



## 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](mailto: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.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

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

UNIVERSITE DE METZ  
U.F.R. Sci.F.A.

C.R.E.U.M.  
Laboratoire d'Ecotoxicologie

## THESE

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

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE METZ**

Mention : Sciences de la Vie

Spécialité : Toxicologie de l'Environnement

par

**Jacques MERSCH**

Titre

MODALITES D'UTILISATION DE LA MOULE ZEBREE *DREISSENA POLYMORPHA*  
EN TANT QU'INDICATEUR BIOLOGIQUE DE LA CONTAMINATION DES  
ECOSYSTEMES D'EAU DOUCE PAR LES METAUX LOURDS

COMPARAISON AVEC UN AUTRE TYPE D'ORGANISMES SENTINELLES,  
LES MOUSSES AQUATIQUES

Etude dans le bassin de la Moselle

Soutenu le 24 novembre 1993 devant la commission d'examen :

Président : Jean-Claude Pihan Professeur à l'Université de Metz  
Directeur de thèse

Rapporteurs : F. C. Université de la Sarre  
B.R.G.M. Orléans

Examineurs : F. F. Université de Metz  
Administration Luxembourgeoise de

Marc Babut

Ingénieur d'études à l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE DE METZ



022 420431 2

vb 79399

UNIVERSITE DE METZ  
U.F.R. Sci.F.A.

C.R.E.U.M.  
Laboratoire d'Ecotoxicologie

## THESE

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

### DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE METZ

Mention : Sciences de la Vie  
Spécialité : Toxicologie de l'Environnement

par

**Jacques MERSCH**

Titre

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE - METZ	
N° inv.	19930595
Cote	S/M <sub>3</sub> 93/19
Loc	Magasin

MODALITES D'UTILISATION DE LA MOULE ZEBREE *DREISSENA POLYMORPHA*  
EN TANT QU'INDICATEUR BIOLOGIQUE DE LA CONTAMINATION DES  
ECOSYSTEMES D'EAU DOUCE PAR LES METAUX LOURDS  
COMPARAISON AVEC UN AUTRE TYPE D'ORGANISMES SENTINELLES,  
LES MOUSSES AQUATIQUES  
Etude dans le bassin de la Moselle

Soutenue le 24 novembre 1993 devant la commission d'examen :

Président :	Jean-Claude Pihan	Professeur à l'Université de Metz Directeur de thèse
Rapporteurs :	Peter Nagel Christophe Mouvet	Professeur à l'Université de la Sarre Docteur ès Sciences, B.R.G.M. Orléans
Examineurs :	Paule Vasseur Paul Hansen	Professeur à l'Université de Metz Directeur de l'Administration Luxembourgeoise de l'Environnement
	Marc Babut	Ingénieur d'études à l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse

## **Remerciements**

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au Laboratoire d'Ecotoxicologie du Centre de Recherches Ecologiques de l'Université de Metz. Il a été dirigé par le Professeur J. C. PIHAN, Directeur du laboratoire.

J'aimerais d'abord exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur Jean-Claude PIHAN qui m'a fait bénéficier de ses compétences scientifiques et de ses qualités humaines tout au long des cinq années que j'ai passées au sein de son équipe de recherche.

Mes vifs remerciements s'adressent également à Monsieur Michel NOURISSON, ancien directeur du laboratoire, pour l'accueil bienveillant qu'il m'a réservé à mon arrivée au laboratoire.

Messieurs Peter NAGEL et Christophe MOUVET m'ont fait l'honneur d'accepter la lourde tâche de rapporteur. Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma plus sincère reconnaissance.

J'adresse mes sincères remerciements à Madame Paule VASSEUR pour m'avoir accueilli dans le cadre du D.E.A. de Toxicologie de l'Environnement et pour avoir accepté de participer au jury de thèse.

Messieurs Paul HANSEN et Marc BABUT m'ont encouragé et m'ont apporté des conseils précieux tout au long de ce travail. J'aimerais les remercier chaleureusement.

Je tiens à exprimer ma gratitude et mon amitié à Etienne MORHAIN pour sa précieuse aide de tous les jours, sa complicité et sa bonne humeur.

Mes plus sincères remerciements s'adressent à Mireille OLLIVIER pour son aide efficace dans la documentation, sa disponibilité et ses conseils, mais aussi pour la correction du manuscrit.

Je remercie également toutes les personnes qui ont contribué de diverses façons à ce travail et qui m'ont généreusement offert leur aide :

l'excellent duo de terrain Philippe WAGNER et Jean-François POINSAINT,  
la brillante équipe *intra muros* Danièle BEAUFILS, Philippe ROUSSELLE et  
Nathalie KLEINEN,

et tous les camarades et ami(e)s qui ont su créer une excellente ambiance au laboratoire :  
Fattah MOUABAD, Rachid MARZOU, Raphaël VLA VONOU, Bruno CLAVERI,  
Nathalie DUBOST, Anne FLESCHE, Laure GIAMBERINI, François GUEROLD,  
Alain JEANJEAN et Michel RIBETTE.

# SOMMAIRE

	page
<b>AVANT-PROPOS</b>	
Préambule	13
Présentation du sujet : l'intérêt des indicateurs biologiques	13
<b>CHAPITRE I : ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
1. Introduction générale : la pollution de l'environnement par les métaux et les effets sur les organismes vivants.	17
2. Choix des mollusques bivalves comme indicateurs biologiques	
2.1. Concept de la bioindication	20
2.2. Mécanisme physiologique de la bioaccumulation des micropolluants métalliques	21
2.2.1. Absorption du métal	21
2.2.2. Détoxification et élimination du métal	21
2.2.3. Bioaccumulation	23
a) Exemple du cadmium	23
b) Exemple du cuivre	25
c) Exemple du plomb	26
2.2.4. Synthèse	27
2.3. Avantages et inconvénients liés aux indicateurs biologiques en général et aux bivalves en particulier	27
2.3.1. Spéciation des métaux	27
2.3.2. Réaction comportementale du bivalve face à son milieu	28
2.3.3. Régulation des éléments métalliques	30
2.3.4. Variabilité biologique	30
2.3.5. Influence du cycle biologique	31
2.3.6. Synthèse	32
3. Présentation du bivalve d'eau douce <i>Dreissena polymorpha</i>	
3.1. Historique	33
3.2. Répartition géographique	33
3.3. Biologie	35
3.4. Synthèse	37
4. Un autre indicateur biologique : les bryophytes aquatiques	38

5. Notion d'indication biologique dans les dispositions légales communautaires sur la protection des eaux de surface	39
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

**CHAPITRE II : OBJECTIF DES EXPERIENCES**  
**PRESENTATION DES SITES D'ETUDE**  
**MATERIEL ET METHODES**

1. Présentation hiérarchique des expériences	
1.1. Etude de laboratoire	43
1.2. Echantillonnage d'organismes autochtones ou surveillance biologique passive	43
1.3. Transfert d'organismes indicateurs ou surveillance biologique active	44
1.4. Comparaison entre deux organismes sentinelles : la moule zébrée et les mousses aquatiques	44
1.5. Signification écotoxicologique du compartiment <i>Dreissena polymorpha</i> au sein de l'écosystème	44
1.6. Récapitulatif	45
2. Procédures expérimentales	
2.1. Collectes sur le terrain	45
2.1.1. Récolte des moules zébrées	45
a) Critère de sélection des individus	45
b) Populations de référence	45
c) Prélèvement de dreissènes	46
2.1.2. Prélèvement d'échantillons d'eau	46
2.1.3. Récolte des mousses	46
2.2. Expérience de laboratoire : exposition de moules et de mousses au cuivre et au cadmium ( <i>Exp. 2</i> )	47
2.2.1. Collecte et conditionnement des organismes	47
2.2.2. Dispositif expérimental	47
2.2.3. Prélèvements et analyses d'eau	50
2.2.4. Physiologie des organismes	51
2.2.5. Prélèvements et analyses des organismes	51
2.3. Surveillance biologique passive	51
2.3.1. Profil longitudinal de la Moselle ( <i>Exp. 3</i> )	51
2.3.2. Profil dans le temps de la retenue du Mirgenbach ( <i>Exp. 4</i> )	53
2.4. Surveillance biologique active	53
2.4.1. Etude de la Wiltz ( <i>Exp. 6</i> )	53
a) Présentation du site	53
b) Collecte et transfert des organismes indicateurs	55

c) Entretien du dispositif expérimental	57
d) Protocole des prélèvements	57
e) Etude de la qualité physico-chimique et biologique de la Wiltz	58
f) Prélèvements d'échantillons d'eau destinés au dosage des métaux	59
g) Prélèvement des organismes indicateurs	59
h) Paramètres biologiques d'évaluation de la condition des moules	59
2.4.2. Etude de la retenue du Mirgenbach ( <i>Exps. 4 et 5</i> )	60
a) Présentation du site	60
b) Surveillance passive dans le temps	61
c) Comparaison entre la population autochtone et trois populations transférées	61
2.4.3. Etude de la Meurthe et de la Plaine ( <i>Exp. 7</i> )	62
a) Présentation du site	62
b) Transfert des organismes, prélèvements et analyses	62
2.4.4. Seconde étude de la Wiltz ( <i>Exp. 8</i> )	64
<b>3. Techniques analytiques</b>	
3.1. Préparation des moules et mesures biométriques	64
3.2. Préparation des mousses	65
3.3. Analyse des métaux dans les échantillons d'eau	66
3.4. Analyse des métaux dans les organismes	66
3.5. Particularités adoptées lors de l'expérience de laboratoire	68
<b>4. Traitement des données</b>	68
Aide-mémoire	69
 <b>CHAPITRE III : PRESENTATION DES RESULTATS</b>	
<b>DISCUSSION</b>	
<b>CONCLUSION ET ENSEIGNEMENTS PRATIQUES</b>	
Remarque préliminaire	73
<b>1. Détermination des concentrations métalliques de référence dans <i>Dreissena polymorpha</i> (<i>Exp. 1</i>)</b>	
1.1. Rappel de l'objectif	73
1.2. Présentation des résultats	73
1.3. Discussion	73
1.4. Conclusion et enseignements pratiques	75

2. Accumulation et élimination du cuivre et du cadmium dans la moule <i>Dreissena polymorpha</i> et dans la mousse <i>Rhynchostegium riparioides</i> (Exp. 2)	
2.1. Rappel des objectifs	77
2.2. Présentation des résultats	77
2.2.1. Conditions expérimentales	77
2.2.2. Physiologie des organismes	80
2.2.3. Concentrations métalliques dans les organismes	80
a) Phase d'exposition	81
b) Phase de post-exposition	84
2.2.4. Relations eau/organismes et moules/mousses	84
2.3. Discussion	85
2.3.1. Conditions expérimentales	85
2.3.2. Mousses	86
2.3.3. Moules	88
2.4. Conclusion et enseignements pratiques	90
3. Profil longitudinal de la Moselle : surveillance passive (Exp. 3)	
3.1. Rappel de l'objectif	91
3.2. Présentation des résultats	91
3.3. Discussion	93
3.4. Conclusion et enseignements pratiques	95
4. Etude de la retenue du Mirgenbach : de la surveillance passive vers la surveillance active (Exps. 4 et 5)	
4.1. Rappel des objectifs	95
4.2. Surveillance passive dans le temps (Exp. 4)	97
4.2.1. Présentation des résultats	97
4.2.1.1. Condition physiologique des dreissènes autochtones	97
4.2.1.2. Contamination de la retenue par le cuivre et interférence entre les données biométriques et écotoxicologiques	97
a) Profils de contamination dans l'eau et dans les moules	97
b) Remplacement des concentrations par les contenus métalliques dans les moules	100
c) Relation entre les concentrations en cuivre dans l'eau et celles dans les organismes	100
d) Calcul d'un flux métallique	101
4.2.1.3. Contamination de la retenue par d'autres métaux	101
a) Zinc	101
b) Cadmium	103



c) Plomb	103
d) Fer	107
e) Nickel	107
4.2.2. Discussion	107
4.2.2.1. Données biométriques	107
4.2.2.2. Données écotoxicologiques	107
4.3. Surveillance active : validation de la technique des transferts ( <i>Exp. 5</i> )	111
4.3.1. Présentation des résultats	111
4.3.1.1. Condition physiologique des dreissènes transférées	111
a) Mortalité	111
b) Capacité de fixation	113
c) Indice de condition	113
d) Comparaison entre les paramètres biologiques	113
4.3.1.2. Profils de contamination dans les moules	115
a) Cuivre	115
b) Zinc	117
4.3.2. Discussion	117
4.3.2.1. Données biométriques	117
4.3.2.2. Données écotoxicologiques	119
4.4. Conclusion et enseignements pratiques	120
4.4.1. Surveillance passive	120
4.4.2. Surveillance active	121
5. Etude de la Wiltz : surveillance active ( <i>Exp. 6</i> )	
5.1. Rappel des objectifs	123
5.2. Présentation des résultats	123
5.2.1. Qualité de l'eau de la rivière	123
5.2.2. Condition physiologique des moules transférées	125
a) Mortalité	125
b) Capacité de fixation	126
c) Poids sec des parties molles	126
d) Relation entre les descripteurs de condition et comparaison entre les stations	126
5.2.3. Profils des micropolluants métalliques dans l'eau, dans les moules et dans les mousses	127
a) Cadmium	129
b) Chrome	129
c) Cuivre	129
d) Plomb	133

e) Etain	133
f) Traitement statistique	133
5.3. Discussion	135
5.3.1. Données biométriques	135
5.3.2. Données écotoxicologiques	137
5.4. Conclusion et enseignements pratiques	140
6. Etude de la Meurthe et de la Plaine : deuxième exemple de surveillance active (Exp. 7)	
6.1. Rappel des objectifs	142
6.2. Présentation des résultats	143
6.2.1. Condition physiologique des moules transférées	143
6.2.2. Profils de contamination des moules et des mousses	143
a) Chrome	143
b) Nickel	144
c) Plomb	145
d) Zinc	145
6.3. Discussion	145
6.4. Conclusion et enseignements pratiques	149
7. Seconde expérience de transfert de moules et de mousses dans la Wiltz (Exp. 8)	
7.1. Rappel des objectifs	150
7.2. Moules zébrées	151
7.2.1. Présentation des résultats	151
7.2.1.1. Poids sec des parties molles	151
7.2.1.2. Profils de contamination	151
a) Cadmium	151
b) Chrome	153
c) Cuivre	153
d) Plomb	153
e) Zinc	153
f) Remarques complémentaires	153
7.2.2. Discussion	155
7.2.2.1. Données biométriques	155
7.2.2.2. Données écotoxicologiques	155
7.3. Mousses	157
7.3.1. Présentation des résultats	157
7.3.2. Discussion	157
7.4. Conclusion et enseignements pratiques	157

## **CHAPITRE IV : SYNTHÈSE**

<b>1. Propriétés indicatrices de la moule zébrée</b>	
1.1. Comportement	161
1.2. Capacité d'intégration d'une contamination	161
1.3. Régulation intracellulaire	162
<b>2. Interférence entre le cycle biologique et le bilan écotoxicologique</b>	
2.1. Biologie de la dreissène	163
2.2. Conséquence de la biologie sur les données écotoxicologiques	163
2.3. Choix du critère	163
<b>3. Comparaison des supports analytiques utilisés</b>	
3.1. Relation entre la contamination du milieu et la détection par les moules zébrées	164
3.2. Signification écotoxicologique du compartiment moule	165
3.3. Signification des échantillons d'eau	165
3.4. Comparaison entre les caractéristiques indicatrices des moules et des mousses	165
<b>4. Stratégies de la surveillance biologique</b>	
4.1. Concepts d'utilisation de la moule zébrée	166
4.1.1. Surveillance passive	166
4.1.2. Surveillance active	167
4.1.2.1. Avantages du concept et faisabilité technique	167
4.1.2.2. Etat physiologique des moules	167
4.1.2.3. Concentration et contenu métalliques	168
4.2. Surveillance active simultanée avec les moules et les mousses	168
<b>5. Outil de hiérarchisation des données écotoxicologiques</b>	
5.1. Concentrations métalliques de référence dans la moule zébrée	169
5.2. Grille de qualité relative aux moules zébrées	170
5.2.1. Remarques préliminaires	170
5.2.2. Définition des différentes classes	170
5.2.3. Justification des limites de classe pour le cadmium et le cuivre	171
a) Cadmium	171
b) Cuivre	173
5.2.4. Classes de qualité	173
5.3. Facteurs de pollution	174
5.3.1. Définitions	174
5.3.2. Application	174
5.3.3. Avantages et inconvénients	175

5.4. Grille de qualité relative aux mousses aquatiques	175
5.4.1. Présentation des grilles existantes	175
5.4.2. Mise au point d'une nouvelle grille	176
5.4.3. Remarques complémentaires	178
6. Modalités d'utilisation des indicateurs biologiques	
6.1. Difficultés de terrain	179
6.2. Décision de la stratégie à adopter et mise en oeuvre	180
6.2.1. Localisation précise des stations d'étude	180
6.2.2. Surveillance passive ou active	180
6.3. Démarche pratique et mesures à réaliser	181
6.3.1. Biométrie des moules	181
6.3.2. Epoque de l'étude	181
6.3.3. Protocole d'exposition des dreissènes	181
6.3.4. Protocole d'exposition simultanée de moules et de mousses	183
6.4. Résumé des différentes étapes de la surveillance active	183
6.4.1. Protocole relatif aux moules	183
6.4.2. Protocole relatif aux mousses	184
7. Législation européenne	184
<b>CONCLUSION GENERALE</b>	187
<b>PERSPECTIVES</b>	189
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	193
<b>ANNEXES</b>	
1. Résumés des publications présentées dans le texte	205
2. Données écotoxicologiques brutes	211
3. Résumé anglais	231

## AVANT-PROPOS

### Préambule

Le présent travail s'inscrit dans le cadre d'un programme de recherche du Centre de Recherches Ecologiques de l'Université de Metz lancé en 1981 (Léglize et Ollivier, 1981). Son objectif consiste à définir le mollusque bivalve d'eau douce *Dreissena polymorpha* comme indicateur biologique de pollutions chimiques.

Dans cette optique, une première étude de terrain a été réalisée sur la rivière Orne dans le but de vérifier les facultés d'accumulation de micropolluants métalliques par la moule zébrée (Nourisson *et al.*, 1985; Léglize et Crochard, 1987). Sous la direction scientifique du Professeur Jean-Claude Pihan, quatre thèses ont été réalisées. Les deux premières portent sur l'étude en conditions expérimentales des cinétiques et des mécanismes d'accumulation du zinc (Maarouf, 1988) et du plomb (Benyahia, 1991). Par ailleurs, Tourari (1988) s'est intéressé au cycle de reproduction de l'espèce et aux paramètres extérieurs, notamment la température, susceptibles de l'influencer. Enfin, Mouabad (1991) a mis au point un système d'alerte basé sur l'activité de filtration de la dreissène. Cette méthode permet de tester la toxicité subaiguë de substances chimiques ou d'effluents complexes. Aux thèses s'ajoutent plusieurs mémoires de D.E.A. et de D.A.A. sur l'accumulation de métaux (Dauce et Hénard, 1984; Giamberini, 1987; Théobald, 1988; Mersch, 1989), de composés organochlorés (Jeanjean, 1989) et de radionucléides (Spor, 1989). Ebersveiller (1988) s'est intéressée plus particulièrement à la physiologie respiratoire et nutritionnelle de la dreissène. Enfin, d'autres études de thèse sur l'accumulation des métaux, leurs effets histopathologiques et leur localisation cellulaire sont actuellement en cours (Crochard, Léglize, Giamberini).

### Présentation du sujet : l'intérêt des indicateurs biologiques

Les micropolluants sont soit des substances exclusivement d'origine anthropique (composés organochlorés, radionucléides artificiels), soit des composés présents à l'état naturel mais dont les concentrations dans le milieu ont été modifiées par les activités humaines (métaux lourds, radionucléides naturels). La récente édition du traité de Ramade (1992) présente une synthèse de la discipline nouvelle qu'est l'écotoxicologie.

Comme leur nom l'indique, la toxicité (aiguë ou chronique) de ces polluants trace s'exprime à de très faibles concentrations dans l'environnement. C'est grâce à l'amélioration des techniques analytiques au début des années 70 que leur impact biologique sur les biocénoses a pu être mis en évidence. Ces substances présentent en effet des propriétés de biocencentration et, pour certaines, de biomagnification, c'est-à-dire un pouvoir d'enrichissement à travers la chaîne trophique. Ces constatations imposent que l'on s'intéresse au devenir des micropolluants dans les écosystèmes et à la mise au point d'outils d'investigation performants

permettant de détecter leur présence et leur persistance (aspect qualitatif) et d'évaluer leur nuisance (aspect quantitatif) à tous les niveaux de l'écosystème.

Les analyses directes des micropolluants comportent plusieurs difficultés méthodologiques. D'abord, les concentrations dans les compartiments inertes des écosystèmes, l'eau, l'air et le sol, se trouvent souvent proches ou en-dessous des limites de détection des appareils, si bien que la fiabilité des mesures n'est pas assurée. Ensuite se pose le problème de la représentativité des échantillons instantanés, surtout dans les compartiments qui évoluent continuellement sous l'influence d'événements météorologiques ou de rejets industriels intermittents (par exemple l'air, l'eau ou les sédiments de rivière). Enfin, les analyses des compartiments inertes ne renseignent pas sur l'impact des contaminants sur la biocénose. Elles mesurent la quantité totale du polluant et non pas la fraction biodisponible, active et donc potentiellement nuisible.

Une technique d'investigation plus performante qui permet de répondre aux trois critiques principales formulées à l'encontre des mesures directes, consiste à utiliser des organismes dits sentinelles ou indicateurs biologiques. En effet, (1) les polluants traces sont accumulés à des concentrations nettement supérieures aux niveaux ambiants, (2) de par leur présence permanente, les organismes fournissent une indication moyenne d'une situation de pollution, qui est, dans une certaine mesure, intégrée dans le temps et (3) les micropolluants accumulés dans l'organisme ont été, par définition, biodisponibles ; leur concentration constitue par conséquent une mesure de l'impact biologique.

Néanmoins, l'analyse indirecte des micropolluants dans les tissus d'indicateurs biologiques ne représente pas non plus la solution miracle. Des difficultés d'un autre type apparaissent, dans la mesure où les organismes vivants ne restent pas sans défense face aux agressions extérieures. Des réactions, tant au niveau comportemental qu'au niveau physiologique, sont à prendre en compte pour une évaluation correcte de l'impact d'une contamination.

L'objectif de ce travail consiste à définir les modalités d'utilisation de la moule d'eau douce *Dreissena polymorpha* en tant qu'indicateur biologique vis-à-vis des métaux lourds. Plusieurs situations sont envisageables : le suivi d'une population autochtone dans l'espace ou dans le temps ou bien le transfert d'organismes à partir d'un site de référence vers un cours d'eau dépourvu de population indigène. A trois reprises, des transferts simultanés de moules zébrées et de mousses aquatiques ont été réalisés dans le but de comparer les capacités indicatrices, les avantages et les inconvénients de deux organismes dont les mécanismes d'accumulation sont fondamentalement différents. Enfin, une grille de qualité à quatre niveaux est proposée (pour les deux organismes) en tant qu'outil de hiérarchisation et donc d'interprétation de résultats d'inventaires tels que ceux réalisés par les Agences de l'Eau et par les commissions de protection des rivières internationales.

## **CHAPITRE I**

# **ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1. Introduction générale : la pollution de l'environnement par les métaux et les effets sur les organismes vivants.

La pollution de la biosphère par les métaux lourds est considérée comme un phénomène de "changement global" (Glasby, 1988; Nriagu, 1988; 1990) au même titre que le réchauffement de l'atmosphère ou la dégradation de la couche d'ozone. A l'échelle de la planète, les émissions anthropiques de la plupart des métaux dépassent aujourd'hui les flux naturels dans l'environnement. Ainsi, par exemple, les quantités de mercure, de cadmium, de plomb, de cuivre et de zinc ont été multipliées respectivement par 12,2; 5,3; 3,1; 2,8 et 2,6 (Nriagu, 1990; tableau 1).

Métal	Rejets industriels	Mobilisation par érosion
As	105	90
Cd	24	4,5
Cr	1010	810
Cu	1048	375
Hg	11	0,9
Ni	356	255
Pb	565	180
Zn	1427	540

Tableau 1. Mobilisation industrielle et naturelle de métaux dans la biosphère, en millions de kg par an (d'après Nriagu, 1990; partiel).

L'érosion des roches et l'activité volcanique constituent les sources naturelles majeures de la plupart des métaux. La production d'énergie par combustion de matières fossiles, les extractions minières et la transformation de produits métalliques représentent les principales activités humaines génératrices de pollution métallique. Une partie importante des métaux d'origine naturelle comme celle d'origine anthropique est rejetée dans l'atmosphère. La possibilité de transport et ensuite de dépôt par retombées sur toute la surface de la terre confère une dimension globale au problème de la contamination des écosystèmes par les métaux lourds. Ainsi, par exemple, les concentrations en plomb dans les couches récentes de glace antarctique sont 4 fois plus élevées que dans celles qui datent d'avant la révolution industrielle (Boutron et Patterson, 1987 cités par Nriagu, 1990).

La fraction des émissions métalliques directement rejetée dans les milieux d'eau douce est estimée entre 10 et 30 %. D'après Nriagu (1990), cette fraction nécessite une attention parti-



culière en terme de toxicité, car les apports sont significatifs par rapport aux niveaux naturels faibles dans l'eau et ces éléments demeurent le plus souvent sous forme biodisponible pour les organismes. Ceci rejoint les conclusions de Lithner (1989) qui estime à un facteur 3 à 4, la marge maximale entre les concentrations métalliques géochimiques dans les eaux de surface et les limites supérieures qui n'entraînent pas encore de modifications dans les biocénoses aquatiques.

Les flux de métaux entrant dans les océans, constitués par la somme des rejets directs et les apports diffus (retombées), sont, tout comme les flux globaux, en majeure partie d'origine anthropique. Ainsi, d'après Glasby (1988), les flux anthropiques de la plupart des métaux associés aux processus industriels dépassent les flux naturels au moins d'un facteur 10 (tableau 2). La comparaison des données de Glasby (1988) et de Nriagu (1990) illustre également la difficulté et l'approximation des estimations des flux métalliques d'origine anthropique.

Métal	Origine naturelle	Origine anthropique
Cu	375	4460
Fe	25000	319000
Hg	3	7
Ni	300	358
Pb	180	2330
Sn	1,5	166
Zn	370	3930

Tableau 2. Flux métalliques d'origine naturelle et anthropique entrant dans les océans, en millions de kg par an (d'après Glasby, 1988; partiel).

Nriagu (1990) voit dans la contamination métallique à l'échelle de la planète un problème majeur pour le futur. En effet, d'après cet auteur, chaque compartiment de l'environnement possède une capacité limitée de tolérance vis-à-vis de la toxicité des métaux ; au-delà, les espèces sensibles à la pollution disparaîtront progressivement (figure 1). D'après Bender (1986, cité par Glasby, 1988), la consommation de produits minéraux a dépassé ces derniers 50 ans celle de toute l'histoire humaine auparavant. Au total, l'homme utilise aujourd'hui couramment quelques 60.000 composés chimiques auxquels s'ajoutent entre 1.000 et 1.500 nouvelles substances chaque année.

De façon plus générale, Glasby (1988) considère l'activité économique humaine et la dégra-

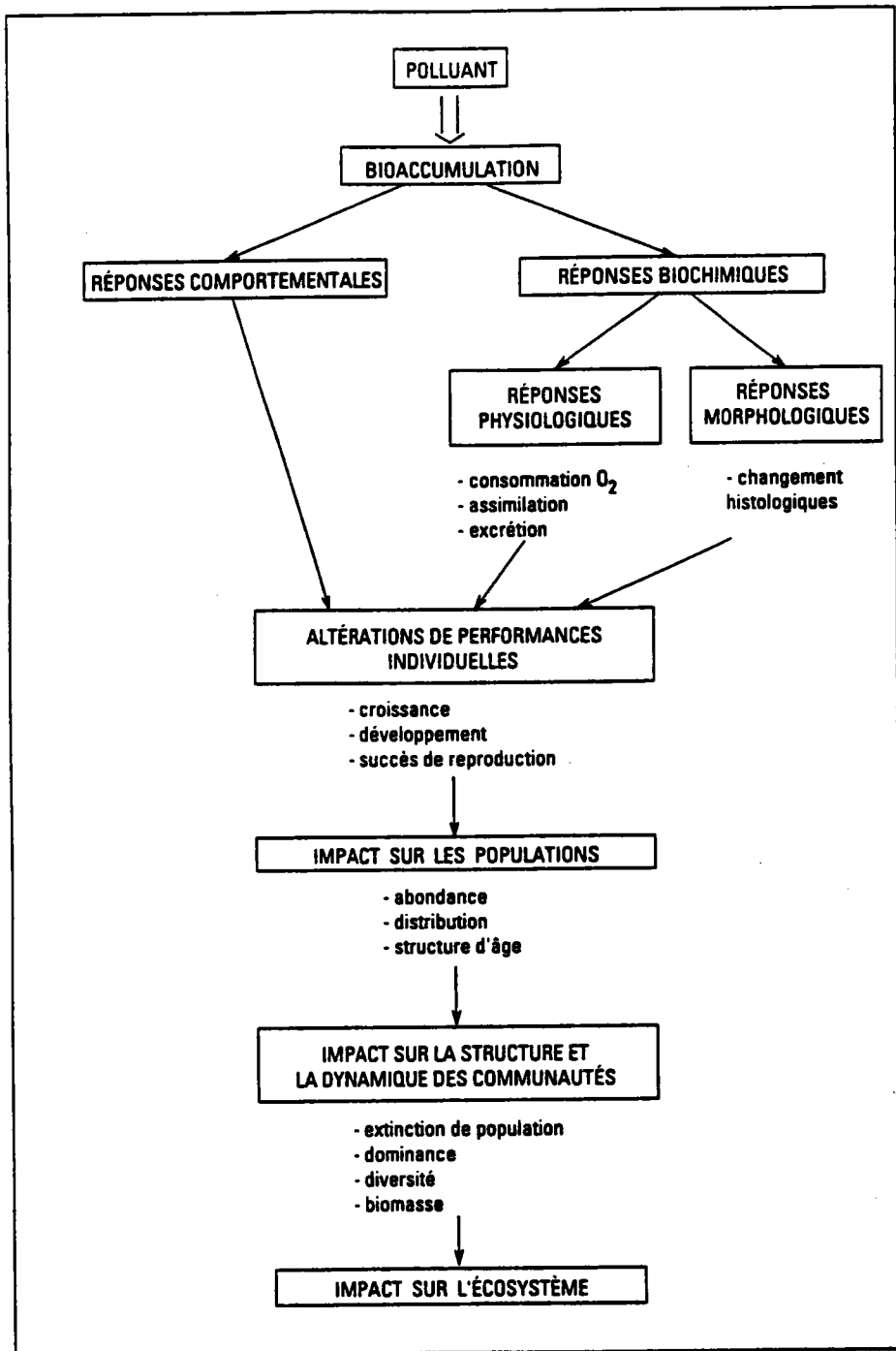


Figure 1. Schéma général des modalités d'action d'un polluant sur un écosystème (d'après Ramade, 1992).

dation de l'environnement comme les deux faces d'une même médaille. Dans son article *Entropy, pollution and environmental degradation*, cet auteur montre que toutes les activités de l'homme se fondent sur une augmentation de l'entropie, donc de la dégradation de son environnement. Ceci est tout à fait contraire aux lois de la nature qui, elles, tendent vers la création d'écosystèmes complexes et stables, caractérisés par des flux d'énergie les plus faibles possibles.

Les conclusions des deux auteurs cités ci-dessus sont succinctes et floues ; elles suggèrent tout de même une incompatibilité entre la recherche d'une croissance économique permanente et la résistance des écosystèmes face à des flux de polluants de plus en plus importants. Comme vision légèrement plus optimiste, Margalef (1968, cité par Glasby, 1988) pense que l'activité humaine, par l'augmentation du flux d'énergie au niveau de la biosphère, provoque la régression des écosystèmes mûrs vers des écosystèmes plus jeunes (au sens écologique du terme), ce qui ouvre de nouvelles potentialités à l'évolution.

## **2. Choix des mollusques bivalves comme indicateurs biologiques**

### **2.1. Concept de la bioindication**

Dans un travail de synthèse, Phillips (1977) a défini les caractéristiques principales d'un indicateur biologique : il doit (1) supporter une pollution sans être tué, (2) être sédentaire, (3) abondant, (4) avoir une durée de vie suffisamment longue pour refléter un impact dans le temps, (5) avoir une taille raisonnable, (6) être aisé à échantillonner, (7) supporter des expériences de laboratoire et (8) une équation simple doit décrire la relation entre la concentration du polluant dans le milieu et les teneurs accumulées dans les tissus de l'organisme. L'auteur conclut que, comparés à d'autres organismes, les mollusques filtreurs fixés sont des candidats intéressants puisqu'ils répondent à la plupart des conditions énoncées.

Dès 1976, l'équipe de Goldberg (1978) lance sur les côtes nord-américaines le programme *Mussel Watch* qui consiste à doser les micropolluants métalliques dans les tissus des moules marines autochtones du genre *Mytilus*. Depuis, des études de surveillance côtière sont réalisées en routine (Fischer, 1989; Broman *et al.*, 1991; Zatta *et al.*, 1992). Elles se sont également étendues à d'autres espèces de bivalves marins, tels que l'huître *Saccostrea cucullata* (Talbot, 1986), la moule verte *Perna viridis* (Chan, 1988) ou l'huître américaine *Crassostrea virginica* (Vazquez *et al.*, 1990). Ce même concept a été repris en milieu d'eau douce, où, contrairement à certaines espèces marines ubiquistes, les aires de répartition géographique des mollusques filtreurs sont plus restreintes. Ainsi, par exemple, *Corbicula fluminea* a été employée en Irak (Abaychi et Mustafa, 1988) et aux USA (Doherty, 1990; Leland et Scudder, 1990), *Elliptio complanata* au Canada (Campbell et Evans, 1991),

*Dreissena polymorpha* en Allemagne (Karbe *et al.*, 1975; Busch *et al.*, 1992), en France (Léglize et Crochard, 1987), en Ukraine (Yevtushenko *et al.*, 1990) et aux Pays-Bas (Kraak *et al.*, 1991).

La méthode de bioindication s'est également étendue à d'autres composés chimiques, comme les substances organochlorées dont les PCBs (Castro *et al.*, 1990; Koenig et Metcalfe, 1990) et les dioxines (Hayton *et al.*, 1990) ainsi qu'aux radionucléides (Gillet et Micha, 1987).

## **2.2. Mécanisme physiologique de la bioaccumulation des micropolluants métalliques**

Les voies biochimiques de l'absorption, de la détoxification métabolique et de l'élimination des métaux au niveau cellulaire sont très complexes. En effet, la cellule est en permanence confrontée à l'ambiguïté entre le besoin physiologique en oligoéléments métalliques (absorption et stockage) et la nécessité de neutraliser leur expression toxique (détoxification et élimination). L'exemple le plus intéressant est celui du cuivre qui est un métal essentiel, mais très toxique pour le métabolisme (Simkiss *et al.*, 1982). Les connaissances actuelles des mécanismes et modèles physiologiques ont fait l'objet de nombreuses synthèses bibliographiques (Simkiss *et al.*, 1982; George et Viarengo, 1985; Maarouf, 1988; Bayne, 1989; Cossa, 1989; Rainbow *et al.*, 1990).

### **2.2.1. Absorption du métal**

Le transfert de métal du milieu extérieur vers le milieu intracellulaire s'effectue selon trois voies principales qui sont par ordre d'importance décroissante : la diffusion passive suivant un gradient de concentration, l'endocytose (phagocytose et pinocytose) et le transport actif par l'intermédiaire des protéines transmembranaires (figure 2). Les tissus concernés par ces processus sont ceux qui se trouvent au contact du milieu ambiant, principalement les branchies, le manteau et le tube digestif. Plusieurs pools métalliques du milieu externe peuvent intervenir : d'abord, les ions libres sont capables de diffuser à travers des surfaces perméables ; ensuite, les complexes métalliques lipophiles et les métaux particuliers peuvent pénétrer dans les tissus respectivement par solubilisation dans les lipides membranaires et par endocytose, notamment au niveau des branchies ; enfin, la fraction métallique associée aux matières en suspension peut devenir biodisponible lors du processus de digestion des particules ingérées.

### **2.2.2. Détoxification et élimination du métal**

Les métaux entrant dans la cellule peuvent induire la synthèse de plusieurs types de métalloprotéines, dont les métallothionéines riches en cystéine. Ces protéines présentent une affinité élevée pour les métaux. Après une fixation non sélective, le transfert des ions métalliques sur les métallothionéines constitue la première étape de détoxification. Celle-ci vise

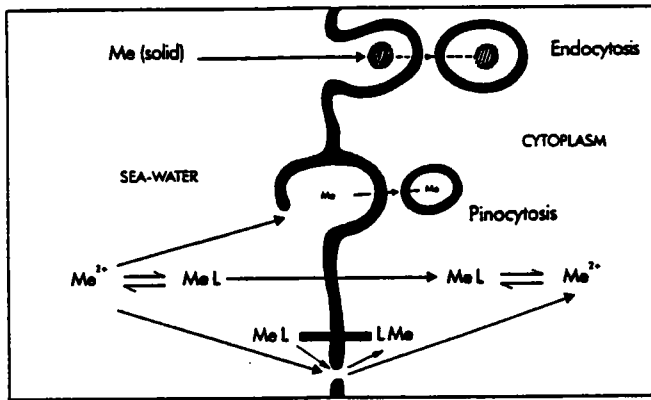


Figure 2. Absorption des métaux divalents chez les bivalves (d'après Cossa, 1989).

L : ligand, Me : métal.

principalement à neutraliser les caractéristiques thioloxydatives des métaux, mais permet également de maintenir constamment un gradient de concentration facilitant l'entrée des cations métalliques par diffusion. Hormis leur rôle dans le processus de détoxification, les métallothionéines interviennent dans le métabolisme physiologique des oligoéléments comme le zinc et le cuivre en tant que transporteurs ou formes de réserve (George et Viarengo, 1985; figure 3). Dans leur modèle d'homéostasie métallique intracellulaire dans la glande digestive (hépatopancréas) de *Mytilus edulis*, ces auteurs décrivent les voies biochimiques d'élimination du métal et, en particulier, expliquent les différences de comportement entre un métal non physiologique comme le cadmium et un métal essentiel comme le cuivre. Les métallothionéines associées au métal sont accumulées sous forme de polymères insolubles dans les lysosomes qui sont des organites de stockage. Après digestion des protéines, le cuivre est excrété par exocytose des corps résiduels. En revanche, la majeure partie du cadmium piégé dans les lysosomes est solubilisée dans les lysosomes secondaires et est recyclée dans le cytoplasme ; une faible partie seulement est excrétée. Ainsi, la demi-vie biologique des métaux à l'intérieur de la cellule est spécifique pour chaque élément et dépend de la cinétique d'exocytose des corps résiduels, qui à son tour est spécifique du tissu. Il faut noter que ce schéma général ne s'applique pas au plomb. La voie de détoxification et d'élimination propre à ce métal ne fait pas intervenir de protéine du type métallothionéine (George et Viarengo, 1985).

Dans les tissus de la dreissène, des granulocytes chargés en zinc ont été mis en évidence dans les branchies, l'hépatopancréas, le rein et la paroi intestinale après 15 jours d'intoxication par  $2000 \mu\text{g L}^{-1}$  de zinc (Maarouf, 1988). De même, des structures granulaires (lysosomes) contenant des quantités élevées de cadmium ont été observées dans la plupart des tissus de moules zébrées exposées à  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  de cadmium pendant 4 semaines (Herwig *et al.*, 1989).

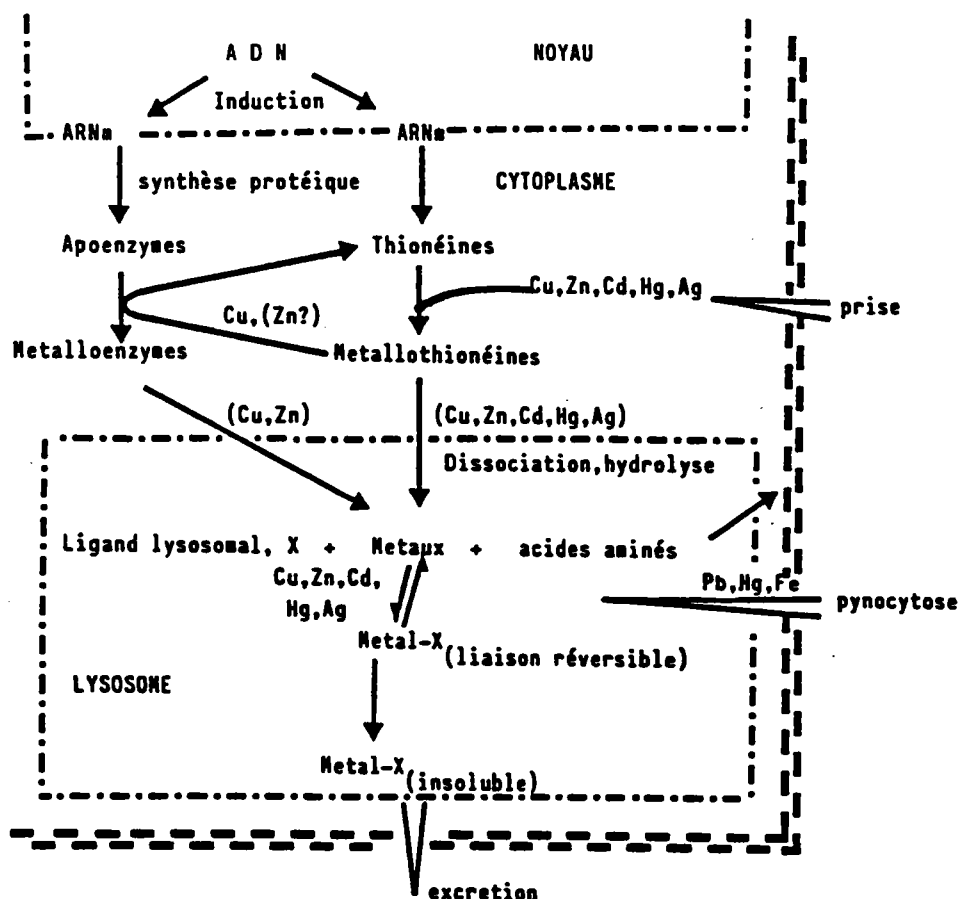


Figure 3. Voies métaboliques des métaux dans les cellules animales (d'après George et Viarengo, 1985; adapté par Mouabad, 1991).

La présence de quantités importantes de cadmium à l'intérieur de lysosomes plaide en faveur d'une similitude physiologique de la prise en charge et de l'excrétion des métaux entre *Dreissena polymorpha* et *Mytilus edulis*.

