANS LA PARTIE MOLLE:

Nous avons mis au point la méthode analytique du Zinc dans la partie molle. Chaque étape de la phase de minéralisation (temps et volume d'acide; poids sec des échantillons) et de préminéralisation (temps et milieu de stabulation) présente une influence non négligeable sur les résultats analytiques du Zinc. Cette optimisation du mode opératoire nous a permis d'éliminer la totalité du Zinc adsorbé sur la partie molle qui est de l'ordre de 250mg/kg, en un minimum de temps de stabulation dans l'eau déchlorée (24 heures). Elle nous a aussi permis de réduire la variation inter-échantillon, d'une variation standard très forte ($CV\% > 30\%$) à une variation standard moyenne ($10\% < CV\% < 20\%$) ou faible ($CV\% < 10\%$).

CINETIQUE DE CONTAMINATION DE LA PARTIE MOLLE (Fig. 73):

Au niveau de la partie molle, la contamination se traduit par une accumulation de quantités proportionnelles au temps et aux concentrations de contamination. La cinétique de cette accumulation varie au cours des différentes saisons de l'année. Au printemps cette cinétique est exponentielle et diphasique, le transfert du Zn du milieu vers les tissus est donc très rapide. Après 28 jours d'exposition, le facteur de concentration (FC) est de 6350 en présence de 1ppm de Zn dans le milieu, mais baisse à 5210 en présence de 2ppm à cause des pertes métalliques dans le milieu. Par contre en hiver-automne, ce transfert est beaucoup plus lent avec une cinétique à tendance asymptotique. En automne le plateau de saturation est atteint dès le 16^{ème} jour d'exposition après une accumulation de 1550mg/kg soit un FC de 2950.

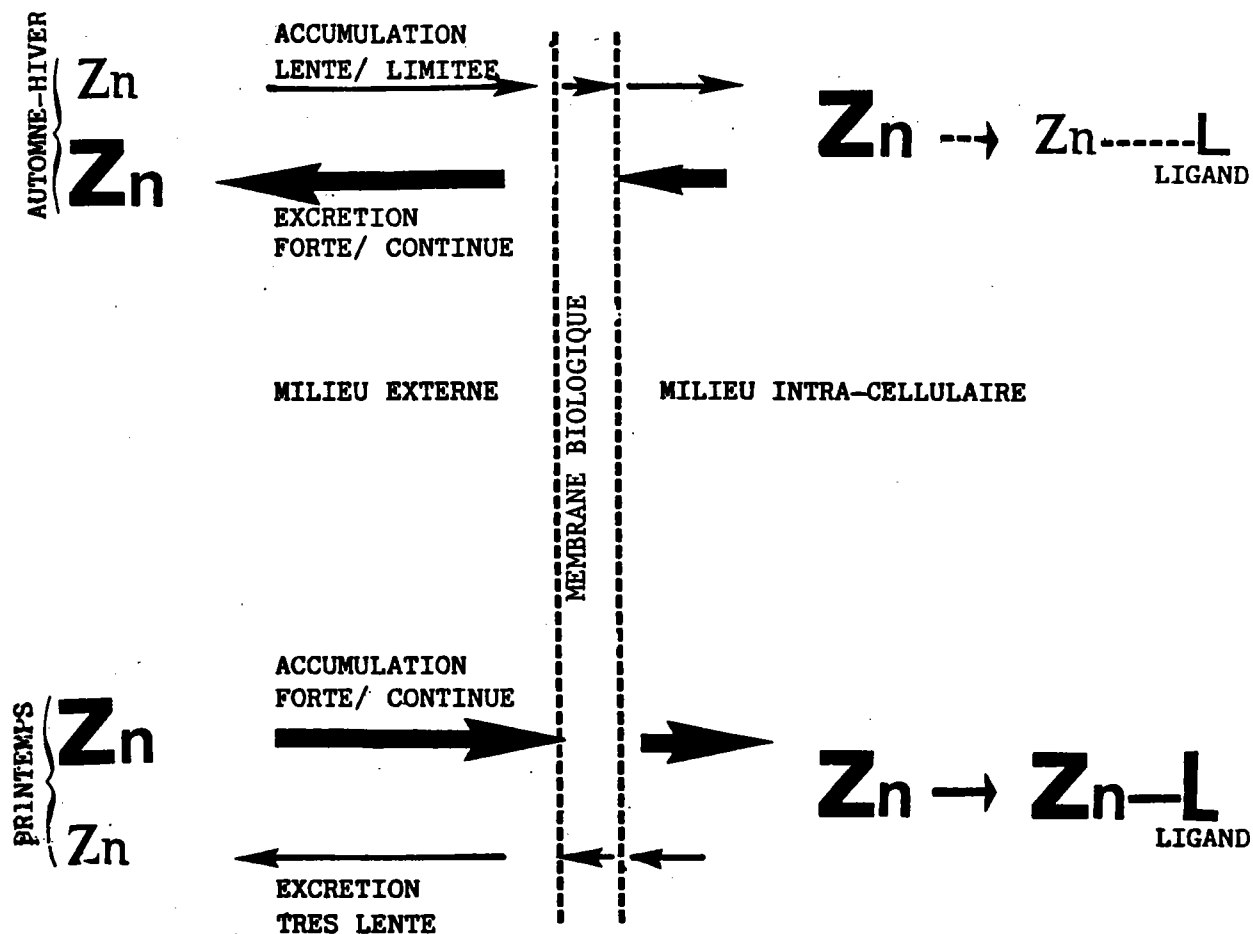


Fig. 73 : Variation saisonnière de la cinétique de bioaccumulation et du relargage du Zinc chez la Dreissène.

DISTRIBUTION TISSULAIRE DU ZINC (Fig. 74):

La distribution du Zn dans la partie molle montre que les plus fortes teneurs sont détectées dans le byssus, fort probablement à cause de l'adsorption métallique sur ses filaments. Les FC ont permis de classer le pouvoir accumulateur des organes dans l'ordre décroissant suivant : Byssus > Manteau > Branchies > Partie molle totale > Reste de la masse viscérale.

L'histochoimie a permis de localiser le Zinc dans l'épithélium du manteau, des branchies, des palpes labiaux, de la bosse de polichinelle et de l'intestin, dans les granulocytes circulants, les épithéliums et les lumières des diverticules rénaux distaux et proximaux, en fin dans la lumière des tubes de l'hépatopancréas.

In situ les Dreissènes contaminées montrent plusieurs cas pathologiques qui diffèrent suivant l'époque de l'année et suivant le sexe des individus (LEGLIZE et CROCHARD, 1987). Ces malformations touchent la lignée germinale en premier lieu.

Une corrélation a pu être établie entre la contamination et l'abondance de la sécrétion du mucus au niveau du manteau, des branchies et des palpes labiaux. Ce mucus fixe une quantité importante de Zinc par adsorption (Fig. 74) dont une partie est éliminée pendant la stabulation.

ADSORPTION DU ZINC AU NIVEAU DE LA COQUILLE:

Au niveau de la coquille, la fixation du Zn se fait par simple adsorption sur les surfaces valvaires. La cinétique de cette fixation est très fluctuante avec une saturation qui dépend du temps d'exposition et des teneurs de contamination. Les valeurs maximales obtenues sont de l'ordre de 340 ± 55 mg/kg après 36 jours d'exposition à 2ppm de Zn dans le milieu.

CINETIQUE DE DECONTAMINATION (Fig. 73):

Pendant la phase de décontamination, la Dreissène relargue le Zn accumulé auparavant suivant une cinétique variable selon les saisons. Au printemps ce relargage métallique est presque nul, il y a une forte rétention tissulaire du métal. Par contre en hiver