### 2.2.3. Bioaccumulation

La bioaccumulation est la résultante entre l'entrée de métal et l'efficacité de son élimination. Elle s'opère lorsque les capacités de contrôle métabolique sont dépassées.

#### a) Exemple du cadmium

Le cadmium est sans aucun doute le métal le plus étudié ; les connaissances le concernant sont par conséquent plus vastes que pour les autres éléments métalliques.

Les travaux de laboratoire ont montré que l'accumulation du cadmium est linéaire en fonction du temps. Aucun plateau de saturation n'est observé dans le cas d'intoxications chroniques, même lorsque les concentrations dans le milieu expérimental sont faibles. Ceci a été vérifié

aussi bien pour les bivalves marins comme *Mytilus edulis* exposé à 10 et 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  pendant 17 jours (Poulsen et al., 1982) et *Perna viridis* intoxiqué avec 100 et 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  pendant 7 jours (Chan, 1988) que pour les lamellibranches d'eau douce comme *Anodonta cygnea* exposé à 5 et 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  pendant 4 semaines (Hemelraad et al., 1986) et *Dreissena polymorpha* soumis à 3,3 et 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  pendant 10 jours (Bias et Karbe, 1985) et à 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  pendant 4 semaines (Herwig et al., 1989). Lorsque plusieurs doses métalliques sont testées en parallèle, il y a linéarité entre la concentration moyenne de cadmium dans l'eau et celle accumulée par les organismes (Poulsen et al., 1982; Chan, 1988). En revanche, lors d'expériences non chroniques, la quantité de cadmium accumulée ne dépend pas seulement de l'intensité et du temps d'exposition, mais également du régime d'intoxication. Ainsi, pour une même concentration moyenne dans le milieu, *Mytilus edulis* a accumulé plus de cadmium lors d'une exposition brève à une concentration élevée que lors d'une exposition prolongée à une concentration plus faible (Coleman et al., 1986).

Jusqu'à des doses d'intoxication encore raisonnables (100  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), le cadmium ne provoque pas de dommages histopathologiques marqués dans les tissus au contact du milieu externe, ni chez *Mytilus edulis* (Giraud et al., 1986), ni chez *Dreissena polymorpha* (Herwig et al., 1989). De même, divers descripteurs de la physiologie respiratoire et alimentaire n'ont pas montré de modification physiologique ou comportementale chez la moule marine exposée à 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  de cadmium pendant 3 semaines (Poulsen et al., 1982). En revanche, une toxicité chronique du cadmium est apparue chez la dreissène avec une durée d'exposition prolongée. Au bout de 10 semaines d'intoxication, l'activité de filtration des moules a diminué à 83 % du témoin pour une concentration de 9  $\mu\text{g L}^{-1}$  dans le milieu ; elle a chuté à 47 % pour une dose de 104  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Kraak et al., 1992). Dans cette dernière expérience, la mortalité en fin d'expérience a atteint le double de celle enregistrée dans le bac témoin. Dans les animaux vivants, le cadmium a été accumulé jusqu'à des concentrations de 568  $\mu\text{g g}^{-1}$  de poids sec. Des teneurs comparables ont été observées dans un autre lot de moules après seulement 4 semaines d'exposition à 400  $\mu\text{g L}^{-1}$ , mais, dans ce cas, le taux de mortalité a dépassé 70 %. Les auteurs concluent que, malgré la charge très élevée en cadmium accumulée, les animaux arrivent à survivre aussi longtemps que la synthèse de métallothionéines arrive à neutraliser les effets toxiques du métal.

Après intoxication expérimentale, le cadmium a pu être localisé dans la plupart des organes. Chez les bivalves d'eau douce, les tissus les plus chargés sont les branchies, le rein et l'hépatopancréas (Hemelraad et al., 1986; Hemelraad et Herwig, 1988; Holwerda et al., 1988; Jenner et al., 1991). En revanche, le tissu musculaire, à l'exception du muscle ventriculaire, et les gonades de *Dreissena polymorpha* restent dépourvus de cadmium (Herwig et al., 1989). Il faut signaler qu'il existe de nombreux points de désaccord entre les auteurs sur la question de la localisation tissulaire du cadmium. Cette difficulté pourrait être liée au régime

d'intoxication (durée et intensité) des animaux, en ce sens que le transport depuis les tissus au contact avec le milieu ambiant vers les organes cibles capables de stocker (temporairement ou durablement) et d'éliminer le métal nécessite un certain délai. Certaines différences observées pourraient également être expliquées par des voies et des cinétiques de transport propres à chaque espèce.

Une fois accumulé, le cadmium est très difficilement éliminé par les bivalves d'eau douce. Ainsi, après 3 semaines de post-exposition, la perte de cadmium chez *Corbicula fluminea* n'a atteint que 4 % du métal accumulé pendant une intoxication d'une durée identique avec  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  (Abaychi & Mustafa, 1988). Bias et Karbe (1985) n'ont constaté aucune décontamination significative à partir des parties molles de *Dreissena polymorpha* après 50 jours de maintenance faisant suite à une exposition à  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  de cadmium pendant 10 jours. Comme les animaux n'ont pas été alimentés durant toute l'expérience, ces auteurs suggèrent que l'élimination pourrait être activée en présence de nourriture. En conditions semi-naturelles, *Unio pictorum* intoxiqué avec  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  de cadmium pendant 12 semaines a relargué environ un tiers de la charge métallique pendant une phase de post-exposition de 29 semaines (Jenner *et al.*, 1991). Des taux de dépuración variables selon les organes ont été observés chez *Anodonta anatina* (Holwerda *et al.*, 1988) et *Unio pictorum* (Jenner *et al.*, 1991) : alors que la perte de cadmium en fonction du temps a été significative surtout au niveau des branchies, les concentrations sont restées stables ou ont même augmenté dans les organes cibles, comme le rein et l'hépatopancréas.

## b) Exemple du cuivre

Le cas du cuivre est très différent de celui du cadmium pour deux raisons essentielles : (1) il s'agit d'un élément physiologique soumis à un contrôle métabolique efficace et (2) le cuivre, sous sa forme cationique divalente, est très toxique vis-à-vis des mollusques bivalves.

En effet, la toxicité chronique du cuivre est nettement supérieure à celle du cadmium. La  $CI_{50}$  (dose qui fait chuter un paramètre subléta de moitié) mesurée sur l'activité de filtration de *Dreissena polymorpha* après 48 heures est de  $43 \mu\text{g L}^{-1}$  pour le premier métal contre  $388 \mu\text{g L}^{-1}$  pour le second (Kraak *et al.*, 1992). La dreissène détecte, c'est-à-dire modifie son régime de filtration, à partir de concentrations de  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  de cuivre, mais seulement à partir de  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  de cadmium dans le milieu (Mouabad, 1991). Cependant, contrairement au cadmium, il n'y a pas d'évolution dans le temps des effets toxiques du cuivre sur l'activité de filtration de la moule zébrée lors d'expositions à 53 et  $72 \mu\text{g L}^{-1}$  pendant une durée de 10 semaines (Kraak *et al.*, 1992). Les mécanismes et les implications physiologiques de la toxicité des composés chimiques seront développés dans le chapitre consacré à la réaction comportementale des bivalves (cf. § 2.3.2).



Des travaux de laboratoire ont montré que l'accumulation de cuivre, tout comme celle du cadmium, est linéaire en fonction du temps, lorsque l'exposition est chronique (Elliott *et al.*, 1985; Chan, 1988). Cependant, il n'y a pas d'augmentation des concentrations dans les tissus pour de faibles niveaux dans l'eau. Ainsi, *Dreissena polymorpha* n'a pas accumulé de cuivre pour des concentrations inférieures à  $13 \mu\text{g L}^{-1}$  (Kraak *et al.*, 1992). La même caractéristique a été vérifiée dans le cas du zinc chez *Perna viridis* (Chan, 1988) et pour ces deux métaux essentiels chez *Mytilus galloprovincialis* lors d'un travail de terrain (Martincic *et al.*, 1992).

L'élimination du cuivre est nettement plus efficace que celle du cadmium. Dans les mêmes conditions expérimentales, la moule d'eau douce asiatique *Corbicula fluminea* a excrété 46 % du cuivre contre seulement 4 % du cadmium accumulés (Abaychi et Mustafa, 1988). Les fluctuations marquées observées dans divers bivalves marins lors de suivis prolongés d'une population suggèrent que le cuivre est efficacement régulé (Talbot, 1986; Cain et Luoma, 1990).

### c) Exemple du plomb

Comme déjà signalé plus haut, la voie de détoxification et d'élimination du plomb est différente de celle des autres métaux, en ce sens qu'elle ne fait pas intervenir de métalloprotéines (George et Viarengo, 1985). Après intoxication expérimentale, Marshall et Talbot (1979) ont mis en évidence chez *Mytilus edulis* du plomb associé au calcium dans des cristaux mixtes de carbonates sous forme de concrétions extracellulaires du tissu branchial. Des dépôts cristallins ont également été visualisés par histochimie chez *Dreissena polymorpha*, notamment au niveau des cellules rénales (Benyahia *et al.*, 1988).

La forme minérale du plomb constitue une voie de détoxification efficace puisque le métal piégé est inerte. Contrairement à ce que l'on pourrait penser, il semble que le plomb inorganique soit relativement facilement éliminé. La décontamination a été de 35 % au bout de 30 jours pour des moules zébrées exposées à  $1000 \mu\text{g L}^{-1}$  de plomb pendant 20 jours ; elle atteint même 60 % en présence d'EDTA dans le milieu (Benyahia *et al.*, 1988). La capacité d'élimination du plomb par les bivalves est confirmée dans des travaux de terrain (Simpson, 1979; Chan, 1989; Kraak *et al.*, 1991). Dans une expérience destinée à étudier l'évolution des teneurs métalliques dans la moule marine *Mytilus edulis* sous l'effet d'un stress trophique, Chou et Uthe (1991) ont constaté que la concentration et non pas le contenu en plomb restait constante au fur et à mesure que le poids sec des animaux diminuait. Ceci est surprenant puisque le plomb suit un schéma de régulation de la concentration analogue à celui du zinc, qui lui, est un élément physiologique. En revanche, l'animal est incapable d'éliminer le cadmium dont la concentration augmente lorsque le poids sec chute. Le cuivre, pour sa part, occupe une position intermédiaire puisque l'élimination est partielle, et ni la concentration ni le contenu ne restent constants.

#### **2.2.4. Synthèse**

L'absorption de métaux du milieu extérieur permet aux organismes vivants de couvrir leur besoin en oligoéléments essentiels tels que le cuivre, le fer, le manganèse, le nickel ou le zinc. Les concentrations physiologiques requises sont propres à chaque espèce et à chaque tissu (White et Rainbow, 1985). A côté des métaux essentiels, il y a également une entrée dans les cellules d'éléments métalliques qui n'interviennent pas dans le métabolisme, comme le cadmium et le mercure. Aussi longtemps que l'absorption est contrebalancée par l'élimination, les concentrations dans les tissus reflètent uniquement les teneurs géochimiques des métaux dans le milieu.

Une augmentation des concentrations métalliques au-dessus des limites physiologiques ou géochimiques ne peut se produire que si les capacités de contrôle métabolique sont dépassées. L'accumulation est donc l'expression d'une toxicité chronique pouvant évoluer vers une toxicité subaiguë ou aiguë, lorsque l'animal n'arrive plus à détoxifier le métal, c'est-à-dire à neutraliser ses expressions toxiques. La faculté limitée de régulation chez les mollusques filtreurs est exploitée pour les utiliser en tant qu'indicateurs biologiques vis-à-vis des éléments métalliques.

### **2.3. Avantages et inconvénients liés aux indicateurs biologiques en général et aux bivalves en particulier**

Il existe plusieurs facteurs susceptibles d'influencer le processus d'accumulation et la concentration de métal accumulé dans les tissus des organismes indicateurs. Trois types sont à distinguer : les facteurs abiotiques, les propriétés comportementales et physiologiques de l'organisme et les interférences du cycle biologique de l'animal (figure 4).

#### **2.3.1. Spéciation des métaux**

Les caractéristiques physico-chimiques d'une eau déterminent directement la spéciation des métaux par le jeu des équilibres chimiques. La forme chimique du métal et son comportement dans l'environnement qui en découle, à leur tour, influencent la disponibilité biologique.

La biodisponibilité n'est donc pas une notion rigide ; elle est variable suivant les conditions abiotiques, et, selon Phillips et Rainbow (1988), propre à chaque espèce vivante en relation avec son écologie (mode d'alimentation) et sa physiologie (voies biochimiques). La difficulté de cerner clairement la fraction métallique biodisponible peut être illustrée par un raisonnement simple. Le plomb se trouve très majoritairement sous forme particulière dans les eaux de surface, c'est-à-dire adsorbé à des solides en suspension (Hart et Davies, 1981; Moore et Ramamoorthy, 1984; Pardo *et al.*, 1989). Sous cette forme, le métal n'est pas capable de

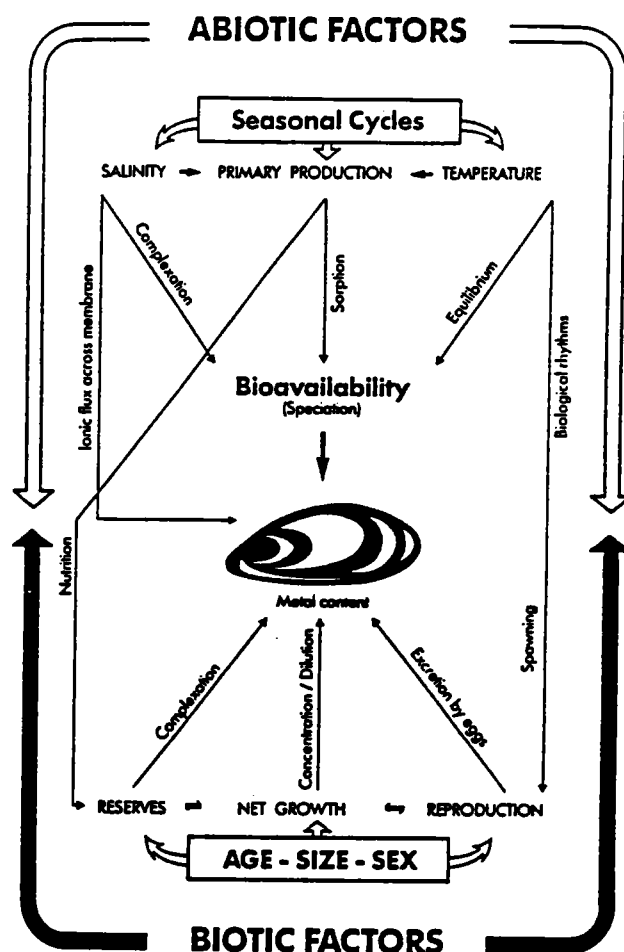


Figure 4. Schéma présentant les principaux facteurs influençant la concentration en métal chez la moule *Mytilus sp.* (d'après Cossa, 1989).

diffuser à travers la membrane des cellules branchiales, si on excepte la possibilité d'échange de surface à surface. En revanche, le plomb peut devenir disponible si, une fois la particule solide ingérée, il est désorbé sous l'influence des sucs digestifs ; il peut alors traverser la paroi intestinale.

En relation avec le problème de biodisponibilité, les organismes sentinelles présentent donc un avantage et un inconvénient inséparables. L'indicateur, par définition, reflète dans ses tissus uniquement la fraction biodisponible du micropolluant, mais sa réponse, c'est-à-dire la quantité accumulée, reste subjective et propre à l'espèce.

### 2.3.2. Réaction comportementale du bivalve face à son milieu

De par leur mode de nutrition par filtration, les bivalves sont particulièrement exposés aux agressions extérieures. Le moyen de protection de ces animaux sédentaires consiste à s'isoler de l'environnement ambiant par fermeture des valves lorsqu'un composé chimique

toxique est détecté. Cette réaction peut être comparée au comportement de fuite chez les organismes mobiles. Dans le cas de la moule marine *Mytilus edulis*, il existe un métabolisme anaérobie permettant la survie lors de la fermeture des valves. Le temps de survie anoxique a été proposé comme test toxicologique pour évaluer la condition physiologique des moules (Veldhuizen-Tsoerkan *et al.*, 1991). On peut se demander si ce métabolisme anoxique existe aussi chez la moule zébrée qui, elle, ne connaît pas de mode de vie intertidal.

Davenport et Manley (1978) ont décrit trois étapes dans le comportement de la moule *Mytilus edulis* lorsqu'elle est mise en présence d'une concentration toxique de cuivre : (1) adduction violente des valves lorsque le polluant est détecté, (2) ouvertures répétées à faible amplitude pour tester le milieu et (3) fermeture complète des valves. Parmi les métaux, la toxicité du cuivre constitue un cas particulier, car l'inhibition des cils branchiaux n'est pas provoquée par une action directe du métal sur le métabolisme énergétique, mais par l'intermédiaire de chémorécepteurs reliés au nerf branchial (Howell *et al.*, 1984). De ce fait, le cuivre est détecté à des concentrations très faibles dans le milieu. Comme déjà mentionné plus haut, l'activité de filtration de *Dreissena polymorpha* est perturbée à partir de  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  (Mouabad, 1991). Une concentration de  $43 \mu\text{g L}^{-1}$  de cuivre fait chuter le taux de filtration de moitié après 48 heures d'exposition (Kraak *et al.*, 1992).

La faculté de détection d'un composé toxique dans le milieu par modification du taux ou du patron de filtration est utilisé dans des tests d'évaluation de la toxicité (Mouabad, 1991; Mouabad et Pihan, 1992) ou dans des systèmes d'alarme précoce (Jenner *et al.*, 1992). Mouabad (1991) a établi une liste de concentrations métalliques (cations libres) au-delà desquelles l'activité de filtration de la moule zébrée est perturbée. Pour les principaux éléments, ces concentrations en  $\mu\text{g L}^{-1}$  sont les suivantes : Cd : 150, Cu : 20, Hg : 20, Pb : 500 et Zn : 250.

La possibilité de protection par fermeture des valves a une conséquence importante dans le cadre de l'utilisation des lamellibranches comme organismes sentinelles. En effet, une diminution de l'activité de filtration réduit l'intensité du contact entre l'organisme et son milieu et par conséquent l'absorption de micropolluants. Cependant, une nouvelle dualité apparaît, en ce sens que l'apport moindre de nourriture causé par une activité de filtration diminuée fait chuter le métabolisme général de l'animal et donc également les performances d'élimination des polluants accumulés.

Les implications des caractéristiques comportementales des mollusques sur les travaux de laboratoire méritent également d'être mentionnées ici. Dans un certain nombre d'études, des moules ont été exposées à des concentrations métalliques nettement supérieures aux niveaux pour lesquels des modifications de l'activité de filtration ont été observées. D'autres simplifications du milieu expérimental s'y ajoutent, comme l'absence de nourriture pendant toute la

durée de l'étude ou bien l'ajout de la seule forme cationique d'un métal unique dans l'enceinte expérimentale. Dans ces conditions, il est plus que probable que les indications obtenues soient biaisées ; elles peuvent donc difficilement servir de base de connaissance pour les études de terrain. L'exploitation se limite à des enseignements d'ordre qualitatif (mécanismes et propriétés d'accumulation) et non d'ordre quantitatif (cinétique d'accumulation, charges de métal dans les différents tissus). Un exemple de la bibliographie (Holwerda, 1991) peut venir illustrer cette remarque. La présence de  $139 \mu\text{g L}^{-1}$  de cuivre dans le milieu a fortement diminué l'accumulation de cadmium chez le bivalve *Anodonta cygnea*. Après avoir suggéré divers mécanismes physiologiques d'interaction métallique pour expliquer l'observation, l'auteur conclut finalement que c'est sans doute la diminution de la ventilation en relation avec la toxicité du cuivre qui a joué un rôle déterminant.

### 2.3.3. Régulation des éléments métalliques

Lorsque le métal n'est pas détecté par le mollusque, il arrive au contact des surfaces exposées et peut franchir la barrière membranaire. A l'intérieur des cellules, le métal induit alors un mécanisme biochimique de contrôle dont l'efficacité dépend de l'élément en question (cf. § 2.2.2). Des possibilités de synergie ou d'antagonisme entre plusieurs métaux ont été rapportées (Elliott *et al.*, 1986; Kaitala, 1988). Finalement, la quantité de métal accumulé dans l'organisme est la résultante d'un équilibre dynamique entre l'intensité de l'absorption et l'efficacité de l'élimination. Ces deux phénomènes dépendent aussi bien des propriétés du micropolluant métallique que de la condition physiologique de l'organisme. Ce dernier point est extrêmement important, car les voies biochimiques de la détoxification et de l'élimination sont consommatrices d'énergie.

### 2.3.4. Variabilité biologique

Le concept de la bioindication implique l'introduction dans les mesures d'un nouveau type de variation : la variabilité biologique intraspécifique (Phillips, 1977).

Pour une population donnée soumise aux mêmes influences environnementales, des différences inter-individuelles très marquées ont été observées dans les concentrations en métaux accumulés, aussi bien chez *Mytilus edulis* (Lobel *et al.*, 1989; Chou et Uthe, 1991) que chez *Dreissena polymorpha* (Busch, 1991). Les facteurs dominants chez la moule marine sont (1) le taux de croissance, (2) le poids sec, (3) le sexe et (4) le rapport largeur sur hauteur de la coquille. Les paramètres plus usuels comme la taille ou l'âge de l'animal n'interviennent pas directement, mais sont contenus dans les descripteurs physiologiques, notamment le taux de croissance (Lobel *et al.*, 1991). Chez la moule zébrée, une influence de la taille des animaux, donc de leur condition générale, sur la quantité de métal accumulé a également été mise en évidence (Léglize et Crochard, 1987).

Plusieurs auteurs se sont intéressés à la question de savoir combien de spécimens doit compter un échantillon de moules pour maintenir la variabilité inter-échantillon à un niveau biologiquement raisonnable (coefficient de variation inférieur à 20 %). Pour *Mytilus edulis*, un nombre de 20 individus d'une taille comprise entre 50 et 60 mm a été proposé par Simpson (1979) et de 10 à 15 spécimens (sans précision de la taille) par Bayne *et al.* (1981). Malgré une influence prédominante des paramètres physiologiques, Lobel *et al.* (1991) maintiennent la longueur des moules marines comme critère de sélection, lorsque les populations à étudier présentent des structures similaires. Ils recommandent un échantillonnage extrêmement rigoureux des moules pour minimiser la variabilité résiduelle. Un échantillon de 25 individus d'une taille correspondant à 70-90 % du potentiel maximum doit être collecté pour chacun des deux sexes. Dans le cas où les populations à échantillonner sont hétérogènes, ces auteurs préconisent de prélever 4 à 8 échantillons de 10 à 15 individus couvrant chacun une classe de taille différente. L'application d'un procédé statistique est proposé pour faciliter l'interprétation des données.

Les chercheurs de la commission de protection de l'Elbe (ARGE Elbe, 1991) ont adopté un procédé intéressant pour déterminer un nombre adéquat de spécimens par échantillon chez *Dreissena polymorpha*. Ils ont analysé individuellement une trentaine de dreissènes et effectué le calcul de la variabilité biologique en ajoutant chaque fois un nouveau résultat au groupe précédent. Ainsi, ils ont pu conclure qu'un échantillon composé de 20 individus fournit une valeur moyenne représentative de la population pour l'ensemble des éléments analysés. Cependant, une indication fiable peut déjà être obtenue à partir d'une douzaine de spécimens par échantillon.

### **2.3.5. Influence du cycle biologique**

Les mollusques bivalves se caractérisent par des variations de masse corporelle très importantes au cours de leur cycle annuel. Ceci est lié à l'énorme effort de reproduction accompli par la plupart des espèces. Une diminution de 40 % du poids sec, pouvant même aller jusqu'à 55 %, a été observée chez *Mytilus edulis* lors de l'expulsion des gamètes (Fischer, 1983). Le volume de la gonade femelle de *Dreissena polymorpha* peut représenter jusqu'à deux tiers, voire trois quarts, du volume total de l'animal (Wiktor, 1963). Les variations au cours de la saison peuvent atteindre 45 à 68 % du poids maximal pour les individus de 24 mm de longueur (Borcherding, 1992).

L'état physiologique des bivalves est évalué par des descripteurs, dits indices de condition. Ces indices s'appuient sur des mesures biométriques faisant intervenir le poids sec comme variable et un ou plusieurs autres paramètres dont l'évolution dans le temps est lente, notamment la longueur de l'animal ou le poids de la coquille (Bayne et Widdows, 1978; Lobel et Wright, 1982; Roper *et al.*, 1991). A côté des indices allométriques, des indices

métaboliques ou physiologiques ont été définis, comme par exemple le potentiel de croissance (*scope for growth*; Widdows, 1978) ou la charge énergétique (*adenylate energy charge*; Hemelraad *et al.*, 1990). Cependant, ces indices, et notamment le potentiel de croissance, ont été critiqués par divers auteurs parce que certaines mesures, comme le taux respiratoire et le taux de filtration, sont réalisées en laboratoire sur des animaux fortement stressés par les manipulations successives lors du prélèvement, du transport et du processus expérimental lui-même (Foe et Knight, 1987; Reeders *et al.*, 1989; Roper *et al.*, 1991).

Les variations de poids des organismes ont une influence sur leur utilisation en tant qu'indicateurs. En effet, une évolution (augmentation ou baisse) des concentrations métalliques tissulaires peut être la résultante aussi bien d'un processus d'accumulation ou d'élimination de métal qu'une perte ou une prise de poids. Plusieurs solutions à ce problème ont été proposées : (1) l'expression des résultats en quantité et non pas en concentration de métal accumulé dans les parties molles (Simpson, 1979), (2) le remplacement du poids des parties molles comme paramètre de référence par le poids des coquilles (Fischer, 1983) et (3) un échantillonnage répété sur une période assez longue qui inclut la phase de reproduction (Talbot, 1986). La première solution préconisée a été critiquée par ce dernier auteur qui a observé que les contenus métalliques varient également pendant la période de reproduction chez l'huître *Saccostrea cucullata*. Il attribue des fluctuations dans la charge en cuivre et en zinc à une exportation de ces métaux dans les gamètes. A en juger par les applications trouvées dans la bibliographie, le second concept n'a pas non plus remporté un grand succès. Il est vrai que la démonstration en question est complexe et ne concerne dans un premier temps que le cas du cadmium, même si l'auteur suggère une extension de la méthode à d'autres métaux. De plus, le poids de la coquille n'est pas suffisamment constant car il y a des problèmes d'érosion mécanique et physiologique qui dépendent respectivement de l'exposition des animaux et de facteurs nutritionnels (Lobel *et al.*, 1991). Quant à la dernière proposition, elle est sans doute difficile à mettre en pratique dans le cas de *Dreissena polymorpha*, dont le cycle sexuel au sens strict, c'est-à-dire l'activité du tissu gonadique, dure 10 mois par an (Tourari, 1988; Borcharding, 1992).

### 2.3.6. Synthèse

Les trois premiers facteurs, à savoir la forme chimique du métal, le comportement de protection de l'animal et sa capacité de contrôle métabolique, déterminent directement la quantité de métal accumulé par l'organisme au moment du prélèvement. A ces trois paramètres viennent se superposer deux autres sources de variabilité biologique : l'influence du cycle de reproduction et l'hétérogénéité de la population. Ce dernier facteur s'explique principalement par la diversité génétique des individus et s'exprime notamment par une sensibilité propre face à la présence de composés toxiques dans le milieu (cf. § 2.3.2) et par des

performances différentes dans la détoxification et l'élimination des métaux (cf. § 2.3.3).

Ce raisonnement montre qu'une indication biologique est une résultante complexe, modulée par un nombre important de facteurs partiellement interactifs (cf. figure 4). Alors que les trois premiers facteurs ne sont pas influençables par l'expérimentateur, les deux autres paramètres nécessitent la mise au point d'une méthodologie performante afin d'obtenir, avec un effort raisonnable, une information fiable.

### **3. Présentation du bivalve d'eau douce *Dreissena polymorpha***

#### **3.1. Historique**

*Dreissena polymorpha* est un eulamellibranche appartenant à la famille des dreissenidés qui regroupe quelques 200 espèces (clichés 1 et 2). Le phylum est apparu au pléocène, lorsque le bassin du Paratéthys a évolué d'un milieu marin vers un milieu dulçaquicole. La présence de populations relictives d'espèces voisines de *Dreissena polymorpha* dans des lacs de la Grèce, de la Turquie et de la vallée de l'Euphrate actuels constitue la base de cette théorie (Kinzelbach, 1992).

Avant les glaciations du quaternaire, *Dreissena polymorpha* avait colonisé une partie importante de l'Europe du Nord et de l'Ouest en suivant les vallées des principaux fleuves de la période interglaciaire. Elle a ensuite été refoulée jusque dans les estuaires de la Mer Noire et de la Mer Caspienne.

Après les glaciations, l'espèce a progressé dans le système fluvial du Dniepr en direction du nord. Lors d'un voyage en Russie en 1754, le naturaliste Pallas décrit ce petit mollusque et lui donne le nom de *Mytilus polymorphus*, en raison de sa ressemblance avec la moule marine *Mytilus edulis* et de sa forme de coquille très variable. A partir de 1760, l'aire de répartition de l'espèce s'agrandit de façon spectaculaire à la faveur de la construction d'un réseau de canaux destiné à l'exportation de bois de la Russie vers l'Europe de l'Ouest. En 1835, la moule zébrée a traversé tout le continent, puisqu'elle est trouvée dans le Canal Wilhelm près de Maastricht. Van Beneden décrit cette moule désormais européenne et la range dans le genre *Dreissensia*, en l'honneur du pharmacien belge Dreissens qui lui a confié l'échantillon. En France, *Dreissena polymorpha* Pallas (1771), de son nom définitif, a empreinté les systèmes de canaux Sambre-Oise-Somme-Seine et Rhin-Marne. Dans la Moselle, elle a été signalée pour la première fois en 1861 (Odebrecht, 1957).

#### **3.2. Répartition géographique**

L'aire de répartition de *Dreissena polymorpha* couvre aujourd'hui une grande partie de l'Europe, du sud de la Scandinavie jusqu'en Grèce et de l'ouest de la Russie jusqu'en Grande-





Clichés 1 et 2 : La moule d'eau douce *Dreissena polymorpha*.

Vue détaillée d'individus en activité de filtration (en haut) et vue d'ensemble de la population de la Moselle à Toul (en bas). Remarquer la décalcification de la coquille chez un certain nombre de spécimens.

Bretagne (figure 5). Cependant, elle a disparu de nombreuses rivières à cause de pollutions excessives (Odebrecht, 1957). Récemment, elle a été introduite dans les Grands Lacs nord-américains avec de l'eau de ballast des navires en provenance de ports européens (Hebert *et al.*, 1989). Elle y a trouvé un terrain favorable car son développement a été fulgurant (Mackie, 1991; Hunter et Bailey, 1992; MacIsaac *et al.*, 1992). Un modèle de répartition potentielle de la dreissène sur le continent nord-américain a été proposé (Neary et Leach, 1992). Comme il est fondé sur les données physico-chimiques collectées en Europe, une grande inconnue demeure : c'est la capacité d'adaptation de l'animal aux conditions locales.

Dans le bassin Rhin-Meuse, la dreissène colonise la plupart des canaux (par exemple le Canal de l'Est et le Canal de Jouy), les rivières Rhin, Moselle, Meuse et Sarre ainsi que les lacs lorrains comme le Lac de Madine et l'Etang du Stock.

### 3.3. Biologie

Bien qu'ayant une certaine ressemblance morphologique avec *Mytilus edulis*, *Dreissena polymorpha* est un organisme typiquement inféodé au milieu d'eau douce. Comme il ressort de la paléozoologie, son biotope de prédilection est l'eau stagnante des lacs, des canaux et le secteur potamique des rivières (Kinzelbach, 1992).

Issue d'une fécondation externe, la larve trochophore, puis véligère se fixe à l'aide d'un byssus lorsqu'elle a atteint la taille de 220  $\mu\text{m}$ . La durée de la vie pélagique très variable - en moyenne de trois semaines à un mois - dépend de la quantité de nourriture disponible (Sprung, 1989). La croissance des individus fixés est rapide au début de leur vie et ralentit par la suite. Elle est également fortement influencée par les conditions trophiques du milieu (Stanczykowska, 1977; Bij de Vaate, 1991; Sprung, 1992). Le taux de mortalité augmente avec l'âge de la cohorte; une population est normalement constituée de 4 générations, rarement 5 (Wiktor, 1963; Stanczykowska, 1977; Bij de Vaate, 1991). Les densités de population peuvent être extraordinairement élevées, de l'ordre de plusieurs centaines, voire plusieurs milliers d'individus au mètre carré (Wiktor, 1963; Stanczykowska, 1977; Walz, 1978; Bij de Vaate, 1991; Hunter et Bailey, 1992). Reeders *et al.* (1989) ont estimé que la population de moules zébrées du Lac IJsselmeer (Pays-Bas) est capable de filtrer son volume d'eau de 5,5 milliards de  $\text{m}^3$  en 11 jours.

La dreissène se nourrit par filtration des matières solides en suspension dans l'eau avec un maximum de rétention pour les particules d'une taille comprise entre 5 et 40  $\mu\text{m}$  (Ten Winkel et Davids, 1982; Sprung et Rose, 1988). L'organisme adapte son taux de filtration à la quantité de matières en suspension indépendamment de la fraction organique assimilable (Reeders *et al.*, 1989). En sa qualité d'accélérateur de la sédimentation de la matière en suspension, la dreissène a été proposée comme filtre biologique de lacs eutrophisés aux Pays-Bas (Reeders et Bij de Vaate, 1992).

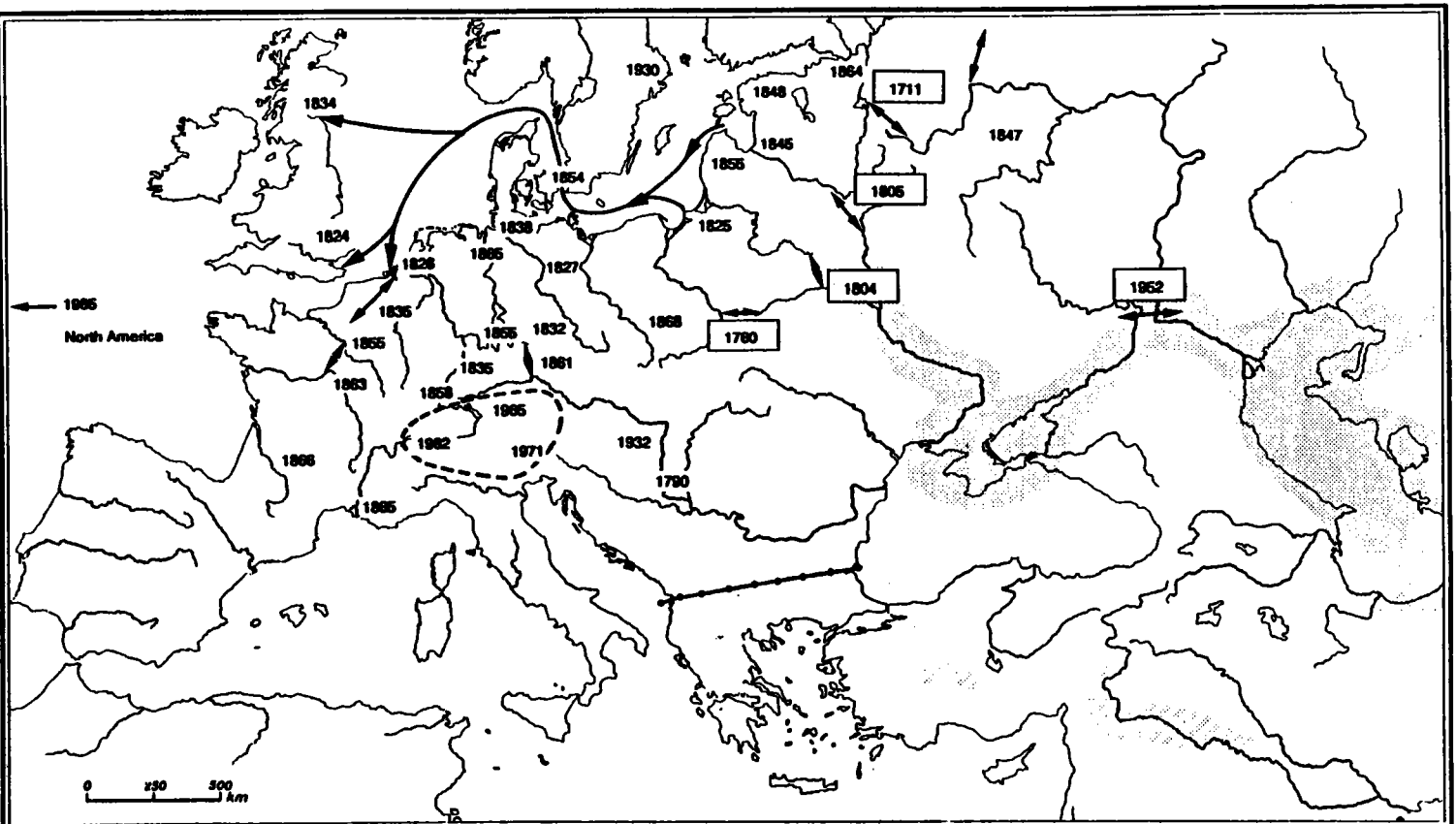


Figure 5. Expansion de *Dreissena polymorpha* en Europe (d'après Kinzelbach, 1992).

Zone grisée : répartition naturelle post-glaciaire de l'espèce;

zone hachurée : populations actuelles d'espèces relict;

double flèche : construction de canaux, avec indication de l'année (voir texte pour détails).

Les jeunes moules acquièrent leur maturité sexuelle après le premier hiver lorsque leur taille est d'environ 1 cm (Stanczykowska, 1977; Hebert *et al.*, 1989; Bij de Vaate, 1991). Cependant, Borcharding (1991) a observé un tissu ovarien actif chez des individus de 7 à 8 mm âgés de 6 à 7 semaines seulement. Le déroulement du cycle de reproduction est sous le contrôle de la température de l'eau. Après la saison de reproduction, les gonades commencent à se réorganiser lorsque la température descend en dessous de 10 °C. Une augmentation progressive de la taille des organes reproducteurs se produit entre janvier et avril. Selon la population considérée, la première cohorte de gamètes matures est expulsée lorsque la température atteint 12 °C à 16 °C (Stanczykowska, 1977; Tourari *et al.*, 1988; Borcharding, 1991). La synchronisation est assurée par un déterminisme chimique. Dans le Fühlinger See près de Cologne, Borcharding (1992) a évalué à 400.000 le nombre moyen d'ovocytes émis par femelle d'une taille de 24 mm au cours de la première ponte. Au total, avec en principe deux autres cohortes, une femelle de dreissène peut produire jusqu'à un million de gamètes par an. Pendant la saison de reproduction, les larves de dreissènes peuvent former une partie importante du peuplement zooplanctonique d'un lac ou d'une rivière (Bij de Vaate, 1991; MacIsaac *et al.*, 1992; Marzou, commun. pers.). A partir du mois d'août et jusque fin octobre, les moules entrent en phase de repos sexuel, leur permettant de reconstituer les tissus somatiques.

Le schéma de la reproduction tel qu'il est décrit, peut être modulé voire modifié dans le temps et dans son intensité (quantité de gamètes produits) essentiellement par deux facteurs : la température et les conditions trophiques. Ainsi, le processus de ponte peut être repoussé dans le temps jusqu'à ce que la température requise soit atteinte (Borcharding, 1991). Cette adaptation est remarquable, car la fécondation est impossible en dessous de 10 °C (Sprung, 1987). En condition de stress trophique, la dreissène est capable de résorber le tissu gonadique très énergétique pour garantir ses fonctions vitales (Borcharding, 1991). Au laboratoire, ce processus est d'autant plus facile à provoquer que la saison de reproduction est avancée (Sprung et Borcharding, 1991). *Dreissena polymorpha* suit donc typiquement une stratégie de reproduction opportuniste, décrite en détail par Harvey et Vincent (1989) pour *Macoma balthica* : l'organisme investit un maximum d'énergie dans la reproduction une fois que sa maintenance physiologique est assurée.

### 3.4. Synthèse

La biologie de *Dreissena polymorpha* est caractérisée par un mode de vie fixé, une nutrition par filtration et un grand effort de reproduction. Les deux premières propriétés confèrent à cet organisme des avantages indéniables pour son utilisation dans des études écotoxicologiques, notamment sur le terrain. Les énormes bouleversements physiologiques en rapport avec la reproduction constituent tout de même un inconvénient certain (cf. § 2.3.5).

#### 4. Un autre indicateur biologique : les bryophytes aquatiques

Dans les écosystèmes d'eau douce, un autre type d'indicateurs biologiques s'est révélé intéressant pour la détection de micropolluants métalliques : les bryophytes aquatiques. La technique a été appliquée dans de nombreux pays européens comme la Belgique (Empain, 1976), la Grande-Bretagne (Wehr et Whitton, 1983), la France (Mouvet, 1985) l'Allemagne (Frost, 1990), la Suisse (Klein *et al.*, 1991), la Suède (Agence Suédoise pour la Protection de l'Environnement, 1991) et le Portugal (Gonçalves *et al.*, 1992). Une mise au point méthodologique a été proposée par Wehr *et al.* (1983) ; elle a été adaptée par Mouvet (1986) au contexte des prélèvements de routine des Agences de Bassin en France. Toutefois, un certain nombre de difficultés méthodologiques demeure, notamment en ce qui concerne la fraction du brin de mousse à utiliser pour le dosage et surtout les procédures de rinçage à appliquer sur le terrain et au laboratoire (Wehr *et al.*, 1983; Kelly *et al.*, 1987).

Les bryophytes sont des végétaux primitifs avec une vascularisation rudimentaire et sans système racinaire. Les échanges avec le milieu ambiant s'effectuent directement à travers la surface unicellulaire des feuilles agencées autour d'une tige. La paroi cellulaire possède une importante capacité d'échange cationique liée à la prédominance de groupements d'acides polyuroniques chargés négativement. Le nombre de sites de fixation est nettement plus élevé pour les cations que pour les anions (Clymo, 1963).

Grâce à la faculté d'échange cationique non sélective à la surface des cellules, les bryophytes adsorbent les micropolluants métalliques au même titre que les cations physiologiques (Breuer et Melzer, 1990a; 1990b; Wieder, 1990). Plusieurs caractéristiques de la détection de métaux trace dans le milieu ambiant découlent directement du mécanisme passif d'adsorption. Ainsi, l'affinité pour les groupements de surface est propre à chaque métal, si bien qu'il existe une sélectivité dans la fixation. Pour 7 cations testés, Breuer et Melzer (1990a) ont établi la séquence d'affinité décroissante suivante :  $Pb^{2+} > Cd^{2+} \geq Ca^{2+} > Mg^{2+} > K^{+} > Na^{+} \geq NH_4^{+}$ . Ces mêmes auteurs ont montré que l'accumulation des micropolluants métalliques est fortement influencée par des facteurs externes, notamment la présence de cations compétiteurs. Les cinétiques d'échange très rapides sont une autre conséquence du mécanisme de surface. Ainsi, des temps d'exposition de 24 heures (Kelly *et al.*, 1987), 3 jours (Mouvet, 1985) ou 9 jours (Mouvet, 1984) sont suffisants pour obtenir une réponse fiable. Le fait que le relargage des métaux soit plus lent que l'accumulation suggère qu'une partie des cations soit progressivement stockée dans les couches plus profondes de la paroi ou diffuse à l'intérieur des cellules (Mouvet, 1985; Vray *et al.*, 1992).

Il faut préciser que les mécanismes d'adsorption de cations ne sont pas propres aux mousses, mais ont été décrits pour de nombreuses surfaces biologiques, comme les algues unicellu-

lares (Xue *et al.*, 1988) ou les filaments mycéliens (Siegel *et al.*, 1990; Fourest et Roux, 1992).

## **5. Notion d'indication biologique dans les dispositions légales communautaires sur la protection des eaux de surface**

Dans une région transfrontalière où chaque pays exporte une partie de sa pollution et en importe de son voisin, il convient de s'intéresser à la législation européenne plutôt qu'aux textes nationaux.

Dans les directives sur la qualité des eaux destinées à la production d'eau alimentaire (J.O. CEE N° L 194, 1975), des eaux de baignade (J.O. N° L 31, 1976) et de l'eau destinée à la consommation humaine (J.O. N° L 229, 1980), le législateur européen a défini des niveaux guides, des niveaux impératifs et/ou des concentrations maximales admissibles pour les éléments métalliques. Dans la directive sur la "qualité des eaux douces ayant besoin d'être protégées ou améliorées pour être aptes à la vie des poissons" (J.O. N° L 222, 1978), les valeurs limites pour le cuivre et le zinc sont modulées en fonction de la dureté de l'eau. Dans ces réglementations, aucun critère biologique n'est prévu.

La première notion d'indicateur biologique apparaît dans la directive sur la qualité des eaux conchylicoles (J.O. N° 281, 1979) qui stipule pour les métaux que "la concentration de chaque substance dans l'eau conchylicole ou dans la chair de coquillage ne doit pas dépasser un niveau qui provoque des effets nocifs sur les coquillages et leurs larves ; les effets de synergie de ces métaux doivent être pris en considération". Entre 1976 et 1984, plusieurs directives concernant plus spécifiquement les rejets industriels ont été adoptées. Dans la résolution de mise en oeuvre (J.O. N° C 46, 1983) de la directive de base sur le "déversement de substances dangereuses dans le milieu aquatique" (J.O. N° L 129, 1976), deux listes sont présentées : la "liste noire des 129 composés chimiques prioritaires en raison de leur toxicité, leur persistance et leur bioaccumulation" et une "liste grise des composés nuisibles pour l'environnement". En ce qui concerne les métaux, l'arsenic, le cadmium, le mercure ainsi que les organostanneux se trouvent sur la liste noire, alors que le chrome, le cuivre, le plomb et le zinc sont reportés sur la liste grise. D'après ce texte, "tout rejet d'une substance de la liste noire doit faire l'objet d'une autorisation préalable délivrée par l'autorité compétente d'un Etat membre". La directive de base est étayée et complétée par plusieurs autres textes qui réglementent les rejets industriels de mercure et de cadmium, notamment en définissant des objectifs de qualité dans le milieu receveur. Les directives relatives au mercure (J.O. N° L 81, 1982; J.O. N° L 47, 1984) stipulent que "la concentration de mercure dans un échantillon représentatif de la chair de poisson choisie comme indicateur ne doit pas excéder 0,3 mg kg<sup>-1</sup> de chair humide" et que "la concentration de mercure dans les sédiments ou mollusques et

crustacés ne doit pas augmenter de manière significative avec le temps". Dans la directive qui concerne le cadmium (J.O. N° L 291, 1983), ces objectifs de qualité sont légèrement modifiés : "la concentration de cadmium dans les sédiments et/ou mollusques et crustacés, si possible de l'espèce *Mytilus edulis*, ne doit pas augmenter de manière significative avec le temps". La notion d'indicateur biologique est maintenue dans la proposition modifiée de la directive concernant les objectifs de qualité des eaux pour le chrome et les limites de concentration du chrome dans les eaux (J.O. N° C 43/6, 1988) : "la teneur en chrome dans les sédiments et/ou dans les mollusques et crustacés d'eau douce et/ou d'eau de mer, ne doit pas augmenter de manière significative avec le temps".

Dans les directives successives, la notion d'indication biologique devient de plus en plus précise. Toutefois, plusieurs points restent vagues et sujets à une interprétation subjective, si bien qu'il faut se demander si les directives sont réellement applicables. En effet, les conditions de prélèvement (périodicité, emplacement des stations, espèce animale, procédure etc.) et les protocoles analytiques ne sont pas suffisamment détaillés. Par ailleurs, la directive relative au cadmium comporte une certaine contradiction intrinsèque, en ce sens qu'elle recommande d'utiliser une moule marine comme indicateur biologique, mais précise que "les objectifs de qualité sont mesurés suffisamment proche du point de rejet". Enfin, la difficulté majeure concerne les incompatibilités évidentes entre les divers points du catalogue des objectifs de qualité, notamment entre les concentrations limites dans l'eau très complaisantes (respectivement 1, 5 et, selon la dureté de l'eau entre 5 et 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  pour le mercure, le cadmium et le chrome comme "moyenne arithmétique des résultats obtenus pendant une année") et les critères sévères vis-à-vis des compartiments sujets à accumulation (sédiments et organismes vivants) dont "la concentration ne doit pas augmenter de manière significative avec le temps".

Cette contradiction peut être illustrée par l'exemple du cadmium. La moule marine *Mytilus edulis* atteint la limite sanitaire australienne de 2 mg de cadmium par kg de poids frais lorsque la concentration du métal dans l'eau dépasse 0,20  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Talbot, 1985). Dans la directive européenne, la concentration annuelle moyenne admissible dans les eaux côtières est fixée à 2,5  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Dans le cas de *Dreissena polymorpha*, une accumulation de cadmium se produit pour tout ajout, même faible, de cadmium dans le milieu expérimental (Bias et Karbe, 1985; Kraak *et al.*, 1992). Ceci signifie en toute rigueur que le législateur européen tolère des rejets massifs si l'impact est mesuré en termes de concentrations dans l'eau, et qu'il rend illégal tout rejet de cadmium résiduel si le jugement se fait sur la base d'analyse de sédiment ou d'organismes.

## **CHAPITRE II**

**OBJECTIF DES EXPERIENCES**

**PRESENTATION DES SITES D'ETUDE**

**MATERIEL ET METHODES**



# 1. Présentation hiérarchique des expériences

## 1.1. Etude de laboratoire

L'intoxication expérimentale de *Dreissena polymorpha* par le cuivre et le cadmium a pour objectif d'étudier, dans des conditions de milieu stables, les processus de base qui caractérisent un organisme indicateur, notamment ses capacités d'accumulation et d'élimination de métaux et son comportement face à la présence d'un toxique dans le milieu. Par rapport aux travaux existants, deux innovations ont été apportées : (1) de la nourriture a été fournie en continu aux mollusques, et ce dans un système d'intoxication dynamique et (2) les caractéristiques indicatrices de deux organismes très différents, la moule *Dreissena polymorpha* et la mousse aquatique *Rhynchostegium riparioides*, ont été comparées dans les mêmes conditions expérimentales. Par ailleurs, les concentrations métalliques utilisées lors des intoxications sont restées faibles et comparables à celles rencontrées dans l'environnement (Förstner et Wittmann, 1981). Le choix des doses a également été guidé par les seuils de toxicité déterminés pour la dreissène par test comportemental (Mouabad, 1991).

## 1.2. Echantillonnage d'organismes autochtones ou surveillance biologique passive

Le concept le plus simple de la surveillance biologique de l'environnement consiste à collecter et à analyser des organismes indicateurs indigènes. Dans ce cas, la durée de l'exposition correspond à l'âge de l'organisme. Les concentrations en micropolluants observées dans l'animal au moment du prélèvement constituent donc la résultante de toute son histoire de vie. La surveillance passive ou biomonitoring passif peut s'appliquer aussi bien dans l'espace que dans le temps.

Une étude longitudinale a été réalisée sur un tronçon de la Moselle de plus de 200 km à raison d'un prélèvement tous les 10 km environ. Le but est de vérifier l'intérêt d'utiliser l'indicateur *Dreissena polymorpha* pour établir un profil spatial de la contamination métallique de la principale rivière lorraine.

Le réservoir de la centrale électronucléaire de Cattenom, la retenue du Mirgenbach, a fait l'objet d'une surveillance biologique en fonction du temps. Des prélèvements mensuels de moules zébrées autochtones ont été effectués pendant presque trois ans. Plusieurs objectifs ont été définis : (1) l'étude de l'accumulation et de l'élimination des métaux, principalement du cuivre, en fonction des fluctuations des concentrations dans l'eau, (2) l'évaluation de l'interférence du cycle biologique, notamment les changements de poids sec, avec les données écotoxicologiques et (3) l'établissement d'un profil temporel des rejets métalliques non radioactifs de la centrale.

### **1.3. Transfert d'organismes indicateurs ou surveillance biologique active**

Par rapport à la surveillance passive, la technique de transfert d'indicateurs biologiques à partir d'un site de référence (biomonitoring actif) présente plusieurs avantages dont trois principaux : (1) la station précise d'exposition des organismes peut être choisie indépendamment de la répartition d'une éventuelle population naturelle, (2) l'exposition est limitée dans le temps, ce qui permet d'évaluer la qualité récente du milieu et (3) les résultats obtenus à différentes stations d'étude sont directement comparables.

Une expérience de comparaison entre moules transférées et moules autochtones a été réalisée en plaçant des lots de trois populations différentes de la Moselle à côté d'une population indigène de la retenue du Mirgenbach.

Des surveillances actives ont été effectuées sur deux autres sites, à savoir la Wiltz au nord du Luxembourg et la Meurthe dans les Vosges. Le but de ces expériences a été (1) de définir les modalités de transfert des moules et (2) d'établir un profil de contamination de rivières dépourvues d'espèces indicatrices animales reconnues. Dans les deux cas, l'impact du changement de milieu sur la condition physiologique des moules a été évaluée à l'aide de descripteurs biologiques. Une seconde expérience de transfert a été réalisée sur la Wiltz pour comparer plus spécifiquement les indications obtenues avec deux populations de moules de sites d'origine différents.

### **1.4. Comparaison entre deux organismes sentinelles : la moule zébrée et les mousses aquatiques**

Lors des études de terrain sur la Wiltz et sur la Meurthe, les propriétés indicatrices des moules zébrées ont été comparées à celles des mousses aquatiques, également transférées. Lors du second travail sur la Wiltz, deux espèces différentes de mousses ont été introduites aux mêmes stations que les deux lots de moules.

### **1.5. Signification écotoxicologique du compartiment *Dreissena polymorpha* au sein de l'écosystème**

Les analyses de métaux ont été élargies à d'autres compartiments de l'écosystème de la retenue du Mirgenbach dans le but d'évaluer la signification écotoxicologique des données obtenues avec la moule zébrée. Les supports analytiques retenus sont l'eau brute, les matières en suspension, le seston décanté, une mousse aquatique et trois tissus (muscle, rein et foie) de deux espèces de poisson, dont un microphage (gardon) et un carnassier (perche). Cette expérience ne sera pas présentée en détail dans ce mémoire. Les principales conclusions seront reprises dans la synthèse finale. Ce travail a fait l'objet d'une publication (Mersch *et al.*, sous presse; cf. annexe 1).

## **1.6. Récapitulatif**

Pour permettre une présentation claire des procédures et des résultats, les différentes expériences réalisées seront numérotées de la façon suivante :

- Exp. 1 : Détermination des concentrations métalliques de référence dans la moule zébrée;
- Exp. 2 : Exposition au laboratoire de moules et de mousses au cuivre et au cadmium;
- Exp. 3 : Profil longitudinal de la rivière Moselle;
- Exp. 4 : Profil en fonction du temps de la retenue du Mirgenbach (écosystème artificiel en dérivation sur la Moselle);
- Exp. 5 : Comparaison entre populations transférées et population autochtone de la retenue du Mirgenbach;
- Exp. 6 : Transfert de moules et de mousses dans la Wiltz (Luxembourg);
- Exp. 7 : Transfert de moules et de mousses dans le bassin de la Meurthe (affluent de la Moselle);
- Exp. 8 : Transfert de deux populations de moules et de deux espèces de mousses dans la Wiltz.

## **2. Procédures expérimentales**

### **2.1. Collectes sur le terrain**

#### **2.1.1. Récolte des moules zébrées**

##### **a) Critère de sélection des individus**

Pour l'ensemble des expériences, des lots de dreissènes les plus homogènes possibles ont été utilisés dans le but de limiter la variabilité biologique intra-échantillon. Le critère de sélection des individus est la longueur de la coquille comprise dans la classe de taille 18-22 mm. Compte tenu des différences marquées de croissance et de morphologie entre populations, on peut supposer que les individus les plus jeunes de cette gamme de taille ont au moins un an et que les spécimens les plus âgés ne se trouvent pas encore en phase de sénescence (cf. analyse bibliographique).

##### **b) Populations de référence**

Pour les expériences de transfert dans la Wiltz et dans la Meurthe, des populations de deux sites ont été utilisées : celles de la Moselle à Toul et de la Meuse à Commercy. Le choix a été guidé par la situation géographique de ces stations localisées en amont de rejets industriels importants, mais également par la densité élevée des populations qui permet une collecte aisée. Leur caractère de populations de référence a été vérifié en comparant leurs concentrations métalliques avec celles des dreissènes prélevées sur deux sites lacustres

dépourvus de tout rejet direct, à savoir le Lac de Madine qui est un réservoir d'eau potable pour la ville de Metz et l'Etang du Stock qui est une aire de loisir. Cette étude a constitué un travail préliminaire important pour établir les concentrations métalliques de base dans les populations de dreissènes de notre région (*Exp. 1*). Il faut préciser que les populations des lacs lorrains présentent des densités trop faibles pour fournir le matériel biologique nécessaire à la réalisation d'études de surveillance active.

### **c) Prélèvement de dreissènes**

La moule zébrée colonise tous les substrats durs, avec des préférences marquées pour les surfaces rocheuses. Dans la Moselle et la Meuse, les remblais constituent des biotopes privilégiés. Les dreissènes se trouvent très souvent sur la face inférieure des pierres, à l'abri des prédateurs que sont principalement les canards, les rats et la carpe. L'accès aux populations peut être rendu difficile par le poids des blocs qu'il faut arriver à retourner.

Le prélèvement s'effectue en coupant à l'aide d'un scalpel le byssus de spécimens de la gamme de taille sélectionnée. Une réglette avec des encoches de 18 et de 22 mm permet d'effectuer un premier tri rapide sur le terrain. Les animaux récoltés sont rincés soigneusement et placés dans des flacons en polyéthylène remplis d'eau du site pour le transport. Un volume d'eau important est nécessaire pour assurer le maintien d'un niveau en oxygène suffisant jusqu'au laboratoire. Après le prélèvement, les pierres inspectées sont remises dans leur position initiale dans un souci de limiter la perturbation de la biocénose. Le transport des organismes s'effectue dans des glacières. Les manipulations en laboratoire seront décrites ultérieurement (cf. § 3).

#### **2.1.2. Prélèvement d'échantillons d'eau**

Lors de plusieurs expériences de terrain, des échantillons d'eau ont été collectés et analysés en même temps que les moules dans le but de comparer les informations apportées par les deux types de supports. L'eau est prélevée dans des flacons de 500 ml en polyéthylène (préalablement rincés dans un bain acide) à environ 10 cm sous la surface et immédiatement acidifiée à 1 % (v/v) avec de l'acide nitrique concentré (qualité normapur). Les flacons sont conservés en chambre froide à 4 °C jusqu'au dosage.

#### **2.1.3. Récolte des mousses**

Les touffes de mousse sont arrachées de leur support à la main et transportées dans une glacière remplie avec de l'eau du site de prélèvement. Au laboratoire, les touffes sont dissociées et les brins morts sont éliminés.

## 2.2. Expérience de laboratoire : exposition de moules et de mousses au cuivre et au cadmium (Exp. 2)

### 2.2.1. Collecte et conditionnement des organismes

Les moules *Dreissena polymorpha* et les mousses *Rhynchostegium riparioides* ont été prélevées sur des sites de référence (respectivement la Moselle à Toul et le Woigot à Briey) une semaine avant le début de l'étude pour les acclimater aux conditions expérimentales.

Au laboratoire, des lots d'environ 150 dreissènes sont disposés sur des carrelages placés dans des bacs remplis d'eau de distribution déchlorée par passage sur charbon actif. Pour favoriser leur fixation, elles sont nourries deux fois par jour avec une suspension algale. Les animaux non fixés après 48 heures sont considérés comme physiologiquement faibles et sont éliminés. Les mousses sont soigneusement rincées avec de l'eau désionisée, puis essorées et subdivisées en lots d'environ 20 g de poids frais. Elles sont conservées dans des conditions identiques à celles de l'expérience.

### 2.2.2. Dispositif expérimental

L'expérience a été réalisée dans une salle climatisée à  $14 \pm 1$  °C avec une photopériode de 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité et une luminosité de  $20,4 \pm 5,5 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$  à la surface de l'eau.

Chacun des 11 bacs d'un volume unitaire de 9 litres est divisé en deux compartiments par un grillage pour recevoir d'un côté un lot de moules et de l'autre un lot de mousses (figure 6). Une pompe péristaltique assure une amenée régulière de  $4,5 \text{ L h}^{-1}$  d'eau de distribution déchlorée (figure 7). Le taux de renouvellement moyen dans le bac est donc de 2 heures. Une deuxième pompe péristaltique ( $9 \text{ ml h}^{-1}$ ) introduit le toxique dans le milieu à partir de solutions mère de  $\text{CuSO}_4$  et  $\text{CdCl}_2$  acidifiées à 1 % avec  $\text{HNO}_3$  pour atteindre les concentrations nominales présentées dans le tableau 3. Le milieu est oxygéné par bullage d'air et homogénéisé par un agitateur magnétique. Une troisième pompe péristaltique ( $9 \text{ ml h}^{-1}$ ) amène la nourriture pour les moules, sous forme d'une suspension algale monospécifique de *Chlamydomonas variabilis*. Cette algue verte unicellulaire flagellée, sans paroi, est facilement assimilable par *Dreissena polymorpha* (Ten Winkel et Davids, 1982). Sa taille (environ  $12 \mu\text{m}$ ) stimule l'activité de filtration de la moule et la concentration dans le milieu expérimental (environ  $10.000 \text{ cellules ml}^{-1}$ ) assure un taux de filtration maximal (Sprung et Rose, 1988). La quantité d'algues ajoutée est surveillée par dosage de la chlorophylle-*a* dans un bac sans moules ni mousses. Les traitements avec  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  de cuivre et  $15 \mu\text{g L}^{-1}$  de cadmium sont dupliqués afin d'étudier la répétabilité de la réponse biologique ; une troisième unité expérimentale avec  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  de cuivre est maintenue sans nourriture (tableau 3). Deux

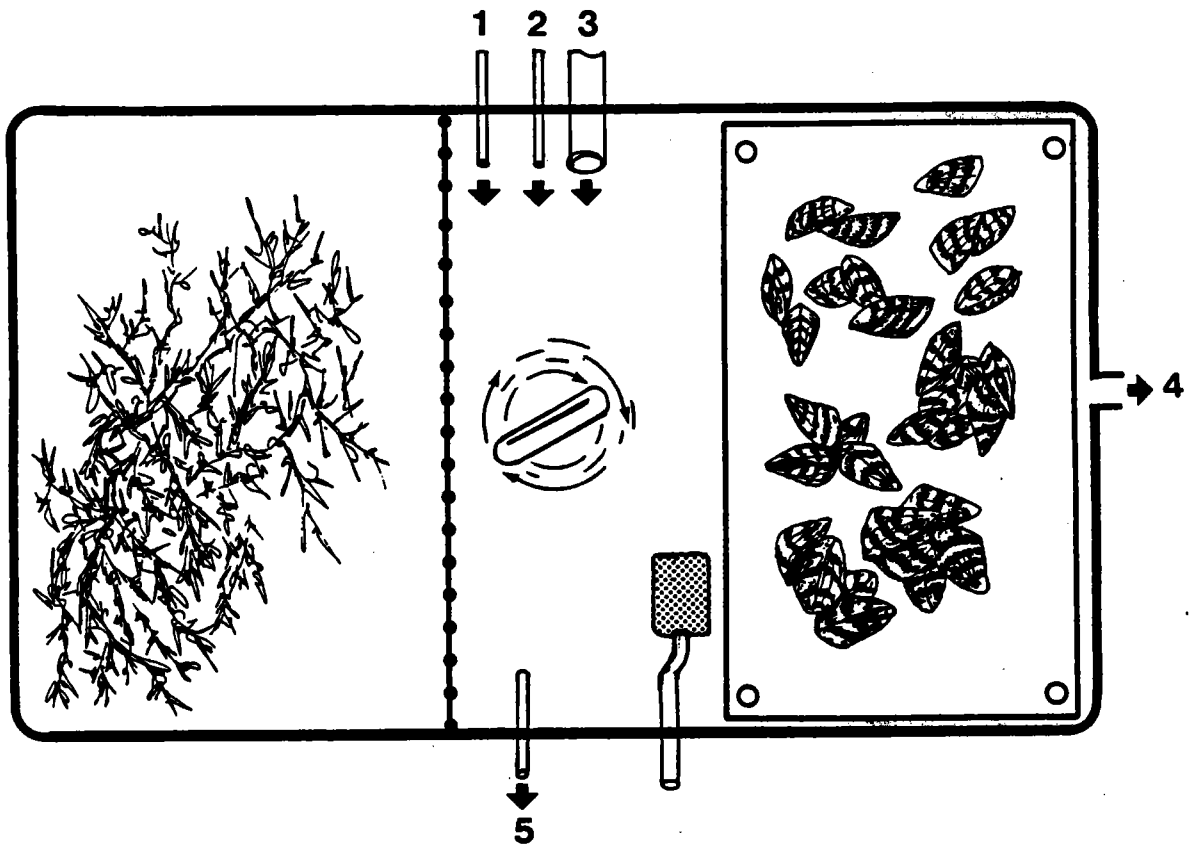
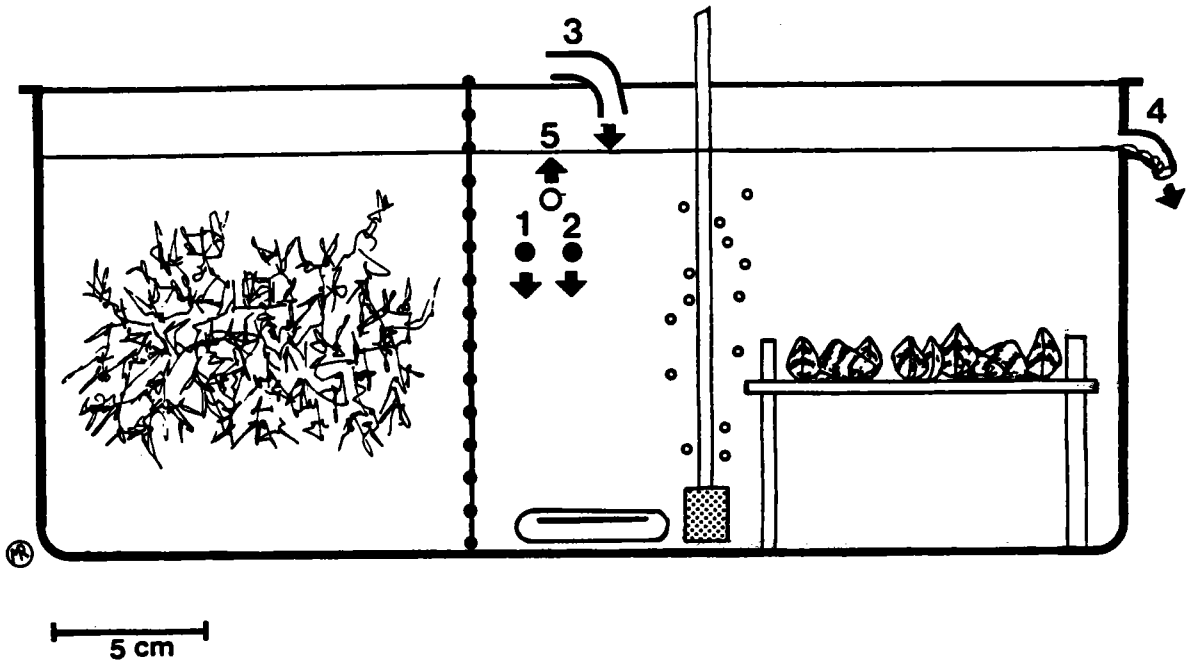
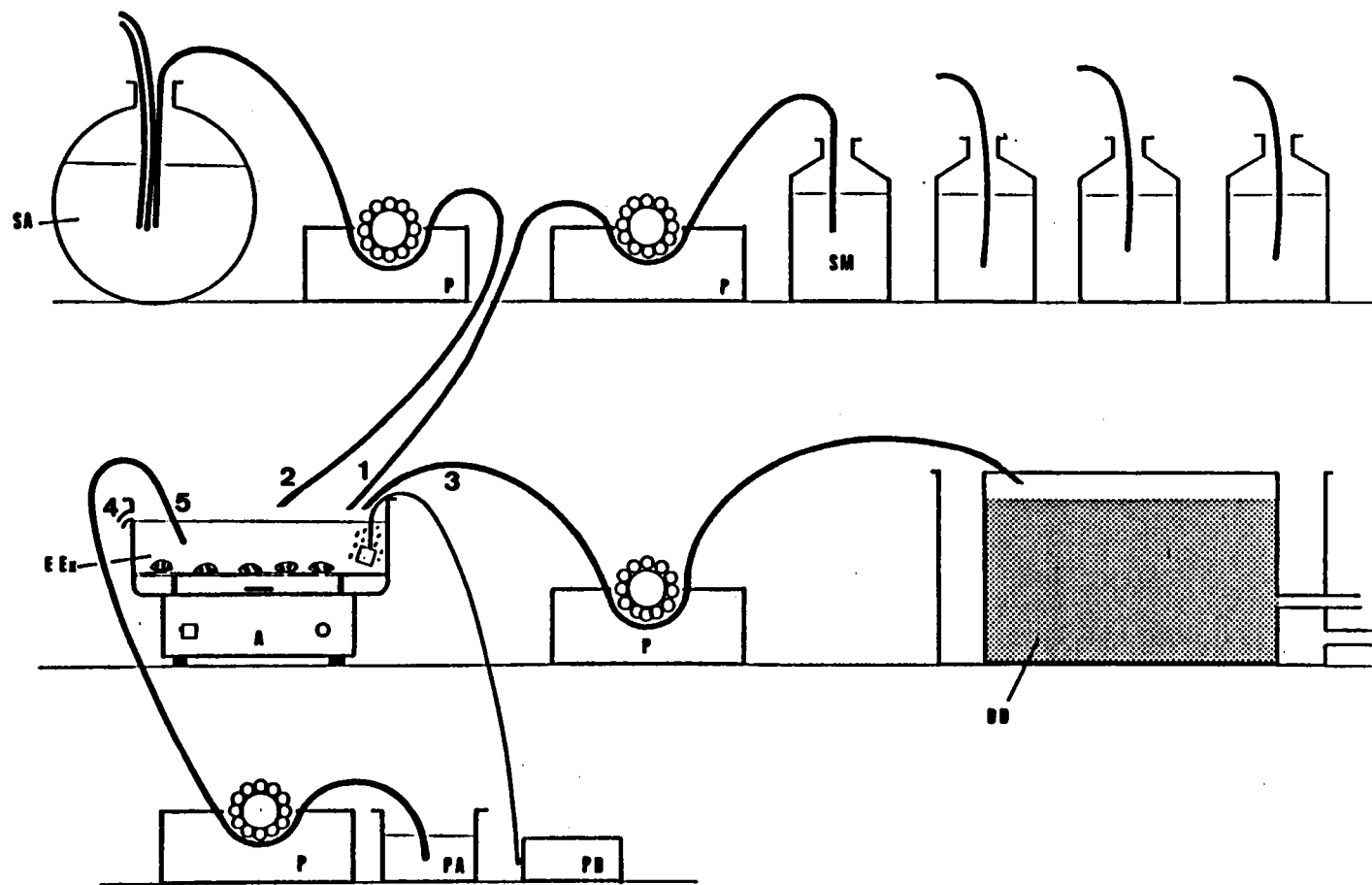


Figure 6. Vues schématiques de l'enceinte expérimentale à deux compartiments (séparés par un grillage en matière plastique) recevant d'un côté les mousses et de l'autre côté les moules.

1 : Arrivée de métal (Cu ou Cd),  
 3 : arrivée d'eau de distribution,  
 5 : prélèvement en continu.

2 : arrivée de nourriture (suspension algale),  
 4 : trop-plein,

Figure 7. Dispositif expérimental utilisé pour l'intoxication de moules et de mousses au laboratoire.



EEx : enceinte expérimentale,  
 BD : bac de déchloration sur charbon actif,  
 P : pompe péristaltique,  
 SA : suspension algale,  
 1-5 : tuyaux d'amenée et de prélèvement (cf. figure 6).

SM : solution métallique,  
 PB : pompe de bullage,  
 A : agitateur magnétique,  
 PA : prélèvements pour analyse,

Unité	Traitement		
	métal	concentration ( $\mu\text{g/L}$ )	nourriture
1	Cu	8	oui
2	Cu	20 (réplicat 1)	oui
3	Cu	20 (réplicat 2)	oui
4	Cu	20	non
5	Cu	50	oui
6	Cd	5	oui
7	Cd	15 (réplicat 1)	oui
8	Cd	15 (réplicat 2)	oui
9	Cd	45	oui
10	témoin		oui
11	témoin		non

Tableau 3. Aperçu synthétique des traitements appliqués lors de l'expérience de laboratoire.

témoins, l'un avec et l'autre sans nourriture, apportent des renseignements sur les conditions expérimentales générales. En sortie des bacs, un trop-plein évacue l'eau et une quatrième pompe péristaltique prélève en continu des échantillons d'eau pour les analyses chimiques.

Pendant une période préliminaire de 3 jours avant l'introduction des organismes, toutes les unités expérimentales sont mises en fonctionnement afin d'obtenir un système à l'équilibre au début de l'intoxication. L'exposition des organismes pendant 27 jours a été suivie d'une phase de post-exposition de 14 jours. Les concentrations métalliques dans l'eau ont été surveillées par des analyses ponctuelles régulières. Les débits des pompes péristaltiques ont été réajustés lorsque l'écart par rapport aux concentrations nominales dépassait 15 %.

### 2.2.3. Prélèvements et analyses d'eau

La température, le pH, la conductivité et le taux d'oxygène dissous ont été mesurés tous les jours dans l'ensemble des unités expérimentales. Les autres analyses chimiques ont toutes été réalisées sur des échantillons moyens prélevés en continu sur 24 heures.

Les aliquots destinés à l'analyse des métaux sont acidifiés (1 %  $\text{HNO}_3$ ) et stockés en chambre froide à 4 °C jusqu'au dosage. A cinq reprises pendant la phase d'exposition, la fraction métallique libre par rapport à la fraction associée aux matières en suspension est déterminée par filtration de 300 ml d'eau à travers une membrane en nitrate de cellulose d'un diamètre de



pore de 0,45  $\mu\text{m}$ , préalablement rincée dans un bain acide. Le filtrat est traité comme les échantillons d'eau ; le filtre est minéralisé selon le même protocole que les échantillons biologiques (cf. § 3.1). Les concentrations en ions majeurs dans l'eau ( $\text{HCO}_3$ ,  $\text{Cl}$ ,  $\text{SO}_4$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}$ ,  $\text{K}$ ,  $\text{Ca}$ ,  $\text{Mg}$ ) sont déterminées le 3ème et le 7ème jour de chaque semaine dans le bac témoin sans nourriture et dans trois autres unités choisies au hasard. Ces mesures sont réalisées d'après les normes AFNOR (1990).

#### **2.2.4. Physiologie des organismes**

La concentration en chlorophylle-*a*, mesurée une fois par semaine pendant la période d'intoxication, a été utilisée comme descripteur indirect de l'activité de filtration des moules (Poulsen *et al.*, 1982). De plus, tous les 3 jours à différents moments de la journée, le pourcentage ( $x$ ) de moules à siphons ouverts par rapport à celles montrant des siphons rétractés ou des valves fermées a été déterminé. Ce paramètre fournit une estimation directe de l'activité des animaux. Les 5 classes suivantes sont définies :  $x > 80\%$  : cote 5 ;  $60 < x < 80\%$  : cote 4 ;  $40 < x < 60\%$  : cote 3 ;  $20 < x < 40\%$  : cote 2 et  $x < 20\%$  : cote 1. La mortalité des mollusques a été contrôlée tous les jours. Un animal est considéré comme mort, lorsque ses valves restent ouvertes après avoir été touché.

Le contrôle physiologique des moules s'est limité à des observations de la densité, du port et de la couleur des feuilles.

#### **2.2.5. Prélèvements et analyses des organismes**

Les prélèvements d'échantillons de moules (environ 2 g de poids frais essoré) et de moules (16 spécimens) destinés au dosage du cadmium et du cuivre ont été réalisés après 0 (témoin), 1, 3, 6, 11, 18 et 27 jours d'exposition et après 6 et 14 jours de post-exposition. Les procédures de préparation des organismes et les techniques analytiques sont décrites au paragraphe 3.

### **2.3. Surveillance biologique passive**

#### **2.3.1. Profil longitudinal de la Moselle (Exp. 3)**

La rivière Moselle draine une grande partie du bassin sidérurgique lorrain. Elle prend sa source dans le Massif Vosgien et, après un parcours d'environ 550 km, se jette dans le Rhin à Coblenche avec un débit annuel moyen de  $320 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ .

Des échantillons composés d'une trentaine de moules autochtones ont été collectés pendant 4 jours consécutifs en janvier 1989. Les 20 stations sélectionnées sur un tronçon d'environ 200 km entre Maron (première population amont) et Trèves ont été espacées plus ou moins régulièrement de 10 km (figure 8). La localisation précise des sites de prélèvement a été

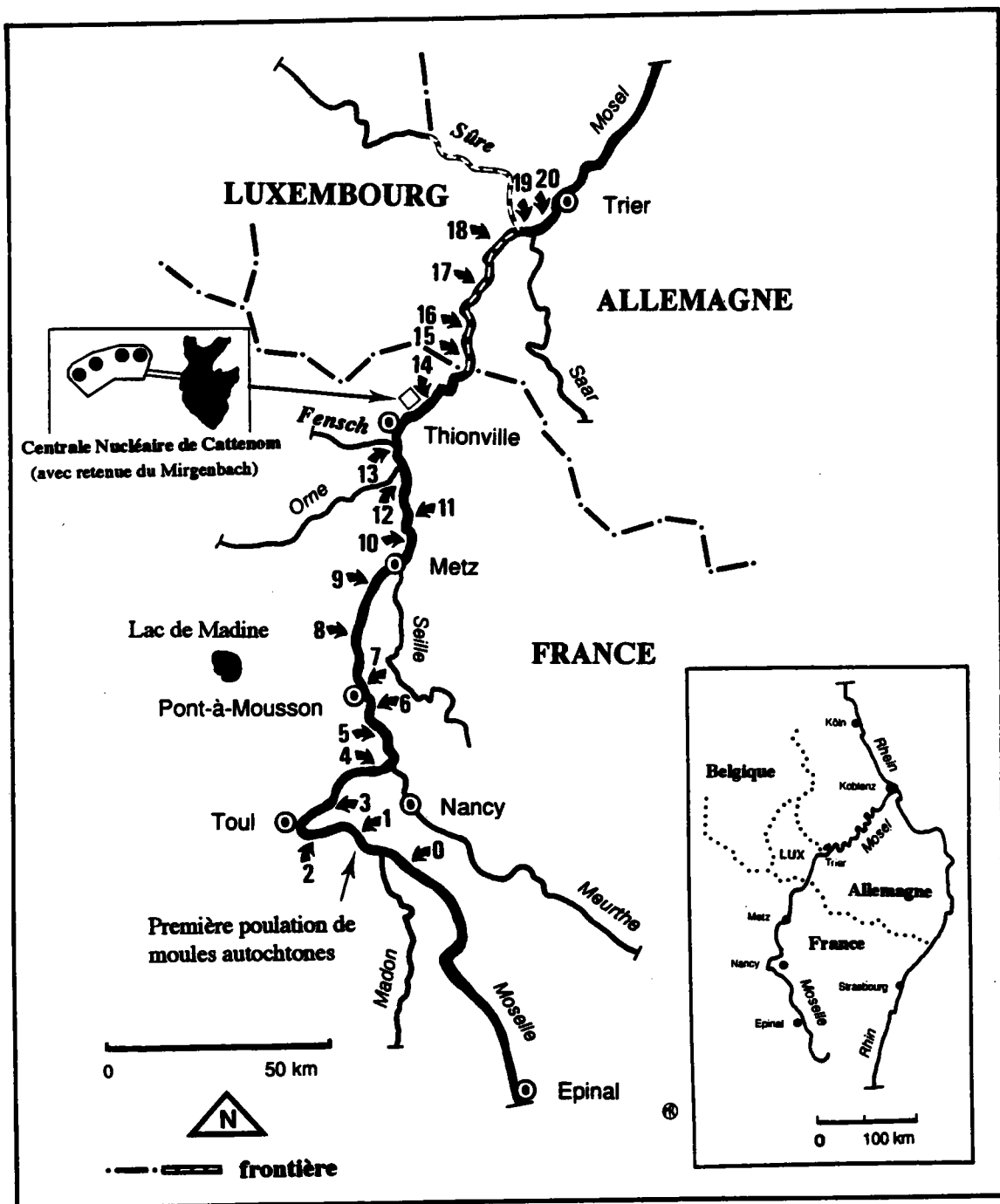


Figure 8. Localisation des stations de prélèvement sur la Moselle.

choisie non pas en fonction de rejets industriels connus, mais uniquement en fonction de la présence de populations exploitables de dreissènes. Il faut signaler que la recherche des stations a exigé un travail de prospection important.

Parallèlement à la récolte de moules, un échantillon d'eau brute a été prélevé à chaque station. Pour obtenir un échantillonnage homogène, la fraction grossière des matières en suspension a été éliminée par filtration de l'eau *in situ* sur des membranes en papier d'une porosité de 25  $\mu\text{m}$ . Cette mesure s'est révélée nécessaire, car il y a des différences importantes de turbidité entre les stations de prélèvement dues au passage de péniches.

### **2.3.2. Profil dans le temps de la retenue du Mirgenbach (Exp. 4)**

Comme l'étude de ce site comporte un volet de surveillance passive et un volet de surveillance active, l'ensemble des procédures sera décrit dans un paragraphe unique (cf. § 2.4.2).

## **2.4. Surveillance biologique active**

L'expérience la plus complète et la plus complexe est celle réalisée sur la Wiltz (Exp. 6). Elle sera décrite en détail ; les différences par rapport aux autres études (Exps. 4, 5, 7 et 8) seront signalées dans des paragraphes séparés.

### **2.4.1. Etude de la Wiltz (Exp. 6)**

#### **a) Présentation du site**

La rivière Wiltz se forme sur le territoire belge par la réunion de plusieurs ruisseaux et traverse le nord du Grand-Duché de Luxembourg d'ouest en est pour se jeter dans la Sûre, un affluent de la Moselle, avec un débit annuel moyen d'environ  $6 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ . Sa longueur totale est d'environ 45 km pour un bassin versant de  $400 \text{ km}^2$  dont 59 se situent en Belgique (figure 9).

Le substrat géologique au pied des Ardennes est constitué de schistes du Dévonien moyen et inférieur. La dénivelée totale du bassin est de 295 m pour une pente moyenne de 0,7 % et une pente maximale de 1,6 %. La Wiltz se caractérise par des débits d'eau élevés et variables en hiver, faibles et réguliers en été. Les hauteurs d'eau de la rivière sont relevées tous les jours à la station limnimétrique de Winseler (incluant un quart du bassin versant) par l'Administration des Services Techniques de l'Agriculture.

La rivière reçoit des charges polluantes de trois origines différentes : (1) des effluents domestiques insuffisamment épurés, notamment des villes de Bastogne et de Wiltz, (2) des eaux de ruissellement et de drainage d'une agriculture intensive sur sol acide et imperméable (densité des drains :  $1,23 \text{ km}^{-1}$ ) et (3) des effluents industriels de deux unités de l'ARBED qui produisent des feuilles métalliques par électrodeposition et de deux unités du groupe Sommer

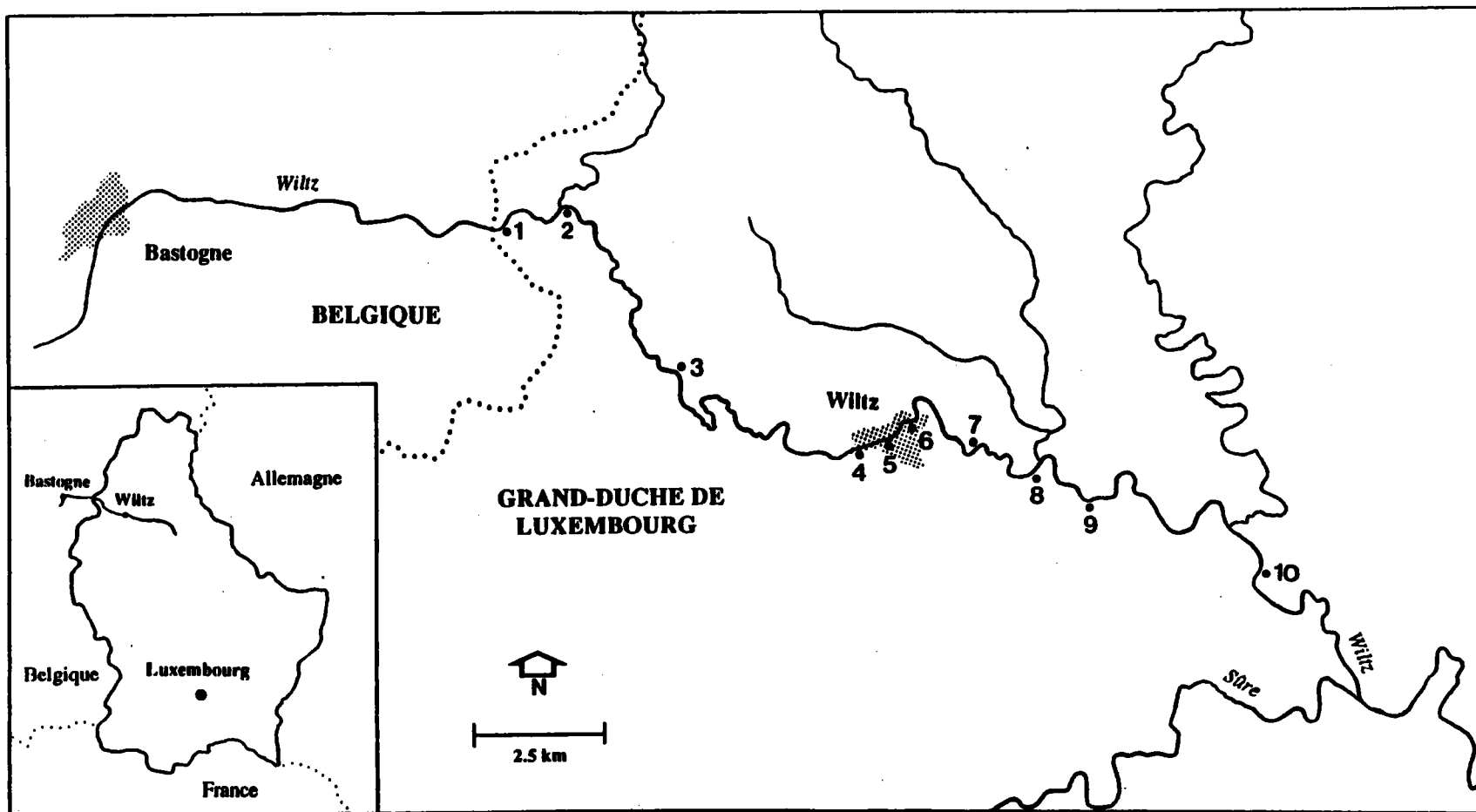


Figure 9. Localisation des stations d'étude sur la rivière Wiltz.