B Branchies

BY Byssus

C Coquille

H Hépathopancréas

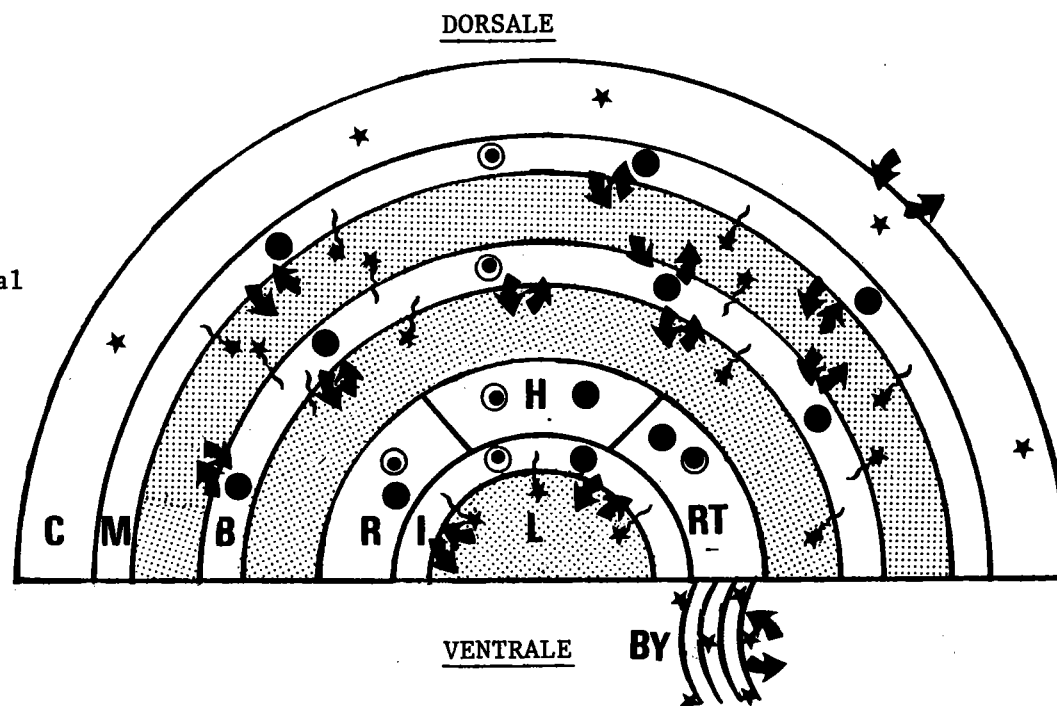
I Epithélium intestinal

L Lumière du tube intestinal

M Manteau

R Reins

RT Reste de la masse viscérale



...Eau du milieu

★...Zn adsorbé

●...Zn absorbé

⊙...Granulocyte chargé en Zn

~~~~Mucus

↕ Echange direct du Zinc entre le milieu et les tissus.

Fig. 74: Distribution tissulaire du Zinc adsorbé (★) et absorbé (●) par voie directe chez la Dreissène.

et en automne, la décontamination est beaucoup plus rapide et non régulière dans le temps. La demi-vie biologique est de 29,5 jours en automne.

Le taux de relargage du Zinc est plus important au niveau des branchies et surtout au niveau du manteau qui libère 43,6% de sa teneur métallique initiale en 12 jours. Cependant ces résultats sont préliminaires car les analyses n'ont été faites que dans un seul échantillon à chaque fois.

La coquille libère 20 à 45 % du Zinc adsorbé après 21 jours de décontamination. Ces taux dépendent des charges métalliques initialement adsorbées sur les valves.

#### EFFETS DES FACTEURS EXTERNES (Tableau 48):

L'effet des facteurs biotiques et abiotiques sur la contamination et la décontamination de la partie molle, révèle une complexité écotoxicologique extrême, due à la multitude des interactions existant entre ces facteurs. Pour mettre en évidence l'effet de ces facteurs sur la cinétique de relargage, il a été retenu de travailler sur des lots d'individus ayant subi strictement les mêmes conditions de contamination. Pour cela la technique de transplantation est un moyen méthodologique indispensable, ce qui s'est avéré aussi judicieux est pratique dans les études *in situ* (LEGLIZE et NOURISSON, 1983).

##### - L'EDTA :

L'EDTA annule toute accumulation du Zn par la partie molle et provoque chez les moules témoins une mobilisation des oligoéléments de 50% pour Zn et Ca et de 80% pour Fe. Il y a simultanément une diminution de 50% du pourcentage du poids sec et une augmentation de 22% de la mortalité chez les animaux témoins exposés à 355 uM d'EDTA. Pendant la décontamination l'EDTA accélère le relargage du Zn. Au 40<sup>ème</sup> jour, les moules libèrent la totalité du Zinc qu'elles ont accumulées pendant la phase de contamination : 1550mg/kg.

Au niveau de la coquille, l'EDTA empêche l'adsorption du Zn pendant la contamination, et permet la remise en solution de la totalité du Zn adsorbé sur les coquilles contaminées auparavant.

## Effets des facteurs externes chez la Dreissène

| Processus \ Facteurs | <u>EDTA</u> | <u>Température</u> | <u>Nourriture</u>     | <u>Plomb</u> |
|----------------------|-------------|--------------------|-----------------------|--------------|
| Adsorption du Zn     | --          | +                  | nd                    | nd           |
| Absorption du Zn     | --          | +                  | -                     | -            |
| Relargage du Zn      | ++          | 0                  | $\pm f(\text{Zn ab})$ | 0            |

Tableau 48:

Effets des facteurs du milieu sur la cinétique de fixation et de relargage du Zinc chez la Dreissène.

nd : non déterminé

0 : Pas d'effet

- : Diminution

-- : Inhibition

$\pm$  : Diminution ou augmentation

Zn ab: Zinc absorbé

+ : Augmentation

++ : Forte augmentation

Après 36 jours d'exposition à 355uM d'EDTA, ce complexant n'entraîne aucune décalcification des coquilles et leur teneur en Ca et en Zn demeure constante : 240g/kg et 10mg/kg respectivement.

- La température :

Ce facteur exerce également une toxicité que nous avons évaluée par la  $TL_{50_{48h}}$  dont la valeur est de  $+32,076^{\circ}C$ .

Une augmentation de la température en passant de  $+12$  à  $+15^{\circ}C$  amplifie la bioaccumulation du Zn par la partie molle. A  $+20^{\circ}C$  l'accumulation du métal commence très lentement, puis évolue exponentiellement avec le temps et plus rapidement qu'à faible température.

Au niveau de la coquille, une élévation de la température de  $+15$  à  $+20^{\circ}C$  pendant la phase de contamination augmente de 100 mg/kg la quantité de Zinc adsorbée. Par contre pendant la décontamination, l'effet est beaucoup moins important.

- Le Plomb :

Pendant la phase de contamination, nous avons mis en évidence une interaction intermétallique Zn/Pb. En présence de Pb, on observe un ralentissement de l'accumulation du Zn par les parties molles. Le test de Snedecor a permis de montrer que l'effet de ce facteur chimique est intimement lié au temps d'exposition et aux teneurs de contamination par le Zinc.

Cette contamination simultanée avec Zn et Pb n'entraîne aucun effet appréciable sur la cinétique de relargage du Zn.

- La nourriture :

Chez les moules témoins non nourries, les pertes en poids (% PS/PF) sont de l'ordre de 2% et de 1% chez les nourries. Par contre chez les moules contaminées la nourriture ne réduit pas ces pertes en poids.

L'effet de la nourriture sur la cinétique de contamination et de décontamination métallique est intimement lié au temps d'exposition et aux teneurs métalliques dans le milieu de contamination.

## PROTEINES DE TYPES METALLOTHIONEINES CHEZ LA DREISSENE:

Dans le but de chercher les moyens de défense métabolique chez la Dreissène, nous avons suivi l'évolution des teneurs en protéines de type métallothionéines dites PTS (protéines thermorésistantes soufrées), chez des individus témoins et contaminés par le Zinc. Ce suivi a permis de montrer que dans les conditions expérimentales : contamination à moyen terme (21 jours) avec 2 ppm de Zinc par voie directe (via l'eau), ce métal n'entraîne aucune modification de la composition tissulaire en PTS.

Indépendamment de toute contamination, on détecte toujours plus de protéines dans les branchies (Br) que dans la partie molle totale (PMT) ou dans la partie "Reste" (PMT-Br). Généralement on en détecte davantage dans les branchies des moules non nourries (280 mg/kg) que dans celles des moules nourries (180 à 240 mg/kg).

## PERSPECTIVES ET REFLEXIONS GENERALES:

Dans cette étude, nous avons évoqué le problème de la méthode analytique du Zinc car les différentes étapes du mode opératoire influent énormément sur les résultats. Il est donc nécessaire de standardiser la technique de minéralisation et de préminéralisation dans le cas du dosage des métaux lourds chez les mollusques en général.

Nous avons contribué à la compréhension de la dynamique de contamination de la Dreissène par le Zinc par voie directe (via l'eau). Face à cette agression chimique (contamination métallique), la moule se défend par une sécrétion de mucus limitant l'accumulation et par excrétion du métal accumulé.

Le choix de la Dreissène comme espèce indicatrice de pollution métallique nécessite la prise en considération de la variation saisonnière de la cinétique d'accumulation et du relargage des métaux lourds. Ces deux phénomènes biologiques sont intimement liés aux variations saisonnières du métabolisme général de la Dreissène et à son cycle biologique (Tableau 49).

Les propriétés physico-chimiques du milieu (Température, pH, production primaire, présence ou non de complexants organiques ou/et de plusieurs métaux lourds à la fois) doivent être pris en

| Saison                       | <u>Automne</u>                                                                              | <u>Hiver</u>                                                                               | <u>Printemps</u>                                                                                 |
|------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Cinétique d'absorption       |  Saturante |  Linéaire |  Exponentielle |
| Cinétique de relargage       | Très rapide                                                                                 | Rapide                                                                                     | Très lente                                                                                       |
| Type de pollution            | Pollution à court terme: -16 jours                                                          | Mixte                                                                                      | Pollution à long terme: + 16 jours                                                               |
| Validité de la bioindication | + Risque de sous-estimation                                                                 | Risque de sous-estimation                                                                  | <div>Bonne</div>                                                                                 |

Tableau 49:

Validité de l'utilisation de la Dreissène comme bioindicateur  
dans le cas d'une pollution aquatique par le Zinc



considération dans toute étude écotoxicologique ou d'impact qui utilise la Dreissène comme espèce sentinelle. SECCHI (1984) aboutit à la même conclusion en ce qui concerne la dynamique de contamination de Dreissena par la forme soluble ou insoluble de l'uranium.

Les études de contamination métallique entreprises sur Dreissena montrent l'importance de la prise en considération aussi du facteur biométrique (LEGLIZE et CROCHARD, 1987). Les individus de la classe de taille 20 mm (CL3) accumulent des quantités métalliques plus importantes que les individus de petite taille (<20 mm).

Nos résultats montrent qu'il n'est pas possible d'estimer le degré de pollution en Zinc dans le milieu aquatique à partir des seules charges tissulaires en ce métal; il faut prendre en considération les paramètres physico-chimiques du milieu, et le facteur "saison" influants sur le cycle biologique de l'espèce et ses capacités à bioaccumuler.

Chez les bivalves, en général, il est possible d'obtenir une corrélation meilleure entre la contamination métallique des tissus et la concentration dans le milieu, si on procède aux analyses par organe. Dans ce cas, il faut chercher l'organe qui donne une meilleure indication sur le niveau de contamination que celle fournie par l'organisme entier. En ce qui concerne la Dreissène, la taille de l'animal rend difficile la dissection et l'analyse dans certains organes comme le complexe digestif qui joue un rôle important dans la bioaccumulation métallique (SECCHI, 1984). En tout état de cause, il est cependant possible d'envisager l'établissement d'une grille correspondante aux principaux niveaux de contamination aquatique : Absence, niveau faible, moyen, élevé et très élevé.

Les pertes en poids constituent une source majeur de variation des résultats analytiques inter-échantillons surtout pendant la décontamination, et une surestimation des quantités de métal dans les tissus. Nous pensons que dans le cas du dosage du Zinc dans la partie molle, lorsque le poids sec des échantillons atteint 50 mg et que la variation standard devient très forte ( $CV\% > 30\%$ ), les résultats analytiques perdent toute significativité.

Suite à nos résultats sur les PTS, il est nécessaire d'isoler ce type de protéines pour déterminer leurs propriétés physiques et

biochimiques (poids moléculaire, structure primaire, absorption en ultraviolet,...) pour vérifier s'il s'agit ou non de métallothionéines. Par la suite, il faudra vérifier leur capacité à fixer le Zinc accumulé et si cette capacité et/ou la synthèse métabolique de ces protéines suivent une variation saisonnière.

Il est également indispensable d'approfondir la partie histo-chimique, pour identifier les formes et les organes de stockage du Zinc chez la Dreissène en y associant les techniques micro-analytiques.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

## BIBLIOGRAPHIE

- ABEL P.D., 1976. Effects of some pollutants on the filtration rate of *Mytilus*. Marine pollution biology, 7, 228-231.
- AMIARD-TRIQUET C., BERTHET B., METAYER J.C. & AMIARD C., 1986. Contribution to the ecotoxicological study of Cadmium and Zinc in the mussel, *Mytilus edulis*, II Experimental study. Marine Biology, 92, 7-13.
- ANSELL A.D., 1972. Distribution, growth and seasonal changes in biochemical composition for the bivalve *Donax vittatus* (DA COSTA) from Kames Bay, Millport, J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 45, 105-116.
- ARAKI S., AONO H.A., FUKAHORI M. & TABUKI K., 1984. Behavior of lead and Zinc in plasma, Erythrocytes and urine and ALAD in Erythrocytes following intravenous infusion of CaEDTA in lead workers. Arch. Environ. Health, 39(5), 363-367.
- ARIZON K., ITO T., OTA S. & ARIYOSHI T., 1985. Purification and characterisation of lead-induced Zn thionein in the liver of rats. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 35, 143-148.
- BABICH H., PUERNER J.A. & BORENFREUND E., 1986. *In vitro* cytotoxicity of metals of Blue gill (BF-2) cells. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 15, 31-37.
- BABICH H., SHOPIS C. & BORENFREUND E., 1986. *In vitro* cytotoxicity testing of aquatic pollutants (Cd, Cu, Zn, Ni) using established fish cell lines. Ecotoxicology and Environmental Safety, 11, 91-99.
- BATES S.S., TASSIER A., CAMPBELL P.G.C., 1983. Variation in Zn adsorption and transport during growth of *Chlamydomonas variabilis* (Chlorophyceae) in batch culture with daily addition of Zinc, Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 40 (7), 895-904.
- BATES S.S., TASSIER A., CAMPBELL P.G.C. & LETOURNEAU M., 1985. Zinc-phosphorus interaction and variation in Zinc accumulation during growth of *Chlamydomonas variabilis* (Chlorophyceae) in batch culture. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 42, 86-94.

BAUDIN J.P., 1977a. Etude expérimentale des modalités du transfert du Zn-65 entre les principaux constituants d'un écosystème saumâtre (l'étang de Citis). Rapport CEA-R-4876, Département de protection nucléaire, Centre d'étude nucléaire de cadarache, 183p.

BAUDIN J.P., 1977b. Etude expérimentale des modalités du transfert du Zn-65 entre les principaux constituants d'un écosystème saumâtre (l'étang du Citis). Thèse Doct. ès Sci. Univ. d'AIX-MARSEILLE II, 133p.

BAUDIN J.P., 1982. Bioaccumulation et élimination du Zn-65 par *Gammarus Aequicauda martimov*. Marine Environmental Research, 7, 227-233.

BAUDIN J.P., 1983. Etude expérimentale de la bioaccumulation et de l'excrétion du Zn-65 par un poisson dulçaquicole, *Cyprinus carpio* L.. Acta Oecologica, Oecol. Applic., 4(2), 139-149.

BAUDIN J.P., 1985. Accumulation simultanée par les voies directes et trophiques du Zn-65 par *Cyprinus carpio* L. (Pisces, Cyprinidae). Acta Oecologica, Oecol. Applic., 6(3), 259-268.

BECKER E.W., 1983. Limitation of heavy metal removal from waste water by means of algae. Water Res., 17(4), 459-466.

BELKHADIR E., 1979. Etude sur l'écotoxicologie des hydrocarbures aromatiques légers en milieu dulçaquicole. Thèse d'état, Univ. de Metz, 250 p.

BENYAHIA M., CROCHARD C. & PIHAN J.C., (Sous presse). Toxicité bioaccumulation et relargage du Plomb chez *Dreissena polymorpha*. Effet de l'EDTA et des phosphates. In VII<sup>ème</sup> Congrès de la S.F.M. et Sym. Internat. sur la conchyliculture et l'héliciculture, Renne, 1987.

BIAS R. & KARBE L., 1985. Bioaccumulation and partitioning of cadmium within the freshwater mussel *Dreissena polymorpha* PALLAS. Int. Revue Ges. Hydrobiol., 70(1), 113-125.

BIRGER T.I. & MALAKEVSKAJA A.Y., 1978. Physiological aspects of adaptations of mollusks to abiotic and biotic factors due to blue-green algae. Malacol. Rev., 11(1-2), 100-102.

BLOCK M. & PART P., 1986. Increased availability of cadmium to perfused rainbow trout (*Salmo Gairneri*, Rich) Gills in the presence of the complexing agents diethyl dithiocarbamate, ethyl-xanthate and isopropylxanthate. *Aquatic Toxicology*, 8, 295-302.

BLUST R., VERHEGEN E., DOUMEN C. & DECLEIR W., 1986. Effect of complexation by organic ligands on the bioavailability of Copper to brine shrimps, *Artemia sp.* *Aquatic Toxicology*, 8, 211-221.

BOIS F., 1984. Influence de paramètres physico-chimiques du milieu sur la toxicité des produits chimiques: cas du Zinc et du pentachlorophénol. DEA de Toxicologie, Univ. Metz, 75p.

BORYSLAWSKYJ M., GARROAD T., STANGER M. & PAERSON T., 1988. Role of lipid/water partitioning and membrane composition in the uptake of organochlorine pesticides into a freshwater Mussel. *Marine Environmental Research*, 24, 57-61.

BOUDOU A., 1982. Recherche en écotoxicologie expérimentale sur les processus de bioaccumulation et de transfert des dérivés du Mercure dans les systèmes aquatiques continentaux. Thèse d'é-tat, Univ. de Bordeaux I, 299 p.

BOUQUEGNEAU J.M., MARTOJA M. & TRUCHET M., 1984. Heavy metal storage in marine animal under various environmental conditions, 147-160. In "Toxins, Drugs, and pollutants in marine animals". BOLIS L., ZADUNAISKY J. & GILLES R. édit., Springer-Verlag, New-York.

BOURG A.C.M., 1983. Modélisation du comportement des métaux lourds traces à l'interface solide-liquide dans les systèmes aquatiques. Thèse Doct. ès Sciences, Univ. de Bordeaux I, n°689, 258p.

BOURG A.C.M. & MOUVET C., 1984. A heterogeneous complexation model of the adsorption of trace metals in naturel particulate water. In: Complexation of trace metals in naturel waters, Kramer C.J.M. & DUINKER J.C., (eds), Martinus Nijhoff/Dr Junk Publishers, The Hague/Boston, 1984.

BRADFORD M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of micro-gram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.

BRADLEY R.W., DUQUESNAY C. & SPRAGUE J.B., 1985. Acclimation of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, to Zinc : kinetics and mechanism of enhanced tolerance induction. J. Fish. Biol., 27, 367-379.

BRAUWERS, 1982. Comparaison de la toxicité du Zinc et du Cadmium chez *Chlorella pyrenoidosa*. Bull. Soc. Roy. Bot. Belg., 115, 78-90.

BREITIG G., 1969. Das Molluskenplankton und seine Rolle in der Besiedlung der Binnengewässer. Wasserwirtsch.-Wassertechn., 19(4), 116-118.

BREMOND R. & PERRODON, 1979. Paramètres de la qualité des eaux, Ministère de l'Environnement et du Cadre de vie. Direction de la prévention des pollutions, Services des problèmes de l'eau (2<sup>ème</sup> ed.) 259 p.

BROWN D.A., 1977. Increases of Cadmium and Zinc : Zinc ration in the high molecular weight protein pool from apparently normal liver of Tumor-Bearing Flounders (*Parophrys vetulus*). Marine Biology, 44, 203-209.

BROWN B.E., 1978. Lead detoxification by a copper-tolerant isopod. Nature, 276, 388-390.

BROWN B.E., 1982. The form and function of metal. Containing granules in invertebrate tissues. Biol. Rev., 57, 621-667.

BROWN B.E. & NEWELL R.C., 1972. The effect of Copper and Zinc on the metabolism of the mussel *Mytilus edulis*. Mar. Biol., 16, 108-118.

BRYAN G.W., 1971. The effects of heavy metals others than mercury on marine and estuarine organisms. Proc. R. Soc. Ser. B177, 389-410.

BRYAN G.W. HUMMERSTONE L.G. & WARD E., 1986. Zinc regulation in the Lobster *Homarus Gammarus* : importance of different pathways of absorption and excretion. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 66, 175-199.

CALABRESE A & NELSON D.A., 1974. Inhibition of embryonic development of the hard Clam, *Mercenaria mercenaria*, by heavy metals, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 44(4).

- CARMICHAEL N.G., SQUIBB K.S. & FOWBER B.A., 1979. Metal in the molluscan kidney : a comparison of two closely related bivalves species (*Argopecten*), using X-ray microanalysis and atomic absorption spectroscopy. J. Fish. Res. Board Can., 36, 1149-1155.
- CASTERLINE J.L., GEORGE S.G. & YIP G., 1975. The distribution and binding of cadmium in Oyster, Soybean and Rat liver and kidney. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 3, 319-329.
- CHASSARD-BOUCHAND C., CALMET D., ESCAIG F. & KLEINBAUER F., 1983. Biaccumulation par les moules, *Mytilus edulis* (L) récoltées sur les cotes Françaises de la Manche et contamination expérimentale, Microanalyse par émission ionique secondaire. C.R. Acad. Sc. Paris, t.296, Série III, 1095-1100.
- CHASSARD-BOUCHAUD C. & GALLE P., 1988. Sites cellulaires de concentration du chrome chez la moule *Mytilus edulis* : données préliminaires. Acad. Sci. Paris, t.306, Série III, 467-473.
- CHENG T.C., 1988a. "In vivo" effects of heavy metals on cellular defense mechanisms of *Crassostrea virginica* : phagocytic and endocytotic indices. Journal of Invertebrate Pathology, 51, 215-220.
- CHENG T.C., 1988b. "In vivo" effects of heavy metals on cellular defense mechanisms of *Crassostrea virginica* : total and differential cell counts. Journal of Invertebrate Pathology, 51, 207-214.
- CHENG T.C. & SULLIVAN J.T., 1984. Effects of heavy metals on phagocytosis by molluscan hemocytes. Marine Environm. Research, 14, 305-315.
- COGLIANESE M.P., 1982. The effects of salinity on Copper and Silver toxicity to embryos of the pacific oyster. Arch. Environm. Toxicol., 11, 297-303.
- COLLIN F., 1979. Etude expérimentale de la contamination des eaux par le Cadmium, le Cuivre et le Zinc provenant de la corrosion des matériaux métalliques constituant les circuits de distribution d'eau potable. Institut de recherche hydrobiologique de Nancy, 80-114.
- COOMBS T.L., 1972. The distribution of Zinc in the oyster *Ostrea edulis* and its relation to enzymic activity and to other metals. Marine Biology, 12, 170-178.



COSSON R.P., 1979. Toxicité du cuivre vis-à-vis d'organismes marins. Influence du métal sur les premiers stades de vie. Contamination par l'eau et par la nourriture. Thèse, 3è cycle, Univ. de Pierre et Marie Curie, Paris VI.

COSSON R.P., 1987. Influence des pratiques agricoles sur la contamination des écosystèmes aquatiques par les métaux lourds : approche écotoxicologique. Thèse d'état, Univ. de Paris-Sud (Centre d'Orsay), 440 p.

COSSON M.A., COSSON R. & GAILL F., 1986. Mise en évidence de protéines de type métallothionéine chez deux invertébrés des sources hydrothermales, le pogonophore vestimentifère *Riftia pachyptila* et l'annélide polychète *Atvinella pompejana*. C.R. Acad. Sc. Paris, t.302, Série III, 2, 347-352.

COSSON R.P. & THOMPSON J.A.J., 1983. Utilisation de l'électrode PAR 303 pour la détection et le dosage des métallothionéines dans les tissus d'invertébrés marins. Analysis, 11(1), 33-35.

COTTER A.J.R., PHILLIPS D.J.H. & AHSANULLAH M., 1982. The significance of temperature, salinity and Zinc as lethal factors for the mussel *Mytilus edulis* in a polluted estuary. Marine biology, 68, 135-141.

COUGHTREY P.J. & MARTIN M.H., 1977. The uptake of Lead, Zinc, Cadmium and Copper by the pulmonate mollusc, *Helix aspersa* Muller and its relevance to the monitoring of heavy metal contamination of the environment. Oecologia (Berl.), 27, 65-74.

CRIST R.H., OBERHOLSER K., SHANK N. & NGUYEN M., 1981. Nature of bonding between metallic ions and algal cell walls. Environm. Sc. Technol., 15(10), 1212-1217.

CUTSHALL N., 1974. Turnover of Zn-65 in oysters. Health Physics Pergamon Press, 26, 327-331.

DAUCE F. & HENARD F., 1984. Etude de *Dreissena polymorpha*, bivalve d'eau douce en vue de son utilisation comme bio-indicateur:

- aspect biométrique
- aspect contamination métallique

Mémoire D.A.A., ENSAIA de Nancy.

DAVENPORT J., 1977. A study of the effects of copper applied continuously and discontinuously to specimens of *Mytilus edulis* (L) exposed to steady and fluctuating salinity levels. J. Mar. Biol., (57), 63-74.

DAVENPORT J. & MANLEY A., 1978. The detection of heightened sea-water copper concentrations by the mussel *Mytilus edulis*. J. Mar. Biol., (58), 843-850.

DE FILLIPIS L.F., 1978. The effect of heavy metal compounds on the permeability of chlorella cells. Z. Pflanzenphysiol. Bd. 92, S. 39-49.

DE FILLIPIS L.F., LUIGI F., RUEDIGER, ZIEGLER & HUBERT, 1981. The effects of sub-lethal concentrations of Zn, Cd and Hg on *Engelmannia* growth and pigments. 101 (1), 37-47.

DOHERTY F.G., CHERRY D.S. & CAIRNS J., 1987. Valve closure responses of the asiatic Clam *Corbicula fluminea* exposed to Cadmium and Zinc. Hydrobiologia, 153, 159-167.

DOYLE L.J. & BLAKE N.J., 1977. Recent biogenic phosphorite : concretions in mollusk kidneys. Science, 199, 1431-1433.

D'SILVA C. & KUREISHY W., 1978. Experimental studies on the accumulation of Copper and Zinc in the Green mussel. Marine Pollution Bulletin, 9, 187-190.

EBERSVEILLER N., 1988. Etude quantitative du taux de filtration de la moule d'eau douce *Dreissena polymorpha*. Influence des métaux (Zinc et Cuivre). Rapport de DEA, Univ. de Metz, 34p.

ELDON J., PEKKARINE M. & KRISTOFFERSON R., 1980. Effects of low concentrations of heavy metal on the bivalve *Macoma balthica*. Ann. Zool. Fennisci., 17, 233-242.

ELLIOTT H.A. & LINN J.H., 1987. Effect of Cadmium, Manganese acetate on heavy metal mobility in soils. J. Environ., Quality, 16(3), 222-226.

ENGEL D.W., 1987. Metal regulation and molting in the blue Crab, *Callinectes sapidus* : Copper, Zinc and metallothionein. Biol. Bull., 172, 69-82.

FERRARD J.F., 1987. Aspects de la toxicité et de la biosorption du Cadmium chez l'algue *Chlorella vulgaris*. Thèse d'état, Univ. de Metz, 222 p.

FOE C. & KNIGHT A., 1985. Effect of phytoplankton and suspended sediment on the growth of *Corbicula fluminea* (bivalvia). *Hydrobiologia*, 127, 105-115.

FOE C. & KNIGHT A., 1986. Growth of *Corbicula fluminea* (bivalvia) fed artificial and algal diets. *Hydrobiologia*, 133, 155-164.

FOULQUIER L., BOVARD P. & GRAUBY A., 1973. Résultats expérimentaux sur la fixation du Zn-65 par *Anodonta cygnea* (Linnaeus). *Malacologia*, 14, 107-124.

FOULQUIER L. & LAMBRECHTS A., 1980. Influence du Zinc stable et de l'EDTA sur la contamination directe d'*Anguilla anguilla* (L) par le Zn-65. XXI<sup>ème</sup> congrès de la S.I.L., Kyoto, Japon, 16 p.

FRAIZIER J.M., 1975. The dynamics of metals in the american oyster, *Crassostrea virginica*. I. Seasonal effects, *Chesapeake Sci.*, 16(3), 162-171.

FRANKENNE P., NOEL-LAMBOT F. & DISTECHE A., 1979. Isolation and characterization of metallothioneins from Cadmium loaded mussel *Mytilus edulis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 66C, 179-182.

FRITZ L.W., LUTZ R.A., FOOTE M.A., VANDOVE C.L. & ENART M., 1984. Selective feeding and grazing rates of oyster (*Crassostrea virginica*) larvae on natural phytoplankton assemblages. *Estuaries*, 7(4B), 513-518.

GABBOTT P.A. & BAYNE B.L., 1973. Biochemical effects of temperatures and nutritive stress on *Mytilus edulis* L.. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 53, 265-286.

GEA J., 1980. Contribution à la mise au point de tests d'écotoxicologie statique et dynamique. Application à l'étude du Cuivre. Diplôme d'ingénieur CNAM, Centre régional agréé de Nancy-Metz.

GEORGE S.G., 1980. Correlation of metal accumulation in mussel with the mechanisms of uptake, metabolism and detoxification: a review, *Thalassia Yugoslavica*, 16 (264), 347-365.

GEORGE S.G., 1983. Heavy metal detoxification in the mussel *Mytilus edulis*. Composition of Cadmium. Containing kidney granules (tertiary lysosomes). *Comp. Biochem. Physiol.*, 76C, 53-57.

GEORGE S.G. & COOMBS T.L., 1977. Effects of high stability iron complexes on the kinetics of iron accumulation and excretion in *Mytilus edulis* (L). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 28, 133-140.

GEORGE S.G. & FRAZIER J.M., 1982. Some aspects of the relationship between tolerance to heavy metal pollution and metabolism of Cd, Cu and Zn in oysters. *Thalassia Jugoslavica*, 18(1-4), 203-219.

GEORGE S.G., PIRIE B.J.S. & COOMBS T.L., 1976. The kinetics of accumulation and excretion of ferric hydroxide in *Mytilus edulis* (L) and its distribution in the tissues, J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 23, 71-84.

GEORGE S.G., PIRIE B.J. & VIARENGO A., 1985. The occurrence of cadmium in sub-cellular particles in the kidney of the marine mussel, *Mytilus edulis*, exposed to Cadmium. *Biochimica and Biophysica, Acta*, 580, 234-244.

GEORGE S.G. & PIRIE B.J., 1980. Metabolism of Zinc in the mussel *Mytilus edulis* (L) : A combined ultrastructural and biochemical study. J. Mar. Biol., 60, 575-590.

GEORGE S.G., PIRIE B.J., CHEGNE A.R., COOMBS T.L. & GRANT P.T., 1978. Detoxification of metals by marine bivalves : An ultrastructural study of the compartmentation of Copper and Zinc in the oyster *Ostrea edulis*. Mar. Biol., 45, 147-156.

GILLAIN G., 1981. Contribution au dosage des métaux dans les milieux marins. Thèse Doct. Sc. Chim., Univ. de Liège, 266p.

GILLET A., AUVRAY F., MENRISSE G.M. & MICHA J.C., 1982. Etude de l'incrustation du circuit "eau brute de la centrale nucléaire de Tihange par un Mollusque Bivalve, *Dreissena polymorpha*, en vue de sa limitation. Rapport préliminaire, UNECE, 38p.

GINGRICH D.J., PETERING D.H. & FRANK S.C., 1984. Zn and Cd metabolism in *Engelena gracilis* : metal distribution in normal and Zn-Deficient cells. Mar. Environm. Res., 14, 89-102.

GUNKEL V.G., 1986. Investigation about the fate of heavy metals in lakes. I. The role of ferrous oxidizing bacteria to coprecipitation of heavy metals. Arch. Hydrobiol. 105(4), 489-515.

GUTIERREZ-GALINDO E.A., 1980a. Etude de l'accumulation du Cadmium par la moule *Mytilus edulis* en présence de l'EDTA Na<sub>2</sub> et de phosphate. Rev. Int. Oceanogr. Med., **TLIX**, 41-45.

GUTIERREZ-GALINDO E.A., 1980b, Etude de l'élimination du Cadmium par *Mytilus edulis* en présence de l'EDTA Na<sub>2</sub> et de phosphate, Chemosphère, **9**, 495-500.

HARRISON G.I., CAMPBELL P.G.C. & TESSIER A., 1986. Effects of pH change on Zinc uptake by *Chlamydomonas variabilis* grown in batch culture. Can. J. Fish. Aqu. Sc., **43**(3), 687-693.

HARRISON F.L., LAM J.R. & NOVACEK J., 1988. Partitioning of metals among metal-binding proteins in the bay mussel, *Mytilus edulis*. Mar. environm. res., **24**, 167-170.

HARVEY R.W. & LUOMA S.N., 1985. Separation of solute particulate vectors of heavy metal uptake in controlled suspension feeding experiments with *Macoma balthica*. Hydrobiologia, **121**, 97-102.

HEM J.D., 1972. Chemistry and occurrence of Cadmium and Zinc in surface water and ground water, Water Resour. Res., **8**, 661-679.

HEMEBRAAD J., KLEINVELD H.A., ROOS A.M., HOLWERDA D.A. & ZANDEE D.I., 1987. Cadmium kinetics in freshwater clams. III. Effects of Zinc on uptake and distribution of cadmium in *Anodonta cygnea*. Arch. Environm. Contam. Toxicol., **16**, 95-101.

HERMANN R. & NEUMANN-MAHLKAN P., 1985. The mobility of Zinc, Cadmium, Copper, Lead, Iron and Arsenic in ground water as a function of redox potential and pH. The sciences of the Total Environment, **43**, 1-12.

HEUILLET E., 1986. Etudes des mécanismes d'accumulation et de détoxification du Cadmium. *Dunaliella bioculata*, algue euryhaline, prise comme modèle cellulaire. Thèse, Univ. Paris VII.

HIGNETTE M., 1979. Composition des concrétions minérales contenues dans les reins des deux Mollusques Lamellibranches : *Pinna nobilis* (L) et *Tridacna maxima* (Röding). Acad. Sc. Paris, t.289, Série D, 1069-1072.

HINCH S.G. & STEPHENSEN L.A., 1987. Size and age specific patterns of trace metal concentrations in freshwater clams from acid-sensitive and a circumneutral lake. Can. J. Zool., 65, 2436-2442.

HIS E., ROBERT R., & CHRETIENNOT-DINET M.J.C., 1985. Nouvelle méthode pour étudier la nutrition des jeunes larves de *Crassostrea gigas* (Thunberg) en milieu naturel. Premières données expérimentales, Acad. Sc. Paris, t.300, Série III(8), 319-321.

HOLWERDA D.A., HEMELREAD J., VEENHOF P.R. & ZANDEE D.I., 1988. Cadmium accumulation and depuration in *Anodonta anatina* exposed to cadmium chloride or cadmium-EDTA, Complex, Bull. Envi-ronm. Contam. Toxicol., 40, 373-380.

HORNE R., 1969. In: MOUVET C., 1984, p4.

HOWELL R., 1985. Effect of Zinc on Cadmium toxicity to the Amphipode *Gammarus pulex*. Hydrobiologia, 123, 245-249.

HVILSON M.A., 1983. Copper-induced differential mortality in the mussel *Mytilus edulis*. Marine Biology, 76, 291-295.

IKUTA K., 1968. Studies on accumulation of heavy metals in aquatic organisms. III. On accumulation of Copper and Zinc in the parts of oysters. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 34(2), 117-122.

IMBER B.E., ROBINSON M.G., ORTEGA A.M. & BURTON J.D., 1985. Complexation of Zinc by exudates from *Skeletonema costatum* grown in culture. Marine Chemistry, 16, 131-139.

IRLAND M.P., 1973. Result of fluvial Zinc pollution on The Zinc content of littoral and sub-littoral organisms in Cardigan Bay, Wales. Environmental Pollution (4), 27-35.

IRLAND M.P., 1979. Distribution of metals in the digestive gland-gonad complex of the marine gastropod *Macella Lapillus*. J. Moll. Stud., 45, 322-327.

IRLAND M.P. WOOTTON R.J., 1977, Distribution of Lead, Zinc, Copper and Manganese in the marine gastropods, *Thais Lamillus* and *Littorina littorea* around the coast of wales, Environ. Pollut., (12), 27-40.

JEANNETET A., BALLAN-DUFRANCAIS C. & MARTIN J., 1985. Recherche des mécanismes de détoxification du Cadmium par l'huître *Crassostrea gigas* (Mollusque Bivalve) II. Sites ultracellulaires d'accumulation du métal dans les organes absorbants et excréteurs. Acad. Sc. Paris, t.301, Série III, (5), 177-182.

JEANNETET A., MARTOJA R. & TRUCHET M., 1974. Rôle des sphéro-cristaux de l'épithélium intestinal dans la résistance d'un insecte aux pollutions minérales : données expérimentales obtenues par utilisation de la microsonde électronique et du micro-analyse par émission ionique secondaire. Acad. Sc. Paris, t.278, Série D, 1441-1444.

JENSEN A. & CHENG Z., 1987. Statistical analysis of trend monitoring data of heavy metals in flounder (*Platichthys flesus*). Marine pollution bulletin, 18(5), 230-238.

JONES S.G., MITCHELL W.M. & JONES M.M., 1986. Effects of the mobilization of aged tissue Cadmium by chelating agents. Journal of Toxicology and Environmental Health, 19, 267-278.

JULSHAMN K. & ANDERSON K.J., 1983. Subcellular distribution of major and minor elements in unexposed molluscs, in western Norway. I. The distribution and binding of Cadmium, Zinc and Copper the liver and the digestive system of the oyster *Ostrea edulis*, Comp. Biochem. Physiol., 75A (1), 9-12.

KARBE L., ANTONACOPOULOS N. & SCHNIER C., 1975. The influence of water quality on accumulation of heavy metals in aquatic organisms Verh. Internat. Verein. Limnol., 19, 2094-2101.

KENNEDY P.C., 1986. The use of molluscs for monitoring trace elements in the marine environment in New Zealand. 1) The contribution of ingested sediment to the trace element concentration in New Zealand molluscs. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 20, 627-640.

KOGA A., 1934. Répartition du Zinc dans les organes des animaux. Keio J. Med., (5), 29-37.

KORNOBIS S., 1977. Ecology of *Dreissena polymorpha* (PALLAS), (Dreissenidae, bivalvia) in lakes receiving heated water discharges. Polskie Arch. Hydrobiol., 24(4), 531-546.

LABAT R., LHONORE D. & CHAISMARTIN C., 1977. La contamination des chaînes biologiques d'eau douce. XXII<sup>e</sup> Congrès de l'Association Française de Limnologie, 16 p.

LANGDON C.J. & BOLTON E.T., 1984. A microparticulate diet for a suspension-feeding bivalv mollusc, *Crassostrea virginica* (Gmelin). J. Expr. Mar. Biol. Ecol., **82**, 239-258.