Bretagne (figure 5). Cependant, elle a disparu de nombreuses rivières à cause de pollutions excessives (Odebrecht, 1957). Récemment, elle a été introduite dans les Grands Lacs nord-américains avec de l'eau de ballast des navires en provenance de ports européens (Hebert *et al.*, 1989). Elle y a trouvé un terrain favorable car son développement a été fulgurant (Mackie, 1991; Hunter et Bailey, 1992; MacIsaac *et al.*, 1992). Un modèle de répartition potentielle de la dreissène sur le continent nord-américain a été proposé (Neary et Leach, 1992). Comme il est fondé sur les données physico-chimiques collectées en Europe, une grande inconnue demeure : c'est la capacité d'adaptation de l'animal aux conditions locales.

Dans le bassin Rhin-Meuse, la dreissène colonise la plupart des canaux (par exemple le Canal de l'Est et le Canal de Jouy), les rivières Rhin, Moselle, Meuse et Sarre ainsi que les lacs lorrains comme le Lac de Madine et l'Etang du Stock.

### 3.3. Biologie

Bien qu'ayant une certaine ressemblance morphologique avec *Mytilus edulis*, *Dreissena polymorpha* est un organisme typiquement inféodé au milieu d'eau douce. Comme il ressort de la paléozoologie, son biotope de prédilection est l'eau stagnante des lacs, des canaux et le secteur potamique des rivières (Kinzelbach, 1992).

Issue d'une fécondation externe, la larve trochophore, puis véligère se fixe à l'aide d'un byssus lorsqu'elle a atteint la taille de 220  $\mu\text{m}$ . La durée de la vie pélagique très variable - en moyenne de trois semaines à un mois - dépend de la quantité de nourriture disponible (Sprung, 1989). La croissance des individus fixés est rapide au début de leur vie et ralentit par la suite. Elle est également fortement influencée par les conditions trophiques du milieu (Stanczykowska, 1977; Bij de Vaate, 1991; Sprung, 1992). Le taux de mortalité augmente avec l'âge de la cohorte; une population est normalement constituée de 4 générations, rarement 5 (Wiktor, 1963; Stanczykowska, 1977; Bij de Vaate, 1991). Les densités de population peuvent être extraordinairement élevées, de l'ordre de plusieurs centaines, voire plusieurs milliers d'individus au mètre carré (Wiktor, 1963; Stanczykowska, 1977; Walz, 1978; Bij de Vaate, 1991; Hunter et Bailey, 1992). Reeders *et al.* (1989) ont estimé que la population de moules zébrées du Lac Ijsselmeer (Pays-Bas) est capable de filtrer son volume d'eau de 5,5 milliards de  $\text{m}^3$  en 11 jours.

La dreissène se nourrit par filtration des matières solides en suspension dans l'eau avec un maximum de rétention pour les particules d'une taille comprise entre 5 et 40  $\mu\text{m}$  (Ten Winkel et Davids, 1982; Sprung et Rose, 1988). L'organisme adapte son taux de filtration à la quantité de matières en suspension indépendamment de la fraction organique assimilable (Reeders *et al.*, 1989). En sa qualité d'accélérateur de la sédimentation de la matière en suspension, la dreissène a été proposée comme filtre biologique de lacs eutrophisés aux Pays-Bas (Reeders et Bij de Vaate, 1992).

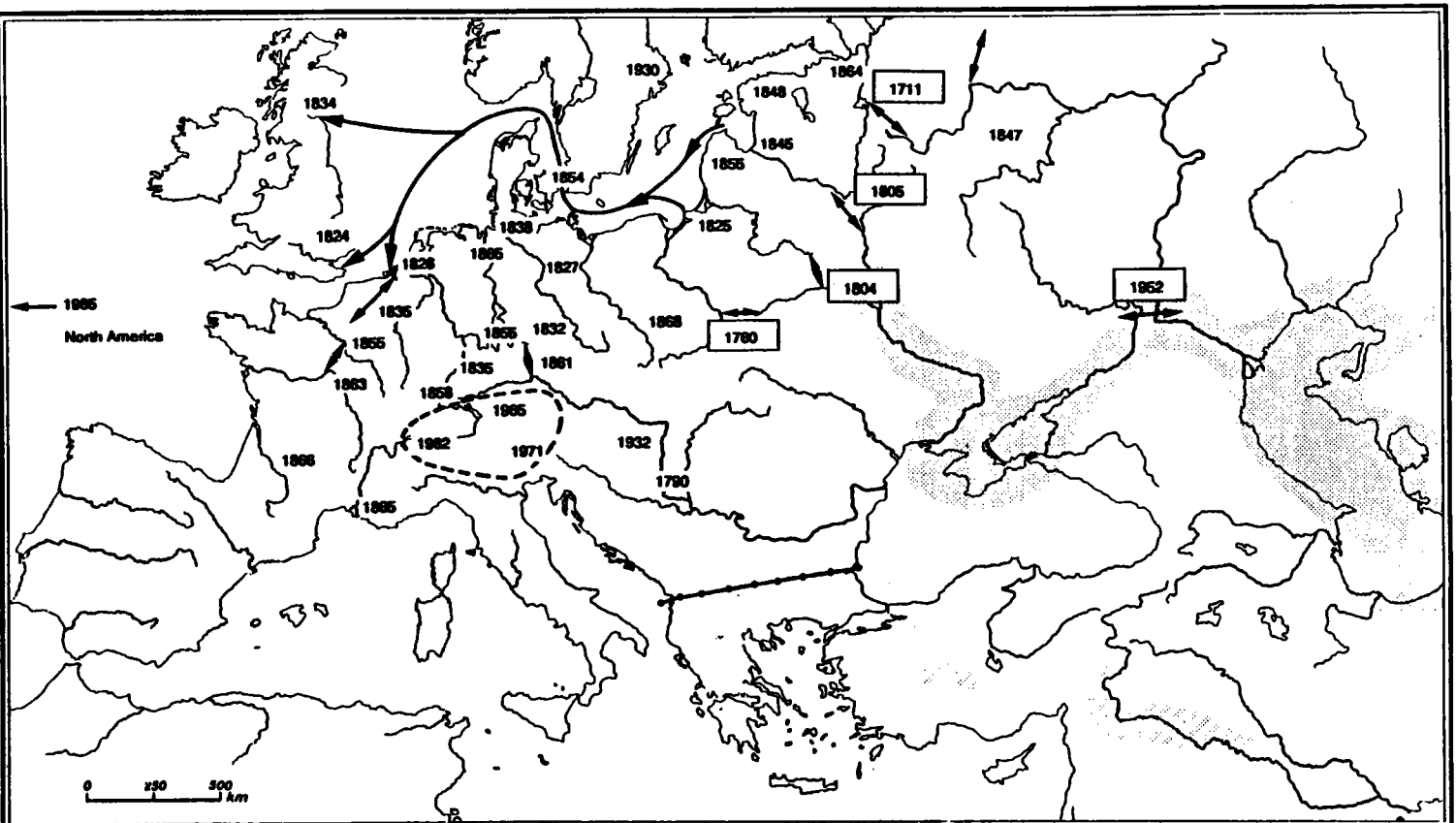


Figure 5. Expansion de *Dreissena polymorpha* en Europe (d'après Kinzelbach, 1992).

Zone grisée : répartition naturelle post-glaciaire de l'espèce;

zone hachurée : populations actuelles d'espèces relictues;

double flèche : construction de canaux, avec indication de l'année (voir texte pour détails).

Les jeunes moules acquièrent leur maturité sexuelle après le premier hiver lorsque leur taille est d'environ 1 cm (Stanczykowska, 1977; Hebert *et al.*, 1989; Bij de Vaate, 1991). Cependant, Borcharding (1991) a observé un tissu ovarien actif chez des individus de 7 à 8 mm âgés de 6 à 7 semaines seulement. Le déroulement du cycle de reproduction est sous le contrôle de la température de l'eau. Après la saison de reproduction, les gonades commencent à se réorganiser lorsque la température descend en dessous de 10 °C. Une augmentation progressive de la taille des organes reproducteurs se produit entre janvier et avril. Selon la population considérée, la première cohorte de gamètes matures est expulsée lorsque la température atteint 12 °C à 16 °C (Stanczykowska, 1977; Tourari *et al.*, 1988; Borcharding, 1991). La synchronisation est assurée par un déterminisme chimique. Dans le Fühlinger See près de Cologne, Borcharding (1992) a évalué à 400.000 le nombre moyen d'ovocytes émis par femelle d'une taille de 24 mm au cours de la première ponte. Au total, avec en principe deux autres cohortes, une femelle de dreissène peut produire jusqu'à un million de gamètes par an. Pendant la saison de reproduction, les larves de dreissènes peuvent former une partie importante du peuplement zooplanctonique d'un lac ou d'une rivière (Bij de Vaate, 1991; MacIsaac *et al.*, 1992; Marzou, commun. pers.). A partir du mois d'août et jusque fin octobre, les moules entrent en phase de repos sexuel, leur permettant de reconstituer les tissus somatiques.

Le schéma de la reproduction tel qu'il est décrit, peut être modulé voire modifié dans le temps et dans son intensité (quantité de gamètes produits) essentiellement par deux facteurs : la température et les conditions trophiques. Ainsi, le processus de ponte peut être repoussé dans le temps jusqu'à ce que la température requise soit atteinte (Borcharding, 1991). Cette adaptation est remarquable, car la fécondation est impossible en dessous de 10 °C (Sprung, 1987). En condition de stress trophique, la dreissène est capable de résorber le tissu gonadique très énergétique pour garantir ses fonctions vitales (Borcharding, 1991). Au laboratoire, ce processus est d'autant plus facile à provoquer que la saison de reproduction est avancée (Sprung et Borcharding, 1991). *Dreissena polymorpha* suit donc typiquement une stratégie de reproduction opportuniste, décrite en détail par Harvey et Vincent (1989) pour *Macoma balthica* : l'organisme investit un maximum d'énergie dans la reproduction une fois que sa maintenance physiologique est assurée.

### 3.4. Synthèse

La biologie de *Dreissena polymorpha* est caractérisée par un mode de vie fixé, une nutrition par filtration et un grand effort de reproduction. Les deux premières propriétés confèrent à cet organisme des avantages indéniables pour son utilisation dans des études écotoxicologiques, notamment sur le terrain. Les énormes bouleversements physiologiques en rapport avec la reproduction constituent tout de même un inconvénient certain (cf. § 2.3.5).

#### 4. Un autre indicateur biologique : les bryophytes aquatiques

Dans les écosystèmes d'eau douce, un autre type d'indicateurs biologiques s'est révélé intéressant pour la détection de micropolluants métalliques : les bryophytes aquatiques. La technique a été appliquée dans de nombreux pays européens comme la Belgique (Empain, 1976), la Grande-Bretagne (Wehr et Whitton, 1983), la France (Mouvet, 1985) l'Allemagne (Frost, 1990), la Suisse (Klein *et al.*, 1991), la Suède (Agence Suédoise pour la Protection de l'Environnement, 1991) et le Portugal (Gonçalves *et al.*, 1992). Une mise au point méthodologique a été proposée par Wehr *et al.* (1983) ; elle a été adaptée par Mouvet (1986) au contexte des prélèvements de routine des Agences de Bassin en France. Toutefois, un certain nombre de difficultés méthodologiques demeure, notamment en ce qui concerne la fraction du brin de mousse à utiliser pour le dosage et surtout les procédures de rinçage à appliquer sur le terrain et au laboratoire (Wehr *et al.*, 1983; Kelly *et al.*, 1987).

Les bryophytes sont des végétaux primitifs avec une vascularisation rudimentaire et sans système racinaire. Les échanges avec le milieu ambiant s'effectuent directement à travers la surface unicellulaire des feuilles agencées autour d'une tige. La paroi cellulaire possède une importante capacité d'échange cationique liée à la prédominance de groupements d'acides polyuroniques chargés négativement. Le nombre de sites de fixation est nettement plus élevé pour les cations que pour les anions (Clymo, 1963).

Grâce à la faculté d'échange cationique non sélective à la surface des cellules, les bryophytes adsorbent les micropolluants métalliques au même titre que les cations physiologiques (Breuer et Melzer, 1990a; 1990b; Wieder, 1990). Plusieurs caractéristiques de la détection de métaux trace dans le milieu ambiant découlent directement du mécanisme passif d'adsorption. Ainsi, l'affinité pour les groupements de surface est propre à chaque métal, si bien qu'il existe une sélectivité dans la fixation. Pour 7 cations testés, Breuer et Melzer (1990a) ont établi la séquence d'affinité décroissante suivante :  $Pb^{2+} > Cd^{2+} \geq Ca^{2+} > Mg^{2+} > K^{+} > Na^{+} \geq NH_4^{+}$ . Ces mêmes auteurs ont montré que l'accumulation des micropolluants métalliques est fortement influencée par des facteurs externes, notamment la présence de cations compétiteurs. Les cinétiques d'échange très rapides sont une autre conséquence du mécanisme de surface. Ainsi, des temps d'exposition de 24 heures (Kelly *et al.*, 1987), 3 jours (Mouvet, 1985) ou 9 jours (Mouvet, 1984) sont suffisants pour obtenir une réponse fiable. Le fait que le relargage des métaux soit plus lent que l'accumulation suggère qu'une partie des cations soit progressivement stockée dans les couches plus profondes de la paroi ou diffuse à l'intérieur des cellules (Mouvet, 1985; Vray *et al.*, 1992).

Il faut préciser que les mécanismes d'adsorption de cations ne sont pas propres aux mousses, mais ont été décrits pour de nombreuses surfaces biologiques, comme les algues unicellu-



lares (Xue *et al.*, 1988) ou les filaments mycéliens (Siegel *et al.*, 1990; Fourest et Roux, 1992).

## **5. Notion d'indication biologique dans les dispositions légales communautaires sur la protection des eaux de surface**

Dans une région transfrontalière où chaque pays exporte une partie de sa pollution et en importe de son voisin, il convient de s'intéresser à la législation européenne plutôt qu'aux textes nationaux.

Dans les directives sur la qualité des eaux destinées à la production d'eau alimentaire (J.O. CEE N° L 194, 1975), des eaux de baignade (J.O. N° L 31, 1976) et de l'eau destinée à la consommation humaine (J.O. N° L 229, 1980), le législateur européen a défini des niveaux guides, des niveaux impératifs et/ou des concentrations maximales admissibles pour les éléments métalliques. Dans la directive sur la "qualité des eaux douces ayant besoin d'être protégées ou améliorées pour être aptes à la vie des poissons" (J.O. N° L 222, 1978), les valeurs limites pour le cuivre et le zinc sont modulées en fonction de la dureté de l'eau. Dans ces réglementations, aucun critère biologique n'est prévu.

La première notion d'indicateur biologique apparaît dans la directive sur la qualité des eaux conchylicoles (J.O. N° 281, 1979) qui stipule pour les métaux que "la concentration de chaque substance dans l'eau conchylicole ou dans la chair de coquillage ne doit pas dépasser un niveau qui provoque des effets nocifs sur les coquillages et leurs larves ; les effets de synergie de ces métaux doivent être pris en considération". Entre 1976 et 1984, plusieurs directives concernant plus spécifiquement les rejets industriels ont été adoptées. Dans la résolution de mise en oeuvre (J.O. N° C 46, 1983) de la directive de base sur le "déversement de substances dangereuses dans le milieu aquatique" (J.O. N° L 129, 1976), deux listes sont présentées : la "liste noire des 129 composés chimiques prioritaires en raison de leur toxicité, leur persistance et leur bioaccumulation" et une "liste grise des composés nuisibles pour l'environnement". En ce qui concerne les métaux, l'arsenic, le cadmium, le mercure ainsi que les organostanneux se trouvent sur la liste noire, alors que le chrome, le cuivre, le plomb et le zinc sont reportés sur la liste grise. D'après ce texte, "tout rejet d'une substance de la liste noire doit faire l'objet d'une autorisation préalable délivrée par l'autorité compétente d'un Etat membre". La directive de base est étayée et complétée par plusieurs autres textes qui réglementent les rejets industriels de mercure et de cadmium, notamment en définissant des objectifs de qualité dans le milieu receveur. Les directives relatives au mercure (J.O. N° L 81, 1982; J.O. N° L 47, 1984) stipulent que "la concentration de mercure dans un échantillon représentatif de la chair de poisson choisie comme indicateur ne doit pas excéder 0,3 mg kg<sup>-1</sup> de chair humide" et que "la concentration de mercure dans les sédiments ou mollusques et

crustacés ne doit pas augmenter de manière significative avec le temps". Dans la directive qui concerne le cadmium (J.O. N° L 291, 1983), ces objectifs de qualité sont légèrement modifiés : "la concentration de cadmium dans les sédiments et/ou mollusques et crustacés, si possible de l'espèce *Mytilus edulis*, ne doit pas augmenter de manière significative avec le temps". La notion d'indicateur biologique est maintenue dans la proposition modifiée de la directive concernant les objectifs de qualité des eaux pour le chrome et les limites de concentration du chrome dans les eaux (J.O. N° C 43/6, 1988) : "la teneur en chrome dans les sédiments et/ou dans les mollusques et crustacés d'eau douce et/ou d'eau de mer, ne doit pas augmenter de manière significative avec le temps".

Dans les directives successives, la notion d'indication biologique devient de plus en plus précise. Toutefois, plusieurs points restent vagues et sujets à une interprétation subjective, si bien qu'il faut se demander si les directives sont réellement applicables. En effet, les conditions de prélèvement (périodicité, emplacement des stations, espèce animale, procédure etc.) et les protocoles analytiques ne sont pas suffisamment détaillés. Par ailleurs, la directive relative au cadmium comporte une certaine contradiction intrinsèque, en ce sens qu'elle recommande d'utiliser une moule marine comme indicateur biologique, mais précise que "les objectifs de qualité sont mesurés suffisamment proche du point de rejet". Enfin, la difficulté majeure concerne les incompatibilités évidentes entre les divers points du catalogue des objectifs de qualité, notamment entre les concentrations limites dans l'eau très complaisantes (respectivement 1, 5 et, selon la dureté de l'eau entre 5 et 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  pour le mercure, le cadmium et le chrome comme "moyenne arithmétique des résultats obtenus pendant une année") et les critères sévères vis-à-vis des compartiments sujets à accumulation (sédiments et organismes vivants) dont "la concentration ne doit pas augmenter de manière significative avec le temps".

Cette contradiction peut être illustrée par l'exemple du cadmium. La moule marine *Mytilus edulis* atteint la limite sanitaire australienne de 2 mg de cadmium par kg de poids frais lorsque la concentration du métal dans l'eau dépasse 0,20  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Talbot, 1985). Dans la directive européenne, la concentration annuelle moyenne admissible dans les eaux côtières est fixée à 2,5  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Dans le cas de *Dreissena polymorpha*, une accumulation de cadmium se produit pour tout ajout, même faible, de cadmium dans le milieu expérimental (Bias et Karbe, 1985; Kraak *et al.*, 1992). Ceci signifie en toute rigueur que le législateur européen tolère des rejets massifs si l'impact est mesuré en termes de concentrations dans l'eau, et qu'il rend illégal tout rejet de cadmium résiduel si le jugement se fait sur la base d'analyse de sédiment ou d'organismes.

## **CHAPITRE II**

**OBJECTIF DES EXPERIENCES**

**PRESENTATION DES SITES D'ETUDE**

**MATERIEL ET METHODES**

# 1. Présentation hiérarchique des expériences

## 1.1. Etude de laboratoire

L'intoxication expérimentale de *Dreissena polymorpha* par le cuivre et le cadmium a pour objectif d'étudier, dans des conditions de milieu stables, les processus de base qui caractérisent un organisme indicateur, notamment ses capacités d'accumulation et d'élimination de métaux et son comportement face à la présence d'un toxique dans le milieu. Par rapport aux travaux existants, deux innovations ont été apportées : (1) de la nourriture a été fournie en continu aux mollusques, et ce dans un système d'intoxication dynamique et (2) les caractéristiques indicatrices de deux organismes très différents, la moule *Dreissena polymorpha* et la mousse aquatique *Rhynchostegium riparioides*, ont été comparées dans les mêmes conditions expérimentales. Par ailleurs, les concentrations métalliques utilisées lors des intoxications sont restées faibles et comparables à celles rencontrées dans l'environnement (Förstner et Wittmann, 1981). Le choix des doses a également été guidé par les seuils de toxicité déterminés pour la dreissène par test comportemental (Mouabad, 1991).

## 1.2. Echantillonnage d'organismes autochtones ou surveillance biologique passive

Le concept le plus simple de la surveillance biologique de l'environnement consiste à collecter et à analyser des organismes indicateurs indigènes. Dans ce cas, la durée de l'exposition correspond à l'âge de l'organisme. Les concentrations en micropolluants observées dans l'animal au moment du prélèvement constituent donc la résultante de toute son histoire de vie. La surveillance passive ou biomonitoring passif peut s'appliquer aussi bien dans l'espace que dans le temps.

Une étude longitudinale a été réalisée sur un tronçon de la Moselle de plus de 200 km à raison d'un prélèvement tous les 10 km environ. Le but est de vérifier l'intérêt d'utiliser l'indicateur *Dreissena polymorpha* pour établir un profil spatial de la contamination métallique de la principale rivière lorraine.

Le réservoir de la centrale électronucléaire de Cattenom, la retenue du Mirgenbach, a fait l'objet d'une surveillance biologique en fonction du temps. Des prélèvements mensuels de moules zébrées autochtones ont été effectués pendant presque trois ans. Plusieurs objectifs ont été définis : (1) l'étude de l'accumulation et de l'élimination des métaux, principalement du cuivre, en fonction des fluctuations des concentrations dans l'eau, (2) l'évaluation de l'interférence du cycle biologique, notamment les changements de poids sec, avec les données écotoxicologiques et (3) l'établissement d'un profil temporel des rejets métalliques non radioactifs de la centrale.

### **1.3. Transfert d'organismes indicateurs ou surveillance biologique active**

Par rapport à la surveillance passive, la technique de transfert d'indicateurs biologiques à partir d'un site de référence (biomonitoring actif) présente plusieurs avantages dont trois principaux : (1) la station précise d'exposition des organismes peut être choisie indépendamment de la répartition d'une éventuelle population naturelle, (2) l'exposition est limitée dans le temps, ce qui permet d'évaluer la qualité récente du milieu et (3) les résultats obtenus à différentes stations d'étude sont directement comparables.

Une expérience de comparaison entre moules transférées et moules autochtones a été réalisée en plaçant des lots de trois populations différentes de la Moselle à côté d'une population indigène de la retenue du Mirgenbach.

Des surveillances actives ont été effectuées sur deux autres sites, à savoir la Wiltz au nord du Luxembourg et la Meurthe dans les Vosges. Le but de ces expériences a été (1) de définir les modalités de transfert des moules et (2) d'établir un profil de contamination de rivières dépourvues d'espèces indicatrices animales reconnues. Dans les deux cas, l'impact du changement de milieu sur la condition physiologique des moules a été évaluée à l'aide de descripteurs biologiques. Une seconde expérience de transfert a été réalisée sur la Wiltz pour comparer plus spécifiquement les indications obtenues avec deux populations de moules de sites d'origine différents.

### **1.4. Comparaison entre deux organismes sentinelles : la moule zébrée et les mousses aquatiques**

Lors des études de terrain sur la Wiltz et sur la Meurthe, les propriétés indicatrices des moules zébrées ont été comparées à celles des mousses aquatiques, également transférées. Lors du second travail sur la Wiltz, deux espèces différentes de mousses ont été introduites aux mêmes stations que les deux lots de moules.

### **1.5. Signification écotoxicologique du compartiment *Dreissena polymorpha* au sein de l'écosystème**

Les analyses de métaux ont été élargies à d'autres compartiments de l'écosystème de la retenue du Mirgenbach dans le but d'évaluer la signification écotoxicologique des données obtenues avec la moule zébrée. Les supports analytiques retenus sont l'eau brute, les matières en suspension, le seston décanté, une mousse aquatique et trois tissus (muscle, rein et foie) de deux espèces de poisson, dont un microphage (gardon) et un carnassier (perche). Cette expérience ne sera pas présentée en détail dans ce mémoire. Les principales conclusions seront reprises dans la synthèse finale. Ce travail a fait l'objet d'une publication (Mersch *et al.*, sous presse; cf. annexe 1).

## **1.6. Récapitulatif**

Pour permettre une présentation claire des procédures et des résultats, les différentes expériences réalisées seront numérotées de la façon suivante :

- Exp. 1 : Détermination des concentrations métalliques de référence dans la moule zébrée;
- Exp. 2 : Exposition au laboratoire de moules et de mousses au cuivre et au cadmium;
- Exp. 3 : Profil longitudinal de la rivière Moselle;
- Exp. 4 : Profil en fonction du temps de la retenue du Mirgenbach (écosystème artificiel en dérivation sur la Moselle);
- Exp. 5 : Comparaison entre populations transférées et population autochtone de la retenue du Mirgenbach;
- Exp. 6 : Transfert de moules et de mousses dans la Wiltz (Luxembourg);
- Exp. 7 : Transfert de moules et de mousses dans le bassin de la Meurthe (affluent de la Moselle);
- Exp. 8 : Transfert de deux populations de moules et de deux espèces de mousses dans la Wiltz.

## **2. Procédures expérimentales**

### **2.1. Collectes sur le terrain**

#### **2.1.1. Récolte des moules zébrées**

##### **a) Critère de sélection des individus**

Pour l'ensemble des expériences, des lots de dreissènes les plus homogènes possibles ont été utilisés dans le but de limiter la variabilité biologique intra-échantillon. Le critère de sélection des individus est la longueur de la coquille comprise dans la classe de taille 18-22 mm. Compte tenu des différences marquées de croissance et de morphologie entre populations, on peut supposer que les individus les plus jeunes de cette gamme de taille ont au moins un an et que les spécimens les plus âgés ne se trouvent pas encore en phase de sénescence (cf. analyse bibliographique).

##### **b) Populations de référence**

Pour les expériences de transfert dans la Wiltz et dans la Meurthe, des populations de deux sites ont été utilisées : celles de la Moselle à Toul et de la Meuse à Commercy. Le choix a été guidé par la situation géographique de ces stations localisées en amont de rejets industriels importants, mais également par la densité élevée des populations qui permet une collecte aisée. Leur caractère de populations de référence a été vérifié en comparant leurs concentrations métalliques avec celles des dreissènes prélevées sur deux sites lacustres

dépourvus de tout rejet direct, à savoir le Lac de Madine qui est un réservoir d'eau potable pour la ville de Metz et l'Etang du Stock qui est une aire de loisir. Cette étude a constitué un travail préliminaire important pour établir les concentrations métalliques de base dans les populations de dreissènes de notre région (*Exp. 1*). Il faut préciser que les populations des lacs lorrains présentent des densités trop faibles pour fournir le matériel biologique nécessaire à la réalisation d'études de surveillance active.

### **c) Prélèvement de dreissènes**

La moule zébrée colonise tous les substrats durs, avec des préférences marquées pour les surfaces rocheuses. Dans la Moselle et la Meuse, les remblais constituent des biotopes privilégiés. Les dreissènes se trouvent très souvent sur la face inférieure des pierres, à l'abri des prédateurs que sont principalement les canards, les rats et la carpe. L'accès aux populations peut être rendu difficile par le poids des blocs qu'il faut arriver à retourner.

Le prélèvement s'effectue en coupant à l'aide d'un scalpel le byssus de spécimens de la gamme de taille sélectionnée. Une réglette avec des encoches de 18 et de 22 mm permet d'effectuer un premier tri rapide sur le terrain. Les animaux récoltés sont rincés soigneusement et placés dans des flacons en polyéthylène remplis d'eau du site pour le transport. Un volume d'eau important est nécessaire pour assurer le maintien d'un niveau en oxygène suffisant jusqu'au laboratoire. Après le prélèvement, les pierres inspectées sont remises dans leur position initiale dans un souci de limiter la perturbation de la biocénose. Le transport des organismes s'effectue dans des glacières. Les manipulations en laboratoire seront décrites ultérieurement (cf. § 3).

#### **2.1.2. Prélèvement d'échantillons d'eau**

Lors de plusieurs expériences de terrain, des échantillons d'eau ont été collectés et analysés en même temps que les moules dans le but de comparer les informations apportées par les deux types de supports. L'eau est prélevée dans des flacons de 500 ml en polyéthylène (préalablement rincés dans un bain acide) à environ 10 cm sous la surface et immédiatement acidifiée à 1 % (v/v) avec de l'acide nitrique concentré (qualité normapur). Les flacons sont conservés en chambre froide à 4 °C jusqu'au dosage.

#### **2.1.3. Récolte des mousses**

Les touffes de mousse sont arrachées de leur support à la main et transportées dans une glacière remplie avec de l'eau du site de prélèvement. Au laboratoire, les touffes sont dissociées et les brins morts sont éliminés.

## 2.2. Expérience de laboratoire : exposition de moules et de mousses au cuivre et au cadmium (Exp. 2)

### 2.2.1. Collecte et conditionnement des organismes

Les moules *Dreissena polymorpha* et les mousses *Rhynchostegium riparioides* ont été prélevées sur des sites de référence (respectivement la Moselle à Toul et le Woigot à Briey) une semaine avant le début de l'étude pour les acclimater aux conditions expérimentales.

Au laboratoire, des lots d'environ 150 dreissènes sont disposés sur des carrelages placés dans des bacs remplis d'eau de distribution déchlorée par passage sur charbon actif. Pour favoriser leur fixation, elles sont nourries deux fois par jour avec une suspension algale. Les animaux non fixés après 48 heures sont considérés comme physiologiquement faibles et sont éliminés. Les mousses sont soigneusement rincées avec de l'eau désionisée, puis essorées et subdivisées en lots d'environ 20 g de poids frais. Elles sont conservées dans des conditions identiques à celles de l'expérience.

### 2.2.2. Dispositif expérimental

L'expérience a été réalisée dans une salle climatisée à  $14 \pm 1$  °C avec une photopériode de 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité et une luminosité de  $20,4 \pm 5,5 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$  à la surface de l'eau.

Chacun des 11 bacs d'un volume unitaire de 9 litres est divisé en deux compartiments par un grillage pour recevoir d'un côté un lot de moules et de l'autre un lot de mousses (figure 6). Une pompe péristaltique assure une amenée régulière de  $4,5 \text{ L h}^{-1}$  d'eau de distribution déchlorée (figure 7). Le taux de renouvellement moyen dans le bac est donc de 2 heures. Une deuxième pompe péristaltique ( $9 \text{ ml h}^{-1}$ ) introduit le toxique dans le milieu à partir de solutions mère de  $\text{CuSO}_4$  et  $\text{CdCl}_2$  acidifiées à 1 % avec  $\text{HNO}_3$  pour atteindre les concentrations nominales présentées dans le tableau 3. Le milieu est oxygéné par bullage d'air et homogénéisé par un agitateur magnétique. Une troisième pompe péristaltique ( $9 \text{ ml h}^{-1}$ ) amène la nourriture pour les moules, sous forme d'une suspension algale monospécifique de *Chlamydomonas variabilis*. Cette algue verte unicellulaire flagellée, sans paroi, est facilement assimilable par *Dreissena polymorpha* (Ten Winkel et Davids, 1982). Sa taille (environ  $12 \mu\text{m}$ ) stimule l'activité de filtration de la moule et la concentration dans le milieu expérimental (environ  $10.000 \text{ cellules ml}^{-1}$ ) assure un taux de filtration maximal (Sprung et Rose, 1988). La quantité d'algues ajoutée est surveillée par dosage de la chlorophylle-*a* dans un bac sans moules ni mousses. Les traitements avec  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  de cuivre et  $15 \mu\text{g L}^{-1}$  de cadmium sont dupliqués afin d'étudier la répétabilité de la réponse biologique ; une troisième unité expérimentale avec  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  de cuivre est maintenue sans nourriture (tableau 3). Deux



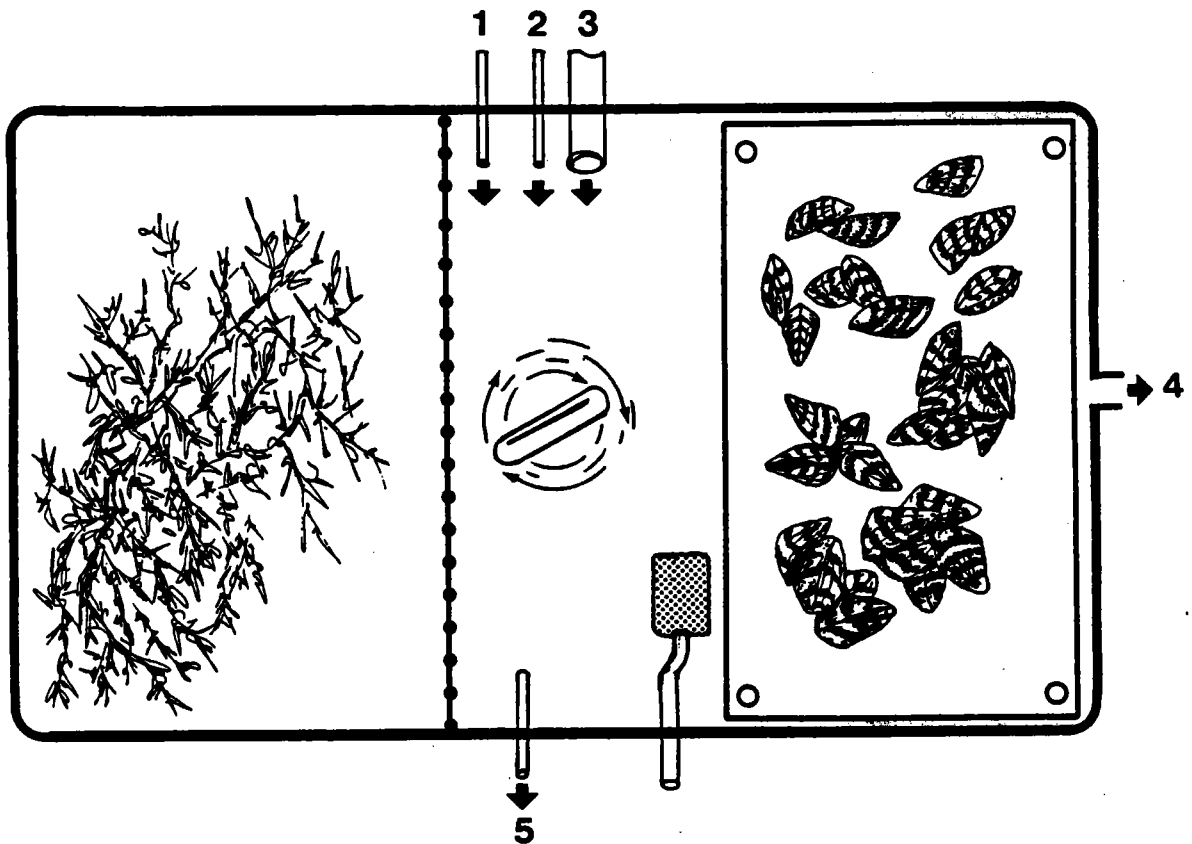
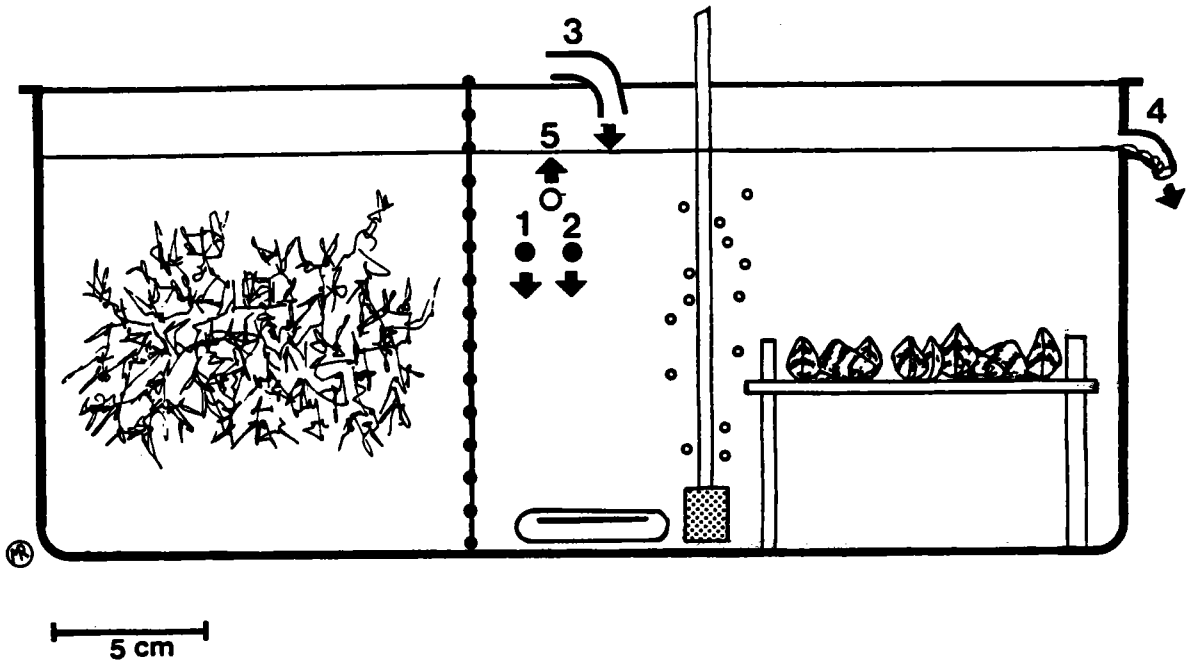
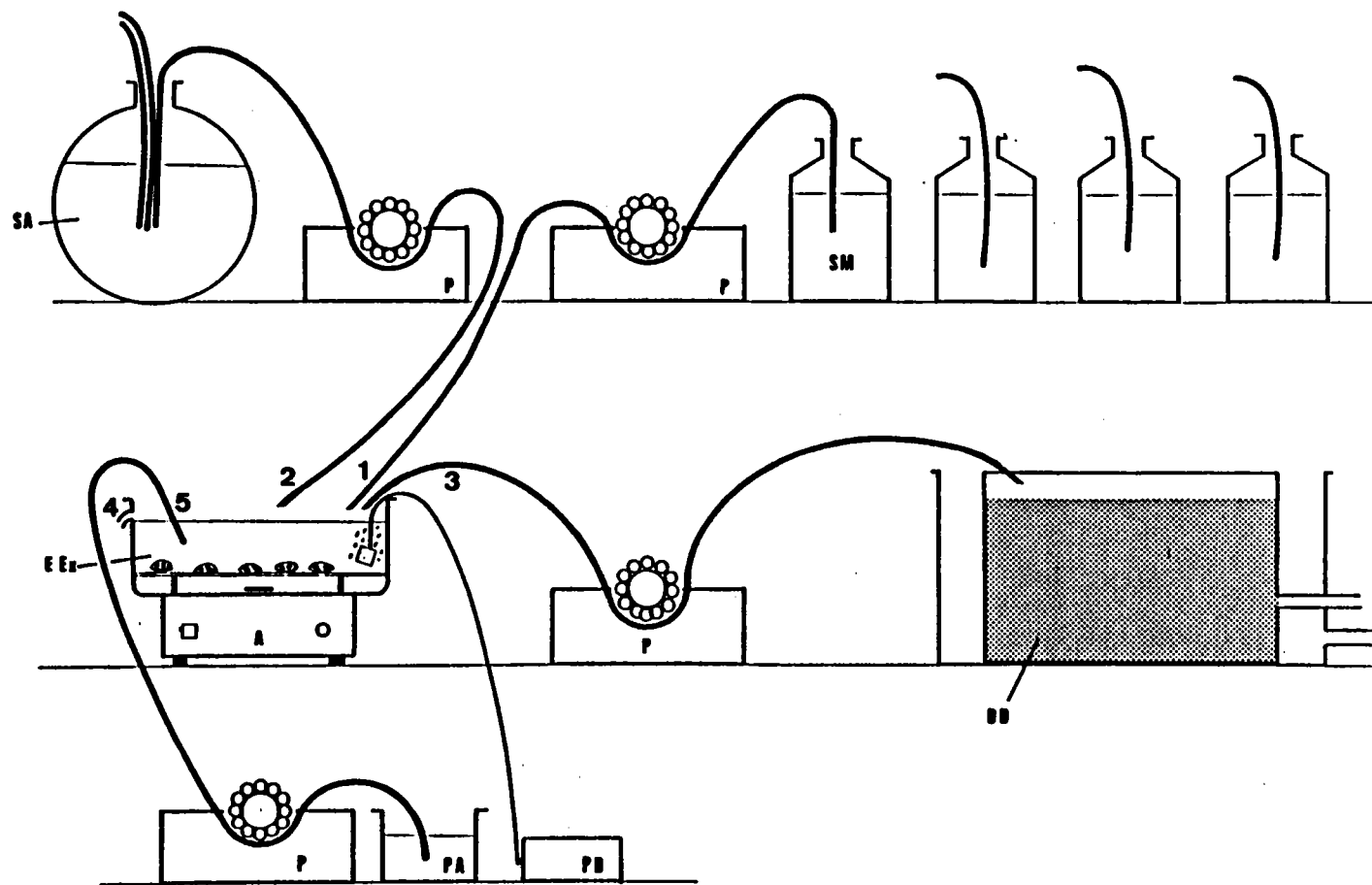


Figure 6. Vues schématiques de l'enceinte expérimentale à deux compartiments (séparés par un grillage en matière plastique) recevant d'un côté les mousses et de l'autre côté les moules.

1 : Arrivée de métal (Cu ou Cd),  
 3 : arrivée d'eau de distribution,  
 5 : prélèvement en continu.

2 : arrivée de nourriture (suspension algale),  
 4 : trop-plein,

Figure 7. Dispositif expérimental utilisé pour l'intoxication de moules et de mousses au laboratoire.



EEx : enceinte expérimentale,  
 BD : bac de déchloration sur charbon actif,  
 P : pompe péristaltique,  
 SA : suspension algale,  
 1-5 : tuyaux d'amenée et de prélèvement (cf. figure 6).

SM : solution métallique,  
 PB : pompe de bullage,  
 A : agitateur magnétique,  
 PA : prélèvements pour analyse,

Unité	Traitement		
	métal	concentration ( $\mu\text{g/L}$ )	nourriture
1	Cu	8	oui
2	Cu	20 (réplicat 1)	oui
3	Cu	20 (réplicat 2)	oui
4	Cu	20	non
5	Cu	50	oui
6	Cd	5	oui
7	Cd	15 (réplicat 1)	oui
8	Cd	15 (réplicat 2)	oui
9	Cd	45	oui
10	témoin		oui
11	témoin		non

Tableau 3. Aperçu synthétique des traitements appliqués lors de l'expérience de laboratoire.

témoins, l'un avec et l'autre sans nourriture, apportent des renseignements sur les conditions expérimentales générales. En sortie des bacs, un trop-plein évacue l'eau et une quatrième pompe péristaltique prélève en continu des échantillons d'eau pour les analyses chimiques.

Pendant une période préliminaire de 3 jours avant l'introduction des organismes, toutes les unités expérimentales sont mises en fonctionnement afin d'obtenir un système à l'équilibre au début de l'intoxication. L'exposition des organismes pendant 27 jours a été suivie d'une phase de post-exposition de 14 jours. Les concentrations métalliques dans l'eau ont été surveillées par des analyses ponctuelles régulières. Les débits des pompes péristaltiques ont été réajustés lorsque l'écart par rapport aux concentrations nominales dépassait 15 %.

### 2.2.3. Prélèvements et analyses d'eau

La température, le pH, la conductivité et le taux d'oxygène dissous ont été mesurés tous les jours dans l'ensemble des unités expérimentales. Les autres analyses chimiques ont toutes été réalisées sur des échantillons moyens prélevés en continu sur 24 heures.

Les aliquots destinés à l'analyse des métaux sont acidifiés (1 %  $\text{HNO}_3$ ) et stockés en chambre froide à 4 °C jusqu'au dosage. A cinq reprises pendant la phase d'exposition, la fraction métallique libre par rapport à la fraction associée aux matières en suspension est déterminée par filtration de 300 ml d'eau à travers une membrane en nitrate de cellulose d'un diamètre de

pore de 0,45  $\mu\text{m}$ , préalablement rincée dans un bain acide. Le filtrat est traité comme les échantillons d'eau ; le filtre est minéralisé selon le même protocole que les échantillons biologiques (cf. § 3.1). Les concentrations en ions majeurs dans l'eau ( $\text{HCO}_3$ ,  $\text{Cl}$ ,  $\text{SO}_4$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}$ ,  $\text{K}$ ,  $\text{Ca}$ ,  $\text{Mg}$ ) sont déterminées le 3<sup>ème</sup> et le 7<sup>ème</sup> jour de chaque semaine dans le bac témoin sans nourriture et dans trois autres unités choisies au hasard. Ces mesures sont réalisées d'après les normes AFNOR (1990).

#### **2.2.4. Physiologie des organismes**

La concentration en chlorophylle-*a*, mesurée une fois par semaine pendant la période d'intoxication, a été utilisée comme descripteur indirect de l'activité de filtration des moules (Poulsen *et al.*, 1982). De plus, tous les 3 jours à différents moments de la journée, le pourcentage (*x*) de moules à siphons ouverts par rapport à celles montrant des siphons rétractés ou des valves fermées a été déterminé. Ce paramètre fournit une estimation directe de l'activité des animaux. Les 5 classes suivantes sont définies :  $x > 80\%$  : cote 5 ;  $60 < x < 80\%$  : cote 4 ;  $40 < x < 60\%$  : cote 3 ;  $20 < x < 40\%$  : cote 2 et  $x < 20\%$  : cote 1. La mortalité des mollusques a été contrôlée tous les jours. Un animal est considéré comme mort, lorsque ses valves restent ouvertes après avoir été touché.

Le contrôle physiologique des moules s'est limité à des observations de la densité, du port et de la couleur des feuilles.

#### **2.2.5. Prélèvements et analyses des organismes**

Les prélèvements d'échantillons de moules (environ 2 g de poids frais essoré) et de moules (16 spécimens) destinés au dosage du cadmium et du cuivre ont été réalisés après 0 (témoin), 1, 3, 6, 11, 18 et 27 jours d'exposition et après 6 et 14 jours de post-exposition. Les procédures de préparation des organismes et les techniques analytiques sont décrites au paragraphe 3.

### **2.3. Surveillance biologique passive**

#### **2.3.1. Profil longitudinal de la Moselle (Exp. 3)**

La rivière Moselle draine une grande partie du bassin sidérurgique lorrain. Elle prend sa source dans le Massif Vosgien et, après un parcours d'environ 550 km, se jette dans le Rhin à Coblenche avec un débit annuel moyen de  $320 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ .

Des échantillons composés d'une trentaine de moules autochtones ont été collectés pendant 4 jours consécutifs en janvier 1989. Les 20 stations sélectionnées sur un tronçon d'environ 200 km entre Maron (première population amont) et Trèves ont été espacées plus ou moins régulièrement de 10 km (figure 8). La localisation précise des sites de prélèvement a été

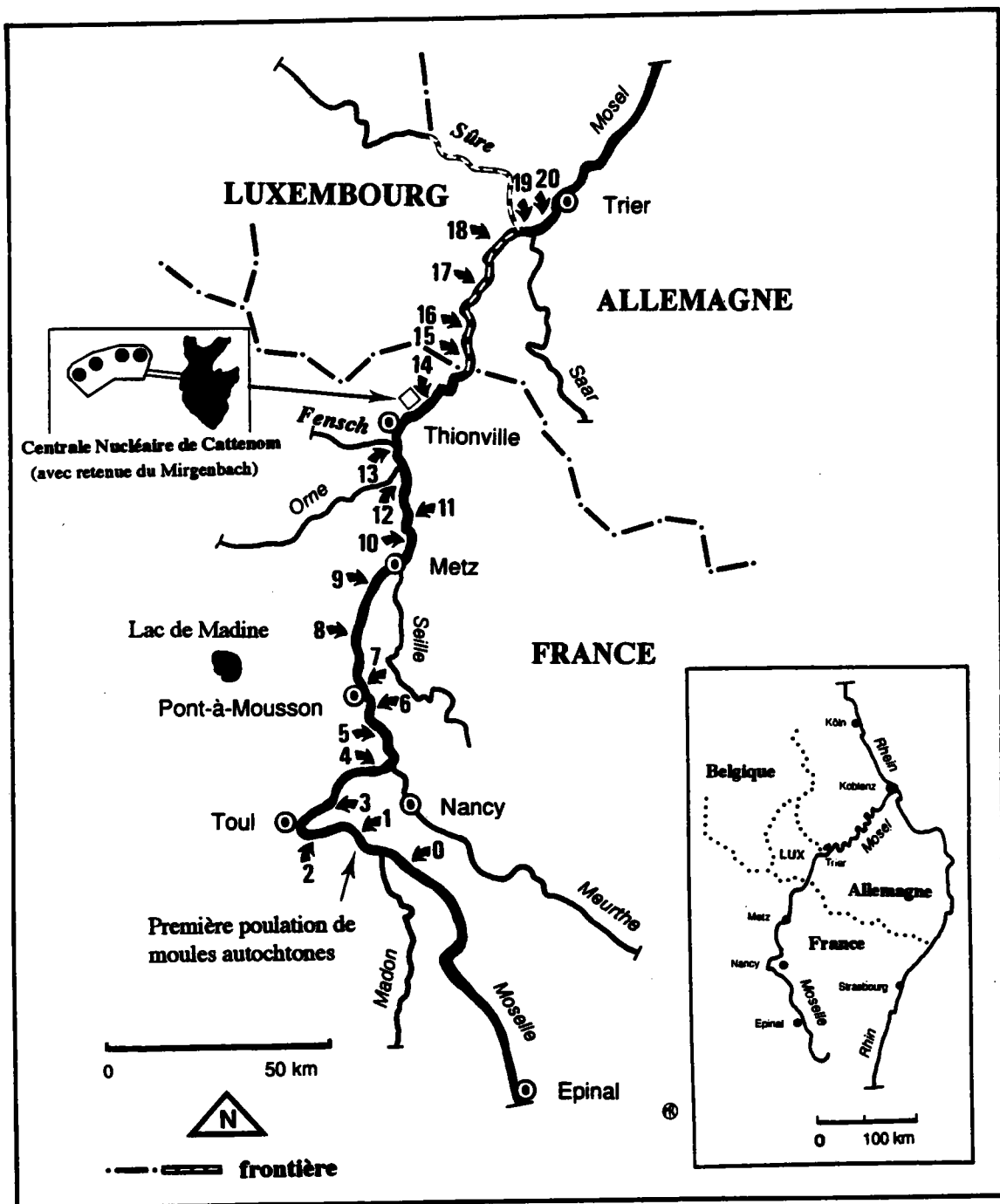


Figure 8. Localisation des stations de prélèvement sur la Moselle.

choisie non pas en fonction de rejets industriels connus, mais uniquement en fonction de la présence de populations exploitables de dreissènes. Il faut signaler que la recherche des stations a exigé un travail de prospection important.

Parallèlement à la récolte de moules, un échantillon d'eau brute a été prélevé à chaque station. Pour obtenir un échantillonnage homogène, la fraction grossière des matières en suspension a été éliminée par filtration de l'eau *in situ* sur des membranes en papier d'une porosité de 25  $\mu\text{m}$ . Cette mesure s'est révélée nécessaire, car il y a des différences importantes de turbidité entre les stations de prélèvement dues au passage de péniches.

### **2.3.2. Profil dans le temps de la retenue du Mirgenbach (Exp. 4)**

Comme l'étude de ce site comporte un volet de surveillance passive et un volet de surveillance active, l'ensemble des procédures sera décrit dans un paragraphe unique (cf. § 2.4.2).

## **2.4. Surveillance biologique active**

L'expérience la plus complète et la plus complexe est celle réalisée sur la Wiltz (Exp. 6). Elle sera décrite en détail ; les différences par rapport aux autres études (Exps. 4, 5, 7 et 8) seront signalées dans des paragraphes séparés.

### **2.4.1. Etude de la Wiltz (Exp. 6)**

#### **a) Présentation du site**

La rivière Wiltz se forme sur le territoire belge par la réunion de plusieurs ruisseaux et traverse le nord du Grand-Duché de Luxembourg d'ouest en est pour se jeter dans la Sûre, un affluent de la Moselle, avec un débit annuel moyen d'environ  $6 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ . Sa longueur totale est d'environ 45 km pour un bassin versant de  $400 \text{ km}^2$  dont 59 se situent en Belgique (figure 9).

Le substrat géologique au pied des Ardennes est constitué de schistes du Dévonien moyen et inférieur. La dénivelée totale du bassin est de 295 m pour une pente moyenne de 0,7 % et une pente maximale de 1,6 %. La Wiltz se caractérise par des débits d'eau élevés et variables en hiver, faibles et réguliers en été. Les hauteurs d'eau de la rivière sont relevées tous les jours à la station limnimétrique de Winseler (incluant un quart du bassin versant) par l'Administration des Services Techniques de l'Agriculture.

La rivière reçoit des charges polluantes de trois origines différentes : (1) des effluents domestiques insuffisamment épurés, notamment des villes de Bastogne et de Wiltz, (2) des eaux de ruissellement et de drainage d'une agriculture intensive sur sol acide et imperméable (densité des drains :  $1,23 \text{ km}^{-1}$ ) et (3) des effluents industriels de deux unités de l'ARBED qui produisent des feuilles métalliques par électrodeposition et de deux unités du groupe Sommer

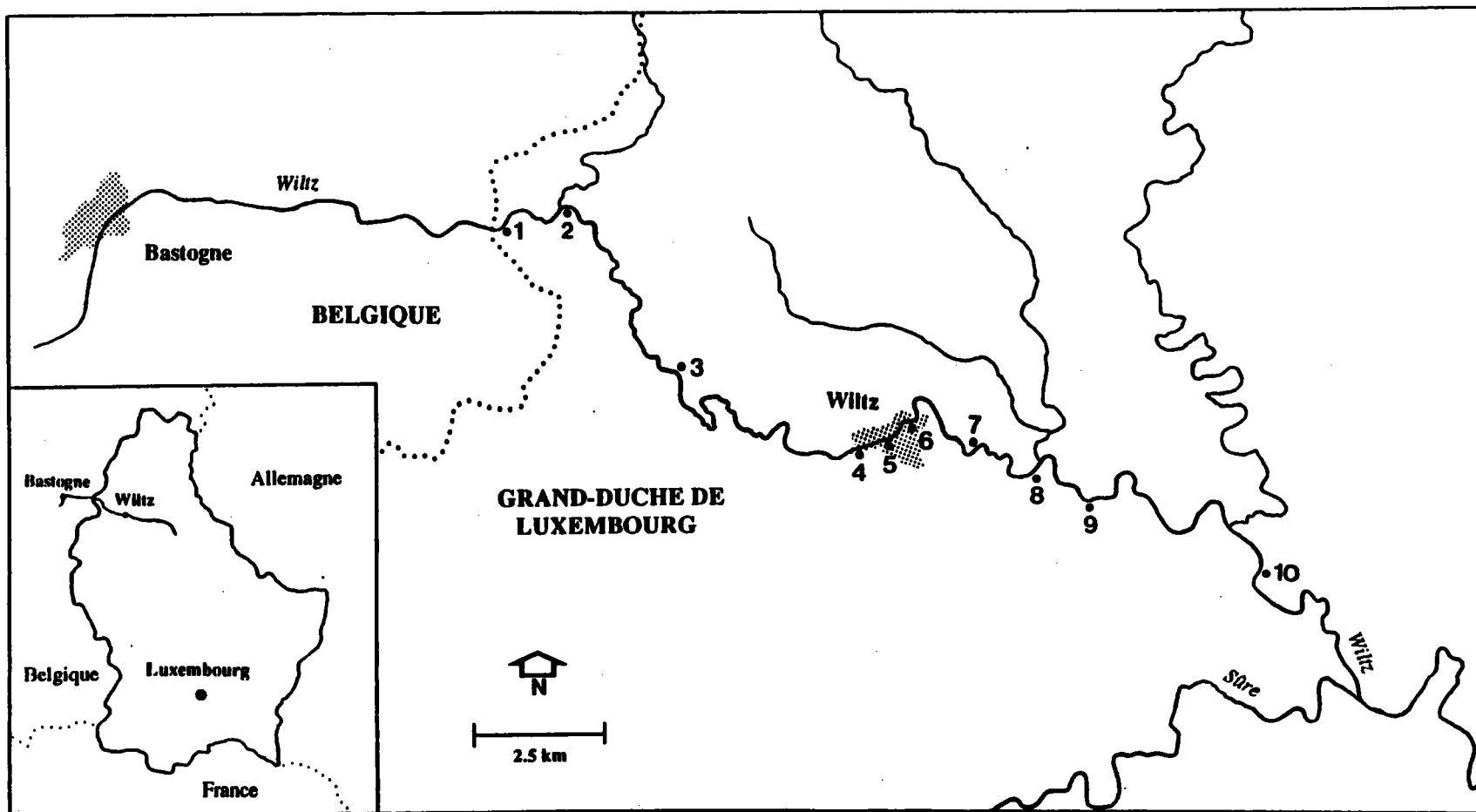


Figure 9. Localisation des stations d'étude sur la rivière Wiltz.

qui fabriquent principalement des revêtements de sol en PVC.

Dix stations d'étude ont été choisies en fonction des impacts anthropiques majeurs sur la rivière. La station 1 est située en amont de tout rejet métallique connu et fait le point sur la qualité de l'eau à la frontière. La station 3 constitue le témoin par rapport à la zone industrielle de la ville de Wiltz. Les stations 4, 5 et 6 sont localisées en aval des rejets industriels. Les sites 7 et 8 se trouvent en aval respectivement d'un rejet de station d'épuration et d'un drain d'une décharge mixte (communale et industrielle). Les stations 2, 9 et 10 sont situées sous l'influence de trois affluents majeurs de la Wiltz, dont l'un, en amont de la station 2, reçoit des eaux d'exhaure des anciennes mines de plomb de Chifontaine (B). La dernière station renseigne sur la qualité de la rivière avant sa confluence avec la Sûre.

### **b) Collecte et transfert des organismes indicateurs**

Les moules zébrées ont été prélevées dans la rivière Moselle à l'amont immédiat de Toul cinq jours avant le début de l'expérience. Ce site de référence présente des caractéristiques physico-chimiques semblables à celles des différentes stations de la Wiltz. Au laboratoire, 10 lots d'environ 200 individus sont placés sur des carrelages où les animaux se fixent généralement en 48 heures. La maintenance s'effectue dans de l'eau de distribution déchlorée, oxygénée par bullage d'air. Les moules sont régulièrement nourries jusqu'au transfert (cf. *Exp. 2*).

Le transport des moules du laboratoire vers le site d'implantation s'effectue dans des glacières remplies à un tiers avec de l'eau déchlorée. A chaque station, deux carrelages portant chacun environ 100 individus sont introduits dans une cage cylindrique en grillage plastifié renforcée aux deux extrémités par des disques en PVC dont l'un peut être dévissé (cliché 3). La cage est immergée à une trentaine de centimètres sous la surface de l'eau (si la profondeur le permet) dans une position qui assure une bonne circulation de l'eau au contact des organismes. Elle est fixée avec un fil de fer à un piquet métallique enfoncé dans la berge. Pour prévenir des actes de vandalisme, le dispositif est caché discrètement avec des plaques de schiste.

Bien que des populations autochtones de mousses existent dans la Wiltz, la technique de transfert a également été utilisée pour respecter une certaine homogénéité dans le protocole expérimental. Le matin même du transfert, des bryophytes de l'espèce *Fontinalis antipyretica* ont été prélevées dans la Sûre en aval du barrage de la Haute-Sûre. Ce site est dépourvu de pollution chimique, car la retenue constitue une réserve d'eau potable. Le transport des mousses s'effectue dans une glacière remplie avec de l'eau du site d'origine.

A chacune des stations d'étude, une touffe d'environ 40 g de poids frais essoré est placée dans un sachet grillagé en matière synthétique d'une dimension de 20 x 15 cm et une ouverture de maille de 8 mm (cliché 4). Un caillou ajouté comme lest assure une bonne immersion des





Clichés 3 et 4 : Dispositif expérimental de terrain.

En haut : dreissènes fixées sur un carrelage et cage protectrice;

En bas : mousses à l'intérieur d'un sachet grillagé attaché à une racine d'arbre et placé à côté de bryophytes autochtones.

échantillons. Le sachet est fixé à côté de la cage contenant les moules.

### **c) Entretien du dispositif expérimental**

Le dispositif expérimental nécessite une surveillance et un entretien réguliers. En effet, des dépôts de sédiment et de débris végétaux, mais aussi une colonisation progressive par des invertébrés réduisent la circulation de l'eau à l'intérieur des cages et risquent d'asphyxier les mollusques et de colmater les bryophytes. A des intervalles de 5 à 7 jours pendant les 13 semaines de l'étude, le dispositif a été débarrassé des corps étrangers par une agitation soigneuse dans l'eau suivie d'un rinçage sous un jet d'eau de pissette. Ce travail a été réalisé en grande partie par une équipe de l'association de protection de l'environnement "Mouvement écologique" (\*).

### **d) Protocole des prélèvements**

Le protocole des prélèvements est différent pour chacun des deux organismes transférés. En effet, les 4 prélèvements successifs de moules sont effectués à partir d'un stock unique introduit au début de l'expérience. En revanche, la touffe de mousse est récupérée en totalité et remplacée par un nouveau lot prélevé sur le site de référence. L'organisation est donc telle qu'il s'agit d'une étude continue pour les dreissènes avec des temps de séjour croissants et d'une succession de 4 prélèvements pour les mousses sans aucun lien entre eux (figure 10). Les mousses permettront donc d'évaluer l'histoire récente de la contamination du cours d'eau alors que les moules indiqueront le cumul biologique des événements.

Ce protocole est justifié par plusieurs constatations. D'abord, les cinétiques d'accumulation des micropolluants sont suffisamment rapides chez les bryophytes pour renoncer à des durées d'exposition importantes (Mouvet, 1985; Kelly *et al.*, 1987). Ensuite, la méthode de transfert de mousses (Mouvet, 1986) n'est pas conçue pour des temps de séjour prolongés, car les végétaux sont très serrés dans les sachets et risquent de jaunir puis de pourrir au bout de quelques semaines. Enfin, et c'est l'idée principale, les informations recueillies avec les mousses concernant les événements qui se seront produits pendant chacune des 4 périodes d'étude prises séparément devraient aider à évaluer l'influence des changements possibles de la condition physiologique des moules transférées sur leur capacités indicatrices. En définitive, ce concept permettra une comparaison détaillée des données obtenues par les deux indicateurs caractérisés par des mécanismes d'accumulation fondamentalement différents.

L'expérience avec immersion des échantillons d'organismes a débuté le 24 avril 1990. Les campagnes de prélèvement ont été menées les 21 mai, 14 juin, 8 et 23 juillet. L'ensemble des autres mesures et analyses a été organisé autour du plan de prélèvement des indicateurs.

---

(\*) A ce titre, nous tenons à remercier tout particulièrement M. Fernand Tholl et Mme Alexa Wagner.

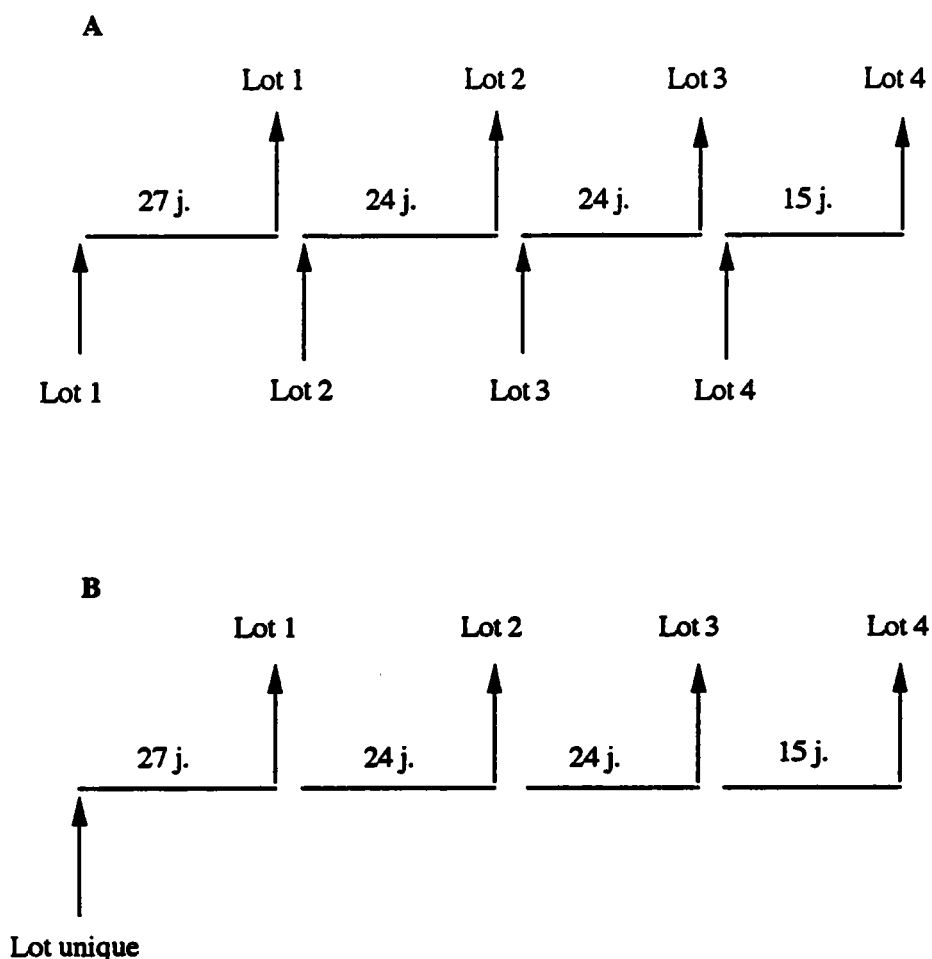


Figure 10. Protocole expérimental de la première expérience de surveillance active sur la Wiltz.

A : mousses; B : moules.

### e) Etude de la qualité physico-chimique et biologique de la Wiltz

Les compartiments inorganique et biologique de la rivière ont été étudiés afin de disposer d'un maximum d'informations sur la qualité de l'eau lors de l'exploitation des données biométriques et écotoxicologiques concernant les organismes indicateurs.

Lors des tournées d'entretien du dispositif expérimental, la température et la conductivité de l'eau ont été mesurées par l'équipe de terrain. Une douzaine d'autres paramètres physico-chimiques a été étudiée à trois reprises (les 3 mai, 3 juillet et 23 juillet) par les services de l'Administration de l'Environnement (\*). Parmi ceux-ci, les 7 suivants se sont révélés intéressants pour illustrer l'impact des activités humaines sur la qualité de l'eau de la rivière : Na, Cl,  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$ , P total,  $\text{O}_2$  dissous et  $\text{DBO}_5$  (demande biochimique en oxygène).

(\*) Un merci spécial s'adresse à Mme Monique Back.

Comme la nourriture de la dreissène est principalement composée de phytoplancton (Walz, 1978; Ten Winkel et Davids, 1982; Testard, 1991), la chlorophylle-*a* peut être considérée comme un bon descripteur du potentiel trophique d'un milieu (Smit *et al.*, 1992). Des analyses de chlorophylle-*a* dans la Wiltz ont été réalisées aux stations 1, 3, 6, 9 et 10 à l'occasion des 4 campagnes de prélèvement d'organismes.

La qualité biologique de la Wiltz a été évaluée par la méthode belge des indices biologiques (Institut Belge de Normalisation, 1984). La diversité d'une communauté de macro-invertébrés benthiques d'un site est exprimée sur une échelle de 0 (très mauvaise qualité biologique) à 10 (très bonne qualité). Des relevés faunistiques, qui permettent donc de chiffrer la dégradation d'une biocénose, ont été réalisés à 7 des 10 stations à la même saison avant et après notre étude (septembre 1989 et août 1990) par les services de l'Administration des Eaux et Forêts (\*).

#### **f) Prélèvements d'échantillons d'eau destinés au dosage des métaux**

Lors des tournées de l'équipe de terrain, environ 100 ml d'eau brute ont été prélevés dans un flacon en polyéthylène de 500 ml et immédiatement acidifiés. Les prises successives effectuées à une station donnée ont été cumulées pendant l'intervalle de temps compris entre les différentes campagnes de prélèvement des organismes. Chacun des 40 d'échantillons d'eau brute (10 stations et 4 intervalles de temps) est donc constitué d'un mélange de 4 sous-échantillons. Ces échantillons multiples peuvent être considérés comme plus représentatifs qu'une prise unique. Les flacons sont conservés à 4 °C jusqu'à l'analyse des métaux (cf. § 3.3).

#### **g) Prélèvement des organismes indicateurs**

A chacune des stations d'étude, un échantillon d'environ 30 moules est prélevé, rincé et placé dans un flacon de 2 L rempli avec de l'eau du site pour le transport (cf. § 2.1). Dans la mesure du possible, les moules très faiblement fixées ou des animaux spontanément défixés ne sont pas collectés.

Les mousses sont sorties de leur sachet et rincées par agitation manuelle dans une bassine remplie avec de l'eau de rivière. La touffe est ensuite essorée et placée dans une enveloppe en papier pour le transport.

#### **h) Paramètres biologiques d'évaluation de la condition des moules**

Lors d'expériences de transfert, il faut tenir compte du fait que l'état physiologique des moules est influencé par les caractéristiques environnementales spécifiques de chaque station.

---

(\*) Ce travail a été réalisé par Mme Mady Molitor qui a très aimablement mis les résultats à notre disposition.

Un suivi de la condition des animaux s'impose d'autant plus que ces modifications peuvent avoir des répercussions sur la capacité indicatrice des organismes sentinelles.

Le taux de mortalité d'une population peut être considéré comme le paramètre le plus simple pour savoir si les animaux introduits s'adaptent à leur nouveau milieu et comment ils le supportent en fonction du temps d'exposition. La mortalité est relevée lors de chaque campagne de prélèvement en dénombrant les coquilles vides. Un premier indice de condition sublétaux utilisé dans ce travail est la capacité de refixation des animaux prélevés. Le pourcentage de moules fixées est déterminé à la fin de la période de purge de 24 heures au laboratoire. Le fait que ce descripteur s'applique à des organismes vivants constitue un avantage indéniable ; il peut donc être interprété comme une mesure de la morbidité des animaux. Le second paramètre physiologique est le poids sec des parties molles. Il est déterminé par pesée après dissection et séchage des organismes. Les procédures détaillées relatives à la mesure des deux indices sublétaux seront décrites plus loin (§ 3.1).

#### **2.4.2. Etude de la retenue du Mirgenbach (Exps. 4 et 5)**

##### **a) Présentation du site**

La retenue du Mirgenbach est un réservoir artificiel d'une centaine d'hectares et d'une capacité de  $7,3 \cdot 10^6 \text{ m}^3$  (figure 11). Elle sert de tampon thermique et de réserve d'eau de sauvegarde aux quatre réacteurs d'une puissance unitaire de 1300 MW de la centrale nucléaire de Cattenom. L'eau destinée au circuit de refroidissement tertiaire est pompée dans la Moselle avec un débit de  $8,8 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ . Les aéroréfrigérants évaporent  $3,0 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$  et les eaux de purge ( $5,0 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ ) sont injectées, avec des débits annexes, dans la retenue au niveau d'un ouvrage de rejet. Le temps de séjour moyen de l'eau est d'environ 10 jours pour le fonctionnement des 4 réacteurs. Un ouvrage de prise d'eau permet un débit sortant équivalent vers la Moselle. Ce schéma de fonctionnement du circuit de refroidissement est simplifié ; en réalité, sa gestion est complexe et plusieurs options s'offrent à l'exploitant qui peut ou non fonctionner en boucle sur la retenue ou bien court-circuiter celle-ci. Les micropolluants métalliques présents dans la retenue ont deux origines possibles : les eaux de la Moselle et les circuits de refroidissement de la centrale.

Deux stations ont été retenues sur le plan d'eau. La première se trouve relativement proche du point d'injection des eaux de purge, la deuxième est localisée près de l'ouvrage de prise avant rejet en Moselle (figure 11). Ces stations correspondent aux points 2 et 4 du programme permanent d'étude hydrobiologique de la retenue du Mirgenbach réalisé par le Centre de Recherches Ecologiques de l'Université de Metz.

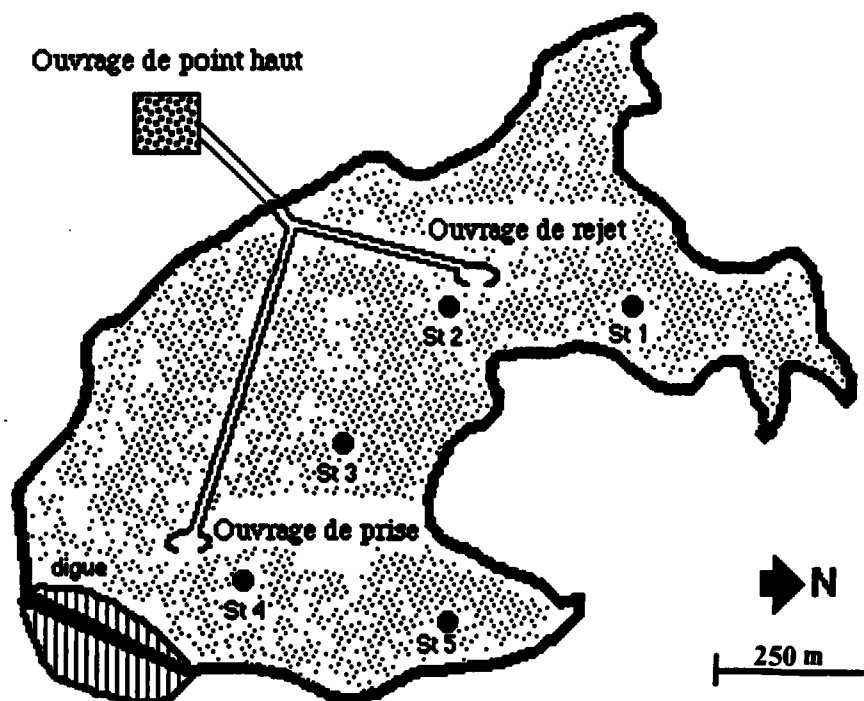


Figure 11. Plan de la retenue du Mirgenbach avec stations d'étude.

### b) Surveillance passive dans le temps

Le suivi de la contamination métallique de la retenue a été réalisé par des analyses d'eau brute et de moules zébrées autochtones. Les mollusques ont été récoltés sur un support immergé en pleine eau à environ 1,50 m sous la surface. La périodicité des prélèvements a été bimensuelle de décembre 1989 à juin 1990 et mensuelle de juillet 1990 à août 1992.

### c) Comparaison entre la population autochtone et trois populations transférées

En octobre 1991, des moules issues de deux populations de la Moselle, celles de Millery et de Pont-à-Mousson, ont été transférées aux stations 2 et 4 de la retenue. Les cages ont été fixées au dispositif qui porte les moules indigènes. Un troisième lot prélevé à Apach a été introduit uniquement à la station 2. Les trois sites d'origine des animaux transplantés ne peuvent pas être considérés comme des sites de référence. Cependant, il fallait choisir des populations vivant dans une eau fortement minéralisée - donc situées en aval de la confluence de la Meurthe - capables de supporter la salinité élevée de la retenue. Par ailleurs, une conta-

mination modérée de ces moules n'était pas nécessairement considérée comme un désavantage. En effet, parallèlement à l'accumulation de certains métaux, cette étude donnerait la possibilité de suivre les capacités d'élimination d'autres éléments.

Des prélèvements, espacés chaque fois de 2 semaines, ont été réalisés entre le 26 octobre 1991 (témoins) et le 20 janvier 1992. Pendant cette période, la fréquence des collectes de moules autochtones a été adaptée à celle des organismes introduits, en les intégrant dans le calendrier de la surveillance de routine.

Les caractéristiques physiologiques de la population autochtone et des trois populations transférées ont été évaluées à l'aide des trois descripteurs de condition précédemment définis, à savoir le taux de mortalité, la capacité de fixation et le poids sec des parties molles (cf. § 2.4.1.h). Par ailleurs, le poids sec des coquilles a été déterminé afin de calculer pour chacune des populations l'indice de chair (*flesh condition*). Cet indice exprime le rapport entre le poids sec des parties molles et le poids sec de coquilles (Lobel et Wright, 1982; Roper *et al.*, 1991). Il faut préciser que ce descripteur n'a pas été utilisé dans le cas de l'étude de la Wiltz, car le poids des coquilles a considérablement varié à certaines stations du fait d'une décalcification (cf. cliché 2).

#### **2.4.3. Etude de la Meurthe et de la Plaine (Exp. 7)**

##### **a) Présentation du site**

Le secteur étudié de la rivière Meurthe et l'un de ses affluents, la Plaine, sont situés au pied du versant lorrain des Vosges. La géologie du bassin est dominée par le grès vosgien perméable avec des éléments de granite acide. Ce substrat engendre des eaux de surface très faiblement minéralisées. La Meurthe et la Plaine se caractérisent par des débits d'eau importants, en raison de la forte pluviométrie dans le massif qui atteint le double de celle enregistrée en plaine. La Meurthe se jette dans la Moselle près de Nancy (figure 12).

Huit stations ont été sélectionnées, six le long de la Meurthe et deux sur la Plaine. Elles sont situées en aval de rejets de papeteries (stations 2 et 6), d'ateliers de traitement de surface (stations 4 et 5) et de cristallerie (station 7). Le site 1 a été choisi en amont des principales papeteries du bassin ; la station 8 se trouve près d'un captage destiné à la production d'eau potable.

##### **b) Transfert des organismes, prélèvements et analyses**

Des moules zébrées et des mousses aquatiques de l'espèce *Cinclidotus nigricans* ont été collectées respectivement dans la Moselle à Toul et dans le Woigtot à Briey. Le dispositif expérimental a été identique à celui utilisé lors de l'étude de la Wiltz (cf. § 2.4.1.d). L'unique différence est le nombre des prélèvements qui s'est limité à 2 au lieu de 4.

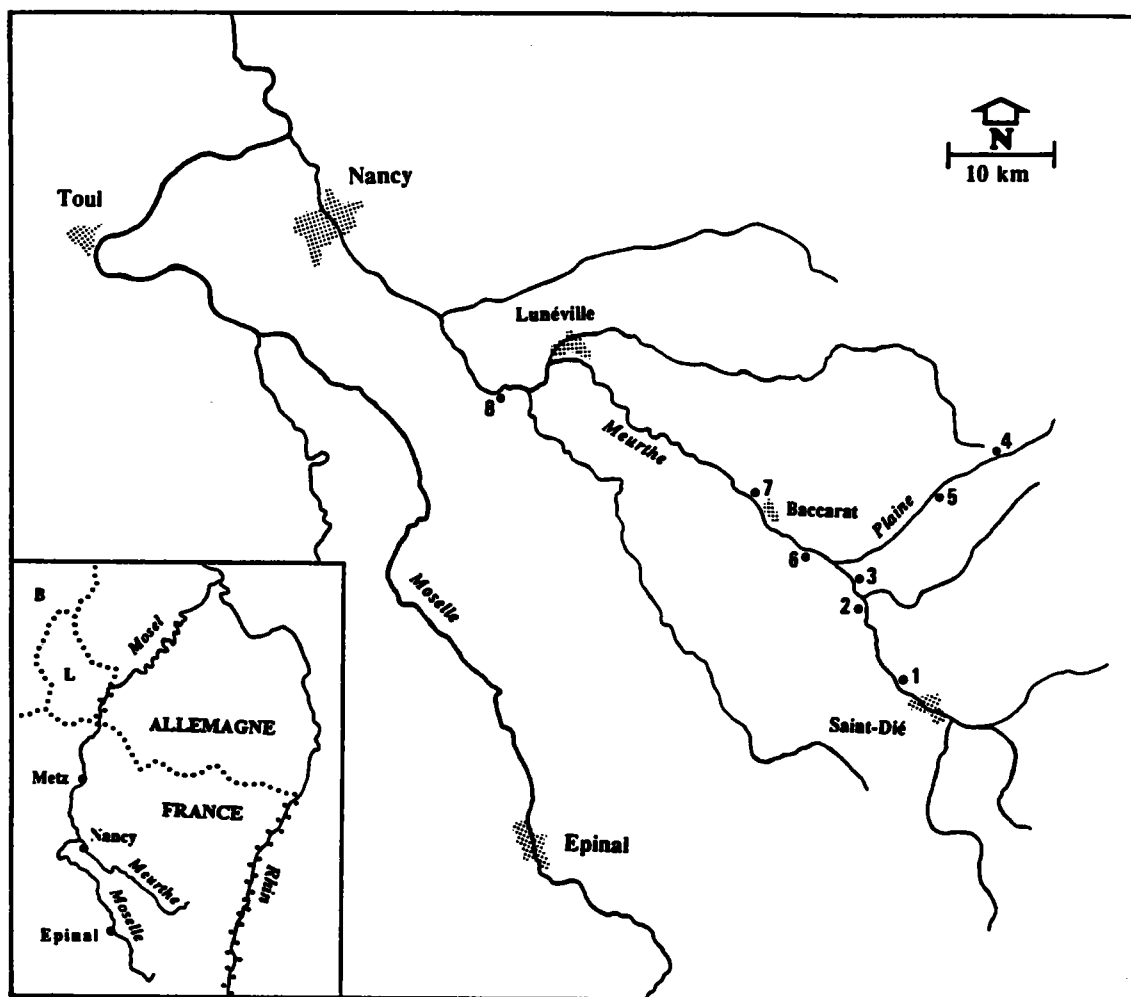


Figure 12. Carte des stations d'étude dans le bassin de la Meurthe.

Une cage contenant une centaine de dreissènes et un sachet avec environ 40 g de mousses ont été immergés à chacune des stations de la Meurthe et de la Plaine le 4 octobre 1990. Après trois semaines, les mousses ont été retirées et remplacées par une nouvelle touffe pour une durée d'exposition équivalente. Des échantillons de moules ont été prélevés lors des mêmes campagnes à partir d'un stock initial, donc après des temps de séjour de 3 et 6 semaines. A la fin de l'expérience, des mousses indigènes de l'espèce *Fontinalis antipyretica* ont été récoltées à proximité immédiate des organismes transférés. Cette espèce très commune dans le bassin n'a pas pu être trouvée aux stations 2 et 8.

Des tournées d'entretien du dispositif et de prélèvements d'échantillons d'eau ont été réalisées selon un protocole semblable à celui utilisé pour l'étude de la Wiltz (\*). Les trois paramètres biologiques, mortalité, morbidité et poids sec, ont également été étudiés pour connaître l'état physiologique des moules.

(\*) Nous tenons à remercier M. Christian Villaume pour son aide précieuse sur le terrain.



#### **2.4.4. Seconde étude de la Wiltz (Exp. 8)**

Cette deuxième expérience de transfert a été réalisée dans le but de comparer les caractéristiques indicatrices de deux populations de moules zébrées d'origine différente placées dans les mêmes conditions environnementales. Elle permet de compléter l'étude effectuée sur la retenue du Mirgenbach (cf. Exp. 5), car l'accumulation de plusieurs métaux différents a pu être suivie.

Les animaux transférés ont été collectés dans la rivière Meuse à Commercy et dans la rivière Moselle à Pont-à-Mousson. Ces deux sites ont été choisis pour leur situation contrastée : le premier est dépourvu de pollution métallique alors que le deuxième est touché par des rejets de l'industrie sidérurgique. Le vécu de ces deux populations n'est donc pas du tout le même quant à leur contact avec des micropolluants métalliques. Parallèlement au transfert de moules, deux espèces différentes de mousses, *Rhynchostegium riparioides* et *Fontinalis antipyretica*, prélevées dans l'Orne à Hatrize ont été immergées dans la Wiltz. Comme pour les moules, l'objectif de l'expérience consiste à comparer les différences d'indications susceptibles d'être obtenues dans le cadre de surveillances de routine lorsque le matériel biologique est hétérogène.