LANGSTON W.J. & MINGJIANG Z., 1987. Cadmium accumulation distribution and elimination in the bivalv *Macoma balthica* : neither metallothionein nor metallothionein-Like proteins are involved. Marine Environmental Research, **21**, 225-237.

LATOUCHE Y.D. & MIX M., 1982. The effects of depuration, size and sex on trace metal levels in bay mussels. Marine Pollution Bulletin, **13**(1), 27-29.

LEDERER J., 1985. Le Zinc en pathologie et en biologie. Ed. Nauwelaerts, Bruxelles, 290 p.

LEE G F. & JONES R.A., 1981. Problems in implementation of US EPA water quality criteria vito water quality standards. Proceedings of US EPA symposium on "The development, use and value of water quality criteria and standards. Washington D.C., 93-116.

LEGLIZE L., 1981. Mise au point bibliographique sur la biologie et l'écologie de *Dreissena polymorpha* PALLAS : Répartition Géographique en France et dans des pays limnotrophes. Rapport "E.D.F.", Univ. de Metz, 52 p.

LEGLIZE L. & CROCHARD C., 1987. Vérification expérimentale du choix de *Dreissena polymorpha* PALLAS (Lamellibranche) comme bioindicateur de contamination métallique, Naturaliste canadien (Rev. Ecol. Syst.), **114**, 315-323.

LEGLIZE L. & NOURISSON M., 1983. Les micropolluants dans les divers compartiments de l'écosystème des eaux douces: Utilisation des niveaux de contamination comme indicateurs de qualité: Les invertébrés. In Journées Scientifiques et Techniques. 5. Lille, 1983. Eau, La Recherche, L'Environnement. Secrétariat d'état chargé de l'Environnement et de la Qualité de la Vie (Recherche Environnement, 22), 55-60.



- LEWANDOWSKI K., 1976. Unionidae as a substratum for *Dreissena polymorpha* Polsk. Arch. Hydrobiol., 23 (3), 409-420.
- LEWANDOWSKI W., 1988. Effect of heavy metals on the aromatic system of Benzoic acid. Arch. Environm. Contam. Toxicol., 17, 131-138.
- LEVESQUE L., 1978. Le Zinc et le Cadmium. In: Les micropolluants minéraux dans les eaux superficielles continentales, Rapport A.F.E.
- LITCHFIELD J.T.J.R. & WILCOXON F., 1949. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmac. Expr. Ther., 96, 99-113.
- LOBEL P.B., 1981. Zinc in mussels from an Iron pipe. Marine Pollution Bulletin, 12(12), 410-411.
- LOBEL P.B., 1987. Short-Term and Long-Term uptake of Zinc by the mussel, *Mytilus edulis*. A study in individual variability. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 16, 723-732.
- LOBEL P.B., 1987. Intersite, intrasite and inherent variability of the whole soft tissue Zinc concentration of individual mussels *Mytilus edulis* : importance of the kidney. Marine Environmental Research, 21, 59-71.
- LOBEL P.B., 1987. Inherent variability in the ratio of Zinc to other elements in the kidney of the mussel *Mytilus edulis*. Comp. Biochem. Physiol., 87C (1), 47-50.
- LOBEL P.B., MOGIE, P., WRIGHT D.A. & WU B.L., 1982. Metal accumulation in four molluscs. Marine Pollution Bulletin, 13(5), 170-174.
- LOBEL P.B. & PAYNE J.F., 1984. An evaluation of mercury-203 for assessing the induction of MT. Like proteins in mussels exposed to cadmium. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 33, 144-152.
- LOBEL P.B. & PAYNE J.F., 1987. The mercury-203 method for evaluating metallothioneins : interference by Copper, Mercury, Oxygen, Silver and Selenium. Comparative Biochemistry and physiology Part C, 86(1), 37-39.

LOBEL P.B. & WRIGHT D.A., 1982. Total body Zinc concentration and allometric growth ratios in *Mytilus edulis* from different shore levels. Marine Biology, **66**, 231-236.

LOBEL P.B. & WRIGHT D.A., 1982. Gonadal and nongonadal zinc concentrations in mussels. Marine Pollution Bulletin, **13**(9), 320-323.

LOBEL P.B. & WRIGHT D.A., 1982. Relationship between body Zinc concentration and allometric growth measurements in the mussels *Mytilus edulis*. Marine biology, **66**, 145-150.

LONGDON C.J. & BOLTON E.T., 1984. A microparticulate diet for a suspension-feeding bivalv-mollusc, *Crassostrea virginica* (Gmelin). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., **82**, 239-258.

LUOMA S.N., 1983. Bioavailability of trace metals to aquatic organisms. A review, The Science of the Total Environment, **28**, 1-22.

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

MAAROUF A., 1985. Etude expérimentale de la bioaccumulation et de la désorption du Zinc chez la moule d'eau douce *Dreissena polymorpha*. Rapport "D.E.A.", Univ. de Metz, 34p.

MAAROUF A., MOUABAD F. & PIMAN J.C., (sous presse), Bioaccumulation et relargage du Zinc par la moule d'eau douce *Dreissena Polymorpha* PALLAS. Effet de l'EDTA. In VII<sup>ème</sup> congrès de la S.F.M. et Sym. internat. sur la conchyliculture et l'héliciculture, Rennes, 1987.

MANLEY A.R., 1983. The effect of Copper on the behaviour, respiration, filtration and ventilation activity of *Mytilus edulis*. J. Mar. Biol. Ass. U.K., **63**, 205-222.

MANGUM C.P., MILLER K.I., SCOTT J.L., VANHOLDE K.E. & MORSE M.P., 1987. Bivalv Hemocyanin: Structural functional and phylogenetic relationships, Biol. Bull., **173**, 205-221.

\*MARGHOSHES M. & VALLEE B.L., 1957. A Cadmium protein from aquatic kidney cortex. The journal of the American Chemical Society, 79, p4813.

MARIGOMEZ J.A., ANGULO E. & SAEZ V., 1986. Feeding and growth responses to Copper, Zinc, Mercury and Lead in the terrestrial gastropod *Arion ater* (LINNE). J. Moll. Stud., 52, 68-78.

MAROOF F.B.A., HADI D.A., KHAN A.H. & CHOWDHURY A.H., 1986, Cadmium and Zinc concentrations in drinking water supplies of Dhakka city Bangladesh. The Sciences of the Total Environment, 6p.

MARTIN T.R. & HOLDICH D.M., 1986. The acute lethal toxicity of heavy metals to peracarid crustaceans (with particular reference to fresh-water Asellids and Gammarids). Wat. Res., 20(9), 1137-1147.

MARTOJA M., 1988.

MARTOJA M. & MARTOJA R., 1984. La bioaccumulation des métaux, processus physiologique normal et conséquence de la pollution. Le Courrier du CNRS, 54, 32-37.

MARTOJA R. & MARTIN J.L., 1985. Recherche des mécanismes de détoxification du Cadmium par l'huître *Crassostrea gigas* (Mollusque bivalve). I. Mise en évidence d'une protéine sulfhydrilée de complexation du métal dans les anabocytes à Zinc et Cuivre. Acad. Sc. Paris, t.300, Série III (15), 549-554.

MASON A.Z., 1988. The kinetics of Zinc accumulation by the marine prosobranch gastropod *Littorina littorea*. Marine Environmental Research, 24, 135-139.

MASON A.Z., KENNETH D.J. & SULLIVAN P.A., 1988. Mechanisms of trace metal accumulation in the polychaete *Neanthes arenaceodentata*. J. Mar. Biol., 68, 61-88.

MASON A.Z. & NOTT J.A., 1981. The role of intracellular biomineralized granules in the regulation and detoxification of metals in gastropods with special reference to marine prosobranch *Littorina littorea*. Aquatic Toxicology, 1, 239-256.

\* : Cité par COSSON R.P., 1987.

MASSON M., 1976. Nutrition des larves de moules (*Mytilus edulis* L.) : Essai d'alimentation artificielle. Bull. Soc. Zool. France, 101(5), p. 61.

MASSON M., 1986. Statistique appliquée à l'exploitation des mesures. Ed. Masson, Paris, 422 p.

MATTICE J.S., STANCZYKOWSKA A. & LAWACZ W., 1972. Feeding and assimilation of *Dreissena polymorpha* in Mikolajskiv. American Zoologist, 12, p.209.

MENCH M., MOREL J.L. & GUCKERT A., 1985. Liaison du Cadmium avec la fraction macromoléculaire soluble des exudats racinaires de Maïs (*Zea mays* L.). C.R. Acad. Sc., T.301, Série III(7), 379-382.

MENCH M., MOREL J.L. & GUCKERT A., 1987. Metal binding properties of high molecular weight soluble exudates from maize (*Zea mays* L.) roots. Biol. Fertil Soils, 1, 165-169.

MINKEL D.T., POULSEN K., WIELGUS S., SHAW C.F. & PETERING D.H., 1980. On the sensitivity of metallothioneins to oxidation during isolation. Biochem. J., 191, 475-485.

MOREL J.L., MENCH M. & GUCKERT M., 1986. Measurement of Pb<sup>++</sup>, Cu<sup>++</sup> and Cd<sup>++</sup> binding with mucilage exudates from maize (*Zea mays* L.) roots. Biol. Fertil. Soils, 2, 29-34.

MORGOSHES M. & VALLEE B.L., 1957. A Cadmium protein from equine kidney cortex. The Journal of the American Chemical Society, 79, 4813.

MORTON B., 1969. Studies on the biology of *Dreissena polymorpha* (PALLAS). I. General anatomy and morphology. Proc. Malac. Soc. Lond., 38, 301-321.

MORTON B., 1971. Studies on the biology of *Dreissena polymorpha* (PALLAS). V. Some aspects on filter-feeding and the effect of micro-organismes upon the rate of filtration. Proc. Malac. Soc. Lond., 39, 289-301.

MOUABAD A., 1986. Etude de l'activité respiratoire et filtrante de la moule d'eau ponce *Dreissena polymorpha* en présence de Zinc. Rapport de DEA. Univ. de Metz, 61p.

MOUVET C., 1984. Métaux lourds et mousses aquatiques : spéciation physico-chimique, bioaccumulation et toxicité. Thèse d'Université, Univ. de Liège, 157 p.

MUGEL M. & FERARD J.F., 1978. Elaboration d'un modèle de chaîne trophique dulçaquicole et application à une étude écotoxicologique du Cadmium. Thèse de 3<sup>ème</sup> cycle, Univ. de Metz.

MYINT U.M. & TAYLER P.A., 1982, Effects of temperature nutritive and metal stressors on the reproductive biology of *Mytilus edulis*, Marine biology, 67, 209-223.

NEBEKER A.V., STINCHFIELD A., SAVONEN C. & CHAPMAN G.A., 1986. Effects of Copper, Nickel and Zinc on three species of Oregon freshwater Snails. Environmental Toxicology and Chemistry, 5, 807-811.

NEFF J.M., 1972. Ultrastructural studies of periostracum formation in the hard shelled clam *Mercenaria mercenaria* (L). Tissue and Cell, 4(2), 311-326.

NEFF J.M., 1972. Ultrastructure of the outer epithelium of the mantle in the clam *Mercenaria mercenaria* in relation to calcification of the shell. Tissue and Cell, 4(4), 591-600.

NEJMEDDINE A., 1987. Effets biologiques du cadmium sur un invertébré marin (*Nereis diversicolor*) isolement et caractérisation d'une métalloprotéine intervenant dans les processus de détoxification. Thèse, Univ. des sciences et techniques de Lille, Flandres Arteis.

NELSON A. & DONKIN P., 1985. Processes of bioaccumulation : the importance of chemical speciation. Marine Pollution Bulletin, 16(4), 164-169.

NEUFELD R.D. & HERMANN E.R., 1975. Journal WPCF, 47, 311-329.

NIEBOER E. & RICHARDSON D.H.S., 1980. The replacement of the nondescript term "Heavy metals" by a biologically and chemically significant classification of metal ions. Environ. Pollut., Série B, 1, 3-26.

NOEL-LAMBOT F., BOUQUEGNEAU J.M., FRANKENNE F. & DISTECHE A., 1978. Le rôle des métallothionéines dans le stockage des métaux lourds chez les animaux marins. Rev. Int. Oceanogr. Med., t.XLIX, 13-19.

NOEL-LAMBOT F., BOUQUEGNEAU J.M., FRANKENNE F. & DISTECHE A., 1980. Cadmium, Zinc and Copper accumulation in Limpets (*Patella vulgata*) from the Bristol channel with special reference to metallothioneins. Marine Ecology-Progress Series, 2, 81-89.

NOLAN C.V. & DUKE E.J., 1983. Cadmium accumulation and toxicity in *Mytilus edulis* : Involvement of metallothioneins and heavy molecular weight protein. Aquatic Toxicology, 4, 153-163.

NOLAN C.V. & DUKE E.J., 1983. Cadmium binding proteins in *Mytilus edulis* : relation to mode of administration and significance in tissue retention of cadmium, Chemosphere, 12(1), 65-74.

NOLAN C.V. & DUKE E.J., 1984. Heavy metal uptake and intra-cellular binding in isolated gill preparation of *Mytilus galloprovincialis* (L). The Science of the Environment, 40, 83-92.

NOURISSON M., 1985. Suivi écologique de l'état hydrobiologique de la Moselle au droit de la centrale électronucléaire de Cattenom. Rapport EDF, Univ. de Metz, 79p.

NOURISSON M., PIHAN J.C. & MAAROUF A., 1986. Suivi écologique de l'état hydrobiologique de la Moselle au droit de la Centrale Elertronucléaire de Cattenom. Rapport EDF-REAL n° CA1687, Univ. Metz, 80p.

OCDE, 1983. Algues, tests d'inhibition de croissance. Lignes directives de l'O.C.D.E., pour les essais des produits chimiques, 201, O.C.D.E., Paris.

O.M.S., 1984. Guidelines for drinking-water quality, 1, recommendations, O.M.S. (ed), Genève, 130 p.

OLAFSON R.W. & SIM R.G., 1979, An electrochemical approach to quantitation and characterisation of a blue-green algae heavy metal-binding protein, Biochemical and biophysical research communications, 89(1), 36-43.

OLSSON P.E. & HAUX C., 1985, Alterations in hepatic metallothionein content in Perch, *Perca fluviatilis*, environmentally exposed to cadmium, Marine environmental research, 17, 181-183.

ONOSAKA S., KAWAHARA K., MIN K.S., FUKUHARA C. & TANAKA K., 1983. Roles of metallothionein in the liver on acute Cadmium toxicity in Mice. I. Effects of cycloheximide. *Eisei Kagaku*, **29**(5), 312-317.

ONOSAKA S., MIN K.S., FUKUHARA C. & TANAKA K., 1984. The role of metallothionein on excess Zinc metabolism in Mouse. *Eisei Kagaku*, **30**(6), 371-376.

PALLY M. & FAULQUIER L., 1976. Etude expérimentale de la fixation du Zinc, du mélange Zinc-Cadmium et du Zinc-65 en présence du Cadmium par *Anguilla anguilla* (L). Note CEA-N-1891, 125 p.

PARACH A., 1983. Evolution temporelle du poids et de la composition biochimique de *Mytilus galloprovincialis* Lamark en méditerranée nord-occidentale. *Rapp. Comm. Int. Mar. Médit.*, **28**(3), 2p.

PARACHE A., 1985. Contribution à l'étude de la croissance de *Mytilus edulis* var. *galloprovincialis* LMK. Influence des conditions du milieu. Thèse Doct. Océanol. Univ. Aix-Marseille, 238p.

PENSEL T., 1984. Cinétiques d'accumulation et de relargage de métaux lourds chez les Bryophytes aquatiques en milieu naturel. Rapport DEA, Univ. de Metz, 70 p.

PENTREATH R.S., 1973. The accumulation from water of Zn-65, Mn-54, Co-52 and Fe-59 by mussel *Mytilus edulis*. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **53**, 127-143.

PHILLIPS D.J.H., 1977b. The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine and estuarine environments. *Environmental Pollution*, (13), 281-317.

PHILLIPS D.J.H., 1976. The common mussel *Mytilus edulis* as an indicator of pollution by Zinc, Cadmium, Lead and Copper. I. Effects of environmental variables on uptake of metals. *Marine Biology*, **32**, 59-69.

PIHAN J.C., CROCHARD C., BENYAHIA M., GIAMBERINI L., MAAROUF A., MOUABAD A. & TOURMANN J.L., (sous presse). Etude écotoxicologique in vitro du Zinc et du Plomb chez le mollusque d'eau douce : *Dreissena polymorpha* PALLAS (Cinétique d'accumulation et de relargage. Voies de pénétration, excrétion. Incidence sur l'activité respiratoire et filtrante, microanalyse). In: Congrès de Limnologie, Osoy, 1988.

PIHAN J.C., NOURISSON M., LEGLIZE L. , CORDEBAR P., VEIN D. 1 JEAN C., 1981. Effets des polluants sur les écosystèmes aquatiques d'eau douce. Rapport du Ministère de l'Environnement et du Cadre de Vie n° 78139, Univ. Metz, 201p.

PILKEY O.H. & GOODELL, 1963. Trace elements in recent mollusc shells. Limnology and Oceanography, VIII (2), 137-148.

POMMERY J., IMBONETTE M. & ERB F., 1985. Relation entre toxicité et formes libres de quelques métaux traces. Environmental Pollution, (SB)9, 127-136.

POPHAM J.D. & D'AURIA J.M., 1981. Statistical models for estimating seawater metal concentrations from metal concentrations in mussels (*Mytilus edulis*). Bull. Environm. Contam. Toxicol., 27, 660-670.

POPHAM J.D. & D'AURIA, 1982. Effects of season and seawater concentration on trace metal concentration in organs of *Mytilus edulis*. Arch. Environm. Contam., 11, 273-282.

POPHAM J.D. & D'AURIA, 1983. Combined effects of body size, season and location on trace element levels in mussels (*Mytilus edulis*). Arch. Environ. Contam. Toxicol., 12, 1-14.

PROTEAU J.P. & LABAT R., 1979. Toxicité de l'acide cyanurique pour quelques mollusques dulçaquicoles. Bull. Soc. Histoire Nat. Toulouse, 115, Fasc. 3-4, 1-12.

PYNNONEN K., HOLWENDA D.A. & ZANDER D.I., 1987. Occurrence of calcium concretion in various tissues of freshwater mussels and their capacity for Cadmium sequestration. Aquatic Toxicology, 10, 101-114.

RAINBOW P.S., 1985. Accumulation of Zinc, Copper and Cadmium by crabs and barnacles. Estu. Coastal and Sheff Sci., 21, 669-686.

RAMADE F., 1977. Ecotoxicologie. Masson, Paris.

RIISGARD H.U., KIORBOE T., MOHLENBERG F., DRABOEK I. & MADSEN P.P., 1985. Accumulation, elimination and chemical speciation of mercury in the bivalve *Mytilus edulis* and *Macoma balthica*. Marine Biology, 55-62.



RITZ D.A., SWAIN R. & ELLIOTT N.G., 1982. Use of the mussel *Mytilus edulis planulatus* (Lamarck) in monitoring heavy metal levels in seawater. Aust. J. Mar. Freshwater Res., 33, 491-506.

RODIER J., 1976. L'analyse de l'eau. Ed. Dunod (Bordas), t.2, N°5, Paris, 364 p.

ROESIJADI G., 1980. The significance of low molecular weight, metallothionein. Like proteins in marine invertebrates : current status. Marine Environmental Research, 4, 167-179.

SALOMONS W. & MOOK N.G., 1980. Biogeochemical processes affecting metal concentrations in lake sediments. Sci. Total, Environm., 16, 217-229.

SECCHI F., 1984. Accumulation et distribution d'une forme soluble ( $UO_2^{++}$ ) ou d'une forme insoluble ( $UO_2$ ) de l'uranium chez divers invertébrés (Mollusques et Insecte). Aspects écotoxicologiques et dynamiques de contamination. Thèse 3ème cycle, Univ. Paris VI, 90.

SCHAEFFER D.J., COX D.K. & DEEM R.A., 1987. Variability of test systems used to assess ecological effects of chemicals. Wat. Sci. Techn., 19(11), 39-45.

SCRUDATO R.J. & ESTES E.L., 1976. Depuration of copper and zinc by *Crassostrea virginica* (American oyster). The Texas Journal of Science, XXVII (4), 437-441.

SEGAR D.A., COLLINS J.P. & RILEY J.P., 1971. The distribution of the major and some minor elements in marine animals. Part II : Molluscs. J. Mar. Biol., 51, 131-136.

SHEPHARD K. & SIMKISS K., 1978. The effects of heavy metal ions on  $Ca^{++}$ ATPase extracted from fish gills. Comp. Biochem. Physiol., 61B, 69-72.

SHUMWAY S.E., CUCCI R.C. & YENTSCH C.M., 1985. Particle selection, ingestion and adsorption in filter-feeding bivalve. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 91, 77-92.

SILVERMAN H., MC NEIL J.W. & DIETZ T.H., 1986. Interaction of trace metals Zinc, Cadmium and Manganese with Calcium. Concretion in the gills of freshwater unionid mussels. Can. J. Zool., 65, 828-832.

SIMKISS K., 1976. Intracellular and extracellular routes in biomineralization. Symposium of the Society of Experimental Biology, 30, 423-444.

SIMKISS K., 1977. Biomineralization and detoxification, calcified tissue research, 24, 199-200.

SIMKISS K., 1979. Metal in cells. Endeavour, New Series, 3(1), 2-6.

SIMKISS K., 1983. Lipid solubility of heavy metals in saline solutions. J. Mar. Biol., 63, 1-7.

SIMKISS K., TAYLOR M. & MASON A.Z., 1982. Metal detoxification and bioaccumulation in molluscs. Marine Biology Letters, 3, 187-201.

SIMPSON R.D., 1979. Uptake and loss of Zinc and Lead by mussels (*Mytilus edulis*) and relationships with body weight and reproductive cycle. Marine Pollution Bulletin, 10, 74-78.

SQUIBB K.S., RIDLINGTON J.W., CARMICHAEL N.G. & FOWLER B.A., 1979. Early cellular effects of circulating Cadmium-thionein on kidney proximal tubules. Environmental Health Perspectives, 28, 287-296.

STANCZYKOWSKA A., 1977. Ecology of *Dreissena polymorpha* (PALLAS) in lakes. Polskie Arch. Hydrobiol., 24(4), 461-530.

STANCZYKOWSKA A., LAWACZ W. & MATTICE J., 1975. Use of field measurements of consumption and assimilation in evaluation of the role of *Dreissena polymorpha* (PALLAS) in a lake ecosystem. Polskie Arch. Hydrobiol., 22(4), 509-520.

STEPHANSON R.P. & TAYLOR D., 1975. The influence of EDTA on the mortality and burrowing activity of clam (*Veneraxis decussata*) exposed to sublethal concentration of Copper. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 14(3), 304-308.

STRÖMGREN T., 1982. Effect of heavy metals (Zn, Hg, Cu, Cd, Pb, Ni) on the length growth of *Mytilus edulis*. Marine Biology, 72, 69-72.

STRÖMGREN T. & CARY G., 1984. Growth in length of *Mytilus edulis* fed on different algal diets. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 76, 23-34.

TALBOT V. & MAGEE R.J., 1978. Naturally-occurring heavy metal binding proteins in invertebrates. Arch. Environm. Contam. Toxicol., 7, 73-81.

TALBOT V., 1986. Seasonal variation of copper and zinc concentration in the oyster *saccostrea cucullata* from the Dampier archipelago, western Australia : Implication for pollution monitoring. The Science of the Total Environment, 57, 217-230.

TALLANDINI L., CASSINI A., FAVERO N. & ALBERGONI V., 1986. Régulation and subcellular distribution of copper in the fresh-water molluscs *Anadonta Cygnea* (L) and *Unio elongatulus* (Pf). Comp. Biochem. Physiol., 84C(1), 43-49.

TANDON S.K., FLORA S.J.S. & SINGH S., 1986. Chelation in metal intoxication. XXI. Chelation in Lead intoxication during vitamin B complex deficiency. Bull. Environm. Contam. Toxicol., 37, 317-325.

TEN WINKEL E.H. & DAVIDS C., 1982. Food selection by *Dreissena polymorpha* PALLAS (Mollusca : Bivalvia). Freshwater Biology, 12, 553-558.

THOMPSON J.A.T. & COSSON R.P., 1984. An improved electrochemical methode for the quantification of metallothioneins in marine organisms. Marine Environmental Research, 11, 137-152.

TOURARI A., 1986. Effets de l'échauffement des eaux sur le cycle de reproduction de la moule d'eau douce *Dreissena polymorpha* ( Bivalve : Dreissenidae ). Etude "in situ" et en laboratoire: Aspects histologiques, histochimiques et biochimiques. Doct. d'Univ., Univ. Metz, 193p + Annexes.

TOURARI A., CROCHARD C. & PIHAN J.C., (sous presse). Action de la température sur le cycle de reproduction de *Dreissena polymorpha* (PALLAS). Etude "in situ" et au laboratoire. IN VIIème Congrès de la S.F.M. et Sym. Internat. sur la conchyliculture et l'héliciculture, Rennes, 1987.

TOURARI A., MOUABAD A., (sous presse), Variations saisonnières de la composition biochimique, de la condition de reproduction et de l'intensité métabolique en relation avec le cycle de reproduction chez *Dreissena polymorpha* (bivalve d'eau douce). Sciences de l'eau.

VAN DOLAH F.M., SIEWICKI T.C., COLLINS G.W. & LOGAN J.S., 1987. Effect of environmental parametrs on the elimination of cadmium by eastern oysters *Crassostrea virginica*. Arch. Environm. Contam. Toxicol., 16, 733-743.

VIARENGO A., 1985. Biochemical effects of trace metals. Marine Pollution Bulletin, 16(4), 153-158.

VIARENGO A., MOORE M.N., MANCINELLI G. MAZZUCOTELLI A. PIPE R.K. & FERRAR S.V., 1987. Metallothioneins and lysosomes in metal toxicity and accumulation in marine mussels : The effect of Cadmium in the presence and absence of phenanthrene. Marine biology, 94(2), 251-257.

VIARENGO A., PALMERO S., ZANICCHI G., CAPELLI R., VAISSIERE R. & ORUNESU M., 1985. Role of metallothioneins in Copper and Cadmium accumulation and elimination in the gill and digestive gland cells of *Mytilus galloprovincialis* Lam.. Marine Environmental Research, 16, 23-36.

VIARENGO A., PERTICA M., MANCINELLI G., PALMERO S., ZANICCHI G. & ORUNESU M., 1982. Evaluation of general and specific stress indices in mussels collected from populations subjected different levels of heavy metal pollution. Marine Environmental Research, 6, 235-243.

VIARENGO A., PERTICA M., MANCINELLI G., PALMERO S., ZANICCHI G. & ORUNESU M., 1981. Synthesis of Cu-binding proteins in different tissues of mussels exposed to the metal. Marine Pollution Bulletin, 12(10), 347-350.

VIARENGO A., PERTICA M., MANCINELLI G., ZANICCHI G. & ORUNESU M., 1980. Rapid induction of Copper-binding proteins in the gills of metal exposed mussels. Comp. Biochem. Physiol., 67C, 215-218.

VIARENGO A., ZANICCHI G., MOORE M.N. & ORUNESU M., 1981b. Accumulation and detoxification of Copper by the mussel *Mytilus galloprovincialis* LAM. : A study of the subcellular distribution in the digestive gland cells. Aquatic Toxicology, 1, 147-157.

VIVOLI G., BORELLA P., BERGOMI M. & FANTUZZI G., 1987. Zinc and Copper levels in serum, urine and hair of humans in relation to blood pressure. The Science of the Total Environmental, 66, 55-64.

VYMAZAL J., 1985. Occurrence and chemistry of Zinc in freshwaters. Its toxicity and bioaccumulation with respect to algae: A review. Part. 1: Occurrence and Chemistry of Zinc in Freshwaters, *Acta Hydrochim. Hydrobio.*, **13**(6), 627-654.

WAIWOOD B.A., ZITKO V., HAYA K., BURRIDGE L.E. & Mc LEESE D.W., 1987. Uptake and excretion of Zinc by several tissues of the Lobster (*Homarus americanus*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, **6**, 27-32.

WALKER G., RAINBOW P.S., FOSTER P. & HOLLAND D.L., 1975. Zinc phosphate granules in tissue surrounding the midgut of the barnacle *Balanus balanoides*. *Marine Biology*, **33**, 161-166.

WALZ N., 1978. The energy balance of the freshwater mussel *Dreissena polymorpha* in laboratory experiments and in lake Constance. I. Pattern of activity feeding and assimilation efficiency. *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, **11**(1), 83-105.

WALZ N., 1979. The energy balance of the freshwater mussel *Dreissena polymorpha* (Pallas) in laboratory experiments and in lake Constance. 5. Seasonal and nutritional changes in the biochemical composition. *Arch. Hydrobiol.*, **55**(3-4), 235-254.

WATLING H., 1981. The effects of metals on mollusc filtering rates. *Trans. Roy. Soc. Sc. Afr.*, **44**, Part.3, 441-451.

WATSON T.A. & BEUMISH F.W., 1981. The effects of Zinc on branchial Adenosine triphosphatase enzymes in vitro from rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **58C**, 167-173.

WELTE B., BLES N. & MONTIEL A., 1983. Etude des différentes méthodes de spéciation des métaux lourds dans les sédiments, II: Application. *Environ. Techn. Letters*, **4**, 223-238.

WERNER J., 1987. Speciation and determination of low concentrations of Cd<sup>++</sup> and Zn<sup>++</sup> in Durnusrich waters by an ion-exchange method. *The Science of the Total Environment*, **62**, 281-290.

WHITE J.R., 1987. Zinc cycling in an acidic adirondack lake. *Environm. Sci. Technol.*, **21**(2), 211-216.

WHITE S.L. & RAINBOW P.S., 1985. On the metabolic requirements for Copper and Zinc in molluscs and crustaceans. *Marine Environmental Research*, 16, 215-229.

WILLIAMS R.J.R., 1981. Physico-chemical aspects of inorganic element transfert through membranes. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond.*, B294, 57-74.

WILLIAMSON P., 1979. Comparaison of metals levels in invertebrate detritivores and their naturel diets : Concentration factors reassessed. *Oecologia (Berl)*, 44, 75-79.

WINTER J.E., 1975. Feeding experiments with *Mytilus edulis* L. at small laboratory scale. II. The influence of suspended silf in addition to algal suspensions on growth. 10th Europeen Symposium on Marine Biology, 1, 583-600.

WOLFE D.A., 1970. Zinc enzymes in *Crassostrea virginica*. *J. F. Res. Bd., Can.*, (27), 59-69.

YOUNG G.A., 1985. Byssus-thread formation by the mussel *Mytilus edulis* : Effects of Environmental Factors. *Marine Ecology Pra. Ser.*, 24, 262-271.

ZATTA P., 1985. Interaction between  $Zn^{++}$ ,  $Co^{++}$ ,  $Mn^{++}$  with hemocyanin from *Carcinus maenas*. *Cahiers de Biologie Marine*, T XXVI, 241-249.

ZHADIN W.I., 1952. Mollusks of fresh and braekish waters of the U.S.S.R.. *Zool. Instit. Acad. Sciences, U.S.S.R.*, 46, 368 p.

# ANNEXES

Tableau 1:

ABSORPTION ATOMIQUE SPECIFIQUE DE Mg, Ca, Cu, Zn et Fe.

| Elément   | Longueur d'onde (nm) | Nature de la cathode | Intensité d'excitation mA | Flamme Air/Acétylène           |                                         | Flamme Air/Butane              |                                         |
|-----------|----------------------|----------------------|---------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------|
|           |                      |                      |                           | Absorption atomique spécifique | Absorption atomique spécifique relative | Absorption atomique spécifique | Absorption atomique spécifique relative |
| Magnésium | 285,2                | Magnésium            | 6                         | $55 \cdot 10^{-2}$             | 1,00                                    | $52 \cdot 10^{-2}$             | 1,00                                    |
| Calcium   | 422,7                | Calcium              | 10                        | $9 \cdot 10^{-2}$              | 0,16                                    | $1 \cdot 10^{-2}$              | 0,02                                    |
| Cuivre    | 324,7                | Cuivre               | 8                         | $7 \cdot 10^{-2}$              | 0,13                                    | $13 \cdot 10^{-2}$             | 0,25                                    |
|           |                      | Laiton               | 4                         | $8 \cdot 10^{-2}$              | 0,14                                    | $15 \cdot 10^{-2}$             | 0,29                                    |
|           | 327,4                | Cuivre               | 8                         | $3,5 \cdot 10^{-2}$            | 0,06                                    | $7 \cdot 10^{-2}$              | 0,13                                    |
|           |                      | Laiton               | 4                         | $4 \cdot 10^{-2}$              | 0,07                                    | $8 \cdot 10^{-2}$              | 0,15                                    |
| Zinc      | 213,8                | Zinc                 | 8                         | $21 \cdot 10^{-2}$             | 0,38                                    | $36 \cdot 10^{-2}$             | 0,69                                    |
|           |                      | Laiton               | 4                         | $24 \cdot 10^{-2}$             | 0,44                                    | $38 \cdot 10^{-2}$             | 0,75                                    |
| Fer       | 248,2                | Fer                  | 12                        | $5 \cdot 10^{-2}$              | 0,09                                    | $4 \cdot 10^{-2}$              | 0,08                                    |
|           | 371,9                | Fer                  | 12                        | $5 \cdot 10^{-2}$              | 0,09                                    |                                |                                         |



# Techniques histo-chimiques de détection du Zinc

## I. — PROCÉDÉS A LA DITHIZONE (DIPHÉNYLTHIOCARBAZONE)

### A. Principe.

Formation de complexes colorés entre la dithizone et différents métaux. Certaines variantes techniques mettent en évidence ces différents métaux (voir page suivante), d'autres sont spécifiques du zinc.

### FORMULAIRE

dans :

Eau distillée ..... 1000 ml  
Ajuster le pH à 5,5 par addition d'acide acétique glacial. Compléter avec de l'eau distillée jusqu'à 2.000 ml.  
Bien mélanger dans une ampoule à décantation avec plusieurs adjonctions d'une solution de dithizone dans le chloroforme, jusqu'à ce que la couche de chloroforme reste vert clair, afin d'éliminer toute trace de zinc.

#### β Solution de dithizone.

Préparer extemporanément :

Solution à 0,1 % de dithizone dans l'acétone ..... 24 ml  
Eau distillée ..... 18 ml

Amener à pH 3,7 avec de l'acide acétique.

#### γ Solution tamponnée.

Au moment de l'emploi mélanger à cette solution, en agitant doucement :

Tampon (α) ..... 5,8 ml  
Solution à 20 % de tartrate de sodium et potassium ..... 0,2 ml

Toutes ces solutions doivent être préparées à partir de produits purs pour analyse.

## II. — MÉTHODE D'ARVY AU RÉACTIF DE RUSH ET YOE (1959)

### A. Principe.

Le réactif de RUSH et YOE : acide o.[α-(hydroxy-2 sulfophénylazo-5)-benzylidène]-2 hydrazinobenzoïque (= zincon) donne avec le zinc un composé dont la couleur varie du rouge au mauve, sur frottis, et apparaît bleu foncé sur coupes.

### B. Procédé opératoire.

Il est applicable à des pièces fixées à l'éthanol ou au formol neutre à 10 %, coupées à congélation ou après inclusion à la paraffine, ou à des frottis ou appositions séchés à l'air.

1. Recouvrir le frottis ou plonger la coupe (déparaffinée et amenée à l'eau distillée) dans la solution tamponnée du réactif de RUSH et YOE \*. La réaction est immédiate. Elle peut être prolongée sans inconvénient, en récipient clos.
2. Les frottis sont simplement égoutés ou lavés à l'eau courante et séchés.
3. Les coupes sont lavées et montées au glycérogel.

### C. Résultats.

Le zinc apparaît en rouge ou mauve, dans les granulations leucocytaires des frottis, en bleu foncé sur les coupes.

### D. Préparation du réactif.

#### \* Réactif de RUSH et YOE.

- Solution mère

Dissoudre :

Acide o.[α-(hydroxy-2 sulfophénylazo-5)-benzylidène]-2 hydrazinobenzoïque (= zincon) ..... 0,05 ou 0,5 g

dans :

Soude N

..... 2 ml

- Au moment de l'emploi :

diluer la solution au 1/4 ou au 1/5 dans un tampon SORENSEN supérieur à pH 8, ou dans un tampon CLARK et LUBS de pH 8 à 9,5.

VARIANTE DE MC NARY (1960).

La méthode est applicable à des pièces *fixées* à l'éthanol ou au formol à 10 % neutre incluses et coupées à la paraffine, ou à des *frottis* séchés à l'air.

Les coupes, déparaffinées, sont amenées à l'eau et laissées sécher à l'air.

1. Traiter la coupe ou le frottis dans la solution tamponnée de zincon \* pendant 3 minutes.
2. Rincer à l'eau distillée.
3. Monter au sirop de KARO.

HISTOCHIMIE NORMALE ET PATHOLOGIQUE

B. Procédés opératoires et résultats.

La réaction à la dithizone peut être effectuée :

- sur pièces *fixées* à l'éthanol ou au formol neutre à 10 %, coupées à congélation ou après inclusion à la paraffine. Dans les deux cas les coupes, recueillies ou amenées dans l'eau distillée, sont laissées à sécher à l'air.

- sur *frottis* ou *appositions*, également séchés à l'air.

En pathologie expérimentale le réactif peut être utilisé en colorant vital.

Trois techniques sont proposées, utilisant :

- La dithizone en milieu *acétonique* : elle colore de nombreux métaux.
- La dithizone en solution *tamponnée* : elle ne caractérise que le zinc.
- La dithizone en *injection*, pour la caractérisation du zinc en pathologie expérimentale.

α TECHNIQUE DE MAGER ET COLL. A LA DITHIZONE EN MILIEU ACÉTONIQUE.

1. Placer sur la coupe une *solution acétonique de dithizone* \*, et laisser agir pendant 5 à 10 minutes, jusqu'à ce que la coloration vire au jaune clair.
2. Éliminer l'excès du colorant et passer dans le chloroforme.
3. Éliminer le chloroforme et rincer rapidement dans l'eau distillée.
4. Monter dans le sirop de KARO ou de fructose.

Résultats.

Formation de dithizonates métalliques colorés avec, en particulier :

|              |                            |
|--------------|----------------------------|
| le Zinc      | = coloration rouge         |
| le Cuivre    | = coloration rouge brun    |
| le Cobalt    | = coloration violette      |
| le Manganèse | = coloration violet brun   |
| le Mercure   | = coloration bleu-pourpre. |

β TECHNIQUE DE MAGER ET COLL. A LA DITHIZONE EN SOLUTION TAMPONNÉE.

Le procédé technique est identique, mais la solution acétonique est remplacée par une *solution tamponnée de dithizone* \*\*.

Résultats.

Le zinc seul forme avec le réactif un complexe, coloré en rouge.