L'étude a été menée entre le 6 août et le 29 septembre 1992. Deux prélèvements ont été effectués après 27 et 54 jours d'exposition selon le protocole expérimental décrit précédemment (cf. 2.4.1.d et 2.4.3.b). Quatre stations ont été retenues dont trois sont directement influencées par les rejets industriels ; la dernière se situe plus en aval et correspond à la station 10 de la première étude sur la Wiltz (cf. figure 9).

### **3. Techniques analytiques**

Les procédures et techniques de préparation des échantillons en vue du dosage ont été affinées au cours du travail. Le protocole présenté ci-dessous est considéré comme le plus performant.

#### **3.1. Préparation des moules et mesures biométriques**

Au retour du terrain, les dreissènes sont disposées sur un carrelage placé dans un bac de 5 L rempli avec de l'eau de distribution déchlorée afin de permettre la purge du tractus digestif (Talbot, 1985; Léglize et Crochard, 1987). Le milieu est aéré par bullage d'air. Les animaux ne sont pas nourris. Après 24 heures, le pourcentage d'individus qui a été capable de se fixer à l'aide d'un byssus est déterminé. Le critère d'une fixation réussie est une position stable de l'animal lorsque le carrelage est retourné. La longueur de coquille ( $\pm 0,5$  mm) de chacune des moules est ensuite mesurée à l'aide d'un pied-à-coulisse. Deux sous-échantillons

de 12 spécimens chacun sont constitués en respectant une répartition homogène selon la taille et l'aspect général des animaux. Si le dosage n'est pas immédiat, il y a possibilité de conserver les échantillons au congélateur à -18 °C en les protégeant contre la dessiccation dans un petit sachet en matière plastique. La congélation est également la méthode la plus rapide pour tuer les animaux.

Les moules sont disséquées avant leur décongélation complète. Les parties molles sans les byssus sont étalées dans une boîte de Petri et séchées dans une étuve à 40 °C. Le poids sec des parties molles est déterminé par pesée ( $\pm 1$  mg) en ayant pris soin de tarer les boîtes auparavant. Le broyage s'effectue à la main dans un mortier jusqu'à obtention d'une poudre homogène. Environ 300 mg de chaque sous-échantillon sont minéralisés pendant 24 heures à 70 °C et sous pression dans des tubes en polyéthylène en utilisant 2,5 ml d'acide nitrique à 36 % (qualité normapur, environ 8M). Cette attaque acide détruit toute la matière organique, sauf une partie des lipides qui reste collée aux parois des tubes. Après refroidissement, le volume est ajusté à 19 ml avec de l'eau distillée. L'acidité des minéralisats est alors d'environ 5 %. Des essais à blanc, inclus dans chaque série de 20 tubes, sont destinés à évaluer l'apport métallique du matériel et des produits chimiques ainsi que d'éventuelles contaminations survenues lors de la manipulation. Les minéralisats sont stockés en chambre froide à 4 °C jusqu'à l'analyse.

Le dosage du mercure nécessite une préparation séparée, car la matrice est dénaturée par l'ajout d'un réactif lors de l'analyse. Comme les concentrations géochimiques de mercure dans les dreissènes sont faibles, une masse importante de tissu doit être minéralisée. Pour ce faire, approximativement 500 mg de poudre composée de 250 mg de chaque sous-échantillon sont digérés dans 5 ml d'acide nitrique à 36 %.

### **3.2. Préparation des mousses**

Après un premier nettoyage grossier sur le terrain, un second rinçage est réalisé au laboratoire sous un jet d'eau déminéralisée sous pression (Mouvet, 1986). Cette étape nécessite un soin tout particulier, car des différences de traitement ont des répercussions importantes sur les résultats d'analyse (Wehr *et al.*, 1983). Environ 20 g de mousses essorées sont ensuite placés dans des sachets en papier et séchés dans une l'étuve à 45 °C. Les apex des brins vivants (3 à 5 cm selon l'espèce) sont coupés et environ 2 g de poids sec sont conservés au sec.

La technique de minéralisation est semblable à celle utilisée pour les moules ; seules quelques différences mineures sont à signaler. Pour une question de volume nécessaire pour immerger les brins, l'attaque acide est réalisée avec 5 ml de HNO<sub>3</sub> à 18 % (environ 4 M) pour une masse de 300 mg de mousses non broyées. Comme les parois végétales ne sont pas

entièrement détruites lors de la minéralisation, une étape de centrifugation pendant 15 minutes à 2500 t.p.m. est nécessaire pour obtenir une solution limpide à soumettre au dosage. Pour l'analyse du mercure, 1 g de mousses séchées est attaqué avec 17 ml d'acide à 18 % dans des tubes de 40 ml. Il faut noter que, dans le cas du mercure, les volumes utilisés importent peu, puisque des quantités et non pas des concentrations de métal sont mesurées.

### 3.3. Analyse des métaux dans les échantillons d'eau

Le dosage est réalisé par spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA) en flamme pour le fer et le zinc (Perkin-Elmer 2380) et au four à graphite pour le cadmium, le chrome, le cuivre et le plomb (Perkin-Elmer 305B et Varian SpectrAA 300/400). Les concentrations sont exprimées en  $\mu\text{g L}^{-1}$  pour tous les métaux, sauf en  $\text{mg L}^{-1}$  pour le fer. Les limites de détection sont indiquées dans le tableau 4. Des analyses répétées dans le temps ont montré que les échantillons d'eau peuvent être conservés sans dommage à la chambre froide pendant au moins 6 mois.

Métal	Technique d'analyse en SAA	
	flamme	four
Cd		0,02
Cr		1
Cu		1
Fe	5	
Pb		1
Zn	2	

Tableau 4. Limites de détection des métaux dans l'eau ( $\mu\text{g/L}$ ) selon la technique d'analyse utilisée.

### 3.4. Analyse des métaux dans les organismes

Dans les minéralisats obtenus à partir des tissus de moules, le cuivre, le fer, le nickel et le zinc sont dosés par SAA en flamme ; le cadmium, le chrome, le plomb et l'étain (analysé uniquement lors de l'étude de la Wiltz; *Exp. 6*) sont dosés au four graphite. Comme les concentrations métalliques sont en général plus élevées dans les mousses que dans les moules, l'ensemble des éléments, à l'exception de l'étain, peut être dosé en flamme. Les résultats d'analyse sont exprimés en  $\mu\text{g L}^{-1}$ . La conversion en  $\mu\text{g}$  de métal par g de poids sec est obtenue en multipliant la valeur observée par le volume des tubes (en ml) et en divisant ce résultat par la masse de tissu digéré (en mg).

Le mercure et l'arsenic sont dosés en SAA respectivement par la technique des vapeurs froides et par la méthode des hydrures. Ces métaux sont volatils sous forme réduite et peuvent être entraînés dans un flux gazeux. La réduction des formes oxydées en solution acide est réalisée respectivement par  $\text{SnCl}_2$  et  $\text{NaBH}_4$ . Contrairement au mercure, l'analyse de l'arsenic ne nécessite pas de préparation séparée, car les concentrations sont suffisamment élevées pour n'utiliser qu'un volume très faible de minéralisant (moins de 1 ml). Le résultat des analyses est exprimé en  $\mu\text{g}$  de métal. Pour exprimer la concentration en  $\mu\text{g g}^{-1}$  de poids sec, il faut diviser la valeur obtenue par la masse de tissu (en g) contenue dans le volume soumis au dosage.

Les résultats d'analyse sont exprimés par la moyenne  $\pm$  l'écart entre les deux sous-échantillons. Pour les mollusques, l'écart par rapport à la moyenne peut être interprété comme une évaluation de la variabilité biologique. En revanche, la notion d'individu est plus difficile à définir dans le cas des bryophytes ; les deux duplicats représentent donc plutôt une incertitude sur la mesure qu'une estimation de l'hétérogénéité de la population. Les seuils de détection des métaux, exprimés en  $\mu\text{g g}^{-1}$  de poids sec, sont reportés dans le tableau 5.

Métal	Technique de dosage en SAA		
	flamme	four	après réduction
As			0,01
Cd	1	0,1	
Cr	2	0,3	
Cu	2		
Fe	50		
Hg			0,02
Ni	5		
Pb	5	0,3	
Sn		1	
Zn	5		

Tableau 5. Limites de détection des métaux dans les organismes ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec) selon la technique d'analyse utilisée.

Lors des analyses, des ajouts dosés ont été réalisés de façon systématique sur environ 10 à 25 % des échantillons, selon le métal et la technique de dosage considérés. L'ajout dosé consiste à additionner à la matrice une quantité connue de métal sans faire varier de façon significative le volume. La différence entre la réponse calculée et la réponse observée pour

l'ajout définit l'effet de matrice. On obtient ainsi un facteur correcteur qui tient compte de l'interférence de la constitution de la matrice avec l'analyse. Les résultats sont systématiquement corrigés par l'effet de matrice.

L'exactitude des mesures a été vérifiée à l'aide d'échantillons certifiés (Bureau communautaire des standards, Bruxelles) et de calibrations inter-laboratoires.

Afin d'illustrer la sensibilité des techniques analytiques, on peut transposer le seuil de détection du mercure ( $20 \text{ ng g}^{-1}$ ) dans des dimensions mieux perçues. Ce rapport de masse de  $1/50.000.000$  correspond à un rapport de distance de 1 mm pour 50 km ou à un rapport de volume de 1 goutte d'eau dans  $2,5 \text{ m}^3$  ou encore un rapport de temps de 1 seconde dans une année et demie.

### **3.5. Particularités adoptées lors de l'expérience de laboratoire**

Comme un seul métal est analysé dans chaque échantillon, le volume de minéralisat préparé a été réduit à 10 ml aussi bien pour les moules que pour les mousses. Tous les paramètres (masse de tissu, volume d'acide) ont été adaptés de façon à constituer des matrices identiques à celles décrites plus haut. Du fait d'un besoin de masse plus faible, le nombre de moules par échantillon a été limité à 16 (deux sous-échantillons de 8 individus).

## **4. Traitement des données**

Plusieurs tests statistiques ont été appliqués dans le cadre de ce travail en fonction de la nature des données recueillies et du type d'exploitation souhaité. L'existence d'une relation entre deux variables a été testée par régression selon la méthode des moindres carrés. Des différences significatives entre deux populations ont été déterminées à l'aide du test  $t$  de Student avec ou sans valeurs appariées. Dans le cas de l'étude de la Wiltz, une analyse de régression multiple a été utilisée pour modéliser l'accumulation des micropolluants métalliques dans les moules et dans les mousses. Le niveau de signification à 0,05 a été adopté pour tous les traitements statistiques.

## Aide-mémoire :

### Récapitulatif des expériences

---

Expérience	Objet	Présentation	Résultats
1	Concentrations de référence	p. 46	p. 73
2	Laboratoire : cuivre et cadmium	p. 47	p. 77
3	Moselle : surveillance passive	p. 51	p. 91
4	Mirgenbach : surveillance passive	p. 60	p. 97
5	Mirgenbach : surveillance active	p. 60	p. 111
6	Wiltz : surveillance active	p. 53	p. 123
7	Meurthe et Plaine : surveillance active	p. 62	p. 142
8	Wiltz II : surveillance active	p. 64	p. 150

---

## **CHAPITRE III**

**PRESENTATION DES RESULTATS**

**DISCUSSION**

**CONCLUSION ET ENSEIGNEMENTS PRATIQUES**

## **Remarque préliminaire**

Lors des expériences de terrain (*Exps. 1 et 3 à 8*), 9 métaux (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb, Zn) ont été systématiquement dosés dans les moules zébrées ; l'étain (Sn) a été analysé uniquement lors de la première étude de la Wiltz (*Exp. 6*). Pour ne pas surcharger ce chapitre, seules les données sur les éléments qui apportent des informations utiles seront présentées et discutées. Ainsi, l'arsenic et le mercure qui ont atteint très rarement des concentrations élevées dans les mollusques ne sont jamais traités. Ces deux métaux sont d'ailleurs le plus souvent négligés dans les programmes de surveillance, sans doute parce que l'analyse nécessite un travail très important.

## **1. Détermination des concentrations métalliques de référence dans**

### ***Dreissena polymorpha (Exp. 1)***

#### **1.1. Rappel de l'objectif**

La connaissance des concentrations métalliques naturelles dans la moule est essentielle pour assurer une interprétation correcte des résultats écotoxicologiques recueillis sur un site contaminé, que ce soit à l'aide d'animaux autochtones ou transférés. Les concentrations métalliques de base dans les moules correspondent aux teneurs physiologiques pour les oligoéléments (Cr, Cu, Fe, Ni, Zn) et aux niveaux géochimiques pour les éléments non essentiels (As, Cd, Hg, Pb).

#### **1.2. Présentation des résultats**

Pour ce travail, quatre sites non ou peu pollués ont été sélectionnés, à savoir la Moselle à Toul, la Meuse à Commercy, le Lac de Madine et l'Etang du Stock. Parmi les échantillons récoltés entre 1989 et 1991, les moules de la Meuse se distinguent par les concentrations métalliques les plus faibles (tableau 6). Les analyses de trois échantillons supplémentaires prélevés sur ce site confirment les résultats antérieurs. Elles montrent par ailleurs que les fluctuations saisonnières sont faibles. Curieusement, des teneurs métalliques en partie nettement plus élevées ont été mesurées dans les moules collectées en milieu lacustre, c'est-à-dire dans le Lac de Madine et dans l'Etang du Stock. On note également des différences marquées entre ces deux sites, notamment pour les échantillons récoltés le même jour en juillet 1991. Pour certains métaux (Cd, Ni, Zn), les concentrations y sont même supérieures à celles observées dans la Moselle à Toul, un site pourtant localisé en aval de rejets sidérurgiques.

#### **1.3. Discussion**

Les concentrations métalliques régionales sont comparables à celles rapportées pour



Site	Date	Cd ( $\mu\text{g/g}$ )	Cr ( $\mu\text{g/g}$ )	Cu ( $\mu\text{g/g}$ )	Fe (mg/g)	Hg ( $\mu\text{g/g}$ )	Ni ( $\mu\text{g/g}$ )	Pb ( $\mu\text{g/g}$ )	Zn ( $\mu\text{g/g}$ )
Moselle à Toul *	04. 90	0,9	2,9	17	0,26	0,14	22	1,3	137
	10. 90	0,8	1,2	11	0,15	0,11	12	0,9	86
Meuse à Commercy *	10. 91	0,5	0,2	8	0,10	0,08	7	0,2	99
	02. 92	0,7	0,6	10	0,10	n.d.	6	0,2	93
	05. 92	0,5	0,3	9	0,08	0,09	9	0,2	103
	08. 92	0,7	0,7	9	0,11	n.d.	17	0,2	128
Lac de Madine	02. 89	1,0	1,2	18	0,63	0,07	n.d.	1,5	101
	07. 91	2,3	1,0	16	0,43	0,09	50	0,7	139
Etang du Stock	07. 91	1,1	0,2	12	0,15	0,10	24	0,6	153

Tableau 6. Concentrations métalliques (moyenne de deux sous-échantillons) dans les moules zébrées de sites non ou peu pollués.

\* : population utilisée dans des expériences de transfert,

n.d.: non déterminé.

des sites de référence localisés en Allemagne (ARGE Elbe, 1991; Busch *et al.*, 1992) et aux Pays-Bas (Kraak *et al.*, 1991). Elles sont également compatibles avec les niveaux observés dans une population de la Moselle transférée en situation de décontamination dans le secteur amont de la rivière Orne (Léglize et Crochard, 1987; tableau 7). La comparaison des deux tableaux souligne bien les concentrations métalliques extrêmement faibles dans les moules de la Meuse. Il faut préciser que le cas de l'arsenic n'a pas été traité, car aucune donnée de comparaison n'est disponible dans la bibliographie.

Malgré certaines spécificités, l'homogénéité des données est assez remarquable compte tenu de la diversité géologique et hydrologique des sites de prélèvement. On peut considérer en effet que les concentrations métalliques dans les organismes sont influencées par deux facteurs au moins : d'une part la concentration et la biodisponibilité des métaux d'origine géochimique dans l'eau (facteur extrinsèque), et d'autre part le potentiel génétique propre à chaque population de dreissènes (facteur intrinsèque). Ces deux caractéristiques pourraient notamment expliquer les différences entre le Lac de Madine et l'Etang du Stock. Pour le premier, il faut ajouter la contamination métallique apportée par les retombées atmosphériques de la sidérurgie lorraine et le lessivage par ruissellement des dépôts métalliques de même origine.

#### **1.4. Conclusion et enseignements pratiques**

L'ensemble des données permet de tirer deux types d'enseignement, l'un à caractère particulier dans le cadre de ce travail, l'autre de portée plus générale.

Les concentrations métalliques observées dans les dreissènes de la Moselle à Toul et de la Meuse à Commercy sont suffisamment faibles pour utiliser ces populations dans les expériences de laboratoire ou de surveillance active sur le terrain. Seules les moules du premier prélèvement de la Moselle présentent des teneurs en chrome et en plomb légèrement supérieures aux autres références. Il faut rappeler dans ce contexte que les populations accessibles des stations lacustres n'ont pas pu être exploitées à cause de leur densité trop faible. Cette situation pourrait s'expliquer par une mortalité périodique causée par des variations du niveau d'eau des retenues.

La comparaison des concentrations métalliques dans les dreissènes de différents sites faiblement contaminés suggère qu'il est plus correct de considérer une gamme de concentrations métalliques naturelles plutôt qu'une concentration unique de référence. Cette gamme tiendrait compte, dans une certaine mesure, des caractéristiques de terrain et de la variabilité génétique intra et inter-populations. Ce point sera développé dans le chapitre de synthèse des résultats.

Auteur(s)	Site	Cd ( $\mu\text{g/g}$ )	Cr ( $\mu\text{g/g}$ )	Cu ( $\mu\text{g/g}$ )	Fe (mg/g)	Hg ( $\mu\text{g/g}$ )	Ni ( $\mu\text{g/g}$ )	Pb ( $\mu\text{g/g}$ )	Zn ( $\mu\text{g/g}$ )
Léglize et Crochard (1987)	Orne amont (transfert)	n.d.	0,7	15	0,11	n.d.	n.d.	1,8	112
ARGE Elbe (1991)	Gatower See	0,6	71*	17	n.d.	0,07	n.d.	0,8	130
	Schaalsee	0,8	24*	16	n.d.	0,18	n.d.	0,6	154
Kraak et al. (1991)	lacs néerlandais (synthèse)	1,0	n.d.	12	n.d.	n.d.	n.d.	0,5	110
Busch et al. (1992)	Gatower See (moyenne)	0,4	0,5	9	n.d.	n.d.	16	0,9	115

Tableau 7. Concentrations métalliques dans les moules zébrées prélevées sur des sites de référence.

\* : valeur pouvant difficilement être considérée comme une donnée de référence,  
n.d.: non déterminé.

## 2. Accumulation et élimination du cuivre et du cadmium dans la moule

### *Dreissena polymorpha* et la mousse *Rhynchostegium riparioides*

#### (Exp. 2) (\*)

##### 2.1. Rappel des objectifs

Les expériences de laboratoire permettent d'acquérir des données écotoxicologiques de base en conditions idéalisées difficiles à trouver *in situ*. En ce qui concerne la moule zébrée, les aspects étudiés sont de deux ordres : (1) les cinétiques et les capacités d'accumulation et d'élimination d'un métal physiologique, le cuivre, et d'un élément non essentiel, le cadmium, et (2) les caractéristiques comportementales face à la présence d'un toxique dans le milieu. Par ailleurs, l'exposition dans les mêmes enceintes expérimentales d'un deuxième organisme sentinelle, la mousse *Rhynchostegium riparioides*, permet de préciser les propriétés indicatrices spécifiques à chacun des indicateurs. L'étude comparative des mécanismes et des caractéristiques des deux organismes est de première importance en vue d'une exploitation optimale de leurs avantages sur le terrain et d'une interprétation correcte des résultats de surveillance.

##### 2.2. Présentation des résultats

###### 2.2.1. Conditions expérimentales

La composition physico-chimique de l'eau a été homogène entre les différentes unités et est restée stable pendant toute la durée de l'expérience (tableau 8).

L'introduction des organismes dans les enceintes expérimentales a provoqué une chute des concentrations métalliques dans l'eau et ce, malgré le renouvellement continu du milieu. Les exemples des traitements avec  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  de cuivre et  $15 \mu\text{g L}^{-1}$  de cadmium (deuxième réplicat dans les deux cas) sont illustrés dans la figure 13. Des concentrations proches des valeurs nominales sont seulement retrouvées au bout de 5 jours. De ce fait, les concentrations d'exposition moyennes sont calculées sur la base des prélèvements journaliers d'eau entre le 6ème et le 27ème jour (tableau 9).

La perte de métal du milieu peut être évaluée par une mesure planimétrique de l'aire comprise entre la concentration initiale (jour 0) et la concentration au 6ème jour, estimée par la moyenne calculée entre le 6ème et le 27ème jour (zone hachurée, figure 13). Cette approximation moyenne est nécessaire, puisque l'évolution réelle des concentrations sans l'influence

---

(\*) Ce travail a fait l'objet d'une publication : Mersch J., Morhain E., Mouvet C., 1993. Laboratory accumulation and depuration of copper and cadmium in the freshwater mussel *Dreissena polymorpha* and the aquatic moss *Rhynchostegium riparioides*. *Chemosphere*, 27 (8):1475-1485 (cf. annexe 1).

Paramètre	$\bar{x} \pm s$	Minimum/maximum	n
Température (°C)	13,4 ± 0,3	11,6 / 15,7	176
pH	7,8 ± 0,1	7,5 / 8,3	176
Conductivité (µS/cm)	593 ± 11	560 / 611	176
O2 (% saturation)	101 ± 5	88 / 113	176
HCO3 (mg/L)	283 ± 12	259 / 300	26
PO4 (mg/L)	0,05 ± 0,03	0,01 / 0,14	26
SO4 (mg/L)	54 ± 4	49 / 61	26
NO3 (mg/L)	40 ± 8	24 / 50	26
Cl (mg/L)	20 ± 1	18 / 24	26
Na (mg/L)	5,0 ± 0,5	4,4 / 6,0	13
K (mg/L)	1,2 ± 0,1	1,1 / 1,4	13
Ca (mg/L)	109 ± 10	95 / 126	13
Mg (mg/L)	5,8 ± 0,2	5,4 / 6,1	13

Tableau 8. Composition physico-chimique de l'eau pendant l'expérience.

Traitement (concentration nominale)	Concentration observée (µg/L)		
	$\bar{x} \pm s$	Minimum/maximum	
Cu 8 µg/L, algues	9,0 ± 1,4	7,1 / 11,5	
Cu 20 µg/L, algues, répliat 1	21,0 ± 2,4	18,8 / 23,1	
Cu 20 µg/L, algues, répliat 2	19,9 ± 2,2	17,8 / 25,4	
Cu 20 µg/L, sans algues	21,6 ± 2,0	18,9 / 26,6	
Cu 50 µg/L, algues	50,1 ± 3,3	46,3 / 57,4	
Cd 5 µg/L, algues	5,7 ± 0,6	4,8 / 7,2	
Cd 15 µg/L, algues, répliat 1	16,6 ± 1,6	14,9 / 20,5	
Cd 15 µg/L, algues, répliat 2	13,8 ± 1,1	12,2 / 16,8	
Cd 45 µg/L, algues	43,6 ± 4,3	37,4 / 52,4	
Témoin, algues	Cu	4,5 ± 1,5	1,7 / 8,4
	Cd	0,3 ± 0,1	0,2 / 0,5
Témoin, sans algues	Cu	4,6 ± 1,5	2,6 / 8,8
	Cd	0,2 ± 0,1	0,2 / 0,5

Tableau 9. Concentrations en cuivre et en cadmium observées dans les différentes unités expérimentales entre le 6ème jour (stabilisation des concentrations) et le 27ème jour (fin de la phase d'exposition; n = 22).

Les phases d'exposition et de post-exposition n'ont pas été distinguées pour le calcul des concentrations métalliques dans les unités témoin (n = 32).

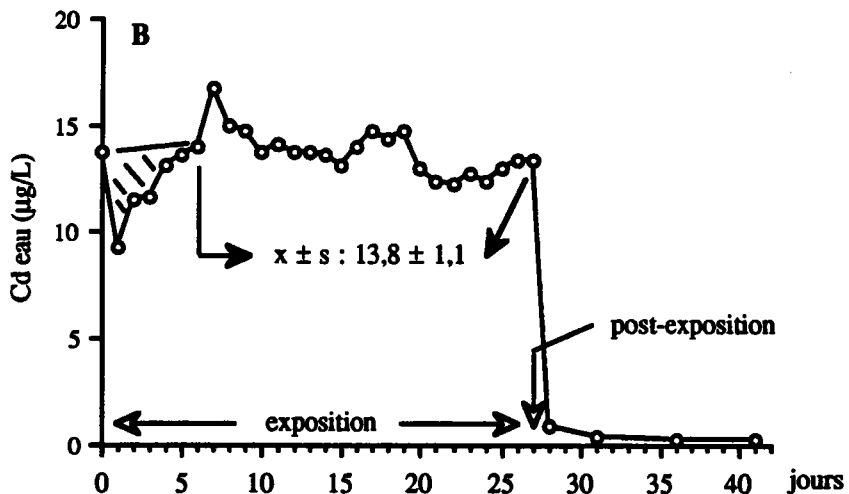
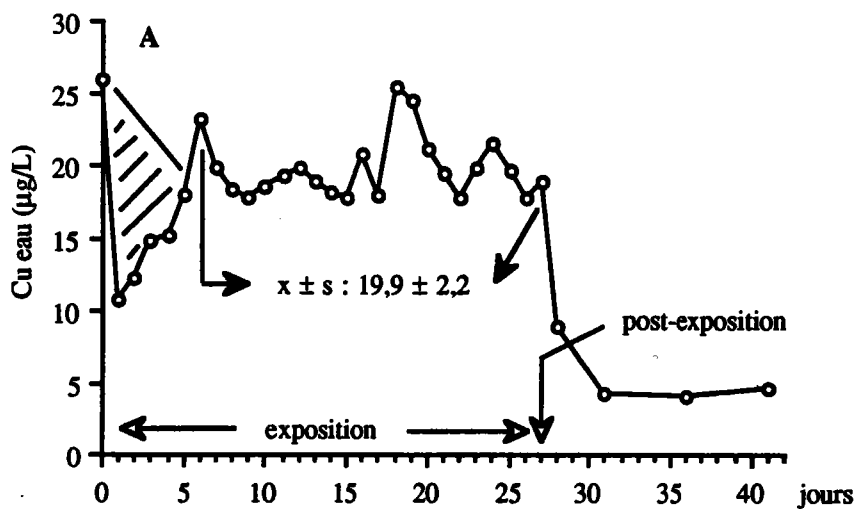


Figure 13. Exemples de l'évolution des concentrations métalliques dans l'eau.

A : traitement Cu  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  (deuxième réplikat),

B: traitement Cd  $15 \mu\text{g L}^{-1}$  (deuxième réplikat),

zone hachurée : chute des concentrations due à l'introduction des organismes  
(voir texte pour détails).

des organismes n'est pas connue. Dans les deux exemples illustrés, un calcul réalisé à partir de la masse de mousse présente dans les deux bacs et de leur concentration métallique (Cu ou Cd) aux différents temps de prélèvement révèle que l'accumulation dans les bryophytes compte pour 72 % dans la chute des niveaux de cuivre dans l'eau et même pour 88 % dans la diminution de cadmium. Le reste est imputable aux autres changements apportés, en

l'occurrence l'adsorption sur le carrelage portant les moules et sur la surface des moules elles-mêmes. La fraction fixée biologiquement par les moules est estimée à respectivement 2 et 8 % pour le cuivre et pour le cadmium.

Dans les trois traitements Cu  $20 \mu\text{g L}^{-1}$ , les concentrations observées dans l'eau ne sont pas significativement différentes (test t;  $p > 0,05$ ;  $n = 22$ ). En revanche, les concentrations de cadmium sont plus élevées ( $p < 0,01$ ) dans le premier réplicat du traitement Cd  $15 \mu\text{g L}^{-1}$  que dans le second (concentrations observées :  $16,6 \pm 1,6$  et  $13,8 \pm 1,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

L'analyse séparée des fractions particulaire ( $> 0,45 \mu\text{m}$ ) et dissoute ( $< 0,45 \mu\text{m}$ ) a montré que le processus de fixation de métal sur les surfaces solides en suspension dans l'eau, notamment les algues, est négligeable. En effet, les pourcentages de cuivre et de cadmium dissous représentent respectivement  $95 \pm 2 \%$  et  $98 \pm 1 \%$  ( $n = 5$ ) du métal total.

Au début de la phase de post-exposition, les concentrations métalliques dans les bacs ont atteint des niveaux de l'eau de distribution au bout de 2 jours (cf. figure 13).

### **2.2.2. Physiologie des organismes**

Le taux de mortalité des moules est resté en dessous de 0,5 % dans l'ensemble des unités expérimentales, mêmes celles sans nourriture pendant 41 jours. La concentration en chlorophylle-*a* est significativement plus élevée dans le bac avec  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  de cuivre que dans toutes les autres unités nourries (test t;  $p < 0,01$ ;  $n = 4$ ; tableau 10). Ceci signifie que la consommation d'algues a chuté en présence de la plus forte concentration en cuivre. L'homogénéité des valeurs observées pour les autres unités nourries souligne bien la reproductibilité du dispositif utilisé pour l'alimentation des moules. Pendant la phase d'exposition, le pourcentage de moules en activité de filtration a été plus faible dans le traitement Cu  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  et dans les unités non nourries que dans les 8 unités restantes ( $p < 0,01$ ;  $n = 10$ ). Les deux groupes sont homogènes entre eux. Pendant la période de post-exposition, les moules alimentées se distinguent des animaux non alimentés par une activité supérieure. Ces résultats montrent que le comportement de filtration des moules est perturbé par des concentrations élevées en cuivre dans l'eau et par l'absence de particules en suspension. En ce qui concerne les mousses, aucune évolution macroscopique de leur forme, port ou couleur n'a pu être observée.

### **2.2.3. Concentrations métalliques dans les organismes**

Les variations des concentrations métalliques dans les organismes des deux unités témoin, avec et sans nourriture, sont restées faibles. Les niveaux de cuivre ont fluctué entre 25 et 56 ( $43 \pm 10$ )  $\mu\text{g g}^{-1}$  dans les mousses et entre 12 et 24 ( $16 \pm 4$ )  $\mu\text{g g}^{-1}$  dans les moules. Les concentrations de cadmium n'ont dépassé 1  $\mu\text{g g}^{-1}$  dans aucun des deux indicateurs.

Traitement	Chlorophylle-a (a)	Activité de filtration (b)	
		exposition	post-exposition
Cu 8 µg/L, algues	19 ± 3	4,5 ± 0,5	3,8 ± 0,8
Cu 20 µg/L, algues, réplikat 1	23 ± 6	4,5 ± 0,5	3,6 ± 0,9
Cu 20 µg/L, algues, réplikat 2	24 ± 7	4,5 ± 0,5	4,0 ± 0,7
Cu 20 µg/L, sans algues	0	2,3 ± 1,2	2,2 ± 1,9
Cu 50 µg/L, algues	53 ± 10	1,8 ± 1,0	4,4 ± 0,9
Cd 5 µg/L, algues	20 ± 8	4,0 ± 0,8	3,4 ± 1,1
Cd 15 µg/L, algues, réplikat 1	20 ± 4	4,0 ± 0,8	4,0 ± 1,2
Cd 15 µg/L, algues, réplikat 2	21 ± 5	4,1 ± 0,7	4,6 ± 0,5
Cd 45 µg/L, algues	23 ± 3	4,0 ± 0,7	4,2 ± 0,8
Témoin, algues	15 ± 6	4,0 ± 0,7	3,8 ± 0,8
Témoin, sans algues	0	1,6 ± 0,7	1,4 ± 0,5
Suspension algale (unité avec algues seules)	100		

Tableau 10. Activité de filtration des moules évaluée par la consommation d'algues (analyse de chlorophylle-a) pendant la période d'exposition (n = 4) et par des observations macroscopiques de l'ouverture des siphons pendant la phase d'exposition (n = 10) et la phase de post-exposition (n = 5).

(a) La chlorophylle-a est exprimée en pourcentage par rapport à une unité ne contenant pas d'organismes; 100 % correspondent à  $9300 \pm 900$  cellules/ml.

(b) La fraction des moules à siphons ouverts est donnée sur une échelle de 1 à 5 (cf. chapitre II, page 51).

### a) Phase d'exposition

Les cinétiques d'accumulation du cuivre et du cadmium dans les mousses sont très rapides et linéaires (figures 14 et 15). Un plateau est observé après 18 jours pour le cuivre et après 6 jours pour le cadmium. Les fluctuations autour de ce plateau pourraient refléter d'une part des variations dans les conditions expérimentales, et d'autre part une certaine hétérogénéité dans la biomasse végétale. Les bryophytes répondent à un ajout faible de métal dans l'eau par une d'accumulation considérable. Ainsi, l'échantillon exposé à  $9 \mu\text{g L}^{-1}$  de cuivre (traitement nominal :  $8 \mu\text{g L}^{-1}$ ; cf. tableau 9), c'est-à-dire une dose qui représente seulement le double de la concentration dans l'eau de distribution, a fixé 18 fois plus de métal que les mousses témoin. Aucune différence statistique n'est observée entre les essais répétitifs indépendants des traitements Cu  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  et Cd  $15 \mu\text{g L}^{-1}$  (test t;  $p > 0,05$ ; n = 8 points formant les courbes de cinétique). En revanche, les mousses ont accumulé plus de cuivre dans l'unité Cu  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  non nourrie que dans les deux unités nourries ( $p < 0,05$ ), alors que les concentrations dans l'eau ne sont pas différentes. Pour le cadmium, une chute des concentrations est observée dans tous les bacs entre le 18ème et le 27ème jour d'exposition.



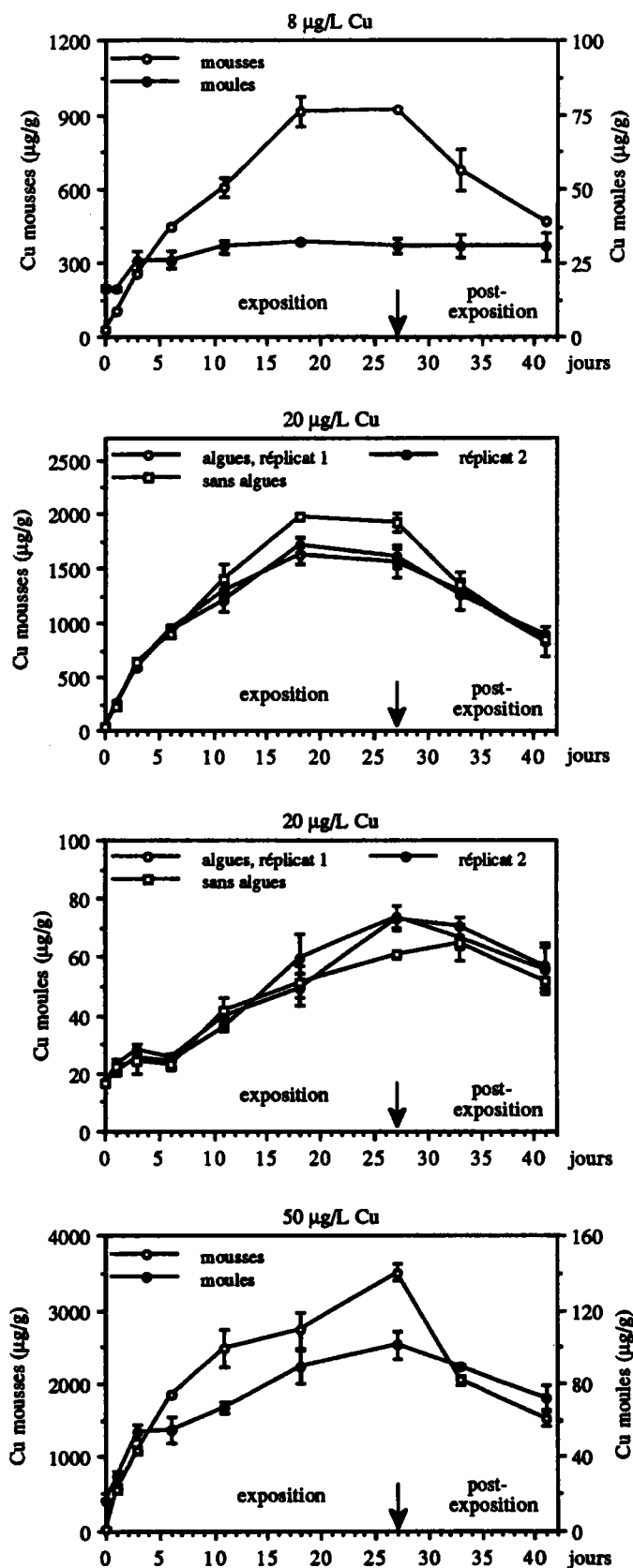


Figure 14. Accumulation et élimination du cuivre par les moules et par les mousses.

Les valeurs reportées au-dessus des graphiques correspondent aux concentrations nominales dans l'eau; les concentrations observées sont indiquées dans le tableau 9.

Les barres verticales représentent l'écart entre deux sous-échantillons.

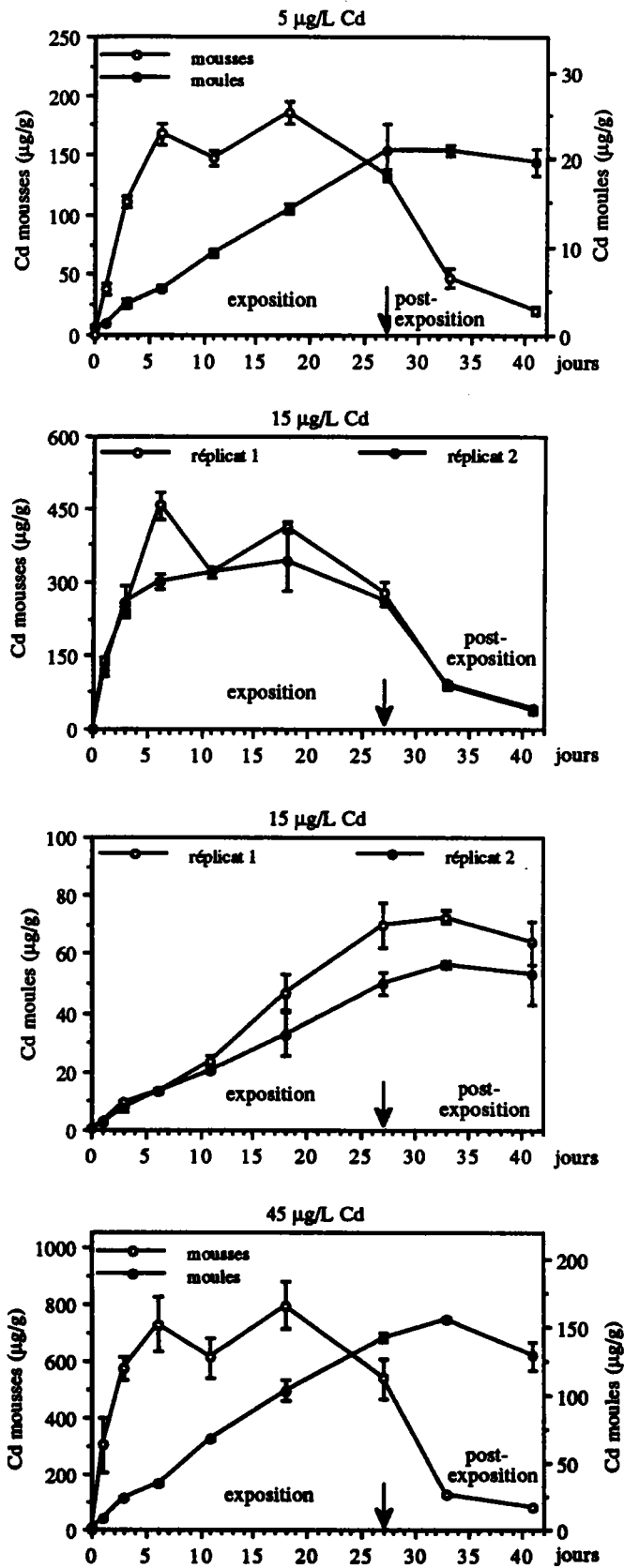


Figure 15. Accumulation et élimination du cadmium par les moules et par les mousses.

Les valeurs reportées au-dessus des graphiques correspondent aux concentrations nominales dans l'eau; les concentrations observées sont indiquées dans le tableau 9.

Les barres verticales représentent l'écart entre deux sous-échantillons.

L'accumulation des métaux est nettement plus lente dans les moules que dans les mousses (figures 14 et 15). Les cinétiques sont linéaires pendant toute la durée de l'exposition, à l'exception du premier traitement de cuivre ( $9 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Dans cette unité, les moules maintiennent leurs concentrations proches de celles du témoin. Aucune différence statistique n'est observée entre les duplicats nourris en présence de  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  de cuivre. Contrairement aux mousses, l'absence de particules algales dans l'eau fait chuter l'accumulation de cuivre dans les moules ( $p < 0,05$ ). Comme les moules non nourries perdent du poids, la différence d'accumulation entre l'unité nourrie et les duplicats non nourris serait accentuée, si on raisonnait sur la base des contenus métalliques. Les concentrations de cadmium significativement différentes dans les deux essais répétitifs indépendants du traitement Cd  $15 \mu\text{g L}^{-1}$  ont engendré des cinétiques d'accumulation différentes dans les moules ( $p < 0,01$ ).

### **b) Phase de post-exposition**

L'élimination de cuivre et de cadmium est nettement plus prononcée dans les mousses que dans les moules (figures 14 et 15). Une perte rapide est observée chez les bryophytes pendant les 6 premiers jours de la phase de post-exposition, suivie d'un ralentissement entre le 6ème et le 14ème jour. La comparaison entre la valeur finale au bout de 14 jours de décontamination et la moyenne des deux dernières valeurs de la phase d'accumulation (plateau d'équilibre) montre que les mousses ont perdu en moyenne de  $50 \pm 4 \%$  de cuivre ( $n = 5$ ) et  $88 \pm 1 \%$  de cadmium ( $n = 4$ ).

Par rapport à la concentration observée à la fin de la phase d'intoxication, l'élimination maximale de cuivre par les moules atteint 28 % dans le traitement Cu  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  (moyenne des 5 essais cuivre :  $18 \pm 11 \%$ ). Dans le cas du cadmium, la décontamination n'excède pas 10 % dans l'unité Cd  $45 \mu\text{g L}^{-1}$  (moyenne des 4 essais cadmium :  $5 \pm 7 \%$ ). L'élimination des deux métaux est plus accentuée entre le 6ème et le 14ème jour que pendant les 6 premiers jours de la période de post-exposition. Les moules de l'unité Cu  $9 \mu\text{g L}^{-1}$  n'ont pratiquement pas perdu de métal.

### **2.2.4. Relations eau/organismes et moules/mousses**

A la fin des phases d'exposition *et* de post-exposition, les concentrations en cuivre et en cadmium dans les organismes sont linéairement corrélées avec les concentrations métalliques moyennes dans l'eau pendant l'intoxication ( $p < 0,01$ ;  $n = 4, 5$  ou  $6$ , selon l'organisme et le métal considérés; tableau 11). Des différences quantitatives dans le processus d'accumulation entre les deux organismes se traduisent par des pentes de droite plus importantes dans les équations relatives aux mousses. Les coefficients de corrélation  $r^2$  les moins élevés sont observés pour le cuivre dans les moules lorsque l'ensemble des 6 unités est considéré (exposition :  $r^2 = 0,82$ ; post-exposition :  $r^2 = 0,80$ ). Si on élimine les essais où l'activité de

Organisme	Métal	Phase expérimentale	Equation de régression	r <sup>2</sup>	Nombre des traitements
Moules	Cu	exposition	y = 1,8 x + 20,0	0,82	6 (a)
		post-exposition	y = 3,8 x - 3,6	0,99	4 (b)
	Cd	exposition	y = 1,1 x + 24,0	0,80	6 (a)
		post-exposition	y = 2,4 x + 7,9	0,99	4 (b)
Mousses	Cu	exposition	y = 3,3 x + 4,8	0,99	5 (a)
		post-exposition	y = 2,9 x + 6,6	0,98	5 (a)
	Cd	exposition	y = 62 x + 246	0,91 (c)	6 (a)
		post-exposition	y = 29 x + 154	0,91	6 (a)
	Cd	exposition	y = 14 x + 63	0,96 (c)	5 (a)
		post-exposition	y = 1,7 x + 9,3	0,94	5 (a)

Tableau 11. Relation entre les concentrations métalliques dans les organismes (y, µg/g) à la fin de la période d'exposition et de la période de post-exposition et les concentrations moyennes dans l'eau durant la phase d'exposition (x, µg/L).

- (a) sont prises en compte toutes les unités avec ajout de métal plus le témoin nourri,  
 (b) les traitements Cu 20 µg/L sans algues et Cu 50 µg/L ne sont pas pris en compte,  
 (c) établi sur la base des valeurs moyennes des prélèvements après 18 et 27 jours d'exposition (situation d'équilibre).

filtration des moules est perturbée (Cu 20 µg L<sup>-1</sup> sans nourriture et Cu 50 µg L<sup>-1</sup>), les coefficients de corrélation linéaires s'améliorent nettement (exposition : r<sup>2</sup> = 0,99; post-exposition : r<sup>2</sup> = 0,99). Un ajustement par un modèle logarithmique décrit d'ailleurs mieux la relation entre la concentration moyenne de cuivre dans l'eau et le métal accumulé par les moules, car il tient compte de la perte de linéarité entre 20 et 50 µg L<sup>-1</sup> (figure 16). L'effet toxique du cuivre à 50 µg L<sup>-1</sup>, déjà révélé par l'étude de la filtration, affecte donc considérablement l'accumulation. En fonction de la droite de régression établie à l'aide des quatre unités non perturbées, la valeur finale attendue pour une exposition à 50 µg L<sup>-1</sup> de cuivre serait de 185 µg g<sup>-1</sup> de poids sec, alors que le niveau observé n'est que de 101 µg g<sup>-1</sup>, soit seulement 55 %.

Des relations linéaires hautement significatives sont également observées entre les concentrations métalliques dans les mousses et dans les moules, que ce soit à la fin de la phase d'exposition ou à la fin de la phase de post-exposition (p < 0,01; n = 4 pour le cuivre et n = 5 pour le cadmium; figure 17).

## 2.3. Discussion

### 2.3.1. Conditions expérimentales

Les deux unités témoin, l'une avec et l'autre sans nourriture, ont permis de vérifier que

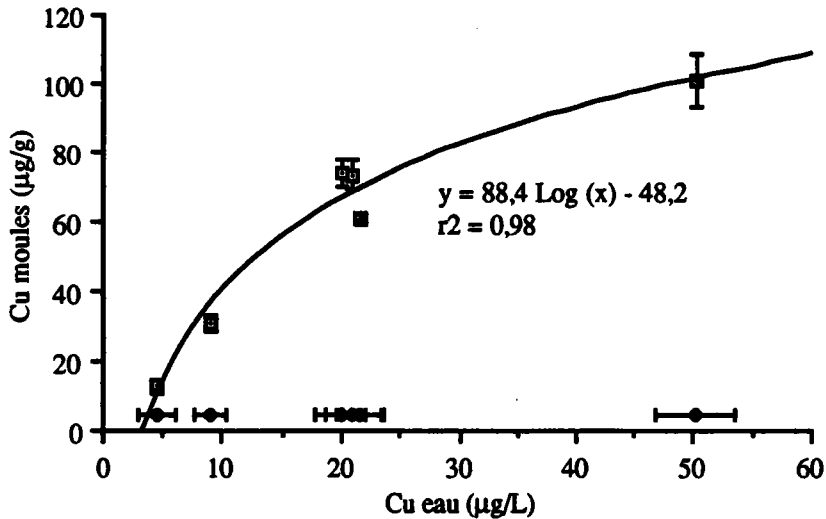


Figure 16. Courbe de régression des concentrations en cuivre dans les moules en fonction des concentrations dans l'eau (voir texte pour détails).

les conditions expérimentales sont restées stables pendant toute la durée de l'étude. Les variations des concentrations métalliques dans les organismes intoxiqués reflètent donc uniquement l'ajout de métal dans les bacs et non pas une influence de la composition de l'eau ou de l'apport de nourriture.

### 2.3.2. Mousses

Après 72 heures d'exposition, l'accumulation de cuivre et de cadmium dans les bryophytes a atteint respectivement  $33 \pm 6 \%$  ( $n = 5$  unités) et  $78 \pm 9 \%$  ( $n = 4$  unités) de la valeur moyenne à l'équilibre et ce, malgré la chute des concentrations métalliques dans l'eau qui a suivi l'introduction des organismes. L'élimination de métal a également été rapide dans les premiers jours de la période de post-exposition, mais aucun état d'équilibre n'a été observé au bout des 14 jours. Les cinétiques d'accumulation et de relargage observées peuvent être expliquées par un processus d'échange cationique à la surface des feuilles de mousse. Ce mécanisme conduit à un rééquilibrage rapide lorsque les concentrations métalliques dans l'eau varient (Breuer et Melzer, 1990a; 1990b; Wieder, 1990). Dans certains travaux, des états de saturation ont été observés au bout de deux jours d'exposition seulement et l'intensité du relargage a commencé à s'atténuer après quelques heures de post-exposition (Pickering et Puia, 1969; Wehr *et al.*, 1987). Ces essais statiques courts peuvent être critiqués à cause de leur flux métallique faible par rapport à la biomasse utilisée. Un renouvellement trop lent du milieu au contact des mousses risque donc de biaiser les situations d'équilibre. A cet égard, le dispositif utilisé dans cette expérience-ci est plus représentatif des conditions naturelles

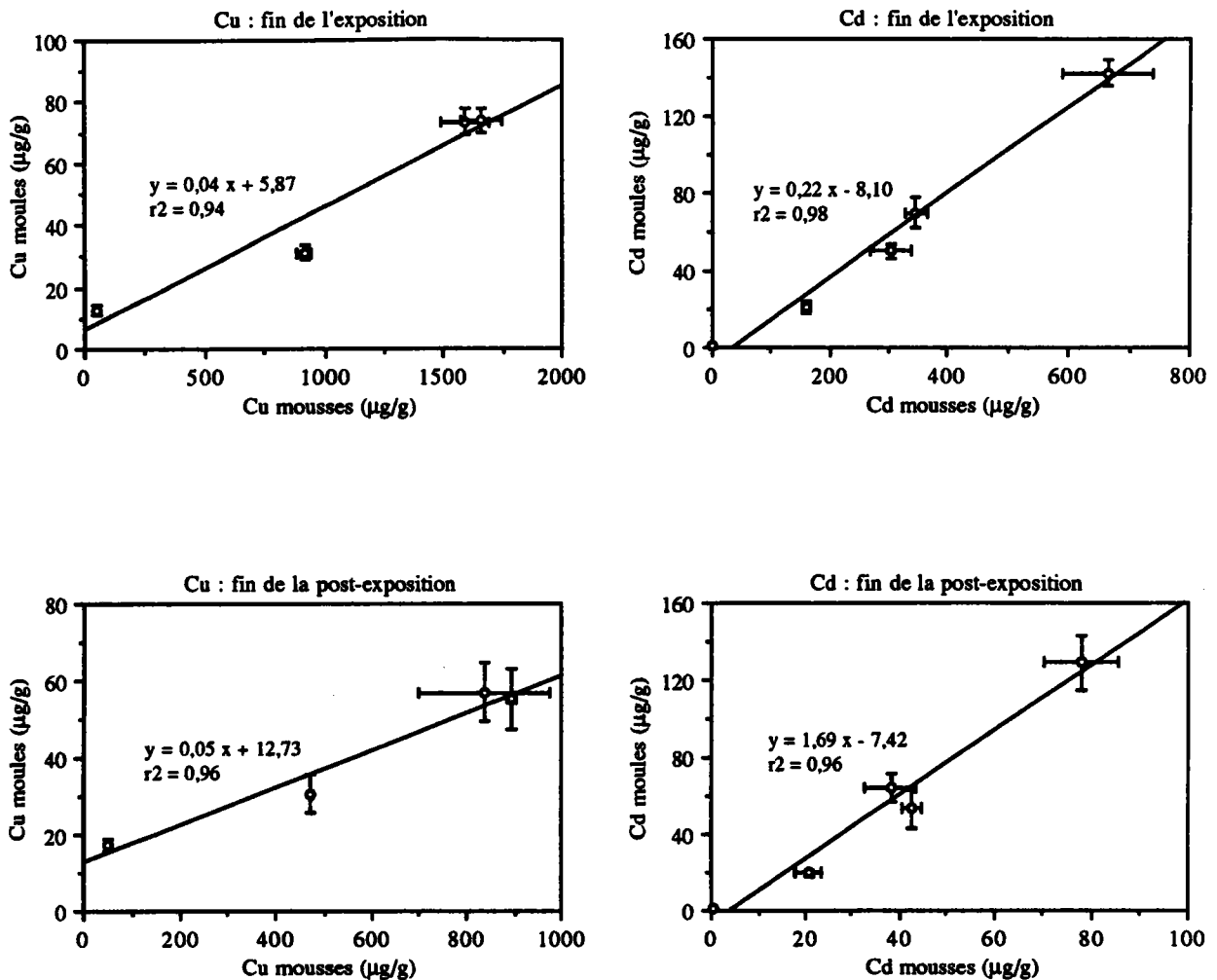


Figure 17. Relation entre les concentrations métalliques dans les moules en fonction de celles dans les mousses.

Les barres verticales et horizontales représentent l'écart entre deux sous-échantillons, pour le cuivre :  $n = 4$  (les unités sans nourriture et l'unité  $50\mu\text{g L}^{-1}$  ne sont pas prises en compte),

pour le cadmium :  $n = 5$  (l'unité témoin sans nourriture n'est pas prise en compte).

d'écoulement de l'eau. La quantité élevée de métal accumulée par les mousses, jusqu'à 0,35 % du poids sec, s'explique par l'abondance au niveau des feuilles de molécules présentant des charges négatives, notamment des acides uroniques et glucuroniques (Knight *et al.*, 1961; Clymo, 1963). Malgré la prédominance d'un phénomène d'adsorption, un passage progressif du métal à l'intérieur des cellules ne doit pas être écarté, en particulier dans le cas d'étude de moyen et long terme (Burton et Peterson, 1979; Mouvet, 1984).

Pour des concentrations molaires identiques dans l'eau, les charges métalliques accumulées

dans les mousses sont plus élevées pour le cuivre que pour le cadmium. De plus, en termes de vitesse et d'intensité, le relargage de cuivre est moins prononcé que l'élimination de cadmium. Des capacités et des forces de fixation différentes selon les cations ont été rapportées pour des espèces de sphagnacées (Breuer et Melzer, 1990a). La sélectivité suivante a été établie par ces auteurs :  $Pb^{2+} > Cd^{2+} \geq Ca^{2+}$  (le cuivre n'a pas été testé). De façon analogue, les constantes de fixation à la surface de cellules algales de *Chlamydomonas reinhardtii* sont plus élevées pour le cuivre que pour le cadmium (Xue *et al.*, 1988). Des différences d'affinités expliquent donc que le cuivre soit accumulé à des concentrations plus élevées et relargué moins rapidement que le cadmium. Une chute des teneurs en cadmium dans les mousses observée dans tous les bacs entre le 18ème et le 27ème jour peut être attribuée simplement à une légère diminution des concentrations dans l'eau vers la fin de la phase d'exposition. Les mousses reflètent donc de faibles fluctuations dans le milieu par des variations substantielles des charges métalliques accumulées. Cependant, dans le cas du traitement dupliqué Cd  $15 \mu\text{g L}^{-1}$ , des concentrations significativement différentes dans le milieu ( $16,6 \pm 1,6$  et  $13,8 \pm 1,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) n'ont pas engendré de teneurs différentes dans les bryophytes.

La forme chimique du métal a également une influence décisive sur le processus d'accumulation dans les mousses. Ainsi, une augmentation de la concentration du cuivre de  $4,5 \mu\text{g L}^{-1}$  (bacs témoin) à  $9 \mu\text{g L}^{-1}$  (premier traitement) a provoqué une accumulation qui représente 18 fois le niveau de base des échantillons témoin. Ceci plaide en faveur d'une biodisponibilité plus importante des formes métalliques cationiques ( $Cu^{2+}$  et  $Cd^{2+}$ ) introduites dans l'environnement expérimental. Dans l'eau des unités témoin, le métal se trouve en équilibre avec les divers agents complexants qui diminuent sa disponibilité. À l'égard des phénomènes d'adsorption, le milieu expérimental doit être considéré comme très simplifié, en ce sens qu'il ne contient qu'une faible charge en matières en suspension et en chélateurs naturels. Il ne fournit donc qu'une représentation partielle des conditions réelles de l'environnement. L'influence des facteurs externes est également illustrée par la comparaison entre les trois traitements Cu  $20 \mu\text{g L}^{-1}$ . Pour des concentrations identiques dans l'eau, l'accumulation est plus élevée en absence qu'en présence de particules algales. Comme la fixation de métal par les mousses est basée sur des échanges d'ions en surface, divers facteurs externes qui modifient la disponibilité des métaux, notamment la présence de surfaces adsorbantes (solides en suspension), de cations compétiteurs ou de complexants anioniques, sont susceptibles d'influencer le processus d'accumulation.

### 2.3.3. Moules

Dans les conditions d'exposition chronique au cuivre et au cadmium, la fixation biologique des métaux dans les moules est directement proportionnelle au temps d'exposition (27 jours). Ces cinétiques d'accumulation confirment les observations d'autres études de

laboratoire sur différentes espèces de bivalves (Poulsen *et al.*, 1982; Bias et Karbe, 1985; Elliott *et al.*, 1985; Hemelraad *et al.*, 1986; Herwig *et al.*, 1989). Les dreissènes exposées à la concentration la plus faible de cuivre ( $9 \mu\text{g L}^{-1}$  ou  $1,4 \cdot 10^{-7}$  mole  $\text{L}^{-1}$ ) n'ont pratiquement pas accumulé de métal, alors que le cadmium est bien détecté à partir d'une concentration nettement plus faible ( $5 \mu\text{g L}^{-1}$  ou  $5,1 \cdot 10^{-8}$  mole  $\text{L}^{-1}$ ). La capacité de la moule zébrée à réguler le cuivre à de faibles concentrations dans l'eau (inférieures à  $13 \mu\text{g L}^{-1}$ ) a déjà été signalée (Kraak *et al.*, 1992).

Pendant la phase de post-exposition, l'élimination des métaux par la moule zébrée, bien que restant à un niveau faible, a été plus importante pour le cuivre que pour le cadmium. La poursuite de l'accumulation de cadmium au début de la phase de post-exposition s'explique par la présence de cadmium résiduel dans le milieu, une fois que l'arrivée de toxique a été stoppée. Des facultés d'élimination de cadmium très partielles, ou même nulle, ont été rapportées pour différentes espèces de mollusques d'eau douce, comme *Dreissena polymorpha* (Bias et Karbe, 1985), *Corbicula fluminea* (Abaychi et Mustafa, 1988) et *Unio pictorum* (Jenner *et al.*, 1991). A l'opposé du cuivre, l'accumulation cumulative de cadmium dans les moules traduit l'absence de régulation, même à des concentrations faibles dans l'eau (Kraak *et al.*, 1992). Cette propriété permet également d'expliquer les différences d'accumulation mises en évidence chez les moules exposées à des concentrations en cadmium légèrement différentes dans l'eau dans le cas du traitement dupliqué Cd  $15 \mu\text{g L}^{-1}$ . L'ensemble des observations est en accord avec le modèle d'homéostasie métallique proposé par George et Viarengo (1985) pour *Mytilus edulis*. Ce modèle explique la demi-vie biologique propre à chaque métal par un comportement intracellulaire différent (cf. analyse bibliographique).

Le processus d'accumulation dans les moules est fortement influencé par l'activité de filtration des animaux. Ainsi, pour des concentrations métalliques identiques dans les trois unités Cu  $20 \mu\text{g L}^{-1}$ , l'accumulation a été significativement plus importante en présence qu'en absence de nourriture. Des effets toxiques ont seulement été détectés dans l'unité avec  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  de cuivre. La toxicité de ce métal vis-à-vis des mollusques bivalves est bien documentée (Davenport et Manley, 1978; Howell *et al.*, 1984). D'après Kraak *et al.* (1992), la concentration qui réduit le taux de filtration de moitié en 48 heures est de  $43 \mu\text{g L}^{-1}$ . Cette donnée est en accord avec le défaut d'accumulation estimé à 45 % en présence de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  de cuivre. Ces mêmes auteurs ont également détecté des effets toxiques du cadmium avec des temps d'exposition prolongés (jusqu'à 11 semaines). Dans notre expérience de 27 jours, aucune baisse de la filtration n'a été mise en évidence jusqu'à des doses de  $45 \mu\text{g L}^{-1}$  de cadmium. L'absence d'effet toxique de ce métal est confirmée par la relation linéaire établie entre les concentrations finales dans les organismes et les teneurs métalliques moyennes dans l'eau des différentes expériences. En revanche, dans le cas du cuivre, la linéarité n'est maintenue que lorsque les traitements pour lesquels l'activité de filtration est perturbée



( $20 \mu\text{g L}^{-1}$  sans nourriture et  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ) sont éliminés. Ainsi, l'absence de stimulation par des particules en suspension et l'action toxique de concentrations élevées de cuivre provoquent une baisse de l'activité de filtration des moules et, par conséquent une accumulation réduite de métal du fait que la durée effective de l'exposition est écourtée.

#### **2.4. Conclusion et enseignements pratiques**

Dans les conditions expérimentales données, les cinétiques et les capacités d'accumulation et d'élimination du cuivre et du cadmium sont fondamentalement différentes dans la moule zébrée et la mousse aquatique. Les différences s'expliquent par des mécanismes d'échange propres à chacun des organismes auxquels viennent s'ajouter des facteurs intrinsèques et extrinsèques spécifiques susceptibles de moduler les processus physico-chimiques (mousses) ou biologiques (moules). Malgré ces spécificités, des corrélations linéaires ont été observées entre les concentrations des deux métaux dans les moules et dans les mousses, aussi bien à la fin de la phase d'exposition qu'à la fin de la phase de post-exposition. Cette observation suggère que les deux organismes sont des indicateurs potentiels pour la surveillance de la pollution métallique des écosystèmes d'eau douce.

Cette expérience de laboratoire permet de mettre en évidence des caractéristiques intéressantes de chacun des deux organismes sentinelle en vue de leur utilisation sur le terrain. Les bryophytes apparaissent plus aptes à détecter des pollutions de courte durée, à cause d'une cinétique d'accumulation rapide et d'un relargage plus progressif. Cependant, il faut s'attendre à des fluctuations rapides des concentrations métalliques dans les mousses, ce qui rend difficile une évaluation de la situation de pollution moyenne. En revanche, les moules peuvent être avantageusement utilisées pour une surveillance à plus long terme dans le cas de contaminations chroniques. Toutefois, les cinétiques lentes impliquent un effet de mémoire de plus longue durée qui pourrait représenter un désavantage en cas d'amélioration de la qualité du milieu. La différence fondamentale entre les deux indicateurs consiste donc dans la capacité spécifique d'intégration d'un événement de pollution dans le temps : la réponse est violente et relativement éphémère chez les mousses, lente et plus durable chez les moules.

Malgré les résultats encourageants, il ne faut pas surestimer la portée des données de laboratoire, notamment d'un point de vue quantitatif. En effet, à plusieurs reprises, des observations ont montré que les conditions expérimentales sont trop simplifiées et ce, en dépit de certaines améliorations apportées au niveau du dispositif (système dynamique, nourriture pour les moules). Ces remarques rejoignent les critiques générales émises dans l'analyse bibliographique (cf. § 2.3.2) à l'encontre des travaux de laboratoire. Néanmoins, les études *in vitro* sont indispensables pour élucider certains aspects bien particuliers, notamment l'influence des facteurs externes sur le processus d'accumulation. Comme exemples, on pourrait citer l'effet de concentrations croissantes de cations compétiteurs sur la fixation d'un micropolluant dans

les mousses ou bien les conséquences de concentrations variables de toxiques sur le taux de filtration et donc sur les quantités métalliques accumulées dans les moules. Ce type d'étude ne peut pas être réalisé sur le terrain, car il est impossible d'isoler un facteur donné.

### **3. Profil longitudinal de la Moselle : surveillance passive (Exp. 3) (\*)**

#### **3.1. Rappel de l'objectif**

Le but de cette étude est de vérifier l'intérêt de l'utilisation d'un indicateur biologique, en l'occurrence la moule zébrée, en vue d'établir un profil longitudinal de la contamination métallique d'une rivière. Il s'agit d'une étude non orientée, c'est-à-dire que les stations de prélèvement n'ont pas été choisies en fonction des rejets industriels connus, mais seulement en fonction des populations de dreissènes exploitables, tout en respectant une distance d'environ 10 km entre les points de collecte.

#### **3.2. Présentation des résultats**

Les micropolluants métalliques les plus importants de la Moselle, identifiés par rapport aux concentrations de référence dans les moules zébrées (cf. *Exp. 1*), sont le chrome, le cuivre, le plomb et le zinc. Pour faciliter la comparaison entre les profils de contamination dans l'eau et dans les organismes indicateurs, ces deux types de données sont reportés sur le même graphique (figure 18). La localisation précise des stations est exprimée par la distance à la source. Les concentrations métalliques observées dans les moules du Lac de Madine prélevées au même moment sont utilisées comme repère (cf. *Exp. 1*).

Une caractéristique commune aux quatre métaux est le faible niveau de contamination des mollusques à Millery (station 5; cf. figure 8). Cette observation s'explique par une chute de la biodisponibilité des micropolluants métalliques causée par une augmentation brusque de la salinité de l'eau en aval de la confluence de la Meurthe.

La concentration de chrome dans l'eau de la Moselle augmente progressivement d'amont en aval. Le pic observé à la station 14 (Koenigsmacker) est imputable à la charge polluante d'origine sidérurgique de la rivière Fensch. Cette contamination est également détectée dans les moules, mais avec une amplitude plus faible. Ceci s'explique par la localisation précise du point de prélèvement de cet échantillon qui est situé sous l'influence directe du rejet de la

---

(\*) Ensemble avec les résultats d'autres chercheurs, ce travail a fait l'objet d'une publication : Mersch J., Jeanjean A., Spor H., Pihan J.C., 1992. The freshwater mussel *Dreissena polymorpha* as a bioindicator for trace metals, organochlorines and radionuclides. In : Neumann D., Jenner H.A. (eds) *The zebra mussel Dreissena polymorpha. Limnologie Aktuell*, 4, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, pp. 227-244. (cf. annexe 1).

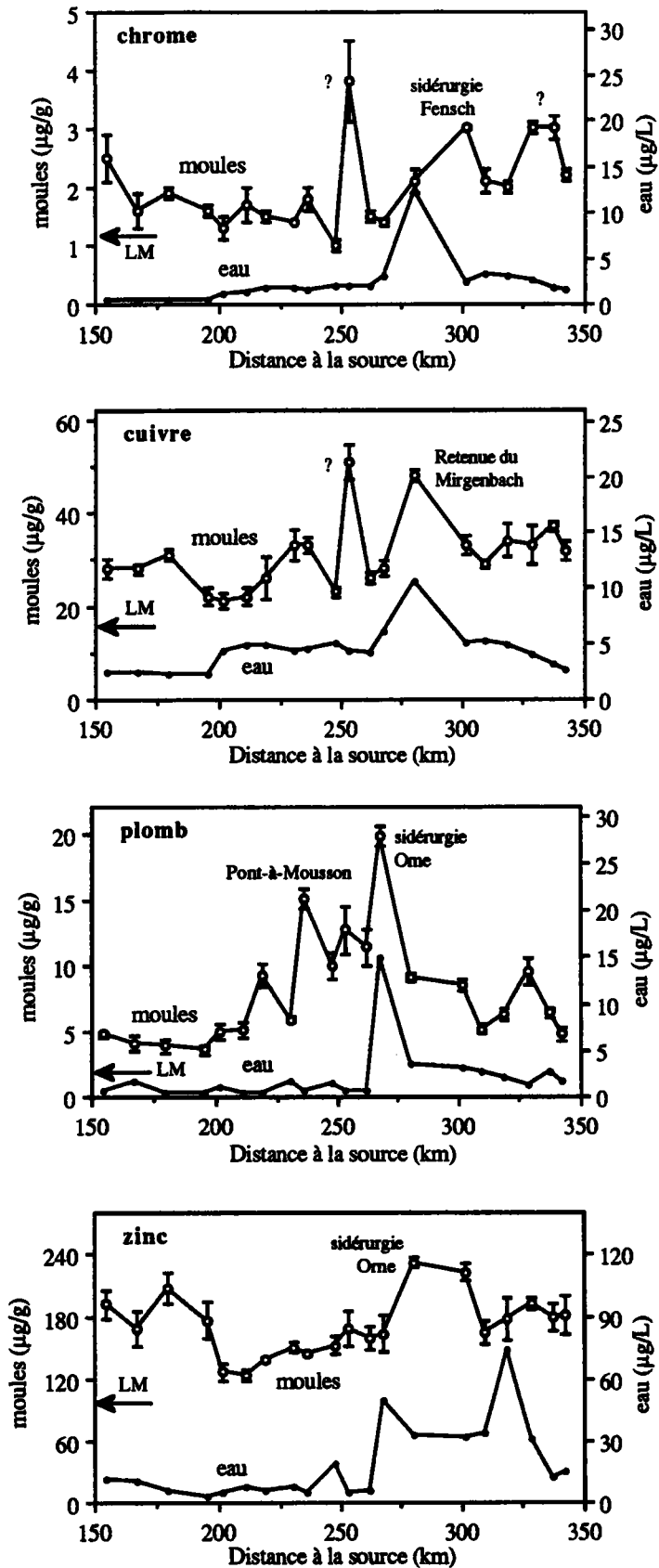


Figure 18. Evolution amont-aval des concentrations en chrome, en cuivre, en plomb et en zinc dans l'eau et dans les dreissènes autochtones de la Moselle.

L.M. : échantillon du Lac de Madine servant de repère (voir texte pour détails).

centrale nucléaire de Cattenom. Cette population n'est pas exposée de façon permanente aux polluants rejetés en amont à cause des courants préférentiels dans la Moselle. La confirmation d'une contamination par le chrome dans ce tronçon de rivière est apportée par les moules de la station située immédiatement en aval (site 15). Aucune explication satisfaisante n'a pu être proposée en ce qui concerne les deux autres pics détectés dans les dreissènes, l'un à Argancy (station 11) et l'autre à Grevenmacher (station 18).

L'augmentation concomitante des concentrations en cuivre dans l'eau et dans les moules à la station 14 (Koenigsmacker) correspond au rejet chronique de la centrale nucléaire de Cattenom. Le premier pic significatif observé dans les moules collectées à Argancy (station 11) ne peut être attribué à aucun rejet connu.

Par rapport aux concentrations de référence dans les dreissènes, le plomb apparaît comme le micropolluant métallique majeur de la Moselle. Le pic le plus important dans l'eau est observé à Uckange en aval de la confluence de la rivière Orne (station 13). Il s'atténue progressivement en fonction de la distance. Cette contamination est également bien détectée dans les moules, mais de façon moins spectaculaire. En revanche, les pics enregistrés dans les organismes prélevés dans le secteur amont de la rivière n'apparaissent pas dans les échantillons d'eau.

Des observations analogues s'appliquent au zinc. D'une part, les concentrations élevées dans l'eau observées à partir de la confluence de l'Orne ne sont que très faiblement reflétées dans les moules. D'autre part, les moules accumulent du zinc aux premières stations alors que ce métal n'est pratiquement pas détecté dans les échantillons d'eau.

Pour chacun des quatre métaux, l'existence d'une relation statistique entre les concentrations dans les organismes et les niveaux dans l'eau peut être testée par régression selon la méthode des moindres carrés. Parmi les différents modèles possibles, aucun ne s'est révélé adéquat pour décrire cette relation. Par référence à l'étude en laboratoire (*Exp. 2*), et faute de mieux, le modèle linéaire a été retenu. L'ajustement statistique de la droite fournit un coefficient de corrélation significatif uniquement dans le cas du plomb ( $p < 0,05$ ;  $n = 20$ ). Pour les trois autres métaux, cette relation n'existe pas, ce qui signifie que les points sont distribués selon un modèle non déterminé ou, plus probablement, tout à fait au hasard.

### **3.3. Discussion**

Les profils de contamination obtenus à partir de l'analyse des dreissènes fournissent des renseignements plus différenciés et plus fiables de la situation de pollution de la Moselle que ceux obtenus à partir d'échantillons instantanés d'eau. En effet, une accumulation de métal dans des organismes sédentaires traduit la présence d'une source de contamination en amont du point de collecte. En revanche, la détection d'un pic dans l'eau, bien que rendant

compte d'une pollution, ne permet pas de localiser le rejet responsable à proximité du point de prélèvement. Les échantillons d'eau ne sont représentatifs de leur station de collecte que dans le cas de pollutions chroniques (par exemple le cuivre à Cattenom et le plomb à Uckange). Or, la plupart des rejets industriels sont intermittents, ce qui rend difficile leur détection dans l'eau. Ceci a pu être vérifié dans le tronçon amont de la Moselle, où les concentrations métalliques dans l'eau restent faibles, malgré des pics observés dans les dreissènes. Plusieurs de ces pics n'ont d'ailleurs pas trouvé d'explication quant à leur origine. A côté de ce volet qualitatif, il faut également prendre en compte l'aspect quantitatif. En effet, les mollusques fournissent une indication sur l'impact biologique d'une contamination qui est, dans une certaine mesure, intégrée dans le temps. Par contre, les pics observés dans les échantillons d'eau, de par leur nature ponctuelle, sont difficiles à interpréter en terme d'intensité de pollution et encore plus en terme de risque, défini par la fraction biodisponible d'un composé nocif.

La relation statistique entre les concentrations métalliques dans l'eau et dans les organismes, observée au laboratoire (cf. *Exp. 2*), n'est pas retrouvée sur le terrain. Ce constat accentue l'intérêt d'une surveillance axée sur l'analyse d'un indicateur biologique par rapport au dosage d'échantillons d'eau. Toutefois, une analyse détaillée des profils suggère que l'absence de représentativité des échantillons d'eau à elle seule explique difficilement certaines observations. A la station 13, par exemple, le plomb et le zinc ont une origine commune qui est la pollution de la vallée de l'Orne par l'industrie sidérurgique (Léglize et Crochard, 1987). Comme ces deux métaux sont bien détectés dans l'eau, on peut penser que la contamination est rigoureusement chronique. Or, les moules réussissent à maintenir leur concentration en zinc à un niveau faible, ce qui implique une régulation efficace de ce métal. De fait, la possibilité de contrôle métabolique du zinc a été signalée chez *Perna viridis* (Chan, 1989) et *Mytilus galloprovincialis* (Martincic *et al.*, 1992).

Un autre intérêt des programmes de surveillance biologique est la comparaison de l'état de contamination de différentes rivières. *Dreissena polymorpha* a été utilisée pour établir un profil de contamination d'un tronçon du Danube (Yevtushenko *et al.*, 1990) et de la Meuse (Kraak *et al.*, 1991) ; la méthode des transferts d'organismes a été employée pour l'étude du Rhin (CIPR, 1989), de l'Elbe (ARGE Elbe, 1991) et de la Weser (Busch *et al.*, 1992). Ces travaux montrent que, d'une manière générale et mis à part des pics à caractère local, les niveaux de contamination de la Moselle par le chrome, le cuivre et le zinc sont comparables à ceux du Rhin, de la Meuse et de la Weser. En revanche, la pollution importante de la Moselle par le plomb est confirmée, même si elle reste nettement inférieure à celle rapportée pour le Danube. L'Elbe, pour sa part, se distingue par des concentrations élevées en chrome et en zinc.

### **3.4. Conclusion et enseignements pratiques**

L'étude de la contamination métallique de la Moselle illustre l'intérêt de la surveillance biologique par rapport à l'utilisation d'un support analytique inerte, en l'occurrence l'eau brute.

Néanmoins, une difficulté importante apparaît dans le concept même de la surveillance passive. En effet, la localisation précise des stations a une influence décisive sur le profil de contamination obtenu. Comme l'impact diminue avec la distance, les pics les plus importants ne reflètent pas nécessairement les rejets les plus polluants du bassin, mais peuvent être dus à un effluent rejeté à proximité. A l'inverse, un effluent majeur peut n'être détecté que faiblement, si la population de moules échantillonnée se trouve loin du point de rejet. Ce problème peut être résolu par des prélèvements orientés, une fois que la source de pollution est identifiée. A cet égard, la technique de transfert d'organismes devient intéressante, car l'endroit précis de l'immersion des échantillons peut être choisi librement.

## **4. Etude de la retenue du Mirgenbach : de la surveillance passive vers la surveillance active (Exps. 4 et 5)**

### **4.1. Rappel des objectifs**

Par rapport à une rivière, une retenue, même ouverte, est caractérisée par une inertie importante de ses masses d'eau. Comme le temps de séjour de l'eau dans le réservoir du Mirgenbach est de 10 jours au moins, on peut penser que les dreissènes autochtones sont soumises à une contamination métallique plus ou moins chronique.

L'établissement d'un profil de contamination dans le temps fait intervenir une nouvelle source de variabilité susceptible d'interférer avec les données écotoxicologiques, à savoir les variations de poids sec liées au cycle biologique de l'organisme.

La surveillance biologique passive de la retenue du Mirgenbach comporte trois volets : (1) l'établissement d'un profil temporel de la pollution métallique, (2) l'étude de la relation milieu/organismes et (3) l'évaluation de l'interférence du cycle biologique avec le niveau de contamination des moules.

Dans une deuxième étape, l'étude a été élargie au concept de surveillance biologique active. Pour ce faire, des lots de moules de trois populations de la Moselle ont été transférés à côté des dreissènes indigènes. Le calendrier de prélèvement des moules exposées a été greffé sur celui des collectes de routine. L'objectif de cette comparaison est la validation de la technique des transferts de dreissènes tant sur un plan biométrique que sur un plan écotoxicologique. L'étude a été réalisée de fin octobre à fin janvier, c'est-à-dire à une période de repos sexuel de

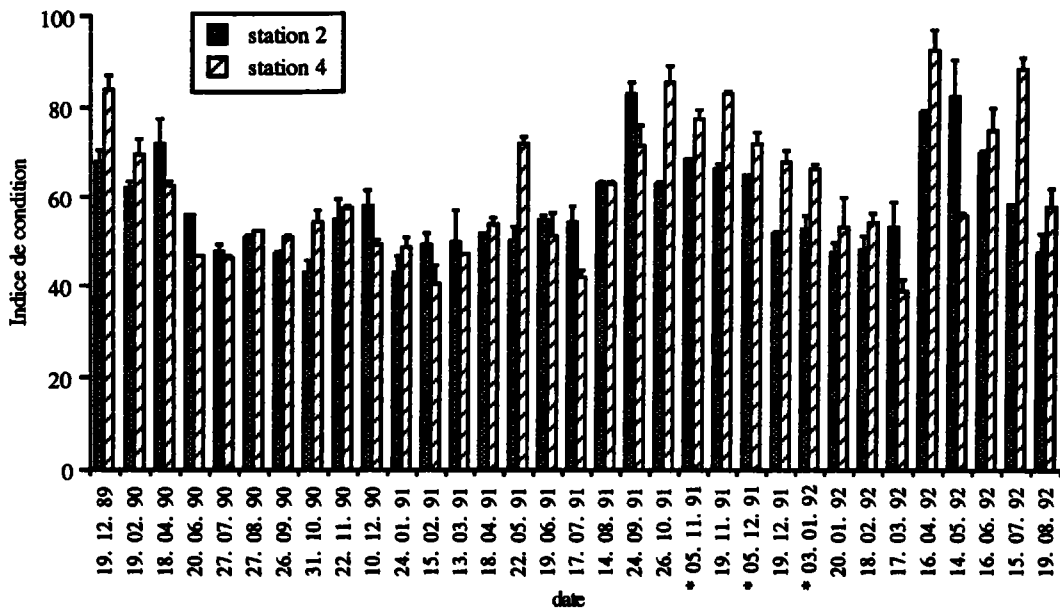


Figure 19. Evolution de l'indice de condition des dreissènes autochtones de la retenue du Mirgenbach.

\* : Echantillons supplémentaires ajoutés dans le cadre de l'expérience de surveillance active (cf. Exp. 5),

les barres verticales représentent l'écart entre deux sous-échantillons.

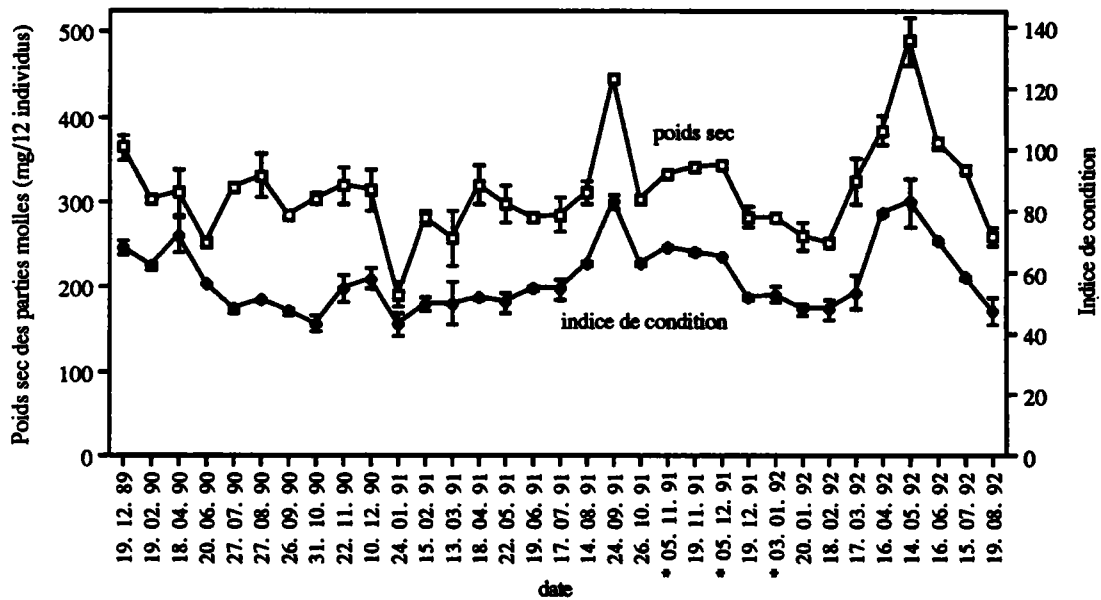


Figure 20. Comparaison entre l'indice de condition et le poids sec de la population de dreissènes à la station 2 de la retenue du Mirgenbach. Commentaires comme figure 19.

l'organisme, afin d'éviter des interférences du cycle biologique. Compte tenu des résultats de l'expérience en laboratoire (*Exp. 2*), le temps d'exposition des moules introduites a été fixé à environ 3 mois.

## **4.2. Surveillance passive dans le temps (*Exp. 4*) (\*)**

### **4.2.1. Présentation des résultats**

#### **4.2.1.1. Condition physiologique des dreissènes autochtones**

L'indice de condition, exprimé par le rapport des poids secs entre les parties molles et les coquilles ( $\text{mg g}^{-1}$ ), subit des fluctuations importantes dans le temps, mais sans périodicité apparente (figure 19). D'une manière générale, les minima sont observés à la fin de l'hiver (janvier à mars) et en été (juillet et août), les maxima au printemps (avril et mai) et en automne (octobre et novembre). Les écarts les plus prononcés entre les stations 2 et 4 sont enregistrés au début de l'été.

La comparaison directe entre l'indice de condition et le poids sec des parties molles à la station 2 montre que les deux courbes évoluent d'une façon analogue (figure 20). Ceci signifie que le poids des coquilles n'a qu'une influence limitée dans l'expression de l'indice de condition. En fait, il traduit principalement l'hétérogénéité des prélèvements, comme en témoigne l'existence d'une relation linéaire ( $r = 0,76$ ;  $p < 0,01$ ;  $n = 33$ ) entre le poids et la longueur des coquilles (figure 21). L'indice de condition décrit donc l'évolution du poids sec des moules en tenant compte de la variabilité liée à la sélection des individus lors du prélèvement.

#### **4.2.1.2. Contamination de la retenue par le cuivre et interférence entre les données biométriques et écotoxicologiques**

Le cuivre est le micropolluant métallique majeur de la retenue du Mirgenbach (Mersch, 1989). Son origine est la corrosion et l'abrasion des surfaces internes des tubes en laiton qui forment les condenseurs du circuit tertiaire de refroidissement des réacteurs.

##### **a) Profils de contamination dans l'eau et dans les moules**

Les concentrations en cuivre varient fortement en fonction du temps aussi bien dans les dreissènes autochtones que dans l'eau (figure 22). Malgré des différences interannuelles prononcées, les niveaux les plus élevés sont systématiquement observés pendant les mois d'hiver (de février à avril) et les minima pendant les mois d'été (août et septembre).

---

(\*) Ce travail a été réalisé dans le cadre du programme d'étude et de recherche : Suivi hydrobiologique de la retenue du Mirgenbach, 1989 à 1992, Centre de Recherches Ecologiques de l'Université de Metz / EDF, CPN Cattenom.