γ TECHNIQUE DE LOGOTHETOPOULOS PAR INJECTION DE DITHIZONE.

1. Injecter par voie intraveineuse, chez l'animal, une solution de *dithizone* \*\*\*  
Pour le rat adulte, pesant 300 à 400 g, la technique est la suivante : sous anesthésie, un fin cathéter est introduit dans la veine jugulaire et 100 à 200 mg/kg de dithizone sont injectés au moyen d'une pompe à perfusion en 40 à 50 minutes.
2. Dès la fin de la perfusion l'animal est sacrifié et les organes prélevés.
3. Couper à congélation les tissus non fixés.
4. Monter les coupes à la paraffine. (on peut, au préalable, faire une coloration de fond au moyen d'une solution aqueuse à 1 % de vert de méthyle).
5. Examiner sur fond noir et en lumière transmise.

Résultats.

Les précipités de dithizonate de zinc apparaissent sous forme de fins granules oranges fortement réfringents en fond noir, rouges ou violets en lumière transmise.

C. Préparation des produits.

\* *Dithizone en milieu acétonique.*

*Solution mère.*

Solution de dithizone à 0,01 % dans l'acétone absolue.

Conserver au réfrigérateur en flacon brun.

*Au moment de l'emploi*, diluer 15 ml de la solution mère avec 10 ml d'eau distillée.

\*\* *Dithizone en solution tamponnée.*

α *Tampon.*

Dissoudre :

|                                                  |       |
|--------------------------------------------------|-------|
| Hyposulfite de sodium (5 H <sub>2</sub> O) ..... | 550 g |
| Acétate de sodium (3 H <sub>2</sub> O) .....     | 90 g  |
| Cyanure de potassium .....                       | 10 g  |

*Variante applicable à des frottis.*

Placer sur le frottis non fixé, séché à l'air, une goutte de la solution sodique de zincon \* recouvrir par une lamelle et luter.

**C. Résultats.**

Zinc coloré en bleu.

**D. Préparation du réactif.**

*α Solution tamponnée.*

Ajouter :

Solution à 0,15 % de zincon dans la soude 0,1 N ..... 2 ml

dans :

Tampon borax-acide borique pH 8,8 ..... 8 ml

*β Solution sodique pour frottis.*

Solution à 0,15 % de zincon dans la soude 0,1 N.

**III. — MÉTHODE AU RÉSORCINOL-AMMONIUM**

**A. Principe.**

En présence d'ions ammonium, le zinc donne avec le résorcinol un composé de coloration bleue.

**B. Procédé opératoire.**

Procédé décrit pour *frottis* non fixés, séchés à l'air.

1. Placer sur le frottis une goutte d'une solution à 5 % de résorcinol dans l'éthanol absolu.
2. Ajouter une goutte d'ammoniaque à 28 %.
3. Recouvrir d'une lamelle et luter.

**C. Résultats.**

Zinc coloré en bleu.

Techniques histochimiques de détection des sécrétion de mucus

**POLYSACCHARIDES AZOTÉS**

Les polysaccharides azotés sont définis par la présence, dans leur molécule, d'une hexosamine. Il en existe 3 groupes :

Mucopolysaccharides { acides  
neutres.  
Mucoprotéines.  
Glycoprotéines.

Les mucopolysaccharides sont, soit libres, soit associés à des protéines par des liaisons faibles. Lorsqu'ils comportent des groupements « acidiqes », ils sont dits acides et, dans le cas contraire, ils sont dits neutres. Les mucoprotéines et les glycoprotéines diffèrent entre eux par leur teneur en hexosamine, qui est supérieure à 4 % pour les premières et inférieure à 4 % pour les secondes; ils sont liés aux protéines par des liaisons fortes.

La quantité de protéines combinées étant indécélabale histochimiquement, il est impossible de distinguer les mucoprotéines et les glycoprotéines. En fait, seuls les mucopolysaccharides acides sont faciles à caractériser par les méthodes

histochimiques. Les mucopolysaccharides neutres, les mucoprotéines et les glycoprotéines constituent, du point de vue de leur mise en évidence, un groupe homogène. Ils sont souvent désignés sous le nom de « composés mucoides ».

#### Fixation et insolubilisation

La plupart des fixateurs usuels conviennent, mais dans les cas de polysaccharides très hydrosolubles, il y a lieu d'utiliser des modes de fixation plus particuliers. Ainsi, pour les mucopolysaccharides hydrosolubles du syndrome de Hurley, Wolfe (1964) recommande la technique suivante :

- fixer par le dioxane en milieu alcoolique pendant 24 à 48 heures;
- inclure à la celloidine-paraffine;
- étaler les coupes sur lames albuminées (p. 47), en utilisant l'alcool à 80° comme liquide d'étalement;
- dès étalement, immerger dans l'alcool absolu, égoutter et laisser sécher.

Ce traitement est suffisant si les coupes sont colorées en milieu alcoolique (bleu de toluidine à 1 % dans l'alcool éthylique à 50-80°) et déshydratées par l'acétone. Si les coupes sont colorées en milieu aqueux (bleu alcian), les mucopolysaccharides seront au préalable précipitées de la façon suivante :

- déparaffiner, passer à l'alcool absolu;
- traiter pendant 30 à 90 minutes par le mélange :
  - bromure de cetyl-triméthyl-ammonium . . . . . 10 g
  - solution aqueuse de formol à 10 % . . . . . 100 ml

#### Réaction préliminaire : acétylation réversible

La réaction à l'APS permet de détecter certains polysaccharides azotés. Son caractère positif ou négatif, sur des structures identifiées par d'autres méthodes comme étant des glucides, doit être pris en considération et est significatif.

Il est toutefois indispensable de vérifier que le caractère APS-positif d'une structure est bien dû à des glucides, par le test à l'acétylation réversible (p. 159).

#### Mise en évidence des mucopolysaccharides acides

La méthode au mucicarmin de Mayer n'a plus guère actuellement qu'un intérêt historique. Elle a été supplantée par des méthodes plus sensibles, et dont le mécanisme est mieux connu.

#### Méthode à l'hydrate de fer (Hale). — RÉACTIFS :

- hydrate de fer acétique :
  - solution colloïdale d'hydrate de fer (\*) . . . . . 1 vol.
  - solution aqueuse d'acide acétique à 12 % (2N) . . . . . 1 vol.
  - (à préparer extemporanément)
- ferrocyanure chlorhydrique :
  - solution aqueuse à 2 % de ferrocyanure de potassium . . . . . 1 vol.
  - acide chlorhydrique à 2 % . . . . . 1 vol.
  - (à préparer extemporanément)

#### MODE OPÉRATOIRE :

- 1° Déparaffiner, *ne pas collodionner*, hydrater.
- 2° Traiter par la solution d'hydrate de fer, pendant 10 minutes.
- 3° Laver avec soin à l'eau distillée, plusieurs fois renouvelée.
- 4° Traiter par la solution de ferrocyanure, pendant 10 minutes.
- 5° Laver à l'eau courante.
- 6° Colorer le fond.
- 7° Déshydrater.
- 8° Monter dans une résine neutre.

RÉSULTATS. — Les mucopolysaccharides acides sont colorés en *bleu*.

COLORATIONS DE FOND. — Sont à éviter : les laques qui se fixent sur certaines mucines, telles l'hémalum ou le carmin aluné, ainsi que certains colorants bleus tels le bleu d'aniline. Le plus simple consiste à colorer les noyaux par le rouge nucléaire solide, celui-ci pouvant être suivi ou non de micro-indigocarmin (p. 72). Il est également possible de faire un trichrome en un temps (p. 81).

VARIANTE. — Dans la variante de Ritter et Oleson, la méthode de Hale est combinée à l'APS. Il suffit de pratiquer la réaction de Hale (temps 1 à 5), et de la faire suivre de celle à l'APS; il est préférable d'éviter toute coloration de fond, sauf, à la rigueur, une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Groat (p. 72).

Cette méthode permet de détecter simultanément les divers mucopolysaccharides acides, APS-positifs ou non, et les autres composés APS-positifs. Selon leur degré de saturation par des radicaux anioniques, les mucopolysaccharides sont colorés en *bleu*, *rouge* ou *violet*.

CRITIQUE DE LA MÉTHODE DE HALE. — Les images sont nettes et précises. Malheureusement, les résultats dépendent, pour une large part, du lavage qui suit le traitement à l'hydrate de fer et des images faussement positives peuvent apparaître.

(\*) Solution commerciale.

Teneurs en Zn dans la partie molle des moules (Y: mg/kg) en fonction du poids sec des échantillons (X<sub>1</sub>: mg), du volume d'acide nitrique

| No | X1 | X2 | X3 | Y1    | Y2    | Y3    | Ymoyen     |
|----|----|----|----|-------|-------|-------|------------|
| 1  | -1 | -1 | -1 | 250.8 | 345.8 | 190   | 262.2      |
| 2  | -1 | -1 | 1  | 190   | 193.8 | 201.4 | 195.866667 |
| 3  | -1 | 1  | -1 | 243.2 | 387.6 | 281.2 | 304        |
| 4  | -1 | 1  | 1  | 289   | 220.4 | 231.8 | 220.4      |
| 5  | 1  | -1 | -1 | 174.8 | 164.4 | 160.5 | 166.566667 |
| 6  | 1  | -1 | 1  | 153.9 | 157.7 | 148.2 | 153.266667 |
| 7  | 1  | 1  | -1 | 160.6 | 155.8 | 154.9 | 157.1      |
| 8  | 1  | 1  | 1  | 153.9 | 167.2 | 179.6 | 166.9      |

VARIANCE INTRA-GROUPE DES ESSAIS : 1523.04248

VARIABLE 1  
 COEFFICIENT = 203.1875  
 CONTRIBUTION = 330201.282  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 3040.26697  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 100.635610  
 F de Fischer (1,7,95%) = 5.59  
 DEUXIEME TEST :  
 Analyse de variance : F = 650.568751

VARIABLE X1  
 COEFFICIENT = -42.2291667  
 CONTRIBUTION = 14266.4202  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1169.24144  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 12.2014322  
 F de Fischer (1,6,95%) = 5.99  
 DEUXIEME TEST :  
 Analyse de variance : F = 28.10116

VARIABLE X3  
 COEFFICIENT = -19.2791667  
 CONTRIBUTION = 2973.49014  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 808.391695  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 3.67827893  
 F de Fischer (1,3,95%) = 6.61  
 DEUXIEME TEST :  
 Analyse de variance : F = 5.85700697

VARIABLE XIX3  
 COEFFICIENT = 18.4041667

Tableau 2:

Plan expérimental à 3 variables:

X<sub>1</sub>: poids sec des échantillons(mg),  
 à 2 modalités: 50(-1) et 200(1)

X<sub>2</sub>: Volume d'acide nitrique (ml)  
 à 2modalités: 2(-1) et 8(1).

X<sub>3</sub>: Temps de minéralisation (heures)  
 à 2 modalités: 16(-1) et 48(1).

Y: Teneurs en Zinc dans les moules  
 (mg/kg) en fonction des trois  
 variables.

CONTRIBUTION = 2789.78681  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 333.842917  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 8.13572851  
F de Fischer (1,4,95%) = 7.71  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 5.33742199

VARIABLE X2  
COEFFICIENT = 8.91258881  
CONTRIBUTION = 635.461251  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 232.263473  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.73595882  
F de Fischer (1,3,95%) = 18.13  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 1.25169441

VARIABLE XIX2  
COEFFICIENT = -7.87883335  
CONTRIBUTION = 495.68814  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 188.595139  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 4.92668881  
F de Fischer (1,2,95%) = 18.31  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .97628417

VARIABLE XIX2X3  
COEFFICIENT = 4.94583333  
CONTRIBUTION = 195.698139  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 5.58813878  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 35.5791275  
F de Fischer (1,1,95%) = 161.4  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .38545899

VARIABLE X2X3  
COEFFICIENT = 8.829166458  
CONTRIBUTION = 5.52813873  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0  
TEST DE t CARRE :  
0 degres de liberte, test non faisable  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .8188338517

| No | X1 | X2 | X3 | Y1   | Y2   | Y3   | Ymoyen     |
|----|----|----|----|------|------|------|------------|
| 1  | -1 | -1 | -1 | 41.8 | 38.4 | 38.4 | 34.2       |
| 2  | -1 | -1 | 1  | 72.2 | 64.6 | 68.4 | 68.4       |
| 3  | -1 | 1  | -1 | 26.6 | 68.8 | 49.4 | 45.6       |
| 4  | -1 | 1  | 1  | 38   | 38   | 45.6 | 48.5333333 |
| 5  | 1  | -1 | -1 | 23.8 | 23.8 | 22.8 | 23.4666667 |
| 6  | 1  | -1 | 1  | 28.5 | 29.5 | 29.5 | 29.1666667 |
| 7  | 1  | 1  | -1 | 24.7 | 26.6 | 24.7 | 25.3333333 |
| 8  | 1  | 1  | 1  | 23.8 | 26.6 | 25.7 | 25.3666667 |

VARIANCE INTRA-GROUPE DES ESSAIS : 48.828328

VARIABLE 1  
 COEFFICIENT = 36.5883334  
 CONTRIBUTION = 18662.8672  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 227.752619  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 46.817759  
 F de Fischer (1,7,95%) = 5.59  
 DEUXIEME TEST :  
 Analyse de variance : F = 666.148887

VARIABLE X1  
 COEFFICIENT = -18.675  
 CONTRIBUTION = 911.645382  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 113.778556  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 8.81381353  
 F de Fischer (1,6,95%) = 5.99  
 DEUXIEME TEST :  
 Analyse de variance : F = 36.953894

VARIABLE X2X3  
 COEFFICIENT = -5.61666667  
 CONTRIBUTION = 252.375556  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 96.8495556  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 2.93298946  
 F de Fischer (1,5,95%) = 6.61  
 DEUXIEME TEST :  
 Analyse de variance : F = 15.7666293

VARIABLE X3  
 COEFFICIENT = 4.35933333

### Tableau 3:

Plan experimental à 3variables:

X<sub>1</sub>: Poids des échantions (mg) à 21 modalités: 50(-1) et 200(1)

X<sub>2</sub>: Volume d'acide nitrique (ml) à 2 modalités: 2(-1) et 8(1)

X<sub>3</sub>: Temps de minéralisation (heures) à 2 modalités: 16(-1) et 48(1).

Y: Teneurs en cuivre dans les moules en fonction des trois variables.

Y en mg/kg.

CONTRIBUTION = 151.968553  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 69.5718857  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.18422613  
F de Fischer (1,4,95%) = 7.71  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 9.49341443

VARIABLE XIX2X3  
COEFFICIENT = 4.28888881  
CONTRIBUTION = 141.12  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 45.7224875  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 3.88445166  
F de Fischer (1,3,95%) = 18.13  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 8.81617366

VARIABLE XIX3  
COEFFICIENT = -2.925  
CONTRIBUTION = 68.445  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 34.3611112  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 1.99193289  
F de Fischer (1,2,95%) = 18.51  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 4.27595667

VARIABLE X2  
COEFFICIENT = -2.3  
CONTRIBUTION = 42.3288881  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 26.4822223  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 1.68289537  
F de Fischer (1,1,95%) = 161.4  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 2.64385253

VARIABLE XIX2  
COEFFICIENT = 1.81666667  
CONTRIBUTION = 26.4822223  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0  
TEST DE t CARRE :  
0 degres de liberte, test non faisable  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 1.64942382



| No | X1 | X2 | X3 | Y1     | Y2     | Y3     | Ymoyen     |
|----|----|----|----|--------|--------|--------|------------|
| 1  | -1 | -1 | -1 | 5320   | 2356   | 1486   | 3027.33333 |
| 2  | -1 | -1 | 1  | 4828   | 2394   | 1338   | 2584       |
| 3  | -1 | 1  | -1 | 2774   | 5816   | 1159   | 2993       |
| 4  | -1 | 1  | 1  | 2755   | 4693   | 1182   | 2958       |
| 5  | 1  | -1 | -1 | 1198.7 | 1528   | 1596   | 1435.56667 |
| 6  | 1  | -1 | 1  | 1145.3 | 1444   | 1469.3 | 1359.53333 |
| 7  | 1  | 1  | -1 | 988    | 1453   | 2973.5 | 1871.5     |
| 8  | 1  | 1  | 1  | 1892.5 | 1529.5 | 2536.5 | 1719.5     |

VARIANCE INTRA-GROUPE DES ESSAIS : 183223.79

VARIABLE :

COEFFICIENT = 2229.88417

CONTRIBUTION = 39748544.1

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 498631.864

TEST DE t CARRE :

t carre = 79.6991668

F de Fischer (1,7,9%) = 5.59

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 65.1484669

VARIABLE X1:

COEFFICIENT = -632.279167

CONTRIBUTION = 3198215.56

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 48781.2477

TEST DE t CARRE :

t carre = 65.678895

F de Fischer (1,6,9%) = 5.99

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 5.24233524

VARIABLE X2

COEFFICIENT = 127.195833

CONTRIBUTION = 129438.24

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 32555.4493

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.97568588

F de Fischer (1,5,9%) = 6.61

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = .212154777

VARIABLE X3

COEFFICIENT = -138.545833

CONTRIBUTION = 98375.7148

#### Tableau 4:

Plan expérimental à 3 variables:

X<sub>1</sub>: Poids sec des échantillons (mg)  
à modalités: 50(-1) et 200(1)mg

X<sub>2</sub>: Volume d'acide nitrique (ml) à 2  
modalités: 2(-1) et 8(1) ml.

X<sub>3</sub>: Temps de minéralisation (heures) à  
2 modalités: 16(-1) et 48(1)h.

Y: Teneurs en fer dans les moules en  
(mg/KG) en fonctions des 3 variables

| TEMPS/<br>heures | 500 ug/l        |           |                 |           | 1000 ug/l       |           |                 |           |
|------------------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|
|                  | TOTAL           |           | DISSOUS         |           | TOTAL           |           | DISSOUS         |           |
|                  | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l |
| 0                | 540             | 40        | 500             | 40        | 1050            | 40        | 1000            | 30        |
| 3                | 440             | 30        | 420             | 20        | 840             | 60        | 790             | 60        |
| 6                | 410             | 20        | 400             | 20        | 640             | 60        | 590             | 60        |
| 9                | 400             | 30        | 380             | 10        | 530             | 70        | 480             | 80        |
| 18               | 380             | 40        | 340             | 30        | 470             | 50        | 421             | 60        |
| 24               | 360             | 30        | 320             | 20        | 350             | 50        | 290             | 60        |
| 30               | 340             | 30        | 300             | 30        | 300             | 60        | 237             | 60        |
| 48               | 220             | 60        | 200             | 40        | 260             | 30        | 220             | 40        |

Tableau 5:

| Zn : | 2000 ug/l       |           |                 |           | 4000 ug/l       |           |                 |           |
|------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|
|      | TOTAL           |           | DISSOUS         |           | TOTAL           |           | DISSOUS         |           |
|      | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l |
| 0    | 2030            | 40        | 1900            | 40        | 3950            | 40        | 3900            | 50        |
| 3    | 1830            | 50        | 1800            | 60        | 3350            | 70        | 3440            | 30        |
| 6    | 1550            | 60        | 1490            | 60        | 2490            | 40        | 2470            | 90        |
| 9    | 1420            | 40        | 1340            | 70        | 2270            | 90        | 2240            | 40        |
| 18   | 1100            | 40        | 1020            | 60        | 1210            | 60        | 1120            | 60        |
| 24   | 900             | 30        | 830             | 60        | 1100            | 20        | 1020            | 40        |
| 30   | 820             | 50        | 750             | 80        | 950             | 40        | 900             | 50        |
| 48   | 530             | 20        | 450             | 40        | 890             | 30        | 830             | 40        |

Tableau 6:

Tableau 5-6: Teneurs en Zinc dans le milieu expérimental (ug/l).

| Zn<br>total      | Temoin          |           | 1000 ug/l       |           | 2000 ug/l       |           | 4000 ug/l       |           |
|------------------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|
| TEMPS/<br>heures | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l |
| 0                | 40              | 10        | 930             | 40        | 1990            | 40        | 4100            | 100       |
| 48               | 30              | 10        | 240             | 40        | 630             | 30        | 380             | 100       |
| 0"               | 20              | 10        | 940             | 10        | 1880            | 50        | 4170            | 200       |
| 48'              | 30              | 10        | 300             | 40        | 640             | 40        | 770             | 30        |
| 0"               | 20              | 20        | 1060            | 100       | 2150            | 50        | 4220            | 70        |
| 48"              | 20              | 10        | 50              | 10        | 450             | 40        | 980             | 30        |

Tableau 7: Variation cyclique des teneurs en Zinc dans le milieu expérimental avec les changements du milieu.

| Zn ppb           | - Moules        |           |                 |              | + Moules (400)  |           |                 |           |
|------------------|-----------------|-----------|-----------------|--------------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|
|                  | 1000            |           | 2000            |              | 1000            |           | 2000            |           |
| TEMPS/<br>heures | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l | -1s-<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l |
| 0                | 1050            | 40        | 2030            | 40           | 1070            | 90        | 2020            | 40        |
| 3                | 840             | 60        | 1850            | 50           | 800             | 60        | 1870            | 20        |
| 6                | 640             | 60        | 1550            | 60           | 530             | 50        | 1500            | 50        |
| 9                | 530             | 70        | 1420            | 40           | 370             | 60        | 1230            | 60        |
| 18               | 470             | 50        | 1100            | 40           | 250             | 50        | 1020            | 60        |
| 24               | 350             | 50        | 900             | 30           | 210             | 60        | 800             | 60        |
| 30               | 300             | 60        | 820             | 50           | 170             | 40        | 710             | 50        |
| 48               | 260             | 30        | 530             | 20           | 160             | 40        | 400             | 60        |

Tableau 8:

Teneurs en Zinc dans le milieu expérimental en fonction de la présence ou non des moules.

| Zn :<br>EDTA:    | Temoin<br>-     |           | Temoin<br>+31uM EDTA |           | 2000 ug Zn/l<br>- |           | 2000 ug Zn/l<br>+71uM EDTA |           |
|------------------|-----------------|-----------|----------------------|-----------|-------------------|-----------|----------------------------|-----------|
|                  | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l      | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l   | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l            | s<br>ug/l |
| TEMPS/<br>heures |                 |           |                      |           |                   |           |                            |           |
| 0                | 30              | 30        | 30                   | 20        | 2030              | 40        | 2070                       | 100       |
| 3                | 50              | 10        | 30                   | 10        | 1850              | 50        | 2060                       | 300       |
| 6                | 50              | 20        | 50                   | 20        | 1550              | 60        | 2040                       | 200       |
| 9                | 30              | 30        | 60                   | 30        | 1420              | 40        | 2020                       | 200       |
| 18               | 20              | 10        | 50                   | 20        | 1100              | 40        | 2020                       | 100       |
| 24               | 30              | 10        | 60                   | 20        | 900               | 30        | 2020                       | 300       |
| 30               | 40              | 20        | 70                   | 20        | 820               | 50        | 2020                       | 200       |
| 48               | 20              | 10        | 70                   | 20        | 530               | 20        | 2090                       | 50        |

Tableau 9:

| Zn :<br>EDTA:    | Temoin<br>-     |           | Temoin<br>+71uM EDTA |           | 4000 ug Zn/l<br>- |           | 4000 ug Zn/l<br>+71uM EDTA |           |
|------------------|-----------------|-----------|----------------------|-----------|-------------------|-----------|----------------------------|-----------|
|                  | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l      | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l   | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l            | s<br>ug/l |
| TEMPS/<br>heures |                 |           |                      |           |                   |           |                            |           |
| 0                | 30              | 30        | 20                   | 30        | 3950              | 40        | 4050                       | 100       |
| 3                | 50              | 10        | 40                   | 20        | 3550              | 70        | 4090                       | 40        |
| 6                | 50              | 20        | 50                   | 20        | 2990              | 40        | 4090                       | 30        |
| 9                | 30              | 30        | 60                   | 30        | 2270              | 90        | 4100                       | 50        |
| 18               | 20              | 10        | 70                   | 20        | 1210              | 60        | 4080                       | 40        |
| 24               | 30              | 10        | 60                   | 20        | 1100              | 20        | 4090                       | 60        |
| 30               | 40              | 20        | 80                   | 10        | 950               | 40        | 4070                       | 50        |
| 48               | 20              | 10        | 90                   | 20        | 890               | 50        | 4150                       | 40        |

Tableau 10:-

Tableau 9-10: Effet de la présence de l'EDTA dans le milieu expérimental sur la solubilité du Zinc.

| En ppb<br>2000   | Temperature: 12+1 deg.C |           |                 |           | 20+1 deg.C      |           |                 |           |
|------------------|-------------------------|-----------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|
|                  | Total                   |           | Dissous         |           | Total           |           | Dissous         |           |
| TEMPS/<br>heures | MOYENNE<br>ug/l         | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l | MOYENNE<br>ug/l | s<br>ug/l |
| 0                | 2210                    | 40        | 1700            | 30        | 2030            | 40        | 1900            | 40        |
| 10               | 1930                    | 60        | 1870            | 60        | 1830            | 30        | 1800            | 60        |
| 20               | 1690                    | 50        | 1630            | 60        | 1530            | 60        | 1490            | 60        |
| 30               | 1590                    | 50        | 1440            | 40        | 1420            | 40        | 1340            | 70        |
| 40               | 1230                    | 60        | 1100            | 40        | 1100            | 40        | 1020            | 60        |
| 50               | 1100                    | 20        | 900             | 30        | 900             | 30        | 830             | 60        |
| 60               | 740                     | 40        | 800             | 50        | 820             | 50        | 750             | 80        |
| 48               | 600                     | 20        | 530             | 20        | 530             | 20        | 450             | 40        |

Tableau 11: Effet de la température du milieu sur la solubilité du Zinc dans le milieu expérimental.

ECHANTILLON : DREISSENA P.

ESSAI N° 1

CONCENTRATIONS      SUJETS TESTES      SUJETS MORTS      % MORTALITE

|      |    |    |     |
|------|----|----|-----|
| 31   | 20 | 1  | 5   |
| 31.5 | 20 | 4  | 20  |
| 32   | 20 | 8  | 40  |
| 32.5 | 20 | 12 | 60  |
| 33   | 20 | 20 | 100 |

| C    | Pax   | Ppr   | Pco   | W     |
|------|-------|-------|-------|-------|
| 31   | 3.353 | 3.43  | 3.361 | 4.96  |
| 31.5 | 4.138 | 4.068 | 4.162 | 9.22  |
| 32   | 4.747 | 4.698 | 4.748 | 12.52 |
| 32.5 | 5.253 | 5.316 | 5.253 | 12.28 |
| 33   | -     | 5.926 | 6.697 | 9.28  |

$x = 1.587$        $y = 4.96$        $b = -24.41$

Equation de la courbe de mortalité :

$y = 4.96 - 24.41 \ln(x - 1.587)$

DL 50 = 32.076  
U DL 50 = .4E-04  
s DL 50 = .6E-02

Essai de détermination de la température létale (TL50 )

| Zn:mg/l | Témoin |      | 0.25  |      | 0.50  |      |
|---------|--------|------|-------|------|-------|------|
| Temps/j | m (mg) | s    | m     | s    | m     | s    |
| 0       | 106.7  | 24.4 |       |      |       |      |
| 1       | 102.6  | 26.4 | 94.7  | 36.2 | 111.1 | 11.0 |
| 2       | 115.0  | 14.3 | 110.2 | 4.3  | 95.8  | 40.3 |
| 4       | 98.3   | 22.2 | 91.7  | 11.0 | 92.8  | 11.0 |
| 6       | 74.4   | 12.2 | 48.8  | 11.4 | 69.8  | 11.3 |
| 8       | 79.1   | 17.6 | 92.4  | 31.8 | 63.6  | 26.8 |
| 10      | 82.0   | 16.2 | 93.1  | 35.8 | 82.2  | 26.3 |
| 12      | 72.4   | 14.9 | 62.1  | 16.3 | 61.1  | 8.9  |
| 14      | 88.9   | 20.7 | 89.7  | 9.4  | 75.1  | 19.1 |
| 16      | 56.9   | 19.4 | 37.3  | 4.7  | 74.3  | 24.2 |
| 18      | 59.3   | 20.6 | 62.2  | 32.2 | 69.5  | 30.1 |
| 20      | 75.4   | 5.6  | 49.8  | 13.5 | 68.0  | 18.8 |
| 22      | 46.8   | 20.4 | 64.6  | 12.1 | 63.5  | 11.7 |
| 24      | 104.8  | 26.0 | 67.6  | 23.6 | 88.7  | 9.5  |
| 26      | 67.1   | 13.5 | 62.6  | 24.3 | 68.1  | 22.2 |
| 28      | 73.2   | 24.4 | 63.2  | 17.2 | 62.2  | 15.8 |

Tableau 12:

| Zn:mg/l | 1.00   |      | 1.50  |      | 2.00  |      |
|---------|--------|------|-------|------|-------|------|
| Temps/j | m (mg) | s    | m     | s    | m     | s    |
| 0       |        |      |       |      |       |      |
| 1       | 120.5  | 36.2 | 107.3 | 51.1 | 125.1 | 18.5 |
| 2       | 33.3   | 13.3 | 31.9  | 2.3  | 69.5  | 35.5 |
| 4       | 69.4   | 12.7 | 81.2  | 48.2 | 114.0 | 35.0 |
| 6       | 96.5   | 8.5  | 67.9  | 20.3 | 95.0  | 25.2 |
| 8       | 86.7   | 27.7 | 109.2 | 15.6 | 82.5  | 16.5 |
| 10      | 66.9   | 22.9 | 78.6  | 10.1 | 76.6  | 18.3 |
| 12      | 89.0   | 6.0  | 80.7  | 18.7 | 54.2  | 29.8 |
| 14      | 63.5   | 16.3 | 86.1  | 28.3 | 33.9  | 27.4 |
| 16      | 64.0   | 25.2 | 97.3  | 26.0 | 96.8  | 24.9 |
| 18      | 64.5   | 13.3 | 71.4  | 23.2 | 84.1  | 31.4 |
| 20      | 64.0   | 19.9 | 63.2  | 17.3 | 46.8  | 11.2 |
| 22      | 64.6   | 20.6 | 50.6  | 16.1 | 61.8  | 16.6 |
| 24      | 46.3   | 11.9 | 36.0  | 4.1  | 36.9  | 5.7  |
| 26      | 50.0   | 25.6 | 66.0  | 11.2 | 60.8  | 16.7 |
| 28      | 62.7   | 7.7  | 36.3  | 6.7  | 76.6  | 12.2 |

Tableau 13:

Tableau 12-13: Poids. sec des échantillons de moules  
témoins et contaminées avec le Zinc: Expérience du 05/86

| Zn:mg/l | Temoin |       |      | 0.25  |       |      | 0.50   |       |      |
|---------|--------|-------|------|-------|-------|------|--------|-------|------|
| Temps/j | m (mg) | s     | CV % | m     | s     | CV % | m      | s     | CV % |
| 0       | 182.7  | 27.4  | 15.0 |       |       |      |        |       |      |
| 1       | 192.7  | 52.3  | 27.1 | 224.7 | 17.0  | 7.6  | 286.0  | 44.7  | 15.6 |
| 2       | 193.4  | 13.9  | 7.2  | 195.4 | 32.4  | 16.6 | 271.6  | 24.3  | 8.7  |
| 4       | 199.7  | 58.0  | 29.0 | 312.4 | 76.4  | 24.3 | 332.2  | 83.2  | 25.1 |
| 6       | 189.1  | 21.7  | 11.5 | 296.3 | 65.6  | 22.1 | 414.2  | 97.6  | 23.6 |
| 8       | 208.4  | 32.7  | 23.4 | 271.2 | 29.7  | 11.0 | 464.6  | 46.1  | 9.7  |
| 10      | 193.9  | 31.2  | 13.7 | 366.6 | 64.4  | 21.8 | 460.4  | 99.2  | 21.5 |
| 12      | 226.2  | 15.0  | 6.6  | 443.1 | 139.5 | 31.5 | 538.0  | 104.7 | 17.8 |
| 14      | 226.5  | 78.4  | 41.6 | 477.9 | 137.5 | 27.6 | 463.0  | 153.4 | 31.8 |
| 16      | 323.3  | 101.2 | 30.8 | 437.3 | 55.5  | 12.7 | 641.7  | 51.8  | 8.1  |
| 18      | 279.1  | 30.8  | 27.0 | 429.0 | 79.7  | 18.6 | 652.6  | 131.9 | 27.9 |
| 20      | 276.7  | 54.0  | 17.4 | 425.3 | 66.5  | 15.6 | 784.0  | 156.0 | 17.6 |
| 22      | 285.2  | 52.9  | 13.6 | 477.6 | 95.2  | 18.7 | 1066.8 | 210.4 | 19.7 |
| 24      | 206.6  | 37.1  | 27.4 | 525.4 | 150.2 | 26.6 | 817.1  | 111.4 | 13.6 |
| 26      | 229.2  | 30.5  | 15.0 | 316.6 | 149.2 | 28.8 | 1099.5 | 303.4 | 27.8 |
| 28      | 231.9  | 36.5  | 16.6 | 340.6 | 149.2 | 32.8 | 1207.1 | 153.2 | 11.0 |

Tableau 14:

| Zn:mg/l | 1.00   |       |      | 1.50   |       |      | 2.00   |       |      |
|---------|--------|-------|------|--------|-------|------|--------|-------|------|
| Temps/j | m (mg) | s     | CV % | m      | s     | CV % | m      | s     | CV % |
| 0       | 182.7  | 27.4  | 15.0 |        |       |      |        |       |      |
| 1       | 300.2  | 52.4  | 17.3 | 326.7  | 23.3  | 7.1  | 350.8  | 50.6  | 14.4 |
| 2       | 304.4  | 71.9  | 23.6 | 582.5  | 123.7 | 21.6 | 398.0  | 80.5  | 20.2 |
| 4       | 396.4  | 33.7  | 8.5  | 576.2  | 123.7 | 21.6 | 479.7  | 81.6  | 17.0 |
| 6       | 470.9  | 20.3  | 4.4  | 362.8  | 25.2  | 4.5  | 731.4  | 82.1  | 11.2 |
| 8       | 619.7  | 52.7  | 6.3  | 504.0  | 54.5  | 10.6 | 659.0  | 90.0  | 13.7 |
| 10      | 717.9  | 101.0 | 14.1 | 673.0  | 79.5  | 11.8 | 750.0  | 99.8  | 13.3 |
| 12      | 736.6  | 392.6 | 33.3 | 670.5  | 139.5 | 20.8 | 770.0  | 45.6  | 5.9  |
| 14      | 767.0  | 330.0 | 43.0 | 950.5  | 255.6 | 26.9 | 927.5  | 89.5  | 7.7  |
| 16      | 733.1  | 212.6 | 29.0 | 1102.6 | 174.4 | 17.6 | 1134.1 | 166.0 | 16.4 |
| 18      | 708.7  | 150.4 | 18.4 | 1005.7 | 163.7 | 16.3 | 1140.2 | 162.2 | 14.2 |
| 20      | 786.6  | 178.6 | 17.9 | 1310.5 | 267.1 | 20.4 | 1359.8 | 315.7 | 23.2 |
| 22      | 778.6  | 162.4 | 16.6 | 1339.5 | 261.6 | 19.5 | 1347.1 | 327.9 | 24.3 |
| 24      | 1362.7 | 232.2 | 17.0 | 1854.2 | 227.6 | 12.3 | 2215.3 | 227.6 | 10.3 |
| 26      | 1039.7 | 140.4 | 13.5 | 2024.1 | 419.2 | 20.7 | 2114.9 | 421.7 | 19.9 |
| 28      | 1652.4 | 153.2 | 6.1  | 1740.4 | 111.1 | 6.4  | 2762.6 | 309.7 | 11.2 |

Tableau 15:

Tableau 14-15: Teneurs en Zinc dans les moules témoins et contaminées

Essai du 05/1986

| Zn:mg/l | 0.25   |       | 0.50   |       | 1.00   |       | 1.50   |       | 2.00   |       |
|---------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|
| Temps/j | m      | s     | m      | s     | m      | s     | m      | s     | m      | s     |
| 0       |        |       |        |       |        |       |        |       |        |       |
| 1       | 1248.7 | 74.4  | 1021.4 | 139.6 | 1154.6 | 201.3 | 563.3  | 40.2  | 661.7  | 102.2 |
| 2       |        |       |        |       |        |       |        |       |        |       |
| 4       | 1308.7 | 165.0 | 1639.3 | 164.5 | 2383.5 | 203.5 | 669.0  | 74.0  | 1243.4 | 169.3 |
| 6       |        |       |        |       |        |       |        |       |        |       |
| 12      | 2429.4 | 306.3 | 2291.0 | 163.0 | 2319.6 | 417.7 | 1901.0 | 335.2 | 2139.6 | 330.9 |
| 18      |        |       |        |       |        |       |        |       |        |       |
| 22      | 2654.4 | 526.7 | 3610.3 | 731.4 | 3763.6 | 624.6 | 2309.1 | 431.0 | 2341.7 | 616.7 |
| 28      |        |       |        |       |        |       |        |       |        |       |
| 28      | 3003.3 | 783.6 | 4311.1 | 475.7 | 6335.4 | 312.3 | 3002.4 | 191.6 | 3212.3 | 364.3 |

Tableau 16: Facteurs en concentrations du zinc chez les moules contaminées

Essai du 05/1986

| Temps/j | Témoins |   |     |
|---------|---------|---|-----|
|         | m       | % | s   |
| 0       | 10.0    |   | 1.1 |
| 1       | 7.2     |   | 1.4 |
| 2       | 7.6     |   | 0.7 |
| 4       | 7.6     |   | 0.3 |
| 6       | 8.0     |   | 2.0 |
| 8       | 8.2     |   | 0.6 |
| 10      | 8.1     |   | 0.9 |
| 12      | 7.7     |   | 0.9 |
| 14      | 8.4     |   | 1.0 |
| 16      | 6.5     |   | 2.0 |
| 18      | 6.4     |   | 2.0 |
| 20      | 6.7     |   | 3.2 |
| 22      | 6.7     |   | 2.2 |
| 24      | 6.4     |   | 1.0 |
| 26      | 6.1     |   | 2.3 |
| 28      | 7.4     |   | 2.0 |
| 30      | 6.0     |   | 1.2 |
| 34      | 6.0     |   | 2.0 |
| 36      | 7.4     |   | 2.1 |
| 42      | 8.0     |   | 1.0 |
| 46      | 9.8     |   | 1.4 |
| 50      | 7.7     |   | 0.5 |
| 54      | 6.1     |   | 3.0 |
| 56      | 7.0     |   | 1.7 |

Tableau 17: Pourcentage du poids sec (%PS/PF) des échantillons de moules témoins. Essai du 05/86

| TEMPS/<br>Jours | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% |
|-----------------|------------------|------------|---------|------------------|------------|---------|------------------|------------|---------|
| 0               | 144.7            | 16.7       | 12.7    | 163.7            | 46.7       | 28.3    | 143.0            | 37.0       | 23.7    |
| 4               | 178.0            | 23.3       | 13.2    | 547.0            | 236.3      | 43.1    | 577.7            | 211.6      | 35.0    |
| 6               | 121.0            | 24.1       | 19.7    | 1022.7           | 267.6      | 26.4    | 1734.7           | 449.6      | 23.3    |
| 12              | 176.4            | 28.6       | 16.0    | 1471.4           | 324.4      | 22.1    | 1511.1           | 322.2      | 24.6    |
| 20              | 164.0            | 77.6       | 43.3    | 1502.7           | 233.0      | 14.6    | 994.6            | 531.3      | 55.3    |
| 24              | 207.0            | 33.3       | 17.6    | 1676.1           | 251.6      | 13.3    | 1454.5           | 177.4      | 12.2    |
| 28              | 355.3            | 146.3      | 41.2    | 1367.4           | 226.5      | 14.5    | 2366.3           | 624.3      | 21.6    |
| 36              | 162.4            | 72.4       | 44.6    | 1533.0           | 427.0      | 27.7    | 2096.5           | 717.0      | 34.2    |

Tableau 18: Teneurs en Zinc dans les moules témoins et contaminées. Essai du 12/1986

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 77.6     | 6.9     | 8.9     |
| 4               | 89.4     | 26.8    | 30.0    |
| 8               | 71.6     | 16.0    | 22.3    |
| 16              | 66.7     | 12.2    | 18.3    |
| 20              | 74.0     | 12.2    | 16.5    |
| 24              | 70.9     | 18.7    | 26.4    |
| 28              | 65.9     | 11.9    | 18.1    |
| 36              | *67.4    | 15.0    | 22.2    |

Tableau 19:

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 69.5     | 13.6    | 19.6    |
| 4               | 75.1     | 16.6    | 22.1    |
| 8               | 73.6     | 10.6    | 14.4    |
| 16              | 72.2     | 10.0    | 13.9    |
| 20              | 79.6     | 6.9     | 1.3     |
| 24              | 61.6     | 6.0     | 9.7     |
| 28              | 67.0     | 24.3    | 56.6    |
| 36              | 42.9     | 9.3     | 21.7    |

Tableau 20:

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 99.4     | 32.2    | 32.4    |
| 4               | 76.5     | 10.6    | 13.9    |
| 8               | 65.3     | 10.4    | 15.9    |
| 16              | 85.1     | 8.0     | 9.4     |
| 20              | 88.4     | 16.5    | 18.7    |
| 24              | 60.1     | 10.6    | 17.6    |
| 28              | 75.0     | 16.3    | 21.7    |
| 36              | 65.1     | 17.5    | 26.9    |

Tableau 21:

Tableau 19-21: Poids sec des échantillons de moules témoins (T.19) et contaminées avec le Zinc (T.20 et 21). Essai du 12/1986.



Comparaison de la cinétique d'accumulation du Zinc par les Dreissènes contaminées avec 2ppm de Zinc en automne et au printemps (1986).

Plan factoriel à 3 variables:

X<sub>1</sub>: la saison avec 2 modalités; 1'automne (-1) et le printemps (1).

X<sub>2</sub>: le temps d'exposition avec 4 modalités; 0(-3), 8(-1), 16(1) et 24(3).  
Temps par jours.

X<sub>3</sub>: Teneurs en Zinc dans le milieu avec 2 modalités; 0ppm(-1) et 2ppm(1).

| No | X1 | X2 | X3 | Y1     | Y2     | Y3     | Y4     | Ymoyen   |
|----|----|----|----|--------|--------|--------|--------|----------|
| 1  | -1 | -3 | -1 | 122.2  | 139.2  | 166.4  | 151.1  | 144.725  |
| 2  | -1 | -3 | 1  | 233.5  | 142.4  | 143.1  | 135.7  | 163.675  |
| 3  | -1 | -1 | -1 | 185.6  | 148.1  | 134.6  | 84.8   | 121.275  |
| 4  | -1 | -1 | 1  | 243.8  | 1359.1 | 1088.8 | 720.8  | 1822.875 |
| 5  | -1 | 1  | -1 | 217.1  | 148.4  | 171.9  | 176.1  | 178.375  |
| 6  | -1 | 1  | 1  | 1332.7 | 1144.8 | 1582.2 | 1906   | 1471.425 |
| 7  | -1 | 3  | -1 | 184.9  | 238.3  | 238.9  | 168.2  | 287.575  |
| 8  | -1 | 3  | 1  | 2149.4 | 2834.3 | 1832.8 | 1575.8 | 1898.075 |
| 9  | 1  | -3 | -1 | 186.1  | 188.9  | 171.5  | 183.5  | 182.5    |
| 10 | 1  | -3 | 1  | 186.1  | 188.9  | 171.5  | 183.5  | 182.5    |
| 11 | 1  | -1 | -1 | 249.1  | 147.6  | 256.1  | 188.7  | 288.375  |
| 12 | 1  | -1 | 1  | 781.3  | 647.8  | 642.3  | 564.4  | 658.95   |
| 13 | 1  | 1  | -1 | 419.1  | 238.3  | 224.4  | 439.2  | 328.25   |
| 14 | 1  | 1  | 1  | 1662.8 | 1265.7 | 1352   | 888.2  | 1298.175 |
| 15 | 1  | 3  | -1 | 284.5  | 179.2  | 298.2  | 161.3  | 288.8    |
| 16 | 1  | 3  | 1  | 2316.2 | 1821.9 | 2588.2 | 2215   | 2215.325 |

VARIANCE INTRA-GROUPE DES ESSAIS : 28858.3821

VARIABLE :

COEFFICIENT = 655.179688

CONTRIBUTION = 6869166.77

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 498869.59

TEST DE t CARRE :

t carre = 14.8146765

F de Fischer (1,15,95%) = 4.54

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 951.984874

VARIABLE X3

COEFFICIENT = 457.695313

CONTRIBUTION = 3351759.99

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 285663.133

TEST DE t CARRE :

t carre = 11.7332686

F de Fischer (1,14,95%) = 4.6

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 464.581732

VARIABLE X2

COEFFICIENT = 160.323438

CONTRIBUTION = 2856288.37

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 149461.192

TEST DE t CARRE :

t carre = 13.7588387

F de Fischer (1,13,95%) = 4.67

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 285.818622

VARIABLE X2X3

COEFFICIENT = 149.212813

CONTRIBUTION = 1781157.88

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 13486.5348

TEST DE t CARRE :

t carre = 132.06929

F de Fischer (1,12,95%) = 4.75

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 246.883142

VARIABLE X1(X2E2-5)X3

COEFFICIENT = 16.8628906

CONTRIBUTION = 72795.4126

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 8894.81868

TEST DE t CARRE :

t carre = 8.99284042

F de Fischer (1,11,95%) = 4.84

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 18.898047

VARIABLE X1(X2E2-5)

COEFFICIENT = 18.6761719

CONTRIBUTION = 29179.0454

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 5986.39681

TEST DE t CARRE :

t carre = 4.87422571

F de Fischer (1,10,95%) = 4.96

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 4.04445768

VARIABLE XIX2X3

COEFFICIENT = 14.0603125

CONTRIBUTION = 15815.391

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 4894.28546

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.23139938

F de Fischer (1,9,95%) = 5.12

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 2.19214435

VARIABLE XIX3

COEFFICIENT = -30.3171876

CONTRIBUTION = 14706.1098

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 3667.88741

TEST DE t CARRE :

t carre = 4.80958982

F de Fischer (1,8,95%) = 5.32

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 2.03838879

VARIABLE XIX2

COEFFICIENT = 12.8884375

CONTRIBUTION = 13288.9457

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 2293.35989

TEST DE t CARRE :

t carre = 5.79453332

F de Fischer (1,7,95%) = 5.59

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 1.84195808

VARIABLE (X2E3-8.2X2)X3  
COEFFICIENT = 5.85839865  
CONTRIBUTION = 11753.3782  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 716.690576  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 16.3995843  
F de Fischer (1,6,95%) = 5.99  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 1.62911458

VARIABLE X1(X2E3-8.2X2)  
COEFFICIENT = -2.47122396  
CONTRIBUTION = 2814.88157  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 297.212378  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 9.4682516  
F de Fischer (1,5,95%) = 6.61  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .398855844

VARIABLE (X2E2-5)X3  
COEFFICIENT = 1.78039864  
CONTRIBUTION = 748.18085  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 186.47846  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 3.96942256  
F de Fischer (1,4,95%) = 7.71  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .102595893

VARIABLE (X2E2-5)  
COEFFICIENT = -1.19570312  
CONTRIBUTION = 366.884723  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 126.625785  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.89844569  
F de Fischer (1,3,95%) = 18.13  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .85873129

VARIABLE X1  
COEFFICIENT = 4.17968744  
CONTRIBUTION = 279.516594  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 58.1882688  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 5.57824992  
F de Fischer (1,2,95%) = 18.51  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .838743318

VARIABLE (X2E3-8.2X2)  
COEFFICIENT = 8.448567722  
CONTRIBUTION = 92.7189511  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 7.64157835  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 12.1334944

F de Fischer (1,1,95%) = 161.4

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = .0129516156

VARIABLE X1(X2E3-0.2X2)X3

COEFFICIENT = -0.128776042

CONTRIBUTION = 7.64157035

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0

TEST DE t CARRE :

0 degres de liberte, test non faisable

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 1.05910502E-03

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 77.6     | 6.9     | 8.9     |
| 4               | 89.4     | 26.8    | 30.0    |
| 8               | 71.6     | 16.0    | 22.3    |
| 16              | 66.7     | 12.2    | 18.3    |
| 20              | 74.0     | 12.2    | 16.5    |
| 24              | 70.9     | 18.7    | 26.4    |
| 28              | 65.9     | 11.9    | 18.1    |
| 36              | *67.4    | 15.0    | 22.2    |

Tableau 22:

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 69.5     | 13.6    | 19.6    |
| 4               | 75.1     | 16.6    | 22.1    |
| 8               | 73.6     | 10.6    | 14.4    |
| 16              | 72.2     | 10.0    | 13.9    |
| 20              | 79.6     | 6.9     | 1.3     |
| 24              | 61.6     | 6.0     | 9.7     |
| 28              | 67.0     | 24.3    | 56.6    |
| 36              | 42.9     | 9.3     | 21.7    |

Tableau 23:

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 99.4     | 32.2    | 32.4    |
| 4               | 76.5     | 10.6    | 13.9    |
| 8               | 65.3     | 10.4    | 15.9    |
| 16              | 85.1     | 8.0     | 9.4     |
| 20              | 88.4     | 16.5    | 18.7    |
| 24              | 60.1     | 10.6    | 17.6    |
| 28              | 75.0     | 16.3    | 21.7    |
| 36              | 65.1     | 17.5    | 26.9    |

Tableau 24:

Tableau 22-30: Poids sec des échantillons de moules (partie molle) témoins (T.22, 25 et 26) et contaminées avec le Zinc, En présence (T. 26, 27, 29 et 30) et en absence de l'EDTA (T.23, 24). Essai du 12/1986).

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 94.2     | 18.8    | 20.0    |
| 4               | 64.9     | 18.3    | 28.2    |
| 8               | 61.6     | 19.9    | 32.3    |
| 16              | 75.1     | 5.9     | 7.9     |
| 20              | 67.4     | 18.6    | 27.6    |
| 24              | 72.1     | 17.8    | 24.7    |
| 28              | 44.2     | 14.3    | 32.6    |
| 36              | 61.3     | 4.8     | 7.9     |

Tableau 25:

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 102.8    | 10.1    | 9.8     |
| 4               | 97.3     | 32.0    | 32.9    |
| 8               | 75.6     | 18.9    | 25.0    |
| 16              | 54.8     | 11.0    | 20.9    |
| 20              | 51.1     | 4.1     | 8.0     |
| 24              | 78.4     | 16.6    | 21.2    |
| 28              | 64.5     | 14.8    | 23.0    |
| 36              | 51.2     | 6.8     | 13.4    |

Tableau 26:

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 80.9     | 23.8    | 29.4    |
| 4               | 85.3     | 17.1    | 20.1    |
| 8               | 75.7     | 10.3    | 13.6    |
| 16              | 74.7     | 20.2    | 27.0    |
| 20              | 59.7     | 15.8    | 26.5    |
| 24              | 54.9     | 6.3     | 11.5    |
| 28              | 49.6     | 15.0    | 30.2    |
| 36              | 71.8     | 9.4     | 13.1    |

Tableau 27:

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 90.7     | 22.4    | 24.7    |
| 4               | 70.3     | 27.6    | 39.3    |
| 8               | 82.5     | 24.8    | 30.1    |
| 16              | 65.7     | 12.7    | 19.3    |
| 20              | 73.3     | 22.4    | 30.6    |
| 24              | 53.4     | 7.1     | 13.3    |
| 28              | 52.0     | 12.7    | 24.4    |
| 36              | 45.7     | 10.3    | 22.5    |

Tableau 28:

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 76.9     | 10.1    | 13.1    |
| 4               | 93.3     | 21.3    | 22.8    |
| 8               | 83.8     | 24.4    | 29.1    |
| 16              | 82.0     | 21.9    | 26.7    |
| 20              | 69.4     | 9.9     | 14.3    |
| 24              | 66.2     | 13.8    | 20.9    |
| 28              | 59.6     | 23.2    | 38.9    |
| 36              | 60.8     | 14.6    | 24.0    |

Tableau-29:

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 92.7     | 29.9    | 32.3    |
| 4               | 78.8     | 9.3     | 11.8    |
| 8               | 56.1     | 13.7    | 24.4    |
| 16              | 55.0     | 21.2    | 38.6    |
| 20              | 66.4     | 10.9    | 16.4    |
| 24              | 65.8     | 11.6    | 17.6    |
| 28              | 50.5     | 8.0     | 15.8    |
| 36              | 62.8     | 9.0     | 14.3    |

Tableau 30:

| Moules: témoins |                  |            |         | Contaminées: 2ppm |            |         | Contaminées: 4ppm Zn |            |         |
|-----------------|------------------|------------|---------|-------------------|------------|---------|----------------------|------------|---------|
| TEMPS/<br>jours | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg  | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg     | s<br>mg/kg | CV<br>% |
| 0               | 144.7            | 18.7       | 12.9    | 163.7             | 46.7       | 28.5    | 143.0                | 37.0       | 25.9    |
| 4               | 178.0            | 23.5       | 13.2    | 549.0             | 236.5      | 43.1    | 599.7                | 211.6      | 35.3    |
| 8               | 121.3            | 24.1       | 19.9    | 1022.9            | 269.6      | 26.4    | 1734.9               | 449.8      | 23.3    |
| 16              | 178.4            | 28.6       | 16.0    | 1471.4            | 324.4      | 22.1    | 1311.1               | 322.2      | 24.6    |
| 20              | 164.3            | 79.8       | 43.3    | 1502.7            | 233.0      | 14.6    | 994.6                | 551.5      | 55.5    |
| 24              | 207.0            | 36.5       | 17.6    | 1898.1            | 251.6      | 13.3    | 1454.5               | 177.4      | 12.2    |
| 28              | 355.5            | 146.3      | 41.2    | 1567.4            | 226.5      | 14.5    | 2666.3               | 624.5      | 21.6    |
| 36              | 162.4            | 72.4       | 44.6    | 1533.3            | 429.0      | 27.9    | 2098.5               | 717.0      | 34.2    |

Tableau 31: Teneurs en Zinc dans les moules (partie molle) témoins et contaminées avec 2 ou 4ppm de Zinc. 12/1986

| Moules: témoins |                  |            |         | Contaminées: Zn + EDTA |            |         | Contaminées: Zn + EDTA |            |         |
|-----------------|------------------|------------|---------|------------------------|------------|---------|------------------------|------------|---------|
| TEMPS/<br>jours | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg       | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg       | s<br>mg/kg | CV<br>% |
| 0               | 137.6            | 12.2       | 8.9     | 118.4                  | 23.4       | 19.8    | 124.2                  | 11.6       | 9.3     |
| 4               | 127.3            | 11.6       | 9.1     | 200.4                  | 75.4       | 38.0    | 184.9                  | 52.2       | 28.2    |
| 8               | 127.1            | 31.9       | 25.1    | 196.7                  | 34.6       | 17.4    | 173.1                  | 21.3       | 12.3    |
| 16              | 91.1             | 14.3       | 15.7    | 344.3                  | 69.1       | 25.9    | 293.9                  | 39.3       | 19.3    |
| 20              | 104.6            | 15.0       | 14.3    | 405.4                  | 81.4       | 20.1    | 240.0                  | 48.8       | 20.4    |
| 24              | 101.5            | 13.7       | 13.5    | 296.6                  | 95.0       | 32.0    | 410.5                  | 94.7       | 23.1    |
| 28              | 78.8             | 12.5       | 15.9    | 326.0                  | 88.5       | 27.1    | 637.3                  | 224.8      | 35.3    |
| 36              | 112.6            | 19.5       | 17.3    | 419.7                  | 149.7      | 35.7    | 278.2                  | 68.4       | 24.6    |

Tableau 32: Effet de la présence de l'EDTA en concentration molaire égale à celle du Zinc, sur l'accumulation du Zinc chez la Dreissène.

| Milieu          | Zn: 2mg/l + 155µM |       |      |      | Zn: 4mg/l + 355µM |       |      |      |
|-----------------|-------------------|-------|------|------|-------------------|-------|------|------|
|                 | -EDTA             |       |      |      | -EDTA             |       |      |      |
|                 | m                 | s     | m    | s    | m                 | s     | m    | s    |
| TEMPS/<br>jours |                   |       |      |      |                   |       |      |      |
| 0               |                   |       |      |      |                   |       |      |      |
| 4               | 1035.9            | 446.2 | 62.5 | 20.7 | 673.8             | 237.8 | 39.5 | 3.8  |
| 8               | 1930.0            | 508.7 | 75.3 | 13.5 | 2174.1            | 503.4 | 30.5 | 7.1  |
| 16              | 2776.2            | 612.1 | 76.0 | 17.4 | 1473.2            | 362.0 | 25.2 | 6.3  |
| 20              | 2835.3            | 439.6 | 51.0 | 12.0 | 1117.5            | 619.7 | 26.6 | 4.5  |
| 24              | 3531.3            | 474.7 | 60.0 | 6.6  | 1634.3            | 199.3 | 26.6 | 3.9  |
| 28              | 2957.4            | 427.4 | 65.6 | 16.2 | 3220.6            | 701.7 | 34.7 | 10.3 |
| 36              | 2896.8            | 309.4 | 84.1 | 15.5 | 2337.9            | 805.6 | 33.2 | 9.5  |

Tableau 33: Effet de la présence de l'EDTA en concentration molaire cinq fois supérieure à celle du Zinc sur l'accumulation du Zinc chez la Dreissène.

| Milieu          | 20 C       |        |         | 13 C       |        |         | 12 C       |        |         |
|-----------------|------------|--------|---------|------------|--------|---------|------------|--------|---------|
| Temps/<br>jours | m<br>mg/kg | s<br>% | CV<br>% | m<br>mg/kg | s<br>% | CV<br>% | m<br>mg/kg | s<br>% | CV<br>% |
| 0               | 162.4      | 26.1   | 14.3    | 173.9      | 40.4   | 23.2    | 206.0      | 49.6   | 24.1    |
| 8               | 169.3      | 19.3   | 11.4    | 264.6      | 106.9  | 40.4    | 254.0      | 57.8   | 22.8    |
| 16              | 230.0      | 83.6   | 36.4    | 305.4      | 61.5   | 26.7    | 260.4      | 63.7   | 30.6    |
| 24              | 317.8      | 109.3  | 34.3    | 357.7      | 49.5   | 13.8    | 267.4      | 49.3   | 18.4    |
| 32              | 456.3      | 62.4   | 13.7    | 353.6      | 68.6   | 25.0    | 259.7      | 94.4   | 36.4    |

Tableau 34: Effet de la température du milieu sur les teneurs en Zinc dans les moules (Partie molle) témoins.

| Milieu          | 20 C       |        |         | 15 C       |        |         | 12 C       |        |         |
|-----------------|------------|--------|---------|------------|--------|---------|------------|--------|---------|
| Temps/<br>jours | m<br>mg/kg | s<br>% | CV<br>% | m<br>mg/kg | s<br>% | CV<br>% | m<br>mg/kg | s<br>% | CV<br>% |
| 0               | 162.4      | 26.1   | 14.3    | 173.9      | 40.4   | 23.2    | 206.0      | 49.6   | 24.1    |
| 8               | 634.0      | 78.1   | 14.7    | 1276.9     | 307.3  | 24.2    | 941.7      | 140.0  | 14.7    |
| 16              | 765.0      | 170.2  | 22.3    | 1443.2     | 334.5  | 23.2    | 1366.3     | 416.0  | 30.5    |
| 24              | 3405.1     | 356.9  | 10.5    | 2026.0     | 268.4  | 13.2    | 1562.9     | 352.3  | 53.9    |
| 32              | 3042.7     | 637.6  | 20.9    | 3107.0     | 337.1  | 17.3    | 2031.7     | 606.2  | 29.5    |

Tableau 35: Effet de la température du milieu sur l'accumulation du Zinc chez les moules contaminées avec 2ppm de Zinc.

| Milieu          | 20 C  |     | 15 C  |     | 12 C  |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|-----------------|-------|-----|-------|-----|-------|-----|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| Temps/<br>jours | m(mg) | s   | m(mg) | s   | m(mg) | s   |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 0               | 7.3   | 0.6 | 10.7  | 0.6 | 12.4  | 0.8 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 8               | 7.7   | 1.0 | 11.0  | 1.0 | 12.0  | 1.1 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 16              | 7.7   | 1.3 | 10.3  | 1.3 | 11.5  | 1.2 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 24              | 7.3   | 2.1 | 10.3  | 2.2 | 13.0  | 1.3 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 32              | 7.2   | 1.3 | 6.6   | 0.7 | 8.6   | 1.4 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

Tableau 36: Pourcentage du poids sec (% PS/PF) des moules témoins en fonction de la température du milieu.



Comparaison de la cinétique d'accumulation du Zinc chez les moules contaminées avec 2ppm de Zinc à 20 et 15°C.

Plan expérimental à 3 variables:

- $X_1$ : Temps d'exposition par jours avec 5 modalités; 0(-2), 8(-1), 16(0), 24(1) et 32(2).  
 $X_2$ : Teneurs en Zinc dans le milieu en ppm avec 2 modalités; 0(+1) et 2(1).  
 $X_3$ : Température du milieu avec 2 modalités; 20(-1) et 15°C(1).

| No | X1 | X2 | X3 | Y1     | Y2     | Y3     | Y4     | Ymoyen   |
|----|----|----|----|--------|--------|--------|--------|----------|
| 1  | -2 | -1 | -1 | 231.9  | 169.1  | 154.4  | 140.2  | 173.9    |
| 2  | -2 | -1 | 1  | 214.8  | 171.4  | 189.7  | 153.7  | 182.4    |
| 3  | -2 | 1  | -1 | 231.9  | 169.1  | 154.4  | 140.2  | 173.9    |
| 4  | -2 | 1  | 1  | 214.8  | 171.4  | 189.7  | 153.7  | 182.4    |
| 5  | -1 | -1 | -1 | 218.9  | 191.3  | 233.3  | 422.8  | 264.575  |
| 6  | -1 | -1 | 1  | 198.2  | 159.7  | 160.5  | 158.8  | 169.3    |
| 7  | -1 | 1  | -1 | 1477.8 | 1218.4 | 1547.1 | 864.2  | 1276.875 |
| 8  | -1 | 1  | 1  | 881.8  | 685    | 611.4  | 688.9  | 654.775  |
| 9  | 0  | -1 | -1 | 229    | 272.8  | 388.3  | 429.4  | 307.875  |
| 10 | 0  | -1 | 1  | 284.2  | 284.2  | 323.3  | 162.2  | 223.475  |
| 11 | 0  | 1  | -1 | 1821.9 | 1326.7 | 1788.2 | 1715.8 | 1443.15  |
| 12 | 0  | 1  | 1  | 668.3  | 983.9  | 684    | 811.7  | 764.975  |
| 13 | 1  | -1 | -1 | 322.3  | 328.4  | 361.7  | 426.2  | 357.65   |
| 14 | 1  | -1 | 1  | 217.1  | 289.2  | 291    | 473.7  | 317.75   |
| 15 | 1  | 1  | -1 | 2883.2 | 1782.3 | 2358.2 | 2848.2 | 2827.975 |
| 16 | 1  | 1  | 1  | 2819.6 | 2723.9 | 2471.8 | 2471.8 | 2421.775 |
| 17 | 2  | -1 | -1 | 381.4  | 381.3  | 266.5  | 465.2  | 353.6    |
| 18 | 2  | -1 | 1  | 483.9  | 448.2  | 448.2  | 525.1  | 452.35   |
| 19 | 2  | 1  | -1 | 2596.7 | 2484.1 | 2864.4 | 2378.8 | 2359     |
| 20 | 2  | 1  | 1  | 2942.5 | 2995.9 | 2764.1 | 2468.3 | 2792.7   |

VARIANCE INTRA-GROUPE DES ESSAIS : 28146.7938

VARIABLE 1

COEFFICIENT = 845.82  
CONTRIBUTION = 14281176

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 774553.868

TEST DE t CARRE :

t carre = 18.4379568

F de Fischer (1,19,95%) = 4.38

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 2829.52793

VARIABLE X2

COEFFICIENT = 564.7325

CONTRIBUTION = 6378455.94

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 463225.131

TEST DE t CARRE :

t carre = 13.7696673

F de Fischer (1,18,95%) = 4.41

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 986.455775

VARIABLE X1

COEFFICIENT = 331.243125

CONTRIBUTION = 4388380.31

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 232384.238

TEST DE t CARRE :

t carre = 18.8928121

F de Fischer (1,17,95%) = 4.45

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 623.713993

VARIABLE XIX2

COEFFICIENT = 274.201875

CONTRIBUTION = 3887466.73

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 58856.5824

TEST DE t CARRE :

t carre = 51.8982223

F de Fischer (1,16,95%) = 4.49

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 427.397416

VARIABLE (5/12)\*(7X1E4-31X1E2+14.4)

COEFFICIENT = -24.4842358

CONTRIBUTION = 167854.47

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 51590.9566

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.25362859

F de Fischer (1,15,95%) = 4.54

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 23.8541515

VARIABLE (5/12)\*(7X1E4-31X1E2+14.4)X2

COEFFICIENT = -23.8646429

CONTRIBUTION = 159465.931

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 43884.637

TEST DE t CARRE :

F de Fischer (1,14,95%) = 4.6

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 22.6628395

VARIABLE (X1E2-2)X1X3

COEFFICIENT = 52.554375

CONTRIBUTION = 118473.493

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 35000.3431

TEST DE t CARRE :

t carre = 4.55368272

F de Fischer (1,13,95%) = 4.67

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 22.6498917

VARIABLE X1X3

COEFFICIENT = 52.554375

CONTRIBUTION = 118473.493

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 28718.4973

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.84881741

F de Fischer (1,12,95%) = 4.75

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 15.7383388

VARIABLE (X1E2-2)X2X3

COEFFICIENT = 34.8316964

CONTRIBUTION = 67941.8363

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 25144.8119

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.78218882

F de Fischer (1,11,95%) = 4.84

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 9.65535711

VARIABLE X1X2X3

COEFFICIENT = 40.768625

CONTRIBUTION = 66457.142

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 21812.6989

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.16271329

F de Fischer (1,10,95%) = 4.96

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 9.44436409

VARIABLE (X1E3-3.4X1)X3

COEFFICIENT = -33.8977167

CONTRIBUTION = 66186.3605

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 15993.4831

TEST DE t CARRE :

t carre = 4.18855879

F de Fischer (1,9,95%) = 5.12

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 9.48588276

VARIABLE (X1E3-3.4X1)X2X3

COEFFICIENT = -33.84375  
CONTRIBUTION = 62892.9385

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 10130.9747

TEST DE t CARRE :

t carre = 6.28797428  
F de Fischer (1,8,95%) = 5.32  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 8.93783223

VARIABLE (5/12)\*(7X1E4-31X1E2+14.4)X2X3  
COEFFICIENT = -10.1971429  
CONTRIBUTION = 29114.8824  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 7418.98792  
TEST DE t CARRE :

t carre = 3.92437368  
F de Fischer (1,7,95%) = 5.59  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 4.13757711

VARIABLE (5/12)\*(7X1E4-31X1E2+14.4)X3  
COEFFICIENT = -9.18607143  
CONTRIBUTION = 23627.4943  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 4717.57018  
TEST DE t CARRE :

t carre = 5.88848336  
F de Fischer (1,6,95%) = 5.99  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 3.35775287

VARIABLE X3  
COEFFICIENT = -28.8388881  
CONTRIBUTION = 16623.3781  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 2336.4886  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 7.11492762  
F de Fischer (1,5,95%) = 6.61  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 2.36238319

VARIABLE X2X3  
COEFFICIENT = -17.5975  
CONTRIBUTION = 6193.44815  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1872.15071  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 4.51367838  
F de Fischer (1,4,95%) = 7.71  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .888162793

VARIABLE (X1E2-2)  
COEFFICIENT = 6.62276783  
CONTRIBUTION = 2456.219  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1010.79462

TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.42998821

F de Fischer (1,3,95%) = 10.13  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .349858443

VARIABLE (X1E3-3.4X1)  
COEFFICIENT = -5.7125881  
CONTRIBUTION = 1879.64106  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 576.371392  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 3.26116381  
F de Fischer (1,2,95%) = 18.51  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .267119741

VARIABLE (X1E3-3.4X1)X2  
COEFFICIENT = -4.3288334  
CONTRIBUTION = 1875.36983  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 77.3737495  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 13.3983785  
F de Fischer (1,1,95%) = 161.4  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .152822953

VARIABLE (X1E2-2)X2  
COEFFICIENT = 1.17544634  
CONTRIBUTION = 77.3737495  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0  
TEST DE t CARRE :  
0 degres de liberte, test non faisable  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .8189957461

Comparaison de l'accumulation du Zinc chez les moules contaminées avec 2ppm de Zinc à 20 et 12°C.  
Plan expérimental à 3 variables: le temps/j ( $X_1$ ), le Zinc du milieu ( $X_2$ ) et la température du milieu ( $X_3$ ).

| No | X1 | X2 | X3 | Y1     | Y2     | Y3     | Y4     | Ymoyen   |
|----|----|----|----|--------|--------|--------|--------|----------|
| 1  | -2 | -1 | -1 | 262.6  | 232.6  | 162.5  | 166.2  | 205.975  |
| 2  | -2 | -1 | 1  | 214.8  | 171.4  | 189.7  | 153.7  | 182.4    |
| 3  | -2 | 1  | -1 | 262.6  | 232.6  | 162.5  | 166.2  | 205.975  |
| 4  | -2 | 1  | 1  | 214.8  | 171.4  | 189.7  | 153.7  | 182.4    |
| 5  | -1 | -1 | -1 | 200    | 313.6  | 209    | 293.3  | 253.975  |
| 6  | -1 | -1 | 1  | 189.2  | 159.7  | 160.5  | 158.8  | 167.05   |
| 7  | -1 | 1  | -1 | 1014.9 | 966.6  | 1048.8 | 737.6  | 941.975  |
| 8  | -1 | 1  | 1  | 801.8  | 605    | 611.4  | 600.9  | 654.775  |
| 9  | 0  | -1 | -1 | 323.4  | 320.9  | 381    | 196    | 305.325  |
| 10 | 0  | -1 | 1  | 204.2  | 204.2  | 323.3  | 162.2  | 223.475  |
| 11 | 0  | 1  | -1 | 1142   | 1985.3 | 1232.1 | 1105.9 | 1366.325 |
| 12 | 0  | 1  | 1  | 660.3  | 983.9  | 684.1  | 811.7  | 765      |
| 13 | 1  | -1 | -1 | 309.1  | 305.3  | 249.4  | 205.9  | 267.425  |
| 14 | 1  | -1 | 1  | 217.1  | 209.2  | 291    | 473.7  | 317.75   |
| 15 | 1  | 1  | -1 | 2710.6 | 941.6  | 1774.8 | 904.4  | 1582.05  |
| 16 | 1  | 1  | 1  | 2019.6 | 2723.9 | 2471.8 | 2471.8 | 2421.775 |
| 17 | 2  | -1 | -1 | 302.5  | 202.4  | 169.8  | 204.2  | 259.725  |
| 18 | 2  | -1 | 1  | 403.9  | 440.2  | 440.2  | 525.1  | 452.35   |
| 19 | 2  | 1  | -1 | 1240.5 | 2392.2 | 2616.8 | 1957.4 | 2051.725 |
| 20 | 2  | 1  | 1  | 2942.5 | 2995.9 | 2764.1 | 2468.3 | 2792.7   |

VARIANCE INTRA-GROUPE DES ESSAIS : 75744.0161

#### VARIABLE 1

COEFFICIENT = 780.0475

CONTRIBUTION = 12169482

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 674174.44

TEST DE t CARRE :

t carre = 18.8509395

F de Fischer (1,19,95%) = 4.38

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 642.663681

#### VARIABLE X2

COEFFICIENT = 516.5025

CONTRIBUTION = 5335496.65

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 415212.095

TEST DE t CARRE :

t carre = 12.8500512

F de Fischer (1,18,95%) = 4.41

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 281.764656

#### VARIABLE X1

COEFFICIENT = 303.288125  
CONTRIBUTION = 3679347.47  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 223204.131  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 16.4842266  
F de Fischer (1,17,95%) = 4.45  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 194.304324

VARIABLE X1X2  
COEFFICIENT = 262.710625  
CONTRIBUTION = 2760674.9  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 64612.208  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 42.7268311  
F de Fischer (1,16,95%) = 4.49  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 145.789729

VARIABLE X1X3  
COEFFICIENT = 80.621875  
CONTRIBUTION = 259995.469  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 51586.6573  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 5.03997512  
F de Fischer (1,15,95%) = 4.54  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 13.7302183

VARIABLE (X1E2-2)X3  
COEFFICIENT = 46.859375  
CONTRIBUTION = 122964.857  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 46488.2144  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.64507594  
F de Fischer (1,14,95%) = 4.6  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 6.49370676

VARIABLE X1X2X3  
COEFFICIENT = 52.139375  
CONTRIBUTION = 108740.577  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 41699.5712  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.60771451  
F de Fischer (1,13,95%) = 4.67  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 5.7425303

VARIABLE (5/12)\*(7X1E4-31X1E2+14.4)X3  
COEFFICIENT = -18.8325  
CONTRIBUTION = 99305.6559  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 36899.0641  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.69127845  
F de Fischer (1,12,95%) = 4.75  
DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 5.24427729$

VARIABLE (5/12)\*(7X1E4-31X1E2+14.4)X2X3

COEFFICIENT = -17.5778571

CONTRIBUTION = 86514.6974

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 32388.552

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.67115852

F de Fischer (1,11,95%) = 4.84

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 4.56879378$

VARIABLE (5/12)\*(7X1E4-31X1E2+14.4)X2

COEFFICIENT = -16.5471429

CONTRIBUTION = 76666.2227

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 27960.7849

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.74191955

F de Fischer (1,10,95%) = 4.96

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 4.84870122$

VARIABLE (5/12)\*(7X1E4-31X1E2+14.4)

COEFFICIENT = -14.7725001

CONTRIBUTION = 61103.4924

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 24278.2619

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.51679847

F de Fischer (1,9,95%) = 5.12

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 3.22684196$

VARIABLE (X1E3-3.4X1)X3

COEFFICIENT = -32.2083334

CONTRIBUTION = 59752.9002

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 19843.9321

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.01114214

F de Fischer (1,8,95%) = 5.32

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 3.15551793$

VARIABLE (X1E3-3.4X1)X2X3

COEFFICIENT = -29.7791667

CONTRIBUTION = 51079.6091

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 15381.6925

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.32080551

F de Fischer (1,7,95%) = 5.59

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 2.69748618$

VARIABLE (X1E2-2)X2X3

COEFFICIENT = 27.6308036

CONTRIBUTION = 42753.8331

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 10819.6691

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.95149175



F de Fischer (1,6,95%) = 5.99

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 2.25780651

VARIABLE X3

COEFFICIENT = 35.92

CONTRIBUTION = 25884.928

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 7822.61728

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.29875885

F de Fischer (1,5,95%) = 6.61

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 1.36274411

VARIABLE X2X3

COEFFICIENT = 38.86

CONTRIBUTION = 19846.792

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 5816.5736

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.79677315

F de Fischer (1,4,95%) = 7.71

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 1.00585065

VARIABLE (X1E2-2)

COEFFICIENT = 13.190625

CONTRIBUTION = 9743.58496

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 3448.90315

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.83169404

F de Fischer (1,3,95%) = 10.13

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = .514553384

VARIABLE (X1E2-2)X2

COEFFICIENT = 8.29419637

CONTRIBUTION = 3852.44683

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 3235.13131

TEST DE t CARRE :

t carre = 1.19081622

F de Fischer (1,2,95%) = 18.51

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = .203445607

VARIABLE (X1E3-3,4X1)

COEFFICIENT = -7.58958341

CONTRIBUTION = 3317.86232

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 3152.4003

TEST DE t CARRE :

t carre = 1.05248763

F de Fischer (1,1,95%) = 161.4

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = .175214492

VARIABLE (X1E3-3,4X1)X2

COEFFICIENT = -7.39791673

CONTRIBUTION = 3152.4003

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0

TEST DE t CARRE :

0 degres de liberte, test non faisable

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = .166476533

Evolution du pourcentage du poids sec (% PS/PF) des échantillons de moules en fonction du temps/j ( $X_1$ ), des teneurs en Zinc dans le milieu ( $X_2$ ) et de la présence ou non de la nourriture ( $X_3$ ).

| No | X1 | X2 | X3 | Y1  | Y2   | Ymoyen |
|----|----|----|----|-----|------|--------|
| 1  | -3 | -1 | -1 | 8   | 7.8  | 7.9    |
| 2  | -3 | -1 | 1  | 8   | 7.8  | 7.9    |
| 3  | -3 | 0  | -1 | 8   | 7.8  | 7.9    |
| 4  | -3 | 0  | 1  | 8   | 7.8  | 7.9    |
| 5  | -3 | 1  | -1 | 8   | 7.8  | 7.9    |
| 6  | -3 | 1  | 1  | 8   | 7.8  | 7.9    |
| 7  | -1 | -1 | -1 | 9.9 | 10.3 | 10.1   |
| 8  | -1 | -1 | 1  | 4.8 | 8.7  | 6.75   |
| 9  | -1 | 0  | -1 | 6   | 6.1  | 6.05   |
| 10 | -1 | 0  | 1  | 4.3 | 7.5  | 6.05   |
| 11 | -1 | 1  | -1 | 8.2 | 6.6  | 7.4    |
| 12 | -1 | 1  | 1  | 6.4 | 5.5  | 5.95   |
| 13 | 1  | -1 | -1 | 3.8 | 5.7  | 4.75   |
| 14 | 1  | -1 | 1  | 5.3 | 7.4  | 6.35   |
| 15 | 1  | 0  | -1 | 7   | 6.1  | 6.55   |
| 16 | 1  | 0  | 1  | 6.2 | 6.6  | 6.4    |
| 17 | 1  | 1  | -1 | 4.3 | 5.7  | 5      |
| 18 | 1  | 1  | 1  | 4.4 | 5.4  | 4.9    |
| 19 | 3  | -1 | -1 | 7   | 4.6  | 5.8    |
| 20 | 3  | -1 | 1  | 6.2 | 6.4  | 6.3    |
| 21 | 3  | 0  | -1 | 7.1 | 4.7  | 5.9    |
| 22 | 3  | 0  | 1  | 5.3 | 6.9  | 6.1    |
| 23 | 3  | 1  | -1 | 5.5 | 5.1  | 5.3    |
| 24 | 3  | 1  | 1  | 5.9 | 7.3  | 6.55   |

VARIANCE INTRA-GROUPE DES ESSAIS : 1.16416665

VARIABLE :

COEFFICIENT = 6.35

CONTRIBUTION = 1061.34

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1.57217392

TEST DE t CARRE :

t carre = 675.877986

F de Fischer (1,23,95%) = 4.28

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 1923.3472

VARIABLE X1

COEFFICIENT = -0.355838834

CONTRIBUTION = 15.1748834

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.952896214

TEST DE t CARRE :

t carre = 15.9434877

F de Fischer (1,22,95%) = 4.3

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 26.1829354$

VARIABLE (X1E3-0.2X1)(X2E2-.666666667)

COEFFICIENT = 0.178052884

CONTRIBUTION = 4.44176843

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.786864585

TEST DE t CARRE :

t carre = 5.64488543

F de Fischer (1,21,95%) = 4.32

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 7.63879827$

VARIABLE (X1E3-0.2X1)X3

COEFFICIENT = -0.8572916667

CONTRIBUTION = 2.24875

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.712770314

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.18380293

F de Fischer (1,20,95%) = 4.35

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 3.39763785$

VARIABLE (X1E3-5)

COEFFICIENT = 0.8739583334

CONTRIBUTION = 2.18841667

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.639736295

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.28325338

F de Fischer (1,19,95%) = 4.38

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 3.68844674$

VARIABLE (X1E3-0.2X1)X2X3

COEFFICIENT = 0.86815625

CONTRIBUTION = 1.66753125

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.582636575

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.86284355

F de Fischer (1,18,95%) = 4.41

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 2.86476393$

VARIABLE (X1E3-0.2X1)

COEFFICIENT = 1.4473222223

CONTRIBUTION = 1.54133334

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.526242648

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.92894838

F de Fischer (1,17,95%) = 4.45

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 2.64795996$

VARIABLE X2

COEFFICIENT = -0.389375801

CONTRIBUTION = 1.53148626

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.463419923

TEST DE t CARRE :

F de Fischer (1,16,95%) = 4.49  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 2.63090556

VARIABLE (X1E3-8.2X1)(X2E2-.666666667)X3  
COEFFICIENT = -0.8960937591  
CONTRIBUTION = 1.41834375  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.399758334  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 3.54800296  
F de Fischer (1,15,95%) = 4.54  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 2.4366679

VARIABLE (X1E2-5)X2  
COEFFICIENT = 0.3695312501  
CONTRIBUTION = 1.23765625  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.339908483  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 3.64114553  
F de Fischer (1,14,95%) = 4.6  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 2.12625272

VARIABLE (X1E2-5)X3  
COEFFICIENT = 0.0562500001  
CONTRIBUTION = 1.215  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.27259375  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 4.45719217  
F de Fischer (1,13,95%) = 4.67  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 2.88733003

VARIABLE X1X3  
COEFFICIENT = 0.1  
CONTRIBUTION = 1.2  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.195389896  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 5.14408193  
F de Fischer (1,12,95%) = 4.75  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 2.06156052

VARIABLE (X1E3-8.2X1)X2  
COEFFICIENT = -0.8372395833  
CONTRIBUTION = 0.63903125  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.154971591  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 4.12353804  
F de Fischer (1,11,95%) = 4.84  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 1.09793466

VARIABLE X1(X2E2-.666666667)

COEFFICIENT = -0.138125  
CONTRIBUTION = 0.588768417  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.119592788  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 4.254189  
F de Fischer (1,18,95%) = 4.96  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .874833656

VARIABLE X1(X2E2-.666666667)X3  
COEFFICIENT = 0.133125  
CONTRIBUTION = 0.47259375  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.8883783784  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 5.88819873  
F de Fischer (1,9,95%) = 5.12  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .811988513

VARIABLE (X1E2-5)(X2E2-.666666667)X3  
COEFFICIENT = 0.8679687499  
CONTRIBUTION = 0.394218749  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.841139323  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 9.58252885  
F de Fischer (1,8,95%) = 5.32  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .677254841

VARIABLE X3  
COEFFICIENT = -0.8625888882  
CONTRIBUTION = 0.8937588883  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.8336235119  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.78822751  
F de Fischer (1,7,95%) = 5.59  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .161859417

VARIABLE (X2E2-.666666667)X3  
COEFFICIENT = -0.183125  
CONTRIBUTION = 0.8567187583  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.8297743855  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 1.98495628  
F de Fischer (1,6,95%) = 5.99  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .8974489468

VARIABLE X2X3  
COEFFICIENT = 0.8593758881  
CONTRIBUTION = 0.8564862581  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.8244479166  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.3872887

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = .0969040818$

VARIABLE X1X2

COEFFICIENT = 0.0193749999

CONTRIBUTION = 0.0300312496

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.0230520833

TEST DE t CARRE :

t carre = 1.30275642

F de Fischer (1,4,95%) = 7.71

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = .0515926987$

VARIABLE (X1E2-5)(X2E2-.666666667)

COEFFICIENT = -0.01796875

CONTRIBUTION = 0.0275520834

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.0215520833

TEST DE t CARRE :

t carre = 1.27839537

F de Fischer (1,3,95%) = 10.13

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = .0473335727$

VARIABLE (X2E2-.666666667)

COEFFICIENT = 0.0656249998

CONTRIBUTION = 0.0229687499

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.02084375

TEST DE t CARRE :

t carre = 1.10194902

F de Fischer (1,2,95%) = 18.51

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = .0394595566$

VARIABLE X1X2X3

COEFFICIENT = -0.016875

CONTRIBUTION = 0.0227812501

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0.0189062499

TEST DE t CARRE :

t carre = 1.20495869

F de Fischer (1,1,95%) = 161.4

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = .039137438$

VARIABLE (X1E2-5)X2X3

COEFFICIENT = 00.59374998E-03

CONTRIBUTION = 0.0189062499

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0

TEST DE t CARRE :

0 degres de liberte, test non faisable

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = .0324003153$

| Moules témoins  |                  |            |         | Moules + 1ppm de Zn |            |         | Moules + 2ppm Zn |            |         |
|-----------------|------------------|------------|---------|---------------------|------------|---------|------------------|------------|---------|
| TEMPS/<br>jours | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg    | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% |
| 0               | 202.9            | 33.8       | 16.7    | 202.9               | 33.8       | 16.7    | 202.9            | 33.8       | 16.7    |
| 3               | 188.2            | 2.6        | 1.4     | 503.6               | 196.9      | 39.1    | 791.4            | 218.6      | 27.7    |
| 6               | 342.3            | 11.7       | 3.4     | 622.9               | 32.9       | 5.3     | 776.1            | 8.8        | 1.1     |
| 9               | 267.9            | 57.6       | 21.5    | 801.7               | 267.8      | 35.9    | 1221.7           | 122.9      | 10.1    |
| 16              | 269.7            | 39.3       | 14.6    | 1165.5              | 0.0        | 0.0     | 1390.2           | 84.6       | 6.1     |
| 21              | 176.6            | 5.8        | 3.2     | 1290.0              | 14.1       | 1.1     | 1576.5           | 103.9      | 6.6     |

Tableau 37: Teneurs en Zinc dans les moules témoins et contaminés avec 1 ou 2ppm de Zinc. Cas des moules non nourries

| Moules témoins  |                  |            |         | Contaminées/1ppm |            |         | Contaminées/2ppm Zn |            |         |
|-----------------|------------------|------------|---------|------------------|------------|---------|---------------------|------------|---------|
| TEMPS/<br>jours | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg    | s<br>mg/kg | CV<br>% |
| 0               | 202.9            | 33.8       | 16.7    | 202.9            | 33.8       | 16.7    | 202.9               | 33.8       | 16.7    |
| 3               | 243.3            | 58.3       | 23.4    | 582.6            | 194.9      | 33.5    | 578.6               | 77.4       | 13.4    |
| 6               | 280.2            | 11.0       | 3.9     | 630.6            | 34.8       | 5.5     | 1708.9              | 1100.5     | 64.4    |
| 9               | 274.7            | 8.3        | 3.0     | 810.6            | 249.8      | 30.8    | 1021.6              | 4.7        | 0.0     |
| 16              | 293.0            | 23.8       | 8.1     | 751.7            | 94.8       | 12.6    | 1165.3              | 85.6       | 7.3     |
| 21              | 229.8            | 87.4       | 38.0    | 988.0            | 24.0       | 2.4     | 1399.5              | 83.0       | 6.6     |

Tableau 38: Teneurs en Zinc dans les moules nourries témoins et contaminées avec 1 ou 2ppm de Zinc.



Evolution des teneurs en Zinc dans les moules en fonction du temps de contamination ( $X_1$ ), des teneurs en Zinc dans le milieu ( $X_2$ ) et de la présence ou non de la nourriture ( $X_3$ ).

| No | X1 | X2 | X3 | Y1     | Y2     | Ymoyen  |
|----|----|----|----|--------|--------|---------|
| 1  | -3 | -1 | -1 | 179    | 226.8  | 202.9   |
| 2  | -3 | -1 | 1  | 179    | 226.8  | 202.9   |
| 3  | -3 | 0  | -1 | 179    | 226.8  | 202.9   |
| 4  | -3 | 0  | 1  | 179    | 226.8  | 202.9   |
| 5  | -3 | 1  | -1 | 179    | 226.8  | 202.9   |
| 6  | -3 | 1  | 1  | 179    | 226.8  | 202.9   |
| 7  | -1 | -1 | -1 | 190    | 186.3  | 188.15  |
| 8  | -1 | -1 | 1  | 290    | 207.6  | 248.8   |
| 9  | -1 | 0  | -1 | 642.8  | 364.5  | 503.55  |
| 10 | -1 | 0  | 1  | 444.7  | 720.4  | 592.55  |
| 11 | -1 | 1  | -1 | 636.7  | 946.1  | 791.4   |
| 12 | -1 | 1  | 1  | 633.3  | 523.9  | 578.6   |
| 13 | 1  | -1 | -1 | 350.5  | 334    | 342.25  |
| 14 | 1  | -1 | 1  | 288    | 272.4  | 280.2   |
| 15 | 1  | 0  | -1 | 646.1  | 599.6  | 622.85  |
| 16 | 1  | 0  | 1  | 686    | 655.2  | 630.6   |
| 17 | 1  | 1  | -1 | 769.8  | 782.3  | 776.05  |
| 18 | 1  | 1  | 1  | 1484.8 | 930.8  | 1207.8  |
| 19 | 3  | -1 | -1 | 227.1  | 308.6  | 267.85  |
| 20 | 3  | -1 | 1  | 280.6  | 268.8  | 274.7   |
| 21 | 3  | 0  | -1 | 598.2  | 1085.2 | 801.7   |
| 22 | 3  | 0  | 1  | 634    | 987.2  | 810.6   |
| 23 | 3  | 1  | -1 | 1136   | 1308.8 | 1222.4  |
| 24 | 3  | 1  | 1  | 1018.2 | 1024.9 | 1021.55 |

VARIANCE INTRA-GROUPE DES ESSAIS : 19188.2946

VARIABLE 1

COEFFICIENT = 515.375

CONTRIBUTION = 6374673.38

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 110902.745

TEST DE t CARRE :

t carre = 57.4798523

F de Fischer (1,23,95%) = 4.28

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 664.433554

VARIABLE X2

COEFFICIENT = 249.740625

CONTRIBUTION = 997926.078

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 70583.5023

TEST DE t CARRE :

t carre = 14.1382341

F de Fischer (1,22,95%) = 4.3

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 104.014046

VARIABLE X1

COEFFICIENT = 87.5908334

CONTRIBUTION = 920658.492

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 38103.7409

TEST DE t CARRE :

t carre = 38.5920599

F de Fischer (1,21,95%) = 4.32

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 95.9604291

VARIABLE XIX2

COEFFICIENT = 69.156875

CONTRIBUTION = 382613.369

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 12478.2345

TEST DE t CARRE :

t carre = 38.6625003

F de Fischer (1,20,95%) = 4.35

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 39.9799244

VARIABLE (X1E3-8.2X1)X2X3

COEFFICIENT = -13.8700521

CONTRIBUTION = 78716.7413

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 9991.9973

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.75408864

F de Fischer (1,19,95%) = 4.33

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 8.20466259

VARIABLE (X1E2-5)

COEFFICIENT = -11.8395033

CONTRIBUTION = 53827.4816

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 6501.13736

TEST DE t CARRE :

t carre = 8.27970263

F de Fischer (1,18,95%) = 4.41

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 5.61044978

VARIABLE (X1E2-5)X2

COEFFICIENT = -9.26640626

CONTRIBUTION = 21981.769

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 5590.51166

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.93197303

F de Fischer (1,17,95%) = 4.45

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 2.29116443

VARIABLE (X1E3-8.2X1)(X2E2-.666666667)X3

COEFFICIENT = -11.4835938  
CONTRIBUTION = 20255.6814  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 4673.93854  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 4.33375005  
F de Fischer (1,16,95%) = 4.49  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 2.11125396

VARIABLE (X1E3-8.2X1)X3  
COEFFICIENT = -5.33645834  
CONTRIBUTION = 19683.8468  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 3673.27799  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 5.35865971  
F de Fischer (1,15,95%) = 4.54  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 2.05165151

VARIABLE (X1E3-8.2X1)(X2E2-.666666667)  
COEFFICIENT = -9.5419271  
CONTRIBUTION = 13985.0381  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 2936.72429  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 4.76211886  
F de Fischer (1,14,95%) = 4.6  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 1.45766264

VARIABLE (X1E2-5)X2X3  
COEFFICIENT = -6.68828125  
CONTRIBUTION = 11451.6752  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 2221.72985  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 5.81886867  
F de Fischer (1,13,95%) = 4.67  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 1.19361052

VARIABLE (X2E2-.666666667)  
COEFFICIENT = -43.996875  
CONTRIBUTION = 10323.8667  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1611.54983  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 6.40617281  
F de Fischer (1,12,95%) = 4.75  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 1.07605981

VARIABLE (X1E2-5)X3  
COEFFICIENT = -5.39791668  
CONTRIBUTION = 9979.68171  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 950.31057  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 11.7296165  
F de Fischer (1,11,95%) = 4.84

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 1.34018433$

VARIABLE  $X1(X2E2-.666666667)$

COEFFICIENT =  $-10.620625$

CONTRIBUTION =  $3007.93301$

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE =  $635.097826$

TEST DE t CARRE :

t carre =  $4.73618061$

F de Fischer (1,10,95%) =  $4.96$

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = .313518014$

VARIABLE  $(X1E3-8.2X1)X2$

COEFFICIENT =  $2.16848959$

CONTRIBUTION =  $2166.84154$

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE =  $464.90408$

TEST DE t CARRE :

t carre =  $4.66083573$

F de Fischer (1,9,95%) =  $5.12$

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = .225950352$

VARIABLE  $(X1E2-5)(X2E2-.666666667)X3$

COEFFICIENT =  $-3.99765624$

CONTRIBUTION =  $1363.7338$

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE =  $352.550365$

TEST DE t CARRE :

t carre =  $3.84819568$

F de Fischer (1,8,95%) =  $5.32$

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = .142142262$

VARIABLE  $(X1E3-8.2X1)$

COEFFICIENT =  $0.976736125$

CONTRIBUTION =  $659.414102$

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE =  $308.712688$

TEST DE t CARRE :

t carre =  $2.13601231$

F de Fischer (1,7,95%) =  $5.59$

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = .3697308712$

VARIABLE  $(X1E2-5)(X2E2-.666666667)$

COEFFICIENT =  $-2.69140626$

CONTRIBUTION =  $618.126306$

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE =  $257.143752$

TEST DE t CARRE :

t carre =  $2.48381616$

F de Fischer (1,6,95%) =  $5.99$

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = .3644274355$

VARIABLE  $X3$

COEFFICIENT =  $4.9666667$

CONTRIBUTION = 592.026674  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 190.167167  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 3.1131908  
F de Fischer (1,5,95%) = 6.61  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .0617079654

VARIABLE (X2E2-.666666667)X3  
COEFFICIENT = -10.484375  
CONTRIBUTION = 586.251381  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 91.1461338  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 6.43199308  
F de Fischer (1,4,95%) = 7.71  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .061105097

VARIABLE XIX2X3  
COEFFICIENT = 1.30187501  
CONTRIBUTION = 259.740283  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 34.9480839  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 7.43217523  
F de Fischer (1,3,95%) = 10.13  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = .0270727046

VARIABLE XIX3  
COEFFICIENT = -0.072590006  
CONTRIBUTION = 91.3507513  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 6.74675011  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 13.5399637  
F de Fischer (1,2,95%) = 18.51  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 9.52150811E-03

VARIABLE X2X3  
COEFFICIENT = 0.790625006  
CONTRIBUTION = 10.0014064  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 3.49209332  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.36401423  
F de Fischer (1,1,95%) = 161.4  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 1.3424487E-03

VARIABLE XI(X2E2-.666666667)X3  
COEFFICIENT = 0.361075004  
CONTRIBUTION = 3.49209332  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0  
TEST DE t CARRE :  
0 degres de liberte, test non faisable  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 3.63981677E-04

| Moules témoins  |                  |            |         | + 0.33ppm Zn     |            |         | + 1ppm Zn        |            |         |
|-----------------|------------------|------------|---------|------------------|------------|---------|------------------|------------|---------|
| TEMPS/<br>JOURS | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% |
| 0               | 138.9            | 5.1        | 3.7     | 138.9            | 5.1        | 3.7     | 138.9            | 5.1        | 3.7     |
| 3               | 405.6            | 4.3        | 9.3     | 165.6            | 21.9       | 13.2    | 219.6            | 47.0       | 21.4    |
| 6               | 119.1            | 4.0        | 3.3     | 193.1            | 2.2        | 1.1     | 313.8            | 6.8        | 2.6     |
| 9               | 116.2            | 12.7       | 10.9    | 272.2            | 63.0       | 23.1    | 320.9            | 63.9       | 19.9    |
| 12              | 145.3            | 1.1        | 7.4     | 365.0            | 97.5       | 26.7    | 496.4            | 4.9        | 1.0     |
| 15              | 140.6            | 32.0       | 22.6    | 404.0            | 93.6       | 23.2    | 541.1            | 48.7       | 9.0     |

Tableau 39: Teneurs en Zinc dans les moules témoins et contaminées avec 0.33 ou 1ppm de Zinc.

| Moules témoins+ 0.5ppmPb (0.33Zn+0.5Pb)(1 Zn+ 0.5 Pb)ppm |                  |            |         |                  |            |         |                  |            |         |
|----------------------------------------------------------|------------------|------------|---------|------------------|------------|---------|------------------|------------|---------|
| TEMPS/<br>JOURS                                          | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% |
| 0                                                        | 138.9            | 5.1        | 3.7     | 138.9            | 5.1        | 3.7     | 138.9            | 5.1        | 3.7     |
| 3                                                        | 165.6            | 21.9       | 13.2    | 188.3            | 29.7       | 15.6    | 174.5            | 27.4       | 15.7    |
| 6                                                        | 193.1            | 2.2        | 1.1     | 209.1            | 20.4       | 9.7     | 219.8            | 77.5       | 33.3    |
| 9                                                        | 272.2            | 63.0       | 23.1    | 237.3            | 52.7       | 22.2    | 231.9            | 22.3       | 9.7     |
| 12                                                       | 365.0            | 26.7       | 26.7    | 234.8            | 6.9        | 3.8     | 338.1            | 45.6       | 7.4     |
| 15                                                       | 404.0            | 93.6       | 23.2    | 240.0            | 65.5       | 27.3    | 271.8            | 23.6       | 8.7     |

Tableau 40: Teneurs en Zinc dans les moules témoins et contaminées avec 0.33 ou 1ppm de Zn en présence de 0.5ppm de Pb.

| Moules témoins+ 1ppm Pb (0.33Zn+1Pb)ppm (1 Zn+ 1 Pb)ppm. |                  |            |         |                  |            |         |                  |            |         |
|----------------------------------------------------------|------------------|------------|---------|------------------|------------|---------|------------------|------------|---------|
| TEMPS/<br>JOURS                                          | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% | MOYENNE<br>mg/kg | s<br>mg/kg | CV<br>% |
| 0                                                        | 138.9            | 5.1        | 3.7     | 138.9            | 5.1        | 3.7     | 138.9            | 5.1        | 3.7     |
| 3                                                        | 219.6            | 47.0       | 21.4    | 288.2            | 82.3       | 28.6    | 238.0            | 85.8       | 29.8    |
| 6                                                        | 313.8            | 6.8        | 2.8     | 239.8            | 23.4       | 9.7     | 288.5            | 16.0       | 5.3     |
| 9                                                        | 320.9            | 63.9       | 19.9    | 498.6            | 128.7      | 25.8    | 409.3            | 100.6      | 24.6    |
| 12                                                       | 496.4            | 4.9        | 1.1     | 469.6            | 77.3       | 16.3    | 207.7            | 50.1       | 24.1    |
| 15                                                       | 541.1            | 48.7       | 9.0     | 555.7            | 71.4       | 12.8    | 512.5            | 34.0       | 6.6     |

Tableau 41: Teneurs en Zinc dans les moules témoins et contaminées avec 0.33 ou 1 ppm de Zinc en présence de 1ppm de Plomb.

| No   | X1 | X2 | X3 | Y1      | Y2      | Y moyen |
|------|----|----|----|---------|---------|---------|
| 1 :  | -5 | -1 | -1 | 135.300 | 142.500 | 138.900 |
| 2 :  | -5 | -1 | 0  | 135.300 | 142.500 | 138.900 |
| 3 :  | -5 | -1 | 1  | 135.300 | 142.500 | 138.900 |
| 4 :  | -5 | 1  | -1 | 135.300 | 142.500 | 138.900 |
| 5 :  | -5 | 1  | 0  | 135.300 | 142.500 | 138.900 |
| 6 :  | -5 | 1  | 1  | 135.300 | 142.500 | 138.900 |
| 7 :  | -3 | -1 | -1 | 102.200 | 109.000 | 105.600 |
| 8 :  | -3 | -1 | 0  | 112.000 | 118.000 | 115.000 |
| 9 :  | -3 | -1 | 1  | 130.000 | 103.000 | 116.500 |
| 10 : | -3 | 1  | -1 | 181.300 | 150.300 | 165.800 |
| 11 : | -3 | 1  | 0  | 167.300 | 209.200 | 188.250 |
| 12 : | -3 | 1  | 1  | 155.200 | 193.900 | 174.550 |
| 13 : | -1 | -1 | -1 | 121.900 | 116.300 | 119.100 |
| 14 : | -1 | -1 | 0  | 141.000 | 130.000 | 135.500 |
| 15 : | -1 | -1 | 1  | 119.000 | 109.000 | 114.000 |
| 16 : | -1 | 1  | -1 | 194.700 | 191.500 | 193.100 |
| 17 : | -1 | 1  | 0  | 194.700 | 223.500 | 209.100 |
| 18 : | -1 | 1  | 1  | 274.700 | 165.000 | 219.850 |
| 19 : | 1  | -1 | -1 | 125.100 | 107.200 | 116.150 |
| 20 : | 1  | -1 | 0  | 116.000 | 120.000 | 118.000 |
| 21 : | 1  | -1 | 1  | 126.000 | 114.000 | 120.000 |
| 22 : | 1  | 1  | -1 | 316.700 | 227.600 | 272.150 |
| 23 : | 1  | 1  | 0  | 274.600 | 200.100 | 237.350 |
| 24 : | 1  | 1  | 1  | 216.100 | 247.800 | 231.950 |
| 25 : | 3  | -1 | -1 | 144.600 | 146.100 | 145.350 |
| 26 : | 3  | -1 | 0  | 145.000 | 135.000 | 140.000 |
| 27 : | 3  | -1 | 1  | 127.500 | 125.700 | 126.600 |
| 28 : | 3  | 1  | -1 | 433.900 | 296.000 | 364.950 |
| 29 : | 3  | 1  | 0  | 241.100 | 228.500 | 234.800 |
| 30 : | 3  | 1  | 1  | 305.900 | 370.400 | 338.150 |
| 31 : | 5  | -1 | -1 | 163.300 | 118.000 | 140.650 |
| 32 : | 5  | -1 | 0  | 182.000 | 228.000 | 205.000 |
| 33 : | 5  | -1 | 1  | 220.000 | 236.000 | 228.000 |
| 34 : | 5  | 1  | -1 | 337.800 | 470.000 | 403.900 |
| 35 : | 5  | 1  | 0  | 193.700 | 286.000 | 239.850 |
| 36 : | 5  | 1  | 1  | 255.100 | 288.400 | 271.750 |

Evolution des teneurs en Zinc dans les moules en fonction du temps/j ( $X_1$ ), des teneurs en Zinc ( $X_2$ ) et en Plomb ( $X_3$ ) dans le milieu.

$X_1$ : Variable à 6 modalités; 0,3,6,9,12 et 15j.

$X_2$ : Variable à 2 modalités; 0 et 1ppm de Zn.

$X_3$ : Variable à 3 modalités; 0, 0.5 et 1ppm Pb

variance moy. des essais = 1227.8763

test d'egalite des variances:

Statistique G de Cochran = 7.7436

----- 1  
 variable : 1  
 coefficient : 1.840097222E+02  
 contribution : 1.218944803E+06  
 residuelle du modele a ce stade : 5.621940837E+03  
 test no 1 : F calcule = 216.819  
               F de Fischer (1, 35, 95%) = 4.12  
 critere no 2 : resid. > var. moy. des essais --> variable importante  
 test no 3 : F calcule = 1985.452  
               F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 2  
 variable : X2  
 coefficient : 4.722361111E+01  
 contribution : 8.028250006E+04  
 residuelle du modele a ce stade : 3.426042036E+03  
 test no 1 : F calcule = 23.433  
               F de Fischer (1, 34, 95%) = 4.13  
 critere no 2 : resid. > var. moy. des essais --> variable importante  
 test no 3 : F calcule = 130.766  
               F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 3  
 variable : X1  
 coefficient : 1.1514642857E+01  
 contribution : 5.5686540054E+04  
 residuelle du modele a ce stade : 1.8423905816E+03  
 test no 1 : F calcule = 30.225  
             F de Fischer (1, 33, 95%) = 4.14  
 critere no 2 : resid. > var. moy. des essais --> variable importante  
 test no 3 : F calcule = 90.704  
             F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 4  
 variable : X1 X2  
 coefficient : 6.7772619047E+00  
 contribution : 1.9291137149E+04  
 residuelle du modele a ce stade : 1.2971172514E+03  
 test no 1 : F calcule = 14.872  
             F de Fischer (1, 32, 95%) = 4.15  
 critere no 2 : resid. > var. moy. des essais --> variable importante  
 test no 3 : F calcule = 31.422  
             F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 5  
 variable : X1 X2 X3  
 coefficient : -4.2539285714E+00  
 contribution : 5.0668543214E+03  
 residuelle du modele a ce stade : 1.1755128298E+03  
 test no 1 : F calcule = 4.310  
             F de Fischer (1, 31, 95%) = 4.16  
 critere no 2 : resid. < var. moy. des essais --> variable peu importante  
 test no 3 : F calcule = 8.253  
             F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 6  
 variable : (X1<sup>2</sup> - 70/6) X2  
 coefficient : -1.1690476191E+00  
 contribution : 4.8981536508E+03  
 residuelle du modele a ce stade : 1.0514248024E+03  
 test no 1 : F calcule = 4.659  
             F de Fischer (1, 30, 95%) = 4.17  
 critere no 2 : resid. < var. moy. des essais --> variable peu importante  
 test no 3 : F calcule = 7.978  
             F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 7  
 variable : X1 X2 (X3<sup>2</sup> - 2/3)  
 coefficient : 7.1160714286E+00  
 contribution : 4.7262574405E+03  
 residuelle du modele a ce stade : 9.2470643560E+02  
 test no 1 : F calcule = 5.111  
             F de Fischer (1, 29, 95%) = 4.18  
 critere no 2 : resid. < var. moy. des essais --> variable peu importante  
 test no 3 : F calcule = 7.698  
             F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 8  
 variable : X2 (X3<sup>2</sup> - 2/3)  
 coefficient : 2.1354166667E+01  
 contribution : 3.6480036723E+03  
 residuelle du modele a ce stade : 8.2744582715E+02  
 test no 1 : F calcule = 4.409  
             F de Fischer (1, 28, 95%) = 4.20  
 critere no 2 : resid. < var. moy. des essais --> variable peu importante



variable :  $X_1 (X_3^2 - 2/3)$   
 coefficient :  $5.9078571429E+00$   
 contribution :  $3.2575924286E+03$   
 residuelle du modele a ce stade :  $7.3744039747E+02$   
 test no 1 : F calcule = 4.417  
               F de Fischer (1, 27, 95%) = 4.21  
 critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 test no 3 : F calcule = 5.306  
               F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 10

variable :  $(X_1^2 - 70/6) X_2 X_3$   
 coefficient :  $-1.1590401786E+00$   
 contribution :  $3.2097686012E+03$   
 residuelle du modele a ce stade :  $6.4235085117E+02$   
 test no 1 : F calcule = 4.997  
               F de Fischer (1, 26, 95%) = 4.22  
 critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 test no 3 : F calcule = 5.228  
               F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 11

variable :  $X_2 X_3$   
 coefficient :  $-1.0079166667E+01$   
 contribution :  $2.4381504167E+03$   
 residuelle du modele a ce stade :  $5.7051886855E+02$   
 test no 1 : F calcule = 4.274  
               F de Fischer (1, 25, 95%) = 4.24  
 critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 test no 3 : F calcule = 3.971  
               F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 12

variable :  $(X_1^2 - 70/6)$   
 coefficient :  $7.8288690482E-01$   
 contribution :  $2.1966762701E+03$   
 residuelle du modele a ce stade :  $5.0276231015E+02$   
 test no 1 : F calcule = 4.369  
               F de Fischer (1, 24, 95%) = 4.26  
 critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 test no 3 : F calcule = 3.578  
               F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 13

variable :  $(X_1^4 - (16213/597)(X_1^2 - 70/6) - 707/3) X_2$   
 coefficient :  $-1.1431577172E-01$   
 contribution :  $1.6516977914E+03$   
 residuelle du modele a ce stade :  $4.5280859357E+02$   
 test no 1 : F calcule = 3.648  
               F de Fischer (1, 23, 95%) = 4.28  
 critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 test no 3 : F calcule = 2.690  
               F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 14

variable :  $(X_3^2 - 2/3)$   
 coefficient :  $1.3433333334E+01$   
 contribution :  $1.4436355557E+03$   
 residuelle du modele a ce stade :  $4.0777100439E+02$   
 test no 1 : F calcule = 3.540  
               F de Fischer (1, 22, 95%) = 4.30  
 critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 test no 3 : F calcule = 2.351

----- 15

riable :  $(X_1^3 - 20.2X_1) X_2$   
 efficient : -2.2517361111E-01  
 ntribution : 1.2616567500E+03  
 siduelle du modele a ce stade : 3.6710977841E+02  
 st no 1 : F calcule = 3.437  
           F de Fischer (1, 21, 95%) = 4.32  
 itere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 st no 3 : F calcule = 2.055  
           F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 16

riable :  $(X_1^3 - 20.2X_1) (X_3^2 - 2/3)$   
 efficient : -4.0633680556E-01  
 ntribution : 9.1299004166E+02  
 siduelle du modele a ce stade : 3.3981576525E+02  
 st no 1 : F calcule = 2.687  
           F de Fischer (1, 20, 95%) = 4.35  
 itere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 st no 3 : F calcule = 1.487  
           F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 17

riable :  $(X_1^5 - (133632/4167)(X_1^3 - 20.2X_1) - (3271/7)X_1) X_2 X_3$   
 efficient : -6.1759858859E-02  
 ntribution : 8.9275967058E+02  
 siduelle du modele a ce stade : 3.1071345444E+02  
 st no 1 : F calcule = 2.873  
           F de Fischer (1, 19, 95%) = 4.38  
 itere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 st no 3 : F calcule = 1.454  
           F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 18

riable :  $X_1 X_3$   
 efficient : -1.7057142857E+00  
 ntribution : 8.1464914285E+02  
 siduelle du modele a ce stade : 2.8271702731E+02  
 st no 1 : F calcule = 2.882  
           F de Fischer (1, 18, 95%) = 4.41  
 itere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 st no 3 : F calcule = 1.327  
           F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 19

riable :  $(X_1^3 - 20.2X_1) X_2 X_3$   
 efficient : -2.1776620371E-01  
 ntribution : 7.8667605558E+02  
 siduelle du modele a ce stade : 2.5307237858E+02  
 st no 1 : F calcule = 3.109  
           F de Fischer (1, 17, 95%) = 4.45  
 itere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 st no 3 : F calcule = 1.281  
           F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 20

riable :  $(X_1^2 - 70/6) X_2 (X_3^2 - 2/3)$   
 efficient : 8.0982142858E-01  
 ntribution : 5.2231682539E+02  
 siduelle du modele a ce stade : 2.3624460066E+02  
 st no 1 : F calcule = 2.211  
           F de Fischer (1, 16, 95%) = 4.49

----- 21  
 variable :  $(X_1^4 - (16213/597)(X_1^2 - 70/6) - 707/3)(X_3^2 - 2/3)$   
 coefficient : -1.3597468619E-01  
 contribution : 5.19304627722E+02  
 residuelle du modele a ce stade : 2.1737395556E+02  
 test no 1 : F calcule = 2.389  
           F de Fischer (1, 15, 95%) = 4.54  
 critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 test no 3 : F calcule = 0.846  
           F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 22  
 variable :  $(X_1^5 - (133632/4147)(X_1^3 - 20.2X_1) - (3271/7)X_1) X_2 (X_3^2 - 2/3)$   
 coefficient : -7.4567889064E-02  
 contribution : 4.3381485225E+02  
 residuelle du modele a ce stade : 2.0191389151E+02  
 test no 1 : F calcule = 2.149  
           F de Fischer (1, 14, 95%) = 4.60  
 critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 test no 3 : F calcule = 0.707  
           F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 23  
 variable :  $(X_1^2 - 70/6)(X_3^2 - 2/3)$   
 coefficient : 7.2098214287E-01  
 contribution : 4.1400396827E+02  
 residuelle du modele a ce stade : 1.8559927022E+02  
 test no 1 : F calcule = 2.231  
           F de Fischer (1, 13, 95%) = 4.67  
 critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 test no 3 : F calcule = 0.674  
           F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 24  
 variable :  $(X_1^4 - (16213/597)(X_1^2 - 70/6) - 707/3) X_2 X_3$   
 coefficient : -6.8953434534E-02  
 contribution : 4.0062572245E+02  
 residuelle du modele a ce stade : 1.6768039920E+02  
 test no 1 : F calcule = 2.389  
           F de Fischer (1, 12, 95%) = 4.75  
 critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 test no 3 : F calcule = 0.653  
           F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 25  
 variable :  $(X_1^5 - (133632/4147)(X_1^3 - 20.2X_1) - (3271/7)X_1)$   
 coefficient : -3.1043419622E-02  
 contribution : 3.3833921979E+02  
 residuelle du modele a ce stade : 1.5216596096E+02  
 test no 1 : F calcule = 2.223  
           F de Fischer (1, 11, 95%) = 4.84  
 critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 test no 3 : F calcule = 0.551  
           F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 26  
 variable :  $X_3$   
 coefficient : -3.5583333333E+00  
 contribution : 3.0388166667E+02  
 residuelle du modele a ce stade : 1.3699439039E+02  
 test no 1 : F calcule = 2.218  
           F de Fischer (1, 10, 95%) = 4.96  
 critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 test no 3 : F calcule = 0.495

----- 27

iable :  $(X_1^3 - 20.2X_1) X_3$   
 fficient : 1.343750000E-01  
 tribution : 2.995379999E+02  
 iduelle du modele a ce stade : 1.189339893E+02  
 t no 1 : F calcule = 2.519  
           F de Fischer (1, 9, 95%) = 5.12  
 tere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 t no 3 : F calcule = 0.488  
           F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 28

iable :  $(X_1^3 - 20.2X_1)$   
 fficient : -1.022569444E-01  
 tribution : 2.601907499E+02  
 iduelle du modele a ce stade : 1.012768942E+02  
 t no 1 : F calcule = 2.569  
           F de Fischer (1, 8, 95%) = 5.32  
 tere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 t no 3 : F calcule = 0.424  
           F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 29

iable :  $(X_1^4 - (16213/597)(X_1^2 - 70/6) - 707/3) X_2 (X_3^2 - 2/3)$   
 fficient : -9.108985417E-02  
 tribution : 2.330482160E+02  
 iduelle du modele a ce stade : 8.245241969E+01  
 t no 1 : F calcule = 2.826  
           F de Fischer (1, 7, 95%) = 5.59  
 tere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 t no 3 : F calcule = 0.380  
           F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 30

iable :  $(X_1^3 - 20.2X_1) X_2 (X_3^2 - 2/3)$   
 fficient : -1.992187500E-01  
 tribution : 2.194593750E+02  
 iduelle du modele a ce stade : 5.961792714E+01  
 t no 1 : F calcule = 3.681  
           F de Fischer (1, 6, 95%) = 5.99  
 tere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 t no 3 : F calcule = 0.357  
           F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 31

iable :  $(X_1^4 - (16213/597)(X_1^2 - 70/6) - 707/3)$   
 fficient : -3.322315245E-02  
 tribution : 1.395082725E+02  
 iduelle du modele a ce stade : 4.363985806E+01  
 t no 1 : F calcule = 3.197  
           F de Fischer (1, 5, 95%) = 6.61  
 tere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
 t no 3 : F calcule = 0.227  
           F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 32

iable :  $(X_1^5 - (133632/4147)(X_1^3 - 20.2X_1) - (3271/7)X_1) X_3$   
 fficient : -1.946792171E-02  
 tribution : 8.870766664E+01  
 iduelle du modele a ce stade : 3.237290591E+01  
 t no 1 : F calcule = 2.740

----- 33

variable :  $(X_1^5 - (133632/4147)(X_1^3 - 20.2X_1) - (3271/7)X_1)(X_3^2 - 2/3)$   
coefficient : -3.0287272191E-02  
contribution : 7.1568355817E+01  
residuelle du modele a ce stade : 1.9307755947E+01  
test no 1 : F calcule = 3.707  
F de Fischer (1, 3, 95%) = 10.13  
critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
test no 3 : F calcule = 0.117  
F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 34

variable :  $(X_1^2 - 70/6) X_3$   
coefficient : -1.5546875001E-01  
contribution : 5.7751458339E+01  
residuelle du modele a ce stade : 8.5904751455E-02  
test no 1 : F calcule = 672.273  
F de Fischer (1, 2, 95%) = 18.51  
critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
test no 3 : F calcule = 0.094  
F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 35

variable :  $(X_1^4 - (16213/597)(X_1^2 - 70/6) - 707/3) X_3$   
coefficient : 1.2036662907E-03  
contribution : 1.2207851003E-01  
residuelle du modele a ce stade : 4.9730992876E-02  
test no 1 : F calcule = 2.455  
F de Fischer (1, 1, 95%) = 161.40  
critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
test no 3 : F calcule = 0.000  
F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

----- 36

variable :  $(X_1^5 - (133632/4147)(X_1^3 - 20.2X_1) - (3271/7)X_1) X_2$   
coefficient : 3.7636302341E-04  
contribution : 4.9730992876E-02  
residuelle du modele a ce stade : 0.0000000000E+00  
test no 1 : zero ddl, test non faisable  
critere no 2 : resid. ( var. moy. des essais --) variable peu importante  
test no 3 : F calcule = 0.000  
F de Fischer (1, 36, 95%) = 4.11

Fin.

-----

| TEMPS/<br>jours | Temoin |        | Zn1: 1mg/l |        | Zn2: 2mg/l |        |
|-----------------|--------|--------|------------|--------|------------|--------|
|                 | PS:mg  | S:mg   | PS:mg      | S:mg   | PS:mg      | S:mg   |
| T<br>0          | 1243.6 | 233.3  |            |        |            |        |
| M.<br>3         | 799.7  | 23.1   | 1107.0     | 88.3   | 1223.6     | 32.1   |
|                 | 9      | 1049.3 | 6.2        | 917.0  | 74.7       | 1172.4 |
|                 | 16     | 660.0  | 20.4       | 953.5  | 20.0       | 1099.7 |
|                 | 21     | 730.3  | 90.3       | 1131.3 | 79.1       | 1074.2 |

Tableau 43: Poids sec des échantillons de coquilles témoins et contaminées avec le Zinc chez les moules non nourries.

| TEMPS/<br>Jours | Temoin |        | Zn1: 1mg/l |        | Zn2: 2mg/l |       |       |
|-----------------|--------|--------|------------|--------|------------|-------|-------|
|                 | PS:mg  | S:mg   | PS:mg      | S:mg   | PS:mg      | S:mg  |       |
| T<br>0          | 1213.2 | 230.0  |            |        |            |       |       |
| M.<br>3         | 1145   | -      | 907.7      | 68.0   | 1497.3     | 253.3 |       |
|                 | 9      | 703.3  | 203.4      | 1133.9 | 34.1       | 967.4 | 93.5  |
|                 | 16     | 1121.6 | 144.2      | 1279.1 | 134.7      | 743.3 | 134.7 |
|                 | 21     | 7279.0 | 42.4       | 1132.3 | 243.4      | 793.3 | 34.1  |

Tableau 44: Poids sec des échantillons de coquilles témoins et contaminées chez les moules nourries.

| TEMPS/<br>jours | Temoin |        | Zn1: 1mg/l |        | Zn2: 2mg/l |       |
|-----------------|--------|--------|------------|--------|------------|-------|
|                 | PS:mg  | S:mg   | PS:mg      | S:mg   | PS:mg      | S:mg  |
| T<br>0          | 1243.6 | 233.3  |            |        |            |       |
| M.<br>3         | 771.3  | 13.3   | 1003.1     | 138.8  | 1409.4     | 260.3 |
|                 | 9      | 1071.3 | 317.3      | 1179.3 | 130.0      | 903.0 |
|                 | 16     | 734.3  | 232.9      | 734.0  | 149.6      | 752.2 |
|                 | 21     | 338.7  | 313.3      | 934.0  | 34.7       | 8005  |
|                 |        |        |            |        |            | 55,8  |

Tableau 45: Poids sec des échantillons de coquilles isolées.

| Tissus<br>Temps/<br>jours | Total  |               | Manteau |               | Branchies |               | Byssus |               | Reste |               |
|---------------------------|--------|---------------|---------|---------------|-----------|---------------|--------|---------------|-------|---------------|
|                           | Temoin | + Zn<br>2mg/l | Tem.    | + Zn<br>2mg/l | Tem.      | + Zn<br>2mg/l | Temoin | + Zn<br>2mg/l | Tem.  | + Zn<br>2mg/l |
| 0                         | 147.7  |               |         |               |           |               |        |               |       |               |
| 7                         | 134.0  | 171.0         | 137.0   | 213.0         | 132.0     | 91.0          | 82.0   | 59.0          | 231.0 | 374.0         |
| 15                        | 61.0   | 106.0         | 133.0   | 131.0         | 71.0      | 67.0          | 41.0   | 62.0          | 303.0 | 277.0         |

Tableau 42: Poids sec des échantillons des différentes fractions de la partie molle de la Dreissène témoins et contaminée.

| Milieu | Temps/<br>jours | TÉMOIN      |      |      |             |      |      | +Zn:1mg/l   |      |     |             |      |      |
|--------|-----------------|-------------|------|------|-------------|------|------|-------------|------|-----|-------------|------|------|
|        |                 | -Nourriture |      |      | +Nourriture |      |      | -Nourriture |      |     | +Nourriture |      |      |
|        |                 | mg/kg       | %    |      | mg/kg       | %    |      | mg/kg       | %    |     | mg/kg       | %    |      |
|        |                 | m           | s    | CV   | m           | s    | CV   | m           | s    | CV  | m           | s    | CV   |
| T      | 0               | 32.7        | 28.5 | 36.7 |             |      |      |             |      |     |             |      |      |
| R.     | 3               | 31.3        | 0.7  | 2.9  | 567         | -    | -    | 136.5       | 2.6  | 2.0 | 107.3       | 22.7 | 20.3 |
|        | 9               | 70.2        | 19.0 | 24.7 | 70.0        | 13.6 | 18.4 | 265.7       | 1.9  | 0.7 | 151.7       | 73.0 | 43.0 |
|        | 12              | 99.9        | 3.0  | 0.0  | 71.7        | 0.1  | 0.1  | 282.7       | 25.5 | 9.0 | 165.6       | 70.2 | 37.6 |
|        | 21              | 47.3        | 7.4  | 15.3 | 73.9        | 7.6  | 10.2 | 257.3       | 6.0  | 3.2 | 159.0       | 99.9 | 62.7 |

Tableau 46: Teneurs en Zinc au niveau de coquilles de moules témoins et contaminées avec le Zinc!

| Milieu | Temps/<br>jours | TÉMOIN      |      |      |             |      |      | +Zn:2mg/l   |      |      |             |      |      |
|--------|-----------------|-------------|------|------|-------------|------|------|-------------|------|------|-------------|------|------|
|        |                 | -Nourriture |      |      | +Nourriture |      |      | -Nourriture |      |      | +Nourriture |      |      |
|        |                 | mg/kg       | %    |      | mg/kg       | %    |      | mg/kg       | %    |      | mg/kg       | %    |      |
|        |                 | m           | s    | CV   | m           | s    | CV   | m           | s    | CV   | m           | s    | CV   |
| T      | 0               | 32.7        | 28.5 | 36.7 |             |      |      |             |      |      |             |      |      |
| R.     | 0               | 31.0        | 0.7  | 2.9  | 567         | -    | -    | 103.1       | 33.6 | 32.6 | 37.3        | 21.6 | 24.7 |
|        | 9               | 70.2        | 19.0 | 24.7 | 70.0        | 13.6 | 18.4 | 172.4       | 0.6  | 0.3  | 233.9       | 22.6 | 9.6  |
|        | 12              | 99.9        | 3.0  | 0.0  | 73.9        | 0.1  | 0.1  | 216.2       | 57.0 | 26.5 | 309.6       | 46.0 | 14.6 |
|        | 21              | 47.3        | 7.4  | 15.3 | 73.9        | 7.6  | 10.2 | 262.6       | 13.3 | 5.1  | 340.1       | 33.7 | 15.6 |

Tableau 47: Teneurs en Zinc au niveau des coquilles de moules témoins et contaminées.



| TEMPERATURE |    | -EDTA  | TENSOIN | +EDTA  |       | -EDTA  | +Zn:2ppm | +EDTA  |       |
|-------------|----|--------|---------|--------|-------|--------|----------|--------|-------|
|             |    | mg     | mg      | mg     |       | mg     | mg       | mg     |       |
| T           | 0  | 267.3  | 141.7   |        |       |        |          |        |       |
| 0           |    |        |         |        |       |        |          |        |       |
| N           | 8  | 1242.3 | 137.7   | 1133.6 | 272.7 | 781.4  | 373.7    | 1261.3 | 148.3 |
|             | 16 | 1132.4 | 14.3    | 1021.3 | 63.1  | 1069.4 | 137.7    | 948.3  | 260.1 |
|             | 24 | 1100.1 | 19.6    | 1103.2 | 223.1 | 1157.7 | 172.9    | 1000.3 | 66.6  |
|             | 32 | 727.7  | 133.3   | 1017.1 | 63.3  | 989.6  | 132.4    | 1292.1 | 368.6 |
|             |    |        |         |        |       |        |          |        |       |
| E           | 8  | 1143.7 | 230.0   | 1010.3 | 10.6  | 1032.3 | 297.7    | 1070.3 | 44.6  |
|             |    |        |         |        |       |        |          |        |       |
| T           | 16 | 1143.0 | 234.8   | 1184.1 | 268.3 | 1301.7 | 67.3     | 1063.3 | 222.8 |
| 0           |    |        |         |        |       |        |          |        |       |
| N           | 32 | 1082.3 | 173.7   | 987.2  | 8.9   | 1316.6 | 120.6    | 972.7  | 67.3  |
|             |    |        |         |        |       |        |          |        |       |

Tableau 48: Poids sec des échantillons de coquilles témoins et contaminées avec le Zn en présence ou en absence de l'EDTA

| TEMPERATURE |      | -EDTA | TENSOIN | +EDTA |      | -EDTA | Zn: 2ppm | +EDTA |      |
|-------------|------|-------|---------|-------|------|-------|----------|-------|------|
|             |      | mg/kg | CV %    | mg/kg | CV % | mg/kg | CV %     | mg/kg | CV % |
| 0           | 20.2 | 7.2   | 28.3    |       |      |       |          |       |      |
| 8           | 27.0 | 12.1  | 45.3    | 9.3   | 0.3  | 3.6   | 173.3    | 33.4  | 31.9 |
| 16          | 27.0 | 13.3  | 33.7    | 12.6  | 6.0  | 47.0  | 133.3    | 12.7  | 6.6  |
| 24          | 34.4 | 17.1  | 33.3    | 14.3  | 7.2  | 6.4   | 263.2    | 1.2   | 0.3  |
| 32          | 33.7 | 17.0  | 36.1    | 8.2   | 0.0  | 0.0   | 262.7    | 60.3  | 21.3 |
|             |      |       |         |       |      |       |          |       |      |
| 8           | 43.7 | 7.7   | 13.3    | 7.3   | 3.1  | 41.3  | 203.3    | 70.3  | 34.2 |
| 16          | 38.2 | 13.3  | 17.6    | 10.1  | 3.3  | 34.3  | 153.1    | 17.5  | 11.3 |
| 32          | 31.9 | 22.3  | 36.3    | 7.2   | 0.6  | 10.6  | 167.7    | 13.7  | 11.3 |
|             |      |       |         |       |      |       |          |       |      |

Tableau 49: Teneurs en Zinc adsorbés sur les coquilles en présence et en absence de l'EDTA.

| TEMPERATURE |       | -EDTA | TENSOIN | +EDTA |      | -EDTA | Zn: 2ppm | +EDTA |      |
|-------------|-------|-------|---------|-------|------|-------|----------|-------|------|
|             |       | g/kg  | CV %    | g/kg  | CV % | g/kg  | CV %     | g/kg  | CV % |
| 0           | 114.0 | 0.3   | 0.3     |       |      |       |          |       |      |
| 8           | 177.1 | 30.1  | 21.3    | 174.0 | 37.4 | 20.   | 222.6    | 13.5  | 7.0  |
| 16          | 161.2 | 3.8   | 2.4     | 157.5 | 3.0  | 3.0   | 230.2    | 6.7   | 3.0  |
| 24          | 162.6 | 6.9   | 5.3     | 163.9 | 0.4  | 0.2   | 206.9    | 32.1  | 13.3 |
| 32          | 146.7 | 6.1   | 4.1     | 209.3 | 69.0 | 33.   | 232.1    | 23.6  | 11.0 |
|             |       |       |         |       |      |       |          |       |      |

Tableau 50: Teneurs en calcium de la coquille . Effet de l'EDTA.

Evolution des teneurs en PTS (mg/kg PF) dans la partie molle totale et sans branchies en fonction du temps ( $X_2$ ), des teneurs en Zinc ( $X_3$ ) et de la présence ou de l'absence de la nourriture ( $X_4$ ).

| No | X1 | X2 | X3 | X4 | Y1    | Y2    | Y3    | Ymoyen     |                                                                                       |
|----|----|----|----|----|-------|-------|-------|------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | -1 | -1 | -1 | -1 | 204.9 | 254.7 | 214.2 | 224.6      | Plan expérimental à 4 variables                                                       |
| 2  | -1 | -1 | -1 | 1  | 204.9 | 254.7 | 214.2 | 224.6      |                                                                                       |
| 3  | -1 | -1 | 1  | -1 | 204.9 | 254.7 | 214.2 | 224.6      |                                                                                       |
| 4  | -1 | -1 | 1  | 1  | 204.9 | 254.7 | 214.2 | 224.6      |                                                                                       |
| 5  | -1 | 1  | -1 | -1 | 199.5 | 191.5 | 168.7 | 186.566667 | $X_1$ : fraction analysée avec 2 modalités; la partie molle totale et sans branchies. |
| 6  | -1 | 1  | -1 | 1  | 199.5 | 191.5 | 168.7 | 186.566667 |                                                                                       |
| 7  | -1 | 1  | 1  | -1 | 199.5 | 191.5 | 168.7 | 186.566667 |                                                                                       |
| 8  | -1 | 1  | 1  | 1  | 199.5 | 191.5 | 168.7 | 186.566667 |                                                                                       |
| 9  | 1  | -1 | -1 | -1 | 206   | 177   | 144.2 | 175.733333 | $X_2$ : temps d'exposition avec 2 modalités; 0 et 3 jours.                            |
| 10 | 1  | -1 | -1 | 1  | 176.2 | 76.7  | 225.5 | 159.466667 |                                                                                       |
| 11 | 1  | -1 | 1  | -1 | 359.2 | 306.7 | 399.1 | 364.666667 |                                                                                       |
| 12 | 1  | -1 | 1  | 1  | 112.3 | 251.1 | 89.9  | 151.1      |                                                                                       |
| 13 | 1  | 1  | -1 | -1 | 102.6 | 85.3  | 115.4 | 103.1      | $X_3$ : teneurs en Zinc dans le milieu avec 2 modalités: 0 et 2ppm.                   |
| 14 | 1  | 1  | -1 | 1  | 191.5 | 130.8 | 192.5 | 171.6      |                                                                                       |
| 15 | 1  | 1  | 1  | -1 | 119.3 | 122.7 | 143.5 | 128.666667 |                                                                                       |
| 16 | 1  | 1  | 1  | 1  | 114.3 | 100.7 | 97.6  | 104.366667 |                                                                                       |

VARIANCE INTRA-GROUPE DES ESSAIS : 1306.68001

VARIABLE 1

COEFFICIENT = 187.710417

CONTRIBUTION = 563763.209

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 3792.96855

TEST DE t CARRE :

t carre = 148.634082

F de Fischer (1,15,95%) = 4.54

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 1294.34109

VARIABLE X2

COEFFICIENT = -30.9604167

CONTRIBUTION = 15336.7584

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 2968.40356

TEST DE t CARRE :

t carre = 5.16666891

F de Fischer (1,14,95%) = 4.6

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 35.2115858

VARIABLE X3X4

COEFFICIENT = -18.13125

CONTRIBUTION = 5259.97563

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 2506.49155

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.83259474

F de Fischer (1,13,95%) = 4.67

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 12.0761218

VARIABLE X1X2X4  
 COEFFICIENT = -19.12125  
 CONTRIBUTION = 5259.87563  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 2586.49155  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 2.03359474  
 F de Fischer (1,12,95%) = 4.75  
 DEUXIEME TEST :  
 Analyse de variance : F = 12.0761218

VARIABLE X1  
 COEFFICIENT = -17.8729167  
 CONTRIBUTION = 5111.05841  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 2356.98548  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 2.16847259  
 F de Fischer (1,11,95%) = 4.84  
 DEUXIEME TEST :  
 Analyse de variance : F = 11.7344531

VARIABLE X2X4  
 COEFFICIENT = 17.1270834  
 CONTRIBUTION = 4692.39174  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1837.78408  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 2.55383197  
 F de Fischer (1,10,95%) = 4.94  
 DEUXIEME TEST :  
 Analyse de variance : F = 10.7755343

VARIABLE X1X2X4  
 COEFFICIENT = 17.1270834  
 CONTRIBUTION = 4692.39174  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1837.78408  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 2.55383197  
 F de Fischer (1,9,95%) = 5.12  
 DEUXIEME TEST :  
 Analyse de variance : F = 10.7755343

VARIABLE X2X3  
 COEFFICIENT = -13.8895833  
 CONTRIBUTION = 3086.72841  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1488.94285  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 2.88429948  
 F de Fischer (1,8,95%) = 5.32  
 DEUXIEME TEST :  
 Analyse de variance : F = 7.88680409

VARIABLE X1X2X3  
 COEFFICIENT = -13.8895833  
 CONTRIBUTION = 3086.72841  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1488.94285  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 2.88429948  
 F de Fischer (1,7,95%) = 5.59  
 DEUXIEME TEST :  
 Analyse de variance : F = 7.88680409

VARIABLE X1X2  
 COEFFICIENT = -11.94375  
 CONTRIBUTION = 2292.45863  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1347.35822  
 TEST DE t CARRE :

Evolution des teneurs en PTS (mg/kg PF) dans la partie molle totale et sans branchies en fonction du temps ( $X_2$ ), des teneurs en Zinc dans le milieu ( $X_3$ ) et de la présence ou de l'absence de la nourriture ( $X_4$ ).

| No | X1 | X2 | X3 | X4 | Y1    | Y2    | Y3    | Ymoyen     | Plan expérimental à 4 variables:                                                    |
|----|----|----|----|----|-------|-------|-------|------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | -1 | -1 | -1 | -1 | 204.9 | 254.7 | 214.2 | 224.6      | $X_1$ : fraction analysées avec 2 modalités: partie molle totale et sans branchies. |
| 2  | -1 | -1 | -1 | 1  | 204.9 | 254.7 | 214.2 | 224.6      |                                                                                     |
| 3  | -1 | -1 | 1  | -1 | 204.9 | 254.7 | 214.2 | 224.6      |                                                                                     |
| 4  | -1 | -1 | 1  | 1  | 204.9 | 254.7 | 214.2 | 224.6      |                                                                                     |
| 5  | -1 | 1  | -1 | -1 | 199.5 | 191.4 | 168.7 | 186.533333 | $X_2$ : Temps d'exposition avec 2 modalités; 0 et 16 jours).                        |
| 6  | -1 | 1  | -1 | 1  | 199.5 | 191.4 | 168.7 | 186.533333 |                                                                                     |
| 7  | -1 | 1  | 1  | -1 | 199.5 | 191.4 | 168.7 | 186.533333 | $X_3$ : teneurs en Zinc dans le milieu avec 2 modalités; 0 et 2ppm.                 |
| 8  | -1 | 1  | 1  | 1  | 199.5 | 191.4 | 168.7 | 186.533333 |                                                                                     |
| 9  | 1  | -1 | -1 | -1 | 211.9 | 409.9 | 264.4 | 295.4      | $X_4$ : présence ou absence de la nourriture; 2 modalités.                          |
| 10 | 1  | -1 | -1 | 1  | 171.2 | 248.8 | 220.7 | 213.566667 |                                                                                     |
| 11 | 1  | -1 | 1  | -1 | 285.5 | 233.9 | 338.3 | 285.9      |                                                                                     |
| 12 | 1  | -1 | 1  | 1  | 230.7 | 194   | 318   | 247.566667 |                                                                                     |
| 13 | 1  | 1  | -1 | -1 | 232.2 | 176.3 | 257.6 | 222.833333 |                                                                                     |
| 14 | 1  | 1  | -1 | 1  | 377.1 | 232.3 | 188.1 | 265.833334 |                                                                                     |
| 15 | 1  | 1  | 1  | -1 | 217.7 | 183.2 | 217.5 | 206.133333 |                                                                                     |
| 16 | 1  | 1  | 1  | 1  | 210   | 114.5 | 190.1 | 171.533333 |                                                                                     |

RIANCE INTRA-GROUPE DES ESSAIS : 2319.28204

RIABLE 1

EFFICIENT = 222.03125

NTIBUTION = 788766.016

SIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1331.60703

ST DE t CARRE :

t carre = 592.341431

F de Fischer (1,15,95%) = 4.54

UXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 1020.2718

RIABLE X2

EFFICIENT = -20.5729167

NTIBUTION = 6771.91842

SIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 943.013364

ST DE t CARRE :

t carre = 7.18114789

F de Fischer (1,14,95%) = 4.6

IXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 8.75950184

RIABLE X1

EFFICIENT = 16.4645833

NTIBUTION = 4337.32007

SIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 681.912848

T DE t CARRE :

t carre = 6.36051965

F de Fischer (1,13,95%) = 4.67

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 5.61033975

VARIABLE X2X3

COEFFICIENT = -8.41875001

CONTRIBUTION = 1134.00563

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 599.714161

TEST DE t CARRE :

t carre = 1.89091021

F de Fischer (1,12,95%) = 4.75

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 1.46684053

VARIABLE X1X2X3

COEFFICIENT = -8.41875001

CONTRIBUTION = 1134.00563

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 599.714161

TEST DE t CARRE :

t carre = 1.89091021

F de Fischer (1,11,95%) = 4.84

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 1.46684053

VARIABLE X2X4

COEFFICIENT = 8.08541667

CONTRIBUTION = 1045.9834

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 500.543218

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.08969648

F de Fischer (1,10,95%) = 4.96

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 1.35298345

VARIABLE X1X2X4

COEFFICIENT = 8.08541667

CONTRIBUTION = 1045.9834

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 500.543218

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.08969648

F de Fischer (1,9,95%) = 5.12

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 1.35298345

VARIABLE X2X3X4

COEFFICIENT = -7.61875

CONTRIBUTION = 928.725626

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 378.205388

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.45561183

F de Fischer (1,8,95%) = 5.32

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 1.20131008

VARIABLE X1X2X3X4

COEFFICIENT = -7.61875

CONTRIBUTION = 928.725626

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 378.205388

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.45561183

F de Fischer (1,7,95%) = 5.59

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 1.20131008

VARIABLE X4

COEFFICIENT = -6.93541667

CONTRIBUTION = 769.600071

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 221.647514

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.47218002

F de Fischer (1,6,95%) = 5.99

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = .995480574

VARIABLE XIX4

COEFFICIENT = -6.93541667

CONTRIBUTION = 769.600071

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 221.647514

TEST DE t CARRE :

t carre = 3.47218002

F de Fischer (1,5,95%) = 6.61

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = .995480574

VARIABLE X3

COEFFICIENT = -5.35625001

CONTRIBUTION = 459.030626

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 63.3921064

TEST DE t CARRE :

t carre = 7.24113225

F de Fischer (1,4,95%) = 7.71

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = .593757834

VARIABLE XIX3

COEFFICIENT = -5.35625001

CONTRIBUTION = 459.030626

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 63.3921064

TEST DE t CARRE :

t carre = 7.24113225

F de Fischer (1,3,95%) = 10.13

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = .593757834

VARIABLE X3X4

COEFFICIENT = -2.18125

CONTRIBUTION = 76.1256249

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 37.9250694

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.00726396

F de Fischer (1,2,95%) = 18.51

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = .0984687809

t carre = 1.69401916  
F de Fischer (1,6,95%) = 5.99  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 5.24026683

VARIABLE X4  
COEFFICIENT = -11.6020833  
CONTRIBUTION = 2153.7334  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 944.170623  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.28108495  
F de Fischer (1,5,95%) = 6.61  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 4.94474559

VARIABLE X1X4  
COEFFICIENT = -11.6020833  
CONTRIBUTION = 2153.7334  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 944.170623  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.28108495  
F de Fischer (1,4,95%) = 7.71  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 4.94474559

VARIABLE X3  
COEFFICIENT = 8.68125  
CONTRIBUTION = 1205.82562  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 682.515623  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 1.76673703  
F de Fischer (1,3,95%) = 10.13  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 2.76844893

VARIABLE X1X3  
COEFFICIENT = 8.68125  
CONTRIBUTION = 1205.82562  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 682.515623  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 1.76673703  
F de Fischer (1,2,95%) = 18.51  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 2.76844893

VARIABLE X1X2X3X4  
COEFFICIENT = 6.53125  
CONTRIBUTION = 682.515623  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0  
TEST DE t CARRE :  
0 degres de liberte, test non faisable  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 1.56698416

VARIABLE X2X3X4  
COEFFICIENT = 6.53125  
CONTRIBUTION = 682.515623  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0  
TEST DE t CARRE :  
0 degres de liberte, test non faisable  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 1.56698416

Plan (0,21), (0,16) et (0,3):

Evolution des teneurs en PTS (mg/kg PF) dans les branchies en fonction du temps d'exposition ( $X_1$ ), des teneurs en Zinc dans le milieu ( $X_2$ ) et de la présence ou de l'absence de la nourriture ( $X_3$ ).

| No | X1 | X2 | X3 | Y1  | Plan (0,21) : Plan expérimental à 3 variables:                                                                                                                     |
|----|----|----|----|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | -1 | -1 | -1 | 256 | $X_1$ : temps avec 2 modalités; 0 et 21 jour<br>$X_2$ : teneurs en Zinc avec 2 modalités; 0 et 2ppm.<br>$X_3$ : présence ou absence de la nourriture; 2 modalités. |
| 2  | -1 | -1 | 1  | 256 |                                                                                                                                                                    |
| 3  | -1 | 1  | -1 | 256 |                                                                                                                                                                    |
| 4  | -1 | 1  | 1  | 256 |                                                                                                                                                                    |
| 5  | 1  | -1 | -1 | 380 |                                                                                                                                                                    |
| 6  | 1  | -1 | 1  | 258 |                                                                                                                                                                    |
| 7  | 1  | 1  | -1 | 374 |                                                                                                                                                                    |
| 8  | 1  | 1  | 1  | 386 |                                                                                                                                                                    |

PLAN EFFECTUE SANS REPETITIONS

VARIABLE :

COEFFICIENT = 292.75

CONTRIBUTION = 685620.5

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 2999.92857

TEST DE t CARRE :

t carre = 228.545608

F de Fischer (1,7,95%) = 5.59

VARIABLE X1

COEFFICIENT = 36.75

CONTRIBUTION = 10804.5

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1699.16667

TEST DE t CARRE :

t carre = 6.35870525

F de Fischer (1,6,95%) = 5.99

VARIABLE X3

COEFFICIENT = -23.75

CONTRIBUTION = 4512.5

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 292.5

TEST DE t CARRE :

t carre = 15.4273504

F de Fischer (1,5,95%) = 6.61

VARIABLE X2X3

COEFFICIENT = -23.75

CONTRIBUTION = 4512.5

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 292.5

TEST DE t CARRE :

t carre = 15.4273504

F de Fischer (1,4,95%) = 7.71

VARIABLE X2X3

COEFFICIENT = 6.75

CONTRIBUTION = 364.5

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 220.5

TEST DE t CARRE :

t carre = 1.65306123



VARIABLE XIX2X3  
COEFFICIENT = 6.75  
CONTRIBUTION = 364.5  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 220.5  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 1.65306123  
F de Fischer (1,2,95%) = 18.51

VARIABLE XIX2  
COEFFICIENT = 5.25  
CONTRIBUTION = 220.5  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0  
TEST DE t CARRE :  
0 degres de liberte, test non faisable

VARIABLE X2  
COEFFICIENT = 5.25  
CONTRIBUTION = 220.5  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0  
TEST DE t CARRE :  
0 degres de liberte, test non faisable

| No | X1 | X2 | X3 | Y1  | Plan (0,16) |
|----|----|----|----|-----|-------------|
| 1  | -1 | -1 | -1 | 256 |             |
| 2  | -1 | -1 | 1  | 256 |             |
| 3  | -1 | 1  | -1 | 256 |             |
| 4  | -1 | 1  | 1  | 256 |             |
| 5  | 1  | -1 | -1 | 312 |             |
| 6  | 1  | -1 | 1  | 287 |             |
| 7  | 1  | 1  | -1 | 330 |             |
| 8  | 1  | 1  | 1  | 190 |             |

PLAN EFFECTUE SANS REPETITIONS

VARIABLE 1

COEFFICIENT = 267.675

CONTRIBUTION = 574056.125

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1828.69643

TEST DE t CARRE :

t carre = 313.915484

F de Fischer (1,7,95%) = 5.59

VARIABLE X2

COEFFICIENT = -20.625

CONTRIBUTION = 3403.125

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1198.925

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.83848831

F de Fischer (1,6,95%) = 5.99

VARIABLE X1X2

COEFFICIENT = -20.625

CONTRIBUTION = 3403.125

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1198.925

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.83848831

F de Fischer (1,5,95%) = 6.61

VARIABLE X2X3

COEFFICIENT = -14.375

CONTRIBUTION = 1653.125

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 896.125

TEST DE t CARRE :

t carre = 1.84474822

F de Fischer (1,4,95%) = 7.71

VARIABLE X1X2X3

COEFFICIENT = -14.375

CONTRIBUTION = 1653.125

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 896.125

TEST DE t CARRE :

t carre = 1.84474822

F de Fischer (1,3,95%) = 10.13

VARIABLE X1

COEFFICIENT = 11.875

CONTRIBUTION = 1128.125

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 788.125

TEST DE t CARRE :

t carre = 1.44688236

F de Fischer (1,2,95%) = 18.51

VARIABLE X1X2

COEFFICIENT = -9.875

CONTRIBUTION = 788.125

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0

TEST DE t CARRE :

0 degres de liberte, test non faisable

VARIABLE X2

COEFFICIENT = -9.875

CONTRIBUTION = 788.125

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0

TEST DE t CARRE :

0 degres de liberte, test non faisable

| No | X1 | X2 | X3 | Y1  | Plan (0,3). |
|----|----|----|----|-----|-------------|
| 1  | -1 | -1 | -1 | 256 |             |
| 2  | -1 | -1 | 1  | 256 |             |
| 3  | -1 | 1  | -1 | 256 |             |
| 4  | -1 | 1  | 1  | 256 |             |
| 5  | 1  | -1 | -1 | 292 |             |
| 6  | 1  | -1 | 1  | 234 |             |
| 7  | 1  | 1  | -1 | 289 |             |
| 8  | 1  | 1  | 1  | 173 |             |

# PLAN EFFECTUE SANS REPETITIONS

## VARIABLE X1

COEFFICIENT = 251.5

CONTRIBUTION = 506018

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1370.85714

TEST DE t CARRE :

t carre = 369.125261

F de Fischer (1,7,95%) = 5.59

## VARIABLE X3

COEFFICIENT = -21.75

CONTRIBUTION = 3784.5

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 485.4

TEST DE t CARRE :

t carre = 9.33522447

F de Fischer (1,6,95%) = 5.99

## VARIABLE X1X3

COEFFICIENT = -21.75

CONTRIBUTION = 3784.5

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 485.4

TEST DE t CARRE :

t carre = 9.33522447

F de Fischer (1,5,95%) = 6.61

## VARIABLE X2

COEFFICIENT = -8

CONTRIBUTION = 512

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 334.333334

TEST DE t CARRE :

t carre = 1.53140578

F de Fischer (1,4,95%) = 7.71

## VARIABLE X1X2

COEFFICIENT = -8

CONTRIBUTION = 512

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 334.333334

TEST DE t CARRE :

t carre = 1.53140578

F de Fischer (1,3,95%) = 10.13

VARIABLE X2X3

COEFFICIENT = -7.25

CONTRIBUTION = 420.5

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 162

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.59567901

F de Fischer (1,2,95%) = 18.51

VARIABLE XIX2X3

COEFFICIENT = -7.25

CONTRIBUTION = 420.5

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 162

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.59567901

F de Fischer (1,1,95%) = 161.4

VARIABLE X1

COEFFICIENT = -4.5

CONTRIBUTION = 162

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0

TEST DE t CARRE :

0 degres de liberte, test non faisable

Plan (0,21), (0,16) et (0,3):

Evolution des poids frais des échantillons de branchies (mg) en fonction du temps ( $X_1$ ), des teneurs en Zinc dans le milieu ( $X_2$ ) et de la présence ou de l'absence de la nourriture ( $X_3$ ).

| No | X1 | X2 | X3 | Y1  | Plan (0,21): Plan expérimental à 3 variables:                        |
|----|----|----|----|-----|----------------------------------------------------------------------|
| 1  | -1 | -1 | -1 | 549 | $X_1$ : temps/j avec 2 modalités: 0 et 21                            |
| 2  | -1 | -1 | 1  | 549 | $X_2$ : teneurs en Zinc dans le milieu avec 2 modalités; 0 et 2 ppm. |
| 3  | -1 | 1  | -1 | 549 | $X_3$ : présence ou absence de la nourriture; 2 modalités.           |
| 4  | -1 | 1  | 1  | 549 |                                                                      |
| 5  | 1  | -1 | -1 | 282 |                                                                      |
| 6  | 1  | -1 | 1  | 638 |                                                                      |
| 7  | 1  | 1  | -1 | 398 |                                                                      |
| 8  | 1  | 1  | 1  | 575 |                                                                      |

#### PLAN EFFECTUE SANS REPETITIONS

##### VARIABLE 1

COEFFICIENT = 510.125  
 CONTRIBUTION = 2081820.13  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 13296.6964  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 156.566718  
 F de Fischer (1,7,95%) = 5.59

##### VARIABLE X3

COEFFICIENT = 67.625  
 CONTRIBUTION = 36585.125  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 3981.325  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 9.18918325  
 F de Fischer (1,6,95%) = 5.99

##### VARIABLE X1X3

COEFFICIENT = 67.625  
 CONTRIBUTION = 36585.125  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 3981.325  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 9.18918325  
 F de Fischer (1,5,95%) = 6.61

##### VARIABLE X1

COEFFICIENT = -38.875  
 CONTRIBUTION = 12890.125  
 RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1954.125  
 TEST DE t CARRE :  
 t carre = 6.18697627  
 F de Fischer (1,4,95%) = 7.71

VARIABLE X3  
COEFFICIENT = 3.125  
CONTRIBUTION = 78.125  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 21.125  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 3.69822485  
F de Fischer (1,3,95%) = 10.13

VARIABLE XIX3  
COEFFICIENT = 3.125  
CONTRIBUTION = 78.125  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 21.125  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 3.69822485  
F de Fischer (1,2,95%) = 18.51

VARIABLE XIX2X3  
COEFFICIENT = -1.625  
CONTRIBUTION = 21.125  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0  
TEST DE t CARRE :  
0 degres de liberte, test non faisable

VARIABLE X2X3  
COEFFICIENT = -1.625  
CONTRIBUTION = 21.125  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0  
TEST DE t CARRE :  
0 degres de liberte, test non faisable

| No | X1 | X2 | X3 | Y1  | Plan (0,16) |
|----|----|----|----|-----|-------------|
| 1  | -1 | -1 | -1 | 549 |             |
| 2  | -1 | -1 | 1  | 549 |             |
| 3  | -1 | 1  | -1 | 549 |             |
| 4  | -1 | 1  | 1  | 549 |             |
| 5  | 1  | -1 | -1 | 603 |             |
| 6  | 1  | -1 | 1  | 622 |             |
| 7  | 1  | 1  | -1 | 535 |             |
| 8  | 1  | 1  | 1  | 541 |             |

PLAN EFFECTUE SANS REPETITIONS

VARIABLE 1

COEFFICIENT = 562.125

CONTRIBUTION = 2527876.13

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1018.125

TEST DE t CARRE :

t carre = 2482.87403

F de Fischer (1,7,95%) = 5.59

VARIABLE X2

COEFFICIENT = -18.625

CONTRIBUTION = 2775.125

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 315.325

TEST DE t CARRE :

t carre = 8.8008404

F de Fischer (1,6,95%) = 5.99

VARIABLE X1X2

COEFFICIENT = -18.625

CONTRIBUTION = 2775.125

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 315.325

TEST DE t CARRE :

t carre = 8.8008404

F de Fischer (1,5,95%) = 6.61

VARIABLE X1

COEFFICIENT = 13.125

CONTRIBUTION = 1378.125

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 49.625

TEST DE t CARRE :

t carre = 27.7707809

F de Fischer (1,4,95%) = 7.71



VARIABLE X2  
COEFFICIENT = -3.875  
CONTRIBUTION = 120.125  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 66.125  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 1.81663516  
F de Fischer (1,3,95%) = 10.13

VARIABLE XIX2  
COEFFICIENT = -3.875  
CONTRIBUTION = 120.125  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 66.125  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 1.81663516  
F de Fischer (1,2,95%) = 18.51

VARIABLE XIX2X3  
COEFFICIENT = 2.875  
CONTRIBUTION = 66.125  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0  
TEST DE t CARRE :  
0 degres de liberte, test non faisable

VARIABLE X2X3  
COEFFICIENT = 2.875  
CONTRIBUTION = 66.125  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0  
TEST DE t CARRE :  
0 degres de liberte, test non faisable

| No | X1 | X2 | X3 | Y1  | Plan (0,3). |
|----|----|----|----|-----|-------------|
| 1  | -1 | -1 | -1 | 549 |             |
| 2  | -1 | -1 | 1  | 549 |             |
| 3  | -1 | 1  | -1 | 549 |             |
| 4  | -1 | 1  | 1  | 549 |             |
| 5  | 1  | -1 | -1 | 452 |             |
| 6  | 1  | -1 | 1  | 564 |             |
| 7  | 1  | 1  | -1 | 425 |             |
| 8  | 1  | 1  | 1  | 568 |             |

#### PLAN EFFECTUE SANS REPETITIONS

##### VARIABLE 1

COEFFICIENT = 524.625

CONTRIBUTION = 2201851.13

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 2911.125

TEST DE t CARRE :

t carre = 756.357465

F de Fischer (1,7,95%) = 5.59

##### VARIABLE X3

COEFFICIENT = 30.875

CONTRIBUTION = 7626.125

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1025.125

TEST DE t CARRE :

t carre = 7.43921473

F de Fischer (1,6,95%) = 5.99

##### VARIABLE XIX3

COEFFICIENT = 30.875

CONTRIBUTION = 7626.125

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1025.125

TEST DE t CARRE :

t carre = 7.43921473

F de Fischer (1,5,95%) = 6.61

##### VARIABLE X1

COEFFICIENT = -24.375

CONTRIBUTION = 4753.125

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 93.125

TEST DE t CARRE :

t carre = 51.0402685

F de Fischer (1,4,95%) = 7.71

VARIABLE X1X3X4

COEFFICIENT = -2.18125

CONTRIBUTION = 76.1256249

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 37.9250694

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.00726396

F de Fischer (1,1,95%) = 161.4

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = .0984687809

VARIABLE X1X2

COEFFICIENT = -1.53958333

CONTRIBUTION = 37.9250694

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0

TEST DE t CARRE :

0 degres de liberte, test non faisable

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = .0490562193

| TEMPS/<br>jours | NOURRIS |        |           |        | NOURRIS |         |           |         |
|-----------------|---------|--------|-----------|--------|---------|---------|-----------|---------|
|                 | Témoin  |        | Intoxique |        | Témoin  |         | Intoxique |         |
|                 | PT      | PT-MT  | PT        | PT-MT  | PT      | PT-MT   | PT        | PT-MT   |
| 0               | 5464.5  | 5208.5 | 5464.5    | 5208.5 | 5464.5  | 5208.5  | 5464.5    | 5208.5  |
| 3               | 6489.4  | 6255.4 | 6428.6    | 6255.6 | 10863.0 | 10593.0 | 8227.6    | 7938.6  |
| 16              | 6945.3  | 6658.3 | 6762.1    | 6572.1 | 7462.7  | 7150.7  | 10990.7   | 10660.7 |
| 21              | 6300.9  | 6042.9 | 7093.7    | 6789.7 | 13617.0 | 13237.0 | 7980.9    | 7606.9  |

Tableau 51: Teneurs en protéines totales (PT) et des protéines non soufrées (PT- MT) (mg/kg) chez les Dreissènes témoins et contaminées avec 2ppm de Zinc.

|                |      |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|----------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DO             | 2.3  | 5.7   | 3.6   | 11.4  | 14.3  | 17.1  | 20.0  | 22.9  | 25.8  | 28.6  |
| conc.P<br>(ug) | 0.07 | 0.150 | 0.216 | 0.293 | 0.369 | 0.416 | 0.479 | 0.542 | 0.610 | 0.652 |

Tableau 52: volution de la densité optique (DO) en fonction de la concentration en protéines bovines (ug).

| Zn:mg/l |    | Temoin   |      | 0.25 |      | 0.50 |      |
|---------|----|----------|------|------|------|------|------|
| Temps/j |    | m (mg) s |      | m    | s    | m    | s    |
| D       | 0  | 73.2     | 24.4 | 63.2 | 17.1 | 62.2 | 15.8 |
| E       | 2  | 61.7     | 12.3 | 80.1 | 16.8 | 39.5 | 11.6 |
| T       | 6  | 59.2     | 20.9 | 66.0 | 31.0 | 49.6 | 19.6 |
| O       | 10 | 77.3     | 14.2 | 74.9 | 8.8  | 66.7 | 11.6 |
| X.      | 14 | 74.7     | 9.6  | 79.8 | 19.7 | 74.3 | 13.0 |
|         | 18 | 72.3     | 40.0 | 76.7 | 3.6  | 59.5 | 5.5  |
|         | 22 | 76.5     | 17.1 | 80.0 | 10.9 | 64.1 | 20.6 |
|         | 26 | 67.6     | 16.4 | 75.3 | 15.8 | 68.2 | 12.5 |
|         | 28 | 55.1     | 9.2  | 50.2 | 24.2 | 45.7 | 5.2  |

Tableau 53:

| Zn:mg/l |    | 1.00     |      | 1.50 |      | 2.00 |      |
|---------|----|----------|------|------|------|------|------|
| Temps/j |    | m (mg) s |      | m    | s    | m    | s    |
| D       | 0  | 44.0     | 7.9  | 58.3 | 6.7  | 76.6 | 12.2 |
| E       | 2  | 40.0     | 7.5  | 55.6 | 16.8 | 61.6 | 18.5 |
| T       | 6  | 47.6     | 16.3 | 51.1 | 18.4 | 65.0 | 7.4  |
| O       | 10 | 72.5     | 14.6 | 52.1 | 11.4 | 60.0 | 11.2 |
| X.      | 14 | 62.2     | 17.2 | 61.8 | 23.6 | 55.6 | 15.7 |
|         | 18 | 66.6     | 17.4 | 66.4 | 22.8 | 60.6 | 3.1  |
|         | 22 | 62.2     | 12.0 | 60.6 | 7.6  | 69.1 | 14.1 |
|         | 25 | 50.6     | 36.2 | 48.2 | 16.6 | 40.5 | 3.3  |
|         | 26 | 48.6     | 6.2  | 41.2 | 5.9  | 33.0 | 6.4  |

Tableau 54: Poids sec des échantillons de moules pendant la décontamination. (T. 53-54).

Zn: Teneurs en Zinc dans le milieu de contamination?

Essai du 05/1986

| Zn:mg/l |    | Temoin |       |      | 0.25  |       |      | 0.50   |       |      |
|---------|----|--------|-------|------|-------|-------|------|--------|-------|------|
| Temps/j |    | m (mg) | s     | CV % | m     | s     | CV % | m      | s     | CV % |
| D       | 0  | 231.9  | 38.5  | 16.6 | 540.6 | 177.4 | 32.8 | 1207.1 | 133.2 | 11.0 |
| E       | 2  | 276.9  | 47.4  | 17.1 | 501.2 | 132.7 | 36.4 | 986.9  | 269.9 | 27.3 |
| T       | 6  | 303.7  | 56.9  | 18.7 | 501.6 | 162.7 | 36.4 | 1429.9 | 338.0 | 25.0 |
| O       | 10 | 338.7  | 65.7  | 19.3 | 703.6 | 316.1 | 44.7 | 871.5  | 161.3 | 18.5 |
| X.      | 14 | 310.3  | 35.7  | 11.2 | 463.6 | 129.6 | 27.9 | 1057.5 | 350.8 | 33.1 |
|         | 18 | 316.9  | 76.1  | 24.6 | 480.3 | 139.9 | 29.1 | 1041.1 | 424.6 | 40.7 |
|         | 22 | 369.7  | 103.0 | 27.6 | 675.8 | 311.4 | 46.0 | 930.9  | 220.0 | 23.6 |
|         | 26 | 379.7  | 66.7  | 16.0 | 453.2 | 66.3  | 14.3 | 777.3  | 25.6  | 3.2  |
|         | 28 | 371.3  | 67.1  | 16.1 | 616.5 | 363.6 | 59.3 | 1081.1 | 471.2 | 45.4 |

Tableau 55:

| Zn:mg/l |    | 1.00   |       |      | 1.50   |       |      | 2.00   |       |      |
|---------|----|--------|-------|------|--------|-------|------|--------|-------|------|
| Temps/j |    | m (mg) | s     | CV % | m      | s     | CV % | m      | s     | CV % |
| D       | 0  | 1652.4 | 204.5 | 12.3 | 1741.4 | 115.1 | 6.3  | 2762.6 | 309.7 | 11.2 |
| E       | 2  | 2667.9 | 780.6 | 29.2 | 1964.1 | 521.9 | 26.5 | 2631.4 | 653.9 | 24.6 |
| T       | 6  | 1654.3 | 416.3 | 22.3 | 2141.7 | 121.9 | 5.6  | 2248.7 | 168.5 | 7.4  |
| O       | 10 | 1534.3 | 317.6 | 20.4 | 2126.3 | 376.0 | 17.6 | 2134.1 | 498.1 | 23.3 |
| X.      | 14 | 1354.1 | 306.4 | 22.6 | 1643.1 | 242.1 | 13.1 | 2786.1 | 309.1 | 11.0 |
|         | 18 | 1433.4 | 203.0 | 19.6 | 2172.0 | 581.5 | 26.5 | 2474.1 | 483.4 | 19.5 |
|         | 22 | 1734.0 | 790.6 | 45.0 | 2036.2 | 676.0 | 33.1 | 1862.8 | 130.9 | 7.0  |
|         | 26 | 1274.0 | 311.4 | 39.5 | 1715.6 | 403.4 | 23.3 | 2337.3 | 378.6 | 14.9 |
|         | 28 | 1427.0 | 142.0 | 10.0 | 2063.2 | 570.1 | 27.6 | 1748.9 | 457.4 | 26.2 |

Tableau 56:

Tableau 55-56: Evolution des teneurs en Zinc dans les moules pendant la décontamination.

Essai du 05/1986.

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 67.4     | 15.0    | 22.2    |
| 8               | 80.5     | 4.8     | 6.0     |
| 16              | 81.5     | 10.1    | 12.4    |
| 24              | 75.1     | 11.7    | 15.6    |
| 32              | 68.6     | 14.0    | 20.4    |
| 40              | 68.1     | 16.4    | 24.1    |

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 42.9     | 9.3     | 21.7    |
| 8               | 53.5     | 13.2    | 24.7    |
| 16              | 49.7     | 7.3     | 14.7    |
| 24              | 50.7     | 11.6    | 22.9    |
| 32              | 57.1     | 14.0    | 24.5    |
| 40              | 38.1     | 10.1    | 26.5    |

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 65.1     | 17.5    | 26.9    |
| 8               | 51.9     | 11.5    | 22.2    |
| 16              | 53.9     | 19.2    | 35.6    |
| 24              | 42.4     | 6.2     | 14.6    |
| 32              | 45.0     | 10.0    | 22.2    |
| 40              | -        | -       | -       |

Tableau 57:

Tableau 58:

Tableau 59:

Tableau 57-59: Poids sec des échantillons de moules pendant la décontamination. Essai du 12/1986.

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 42.9     | 9.3     | 21.7    |
| 8               | 65.7     | 3.9     | 5.9     |
| 16              | 65.6     | 9.1     | 13.9    |
| 24              | 57.3     | 15.1    | 26.4    |
| 32              | 61.2     | -       | -       |
| 40              | -        | -       | -       |

| TEMPS/<br>jours | PS<br>mg | s<br>mg | CV<br>% |
|-----------------|----------|---------|---------|
| 0               | 65.1     | 17.5    | 26.9    |
| 8               | 67.6     | 18.6    | 27.5    |
| 16              | 47.7     | 10.5    | 22.0    |
| 24              | 51.9     | 11.3    | 21.8    |
| 32              | 48.6     | 8.6     | 17.7    |
| 40              | 49.1     | -       | -       |

Tableau 60:

Tableau 61:

Tableau 60-61: Poids sec des échantillons de moules transplantées dans un milieu contenant de l'EDTA. Essai du 12/1986.

Evolution des teneurs en Zinc dans les moules en décontamination en fonction du temps de décontamination ( $X_1$ ), de teneurs en Zinc ayant servies à leur contamination et de la présence ou de l'absence de la nourriture ( $X_3$ ).

ZN-N-DX

| No | X1 | X2 | X3 | Y1     | Y2     | Ymoyen | Plan expérimental à 3variable                                                              |
|----|----|----|----|--------|--------|--------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | -1 | -1 | -1 | 174.5  | 182.7  | 178.6  | $X_1$ : temps de décontamination avec 3 modalités: 0, 6 et 12 jours.                       |
| 2  | -1 | -1 | 1  | 168    | 291.6  | 229.8  |                                                                                            |
| 3  | -1 | 0  | -1 | 1280   | 1300   | 1290   |                                                                                            |
| 4  | -1 | 0  | 1  | 971    | 1005   | 988    | $X_2$ : teneurs en Zinc dans le milieu de décontamination avec 3 modalités; 0, 1 et 2 ppm. |
| 5  | -1 | 1  | -1 | 1503   | 1650   | 1576.5 |                                                                                            |
| 6  | -1 | 1  | 1  | 1340.8 | 1458.2 | 1399.5 |                                                                                            |
| 7  | 0  | -1 | -1 | 328.5  | 235.6  | 282.05 | $X_3$ : présence ou absence de la nourriture; 2 modalités.                                 |
| 8  | 0  | -1 | 1  | 190    | 197.1  | 193.55 |                                                                                            |
| 9  | 0  | 0  | -1 | 630.5  | 650.3  | 640.4  |                                                                                            |
| 10 | 0  | 0  | 1  | 971.3  | 699.7  | 835.5  |                                                                                            |
| 11 | 0  | 1  | -1 | 1150   | 1150   | 1150   |                                                                                            |
| 12 | 0  | 1  | 1  | 1490   | 1490   | 1490   |                                                                                            |
| 13 | 1  | -1 | -1 | 130.2  | 174.8  | 156.5  |                                                                                            |
| 14 | 1  | -1 | 1  | 108.8  | 131.2  | 120    |                                                                                            |
| 15 | 1  | 0  | -1 | 630.5  | 650.3  | 640.4  |                                                                                            |
| 16 | 1  | 0  | 1  | 626.8  | 699.7  | 663.25 |                                                                                            |
| 17 | 1  | 1  | -1 | 1664.8 | 1548.2 | 1606.5 |                                                                                            |
| 18 | 1  | 1  | 1  | 1102.9 | 742.7  | 922.8  |                                                                                            |

VARIANCE INTRA-GROUPE DES ESSAIS : 7944.96615

VARIABLE 1

COEFFICIENT = 797.963889

CONTRIBUTION = 11461434.6

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 282150.656

TEST DE t CARRE :

t carre = 40.6216834

F de Fischer (1,17,95%) = 4.45

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 2885.20666

VARIABLE X2

COEFFICIENT = 582.066667

CONTRIBUTION = 4065619.25

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 45683.8688

TEST DE t CARRE :

t carre = 88.9946356

F de Fischer (1,16,95%) = 4.49

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance : F = 1023.44533

VARIABLE X1

COEFFICIENT = -129.4125

CONTRIBUTION = 200971.142



RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 35331.3839  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 5.68817635  
F de Fischer (1,15,95%) = 4.54  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 50.5908115

VARIABLE (X1E2-.66666667)X2X3  
COEFFICIENT = -216.55  
CONTRIBUTION = 125050.407  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 28922.8823  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 4.32358039  
F de Fischer (1,14,95%) = 4.6  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 31.4791541

VARIABLE (X1E2-.66666667)X3  
COEFFICIENT = -168.195833  
CONTRIBUTION = 113159.353  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 22443.1538  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 5.04204331  
F de Fischer (1,13,95%) = 4.67  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 28.4857987

VARIABLE X1(X2E2-.66666667)  
COEFFICIENT = 171.2625  
CONTRIBUTION = 78215.5837  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 17795.4513  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 4.39525712  
F de Fischer (1,12,95%) = 4.75  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 19.6893435

VARIABLE X1(X2E2-.66666667)X3  
COEFFICIENT = -155.5125  
CONTRIBUTION = 64491.8337  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 13550.3983  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 4.75934598  
F de Fischer (1,11,95%) = 4.84  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 16.2344389

VARIABLE X3  
COEFFICIENT = -37.6972223  
CONTRIBUTION = 25579.4502  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 12347.4931  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.07163105  
F de Fischer (1,10,95%) = 4.96  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 6.43915901

VARIABLE (X1E2-.666666667)(X2E2-.666666667)  
COEFFICIENT = -162.5875  
CONTRIBUTION = 23497.5069  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 11108.6027  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.11525315  
F de Fischer (1,9,95%) = 5.12  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 5.91506784

VARIABLE X1X2X3  
COEFFICIENT = -52.375  
CONTRIBUTION = 21945.125  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 9754.03742  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.2498504  
F de Fischer (1,8,95%) = 5.32  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 5.52428408

VARIABLE (X2E2-.666666667)  
COEFFICIENT = -67.4416668  
CONTRIBUTION = 18193.5137  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 8548.39795  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.12829512  
F de Fischer (1,7,95%) = 5.59  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 4.5798845

VARIABLE X2X3  
COEFFICIENT = -37.2416666  
CONTRIBUTION = 16643.3008  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 7199.24747  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.31181118  
F de Fischer (1,6,95%) = 5.99  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 4.18964675

VARIABLE X1X2  
COEFFICIENT = -39.35  
CONTRIBUTION = 12387.38  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 6161.62096  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 2.01040929  
F de Fischer (1,5,95%) = 6.61  
DEUXIEME TEST :  
Analyse de variance : F = 3.11829649

VARIABLE (X1E2-.666666667)X2  
COEFFICIENT = 61.45  
CONTRIBUTION = 10069.6067  
RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 5184.62454  
TEST DE t CARRE :  
t carre = 1.94220557  
F de Fischer (1,4,95%) = 7.71  
DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 2.53483941$

VARIABLE (X1E2-.666666667)

COEFFICIENT = 49.0708333

CONTRIBUTION = 9631.78673

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 3702.23715

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.60161258

F de Fischer (1,3,95%) = 10.13

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 2.42462625$

VARIABLE XIX3

COEFFICIENT = -22.4625

CONTRIBUTION = 6054.76686

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 2525.97229

TEST DE t CARRE :

t carre = 2.39700447

F de Fischer (1,2,95%) = 18.51

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 1.52417688$

VARIABLE (X2E2-.666666667)X3

COEFFICIENT = -35.5333333

CONTRIBUTION = 5050.4711

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 1.47347197

TEST DE t CARRE :

t carre = 3427.59904

F de Fischer (1,1,95%) = 161.4

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 1.27136378$

VARIABLE (X1E2-.666666667)(X2E2-.666666667)X3

COEFFICIENT = -1.28749989

CONTRIBUTION = 1.47347197

RESIDUELLE DU MODELE A CE STADE = 0

TEST DE t CARRE :

0 degres de liberte, test non faisable

DEUXIEME TEST :

Analyse de variance :  $F = 3.78919634E-04$

MAAROUF A. 1988. Experimental study of Zinc bioaccumulation and release by *Dreissena polymorpha* ( freshwater bivalve). Kinetic and mechanism of contamination and decontamination. Doct. Univ. Metz, 300p.

Key words: Ecotoxicology, Zinc, *Dreissena polymorpha*, Bioindicator, Contamination, Decontamination, Metallothionein-like proteins.

#### Abstract

In *Dreissena polymorpha*, the  $LC50_{28d}$  of Zinc (oligo-element) is 10,9ppm. This metal is bioaccumulated but showed little toxicity.

Contamination and decontamination dynamism varies with seasons. Zinc exposure is followed by adsorption to the shell, and by adsorption and absorption in the soft part of the mussel. Analysis of the kinetic of absorption showed an exponential and diphasic process in spring, linear in winter, and very limited and triphasic in autumn (saturating kinetic).

Comparison of the concentration factors of different compartments, allows to establish the following organotropism:

Byssus >> Mantle > Gills > Soft part > "Rest of soft part".

Rate of decontamination was found very feeble in spring. In contrast, it is much more important in autumn and winter. The biological half life as determined in autumn is 29,5 days.

The effects of biotics factors ( seasons and food ) and abiotics factors ( EDTA, temperature and Lead ) on Zinc uptake and depuration show a big ecotoxicological complexity due to several interactions between these factors, Zinc concentrations in the medium and exposure time.

External factors produce some modification on the physico-chemistry, kinetic and ecotoxicological aspects of metallic contamination and/or decontamination.

Analysis by differential impulsion polarography made evidence of the presence of metallothionein-like proteins ( PTS: sulfurated thermoresistent proteins ) in both control and Zinc exposed animals. PTS concentrations are about 300mg/kg weight. Exposure to Zinc doesn't lead to any quantitative modification of PTS content in *Dreissena*.

*Dreissena* may be used as bioindicator of metallic contamination of the freshwaters, with the best accuracy in spring.

**MAAROLF A., 1988, Etude expérimentale de la bioaccumulation et du relargage de Zinc chez *Dreissena polymorpha* (bivalve d'eau douce). Cinétique et mécanisme de contamination et de décontamination. Thèse de l'Université, Université de Metz, 388p.**

**Mots clés : Écotoxicologie, Zinc, *Dreissena polymorpha*, Bioindicateur, Contamination, Décontamination, Protéines type métallothionéines.**

### **Résumé**

Chez *Dreissena polymorpha* la CL5025j du Zinc (chlorure de zinc hexahydraté) est évaluée à 10,9 ppm. Ce métal est bioaccumulable mais faiblement toxique.

Le dynamisme de la contamination et de la décontamination varie suivant les saisons. La contamination de la Dreissène par le Zinc se traduit par une adsorption métallique au niveau de la coquille et par une adsorption et une absorption au niveau de la partie molle. La cinétique d'absorption est exponentielle et diphasique au printemps, linéaire en hiver, triphasique et très limitée en automne.

Les facteurs de concentration du Zinc ont permis d'établir l'organotropisme suivant : **Dessus >> Manteau > Branchies > Partie molle totale > Reste de la masse viscérale.**

La cinétique de décontamination est presque nulle au printemps, elle est par contre, beaucoup plus importante en automne-hiver. La demi-vie biologique déterminée en automne est de 29,5 jours.

L'effet des facteurs biotiques (saison et nourriture) et abiotiques (EDTA, température et Plomb) sur la contamination et la décontamination révèle une complexité écotoxicologique extrême due à la multitude des interactions existantes entre ces facteurs, les teneurs en Zinc dans le milieu et le temps de contamination ou de décontamination.

Ces facteurs externes agissent en modifiant l'aspect physico-chimique, cinétique et écotoxicologique de la contamination ou/et de la décontamination métallique.

L'analyse polarographique à impulsion différentielle a permis de mettre en évidence la présence de protéines de type métallothionéines (PTS: protéines thermorésistantes soufrées), même chez les moules non contaminés. Les teneurs en PTS sont de l'ordre de 300 mg PTS/kg FF. La contamination par le Zinc n'entraîne aucune modification quantitative des PTS chez la Dreissène.

La Dreissène peut être retenue comme une espèce bioindicatrice de la pollution métallique des eaux douces, avec une grande efficacité au printemps.