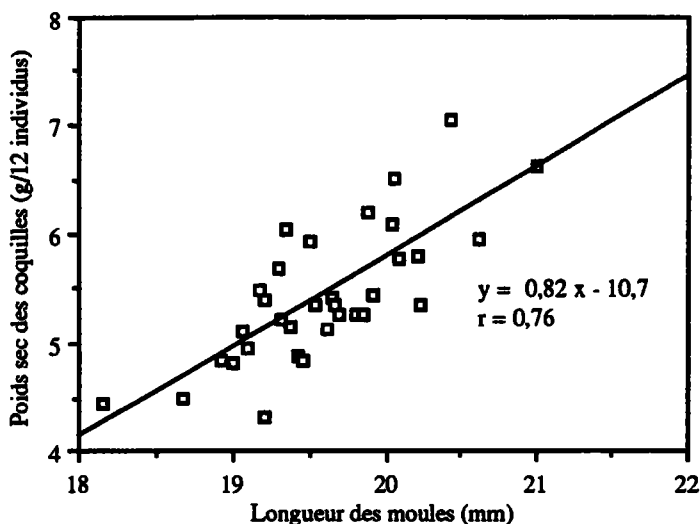


Figure 21. Relation entre le poids sec et la longueur des coquilles des dreissènes autochtones échantillonnées à la station 2 de la retenue du Mirgenbach.

Deux pics sont particulièrement bien identifiés dans les moules : en avril 1990 et lors du même mois en 1992. Les concentrations maximales observées atteignent respectivement  $238$  et  $192 \mu\text{g g}^{-1}$  aux stations 2 (avril 1992) et 4 (avril 1990). Les niveaux les plus faibles sont enregistrés en août 1992 à la station 2 avec  $32 \mu\text{g g}^{-1}$  et en septembre 1991 à la station 4 avec  $25 \mu\text{g g}^{-1}$ . L'écart maximal de contamination dépasse donc un facteur de 7 aux deux sites. A plusieurs reprises, des disparités importantes sont observées entre la contamination du milieu et l'accumulation dans les organismes. Ainsi, en février 1991 par exemple, un pic de cuivre dans l'eau n'est pas suivi d'une accumulation dans les dreissènes. L'inverse s'est produit notamment en avril 1992.

La comparaison des profils de contamination montre qu'il y a des différences tant quantitatives que qualitatives entre les stations 2 et 4. L'atténuation de l'intensité de la contamination (aspect quantitatif) est liée à la décantation de matières en suspension qui entraîne une partie du métal vers les sédiments de fond. Ceci a pu être vérifié par l'analyse du seston décanté (Mersch *et al.*, sous presse; cf. annexe 1). Par ailleurs, on observe un effet de retard entre les deux sites (aspect qualitatif) qui s'explique par le déplacement progressif de l'eau du point d'injection des eaux de purge vers le l'ouvrage de rejet en Moselle (cf. figure 11).

L'effet de retard, qui est une particularité de la retenue, permet d'affiner l'analyse et l'interprétation des données. En quelque sorte, les prélèvements effectués au même moment reflètent, avec une intensité atténuée, les événements qui se sont produits à une dizaine de jours d'intervalle. Ce délai correspond au temps de séjour moyen de l'eau dans la retenue lorsque les quatre réacteurs fonctionnent. Un exemple concret peut illustrer ce point. Le pic observé en

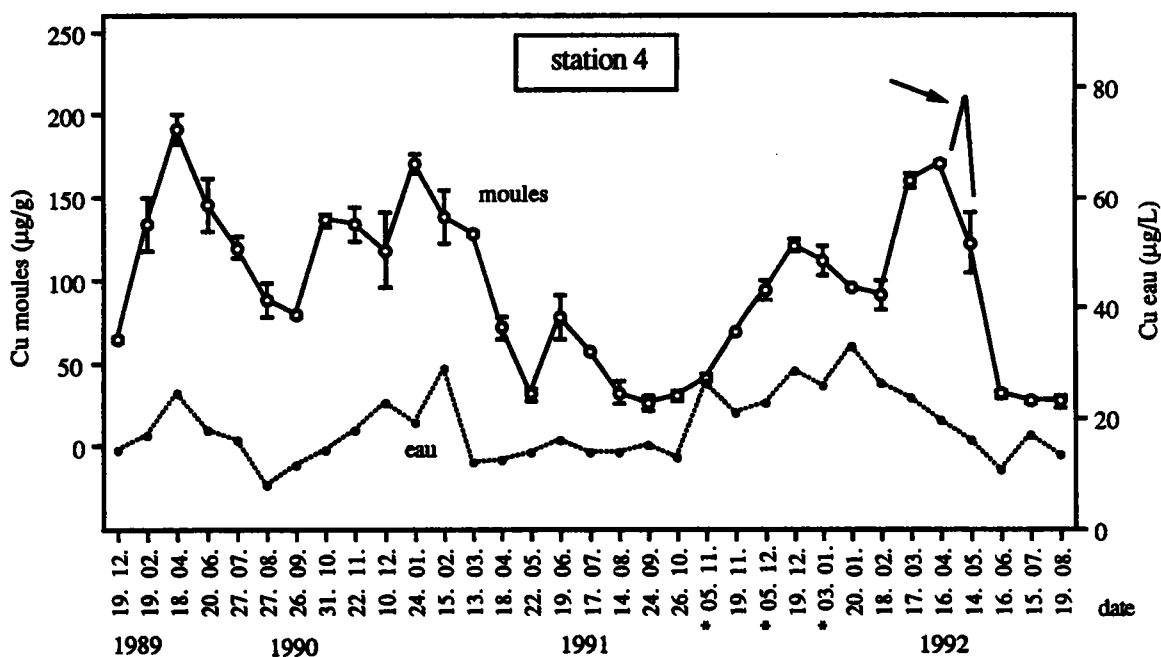
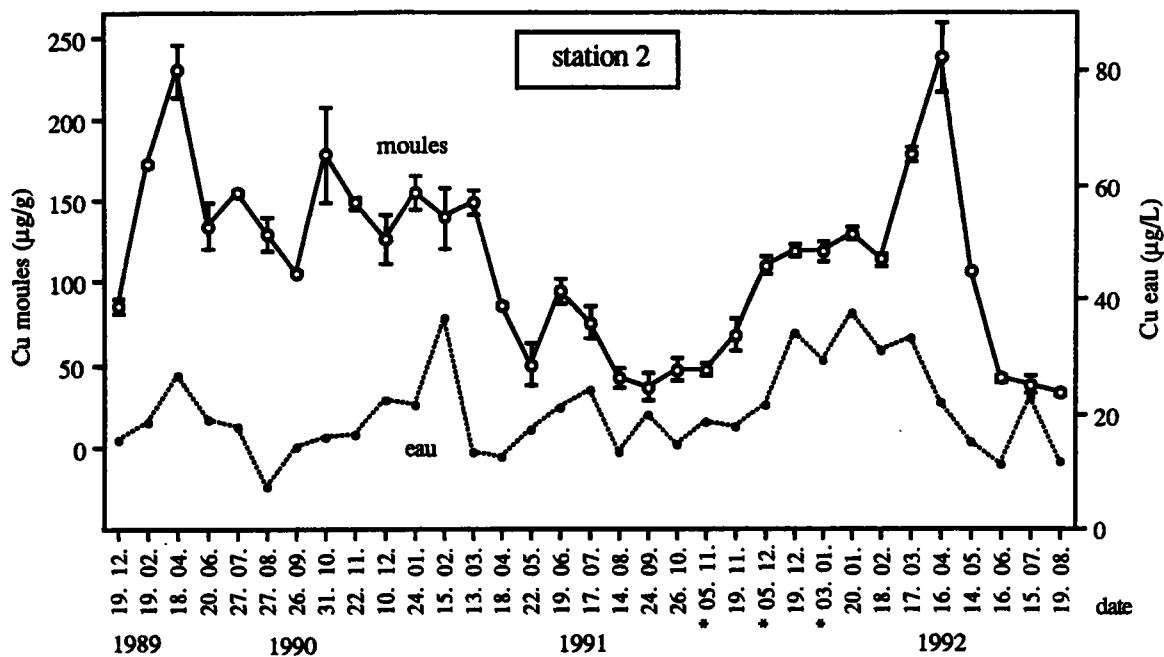


Figure 22. Evolution des concentrations en cuivre dans l'eau et dans les dreissenés autochtones aux stations 2 et 4 de la retenue du Mirgenbach.

\* : Echantillons supplémentaires ajoutés dans le cadre de l'expérience de surveillance active (cf. Exp. 5),

les barres verticales représentent l'écart entre deux sous-échantillons,  
 flèche : pic rajouté correspondant à une interprétation des observations  
 (voir texte sous 4.2.1.2.a).

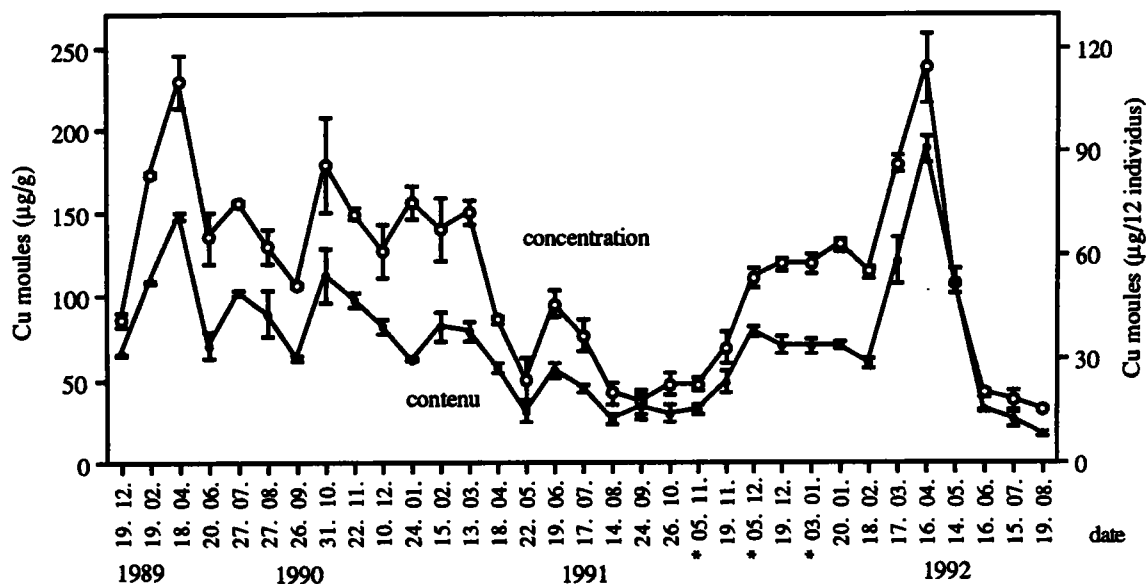


Figure 23. Comparaison entre les concentrations et les contenus en cuivre dans les dreissènes autochtones de la station 2 de la retenue du Mirgenbach.

avril 1992 est nettement plus prononcé à la station 2 qu'à la station 4 (cf. figure 22). Un mois plus tard, une élimination importante s'est produite au point 2 qui est restée nettement plus timide à la station 4. Compte tenu de l'effet de retard, on peut imaginer qu'entre le 16 avril et le 14 mai, il y a eu un pic à la station 4 qui n'a pas été mis en évidence par les deux échantillons successifs. En fait, les deux prélèvements espacés d'un mois n'ont pas permis de détecter le niveau maximal atteint par l'épisode de contamination en question.

### b) Remplacement des concentrations par les contenus métalliques dans les moules

Les contenus métalliques dans les dreissènes se caractérisent par une amplitude de variations plus faible que les concentrations (figure 23). Ceci traduit l'élimination des données écotoxicologiques de la variabilité liée aux fluctuations de poids sec. Mis à part quelques disparités de faible importance (par exemple en janvier ou en décembre 1991), les deux profils fournissent des indications qualitatives similaires. L'influence du cycle biologique des moules est donc essentiellement d'ordre quantitatif, comme en témoignent les écarts variables entre les deux courbes.

### c) Relation entre les concentrations en cuivre dans l'eau et celles dans les organismes

Une relation linéaire a pu être établie entre les concentrations de cuivre dans l'eau et celles observées dans les dreissènes à la station 2 ( $r = 0,33$ ;  $p < 0,05$ ;  $n = 33$ ). Toutefois, la distribution des points autour de la droite de régression suggère que celle-ci ne traduit guère plus qu'une tendance (figure 24). La corrélation est nettement améliorée lorsqu'on sélectionne

des intervalles de temps plus restreints, par exemple la période comprise entre février et novembre 1990 ( $r = 0,76$ ;  $p < 0,025$ ;  $n = 8$ ) ou bien celle comprise entre mai 1991 et février 1992 ( $r = 0,92$ ;  $p < 0,01$ ;  $n = 10$ ; figure 25).

Le remplacement des concentrations par les contenus de cuivre ne permet pas d'améliorer les coefficients de corrélation de façon significative. Des sources de variation autres que le poids sec interviennent donc à ce niveau.

#### **d) Calcul d'un flux métallique**

L'existence d'une corrélation linéaire entre la contamination du milieu et les niveaux métalliques dans les organismes indique que les échantillons d'eau de la période en question sont représentatifs de la situation moyenne de pollution. Cette corrélation peut être exploitée pour le calcul d'un flux de cuivre dans la phase circulante de la retenue. Ainsi, entre mai 1991 et février 1992 (cf. figure 25), la concentration moyenne de cuivre dans l'eau a été de  $23,0 \pm 8,4 \mu\text{g L}^{-1}$ . Compte tenu d'un renouvellement moyen de l'eau dans la retenue d'environ 10 jours (fonctionnement des 4 réacteurs avec purges transitant par la retenue), la quantité de cuivre rejetée dans la Moselle peut être estimée à  $512 \pm 187 \text{ kg}$  par mois. Un résultat similaire est obtenu pour la période comprise entre février et novembre 1990 avec un flux de cuivre estimé à  $190 \pm 60 \text{ kg}$  par mois pour un fonctionnement de 2 réacteurs.

Pour être complet, il faut préciser que le flux de cuivre dans la phase circulante ne représente qu'une fraction du flux total de ce métal dans la retenue. En effet, comme l'ont déjà montré les différences quantitatives entre les stations 2 et 4, une partie de métal disparaît de la phase circulante par décantation. Lors d'un travail réalisé entre juillet et décembre 1991, les dépôts de cuivre ont été estimés à  $938 \pm 474 \text{ kg}$  par mois (Mersch *et al.*, sous presse). Si on considère qu'à une distance suffisante du point d'injection des eaux de purge et pour des échantillons d'eau prélevés en surface les deux phases sont complémentaires, la charge totale de cuivre entrant dans la retenue pendant la période d'étude en question correspond à la somme des deux fractions, soit environ  $1450 \text{ kg}$  par mois.

#### **4.2.1.3. Contamination de la retenue par d'autres métaux**

En ce qui concerne les métaux autres que le cuivre, la présentation se limite au suivi des concentrations dans l'eau et dans les dreissènes. Un développement analogue à celui proposé pour le cuivre n'apporte pas de renseignements essentiels nouveaux.

##### **a) Zinc**

L'origine du zinc est la même que celle du cuivre, à savoir des phénomènes de corrosion et d'abrasion au niveau du système de refroidissement tertiaire constitué de laiton.

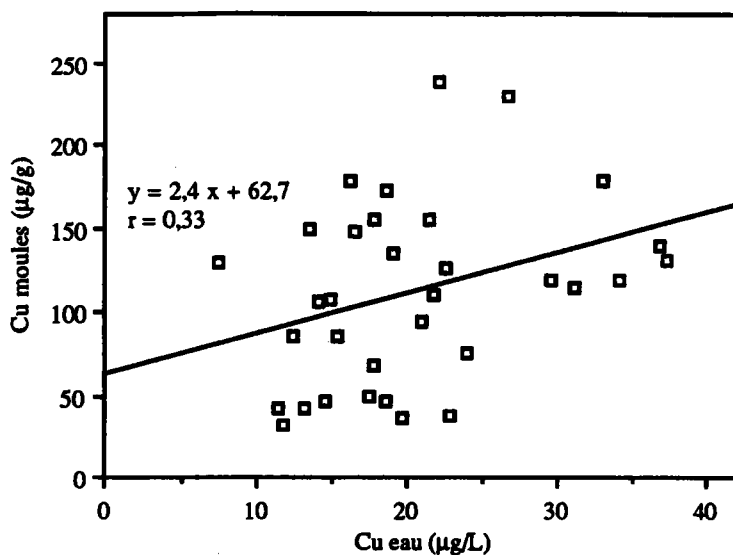


Figure 24. Relation entre les concentrations en cuivre dans l'eau et dans les dreissènes à la station 2 de la retenue du Mirgenbach, en prenant en compte l'ensemble des prélèvements (n = 33).

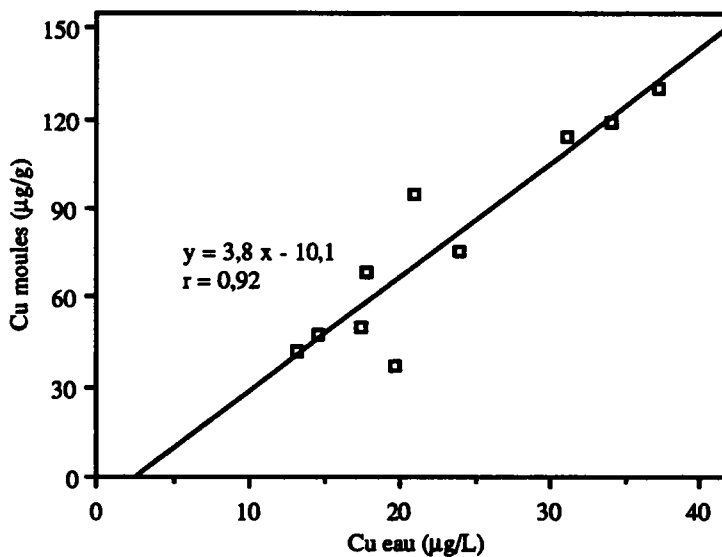


Figure 25. Relation entre les concentrations en cuivre dans l'eau et dans les dreissènes à la station 2 de la retenue du Mirgenbach, en ne considérant que les échantillons prélevés entre mai 1991 et février 1992 (n = 10).

Le cas du zinc (figure 26) permet de reproduire la plupart des observations décrites pour le cuivre (cf. figure 22). D'abord, il confirme l'atténuation des événements de pollution entre les stations 2 et 4. En effet, à une distance plus grande du point d'injection des eaux de purge, les courbes sont plus stables et les pics sont caractérisés par une amplitude plus faible (par exemple en février 1990 et en mars 1992). Le pic majeur observé en mars 1991 constitue la seule exception.

Cet événement particulier permet d'illustrer l'influence de deux autres paramètres déjà exposée dans le cas du cuivre, à savoir le problème de la fréquence des prélèvements et l'effet de retard entre les deux stations. Le 15 février, un pic de zinc est détecté dans les échantillons d'eau, mais aucune accumulation n'est observée dans les moules. Cette situation peut être interprétée comme le résultat d'une pollution récente. Un mois plus tard, la contamination de l'eau a disparu, mais les organismes en ont gardé l'empreinte au sein de leurs tissus. La concentration plus élevée à la station 4 qu'à la station 2 peut s'expliquer par le déplacement de la masse d'eau polluée qui atteint le point 4 avec un certain délai. Ceci suggère que, du moins à la station 2, le niveau maximal de la contamination n'a pas été observé dans les mollusques et que la phase d'élimination du zinc est déjà bien engagée au moment du prélèvement du mois de mars.

#### **b) Cadmium**

Les fluctuations des concentrations en cadmium observées dans l'eau ne sont que très partiellement retrouvées dans les dreissènes (figure 27). Celles-ci indiquent une situation très stable avec un seul événement significatif enregistré en mars 1991. Comme cette accumulation de cadmium coïncide avec le pic majeur de zinc, on peut supposer que les deux métaux ont une origine commune.

#### **c) Plomb**

D'une manière générale, les faibles concentrations en plomb dans la retenue par rapport à la Moselle (cf. *Exp. 3*) sont imputables aux propriétés d'adsorption de ce métal. Dans un milieu lacustre sans turbulences, le plomb est rapidement piégé par les matières en suspension et éliminé de la colonne d'eau par décantation du seston.

D'après les profils de contamination, l'année 1990 se distingue clairement des autres années (figure 28). Exception faite d'erreurs analytiques, la baisse de la contamination de la retenue ne peut s'expliquer que par une diminution de la pollution de la Moselle. Le cas du plomb illustre également la relative constance des concentrations métalliques dans les moules face aux fluctuations observées dans l'eau.

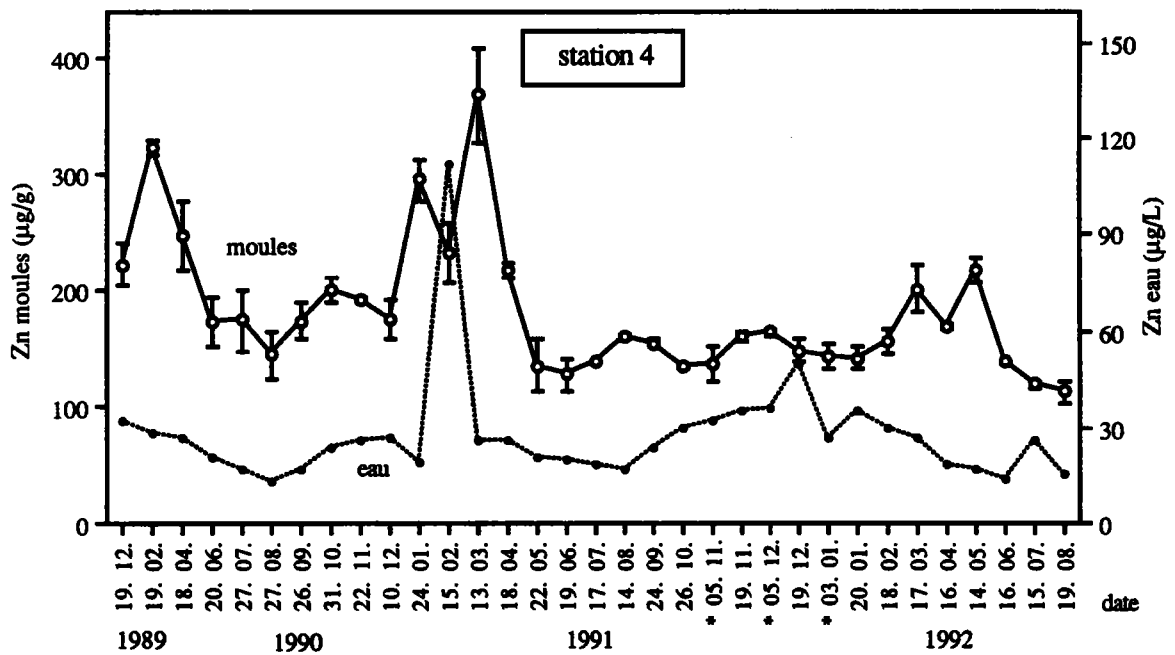
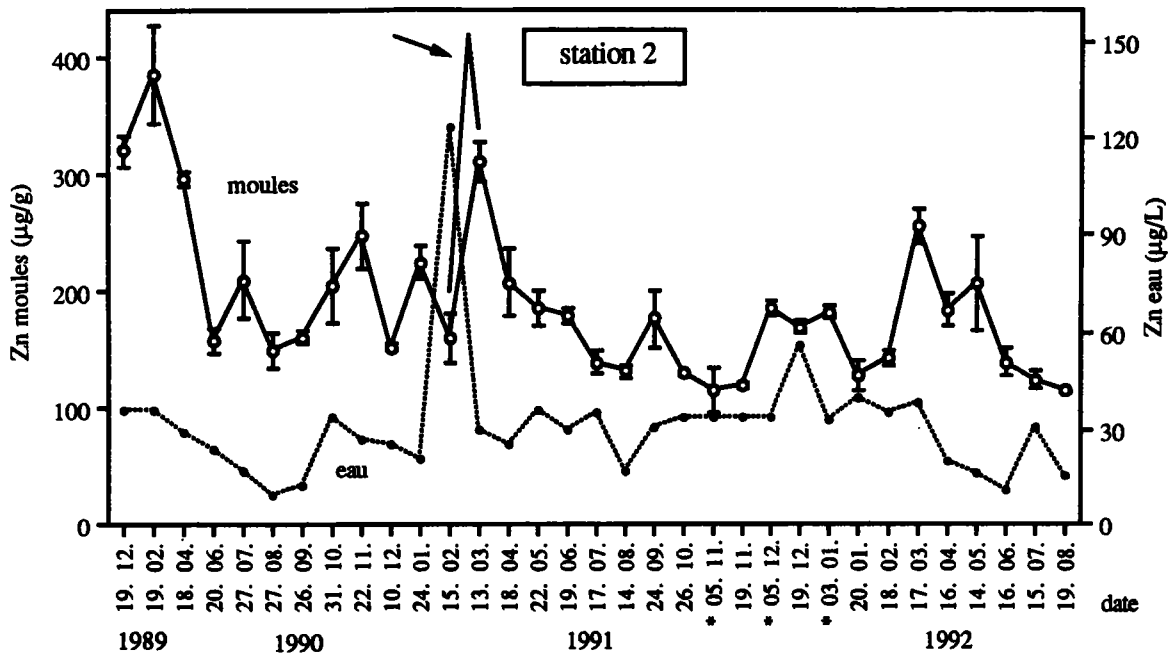


Figure 26. Evolution des concentrations en zinc dans l'eau et dans les dreissenés autochtones aux stations 2 et 4 de la retenue du Mirgenbach.

Flèche : pic rajouté correspondant à une interprétation des observations  
 (voir texte sous 4.2.1.3.a),  
 autres commentaires comme figure 22.

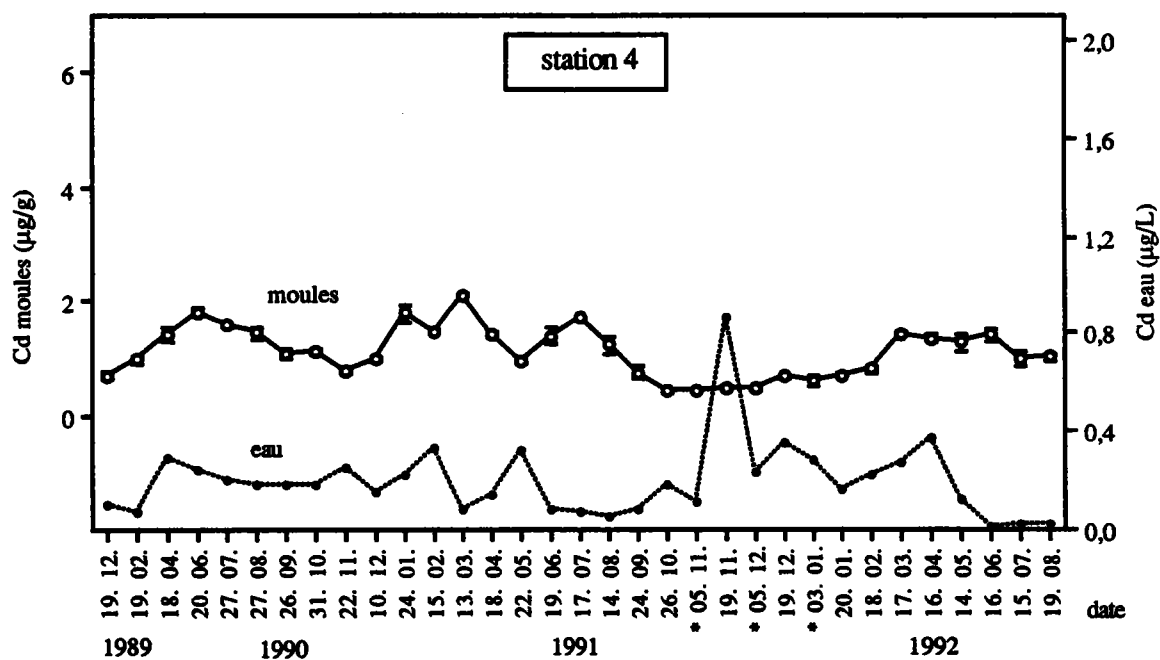
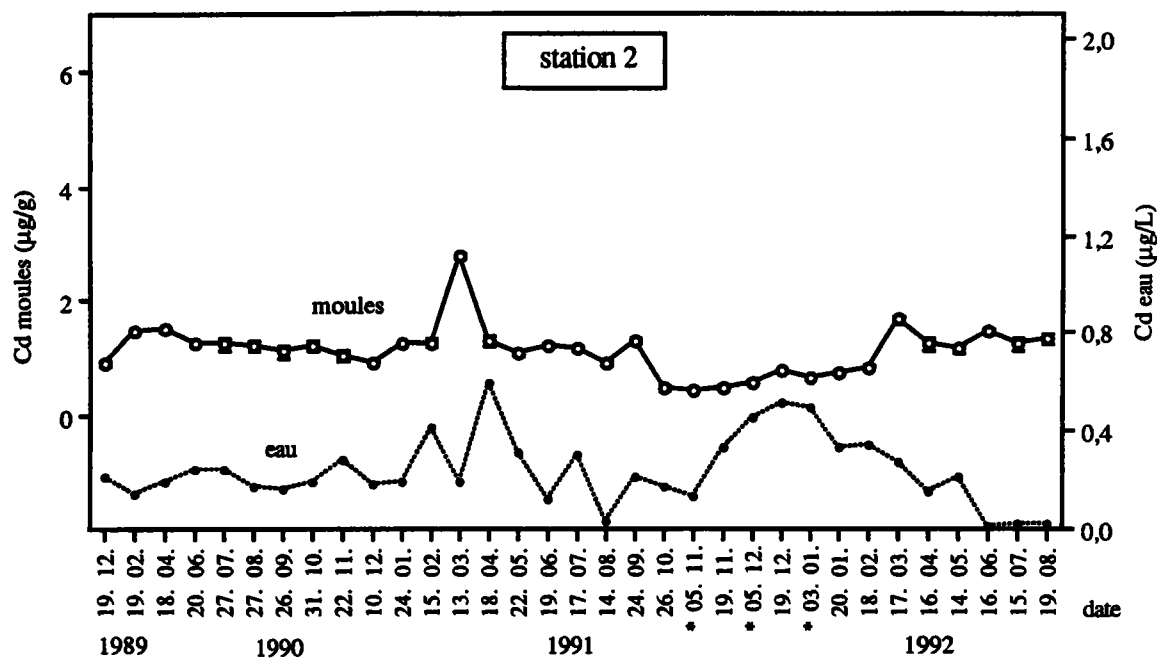


Figure 27. Evolution des concentrations en cadmium dans l'eau et dans les dreissenés autochtones aux stations 2 et 4 de la retenue du Mirgenbach.

Commentaires comme figure 22.



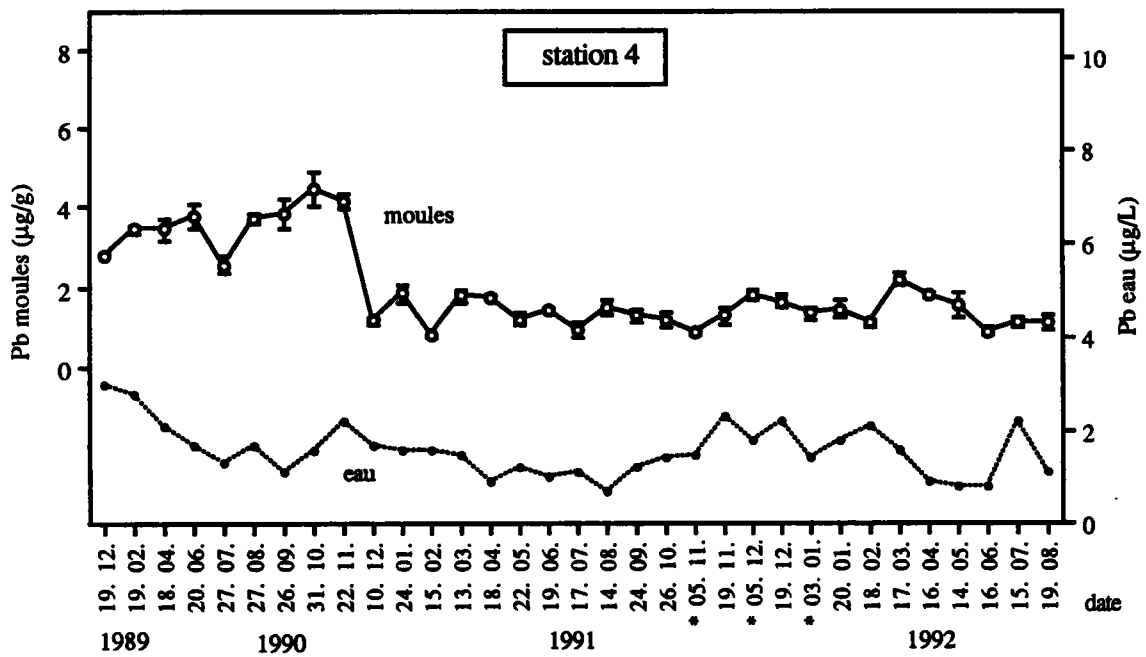
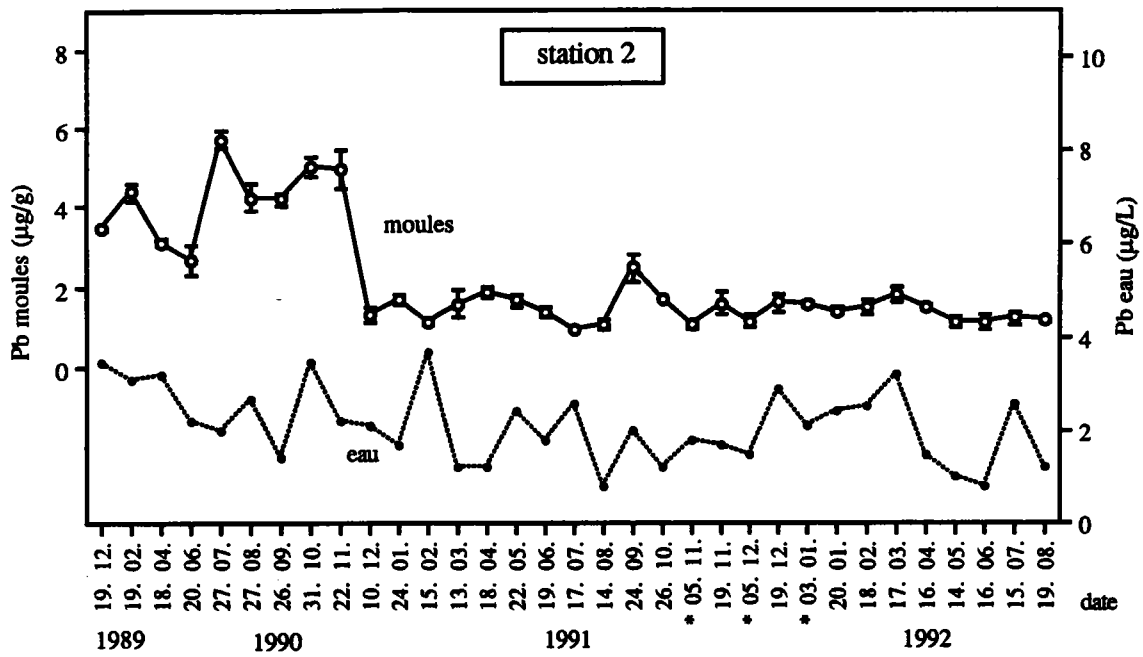


Figure 28. Evolution des concentrations en plomb dans l'eau et dans les dreissènes autochtones aux stations 2 et 4 de la retenue du Mirgenbach.

Commentaires comme figure 22.

#### **d) Fer**

Les concentrations en fer restent globalement stables dans les deux compartiments analysés (figure 29). Toutefois, une très légère tendance à la baisse peut être observée dans les moules.

#### **e) Nickel**

Le cas du nickel illustre encore un fois la similitude des profils aux deux stations de la retenue (figure 30). L'homogénéité des données plaide en faveur de la fiabilité des analyses. Il faut préciser que le nickel n'a pas été dosé dans l'eau.

### **4.2.2. Discussion**

#### **4.2.2.1. Données biométriques**

Les variations de l'indice de condition observées dans les moules autochtones de la retenue s'expliquent pour l'essentiel par le cycle biologique des animaux (Stanczykowska, 1977; Walz, 1978; Tourari *et al.*, 1988; Borcharding, 1991). Les valeurs les plus élevées correspondent à la prise de poids des moules lors de la gamétogenèse au printemps et lors de la reconstitution de réserves avant l'hiver. En été et à la fin de l'hiver, la diminution de masse corporelle est causée respectivement par la reproduction et par des conditions trophiques défavorables. Les différences entre les deux stations pendant les mois d'été sont probablement liées à un décalage dans le début de la ponte.

Deux hypothèses différentes peuvent être avancées pour tenter d'expliquer l'absence de périodicité annuelle marquée. D'abord, la fréquence des prélèvements est trop faible pour enregistrer l'ensemble des événements biologiques avec leur amplitude maximale. Des phénomènes importants qui se déroulent pendant la période comprise entre deux prélèvements peuvent donc passer inaperçus (Walz, 1978; Borcharding, 1991). Par ailleurs, le suivi de l'indice gonadique a montré que le cycle biologique des moules est perturbé et souvent désynchronisé (Giamberini, commun. pers.). Ceci peut s'expliquer par les caractéristiques physico-chimiques et biologiques dégradées de la retenue. D'après la notion de reproduction opportuniste des mollusques envahissants (Harvey et Vincent, 1989; Sprung et Borcharding, 1991), on peut donc admettre que seuls les individus les plus forts arrivent à réaliser leur cycle complet pendant les périodes les plus favorables.

#### **4.2.2.2. Données écotoxicologiques**

Les variations saisonnières des niveaux de cuivre et de zinc dans la retenue du Mirgenbach sont liées principalement à la gestion du circuit de refroidissement de la centrale nucléaire. Pendant l'hiver, une production maximale nécessite une utilisation intense des eaux

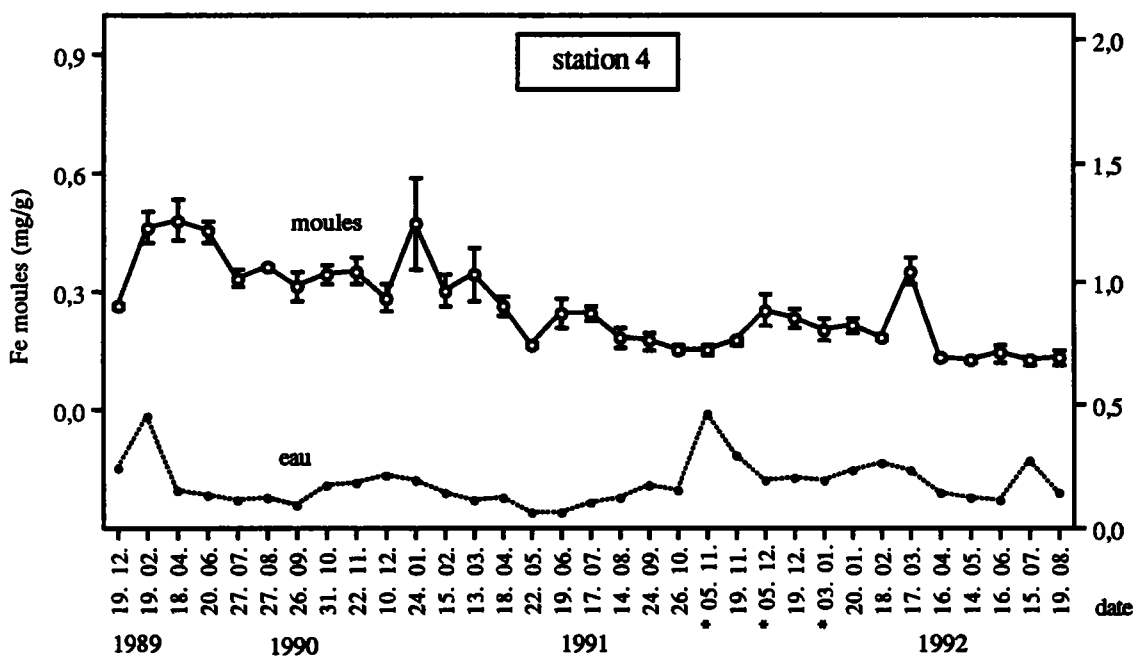
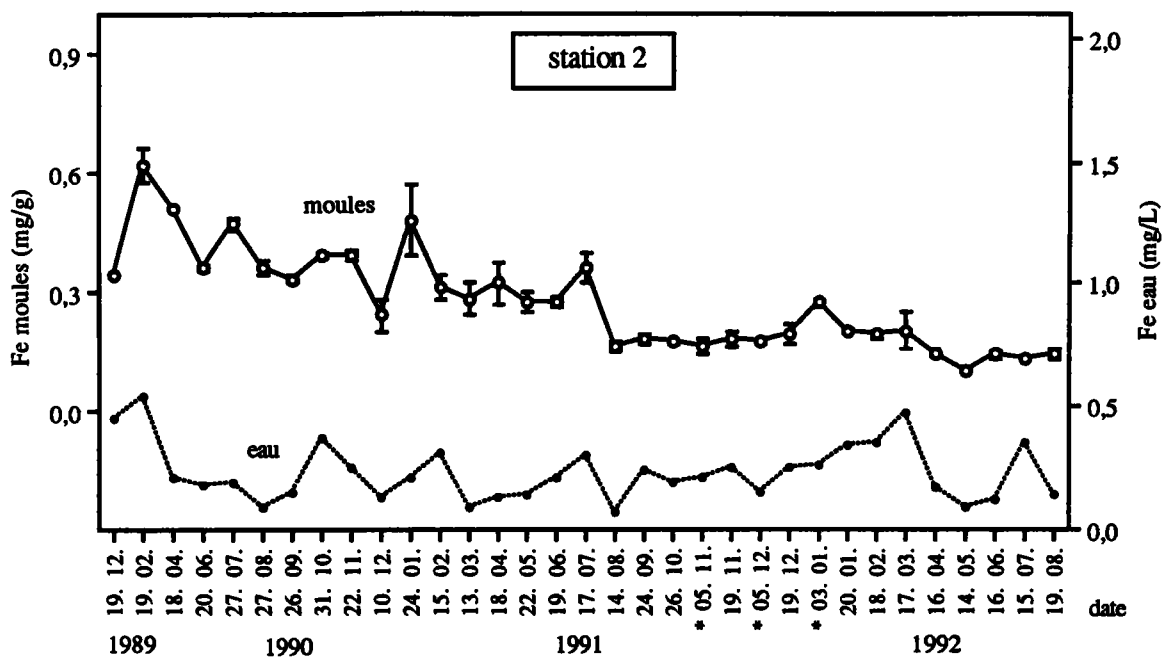


Figure 29. Evolution des concentrations en fer dans l'eau et dans les dreissènes autochtones aux stations 2 et 4 de la retenue du Mirgenbach.

Commentaires comme figure 22.

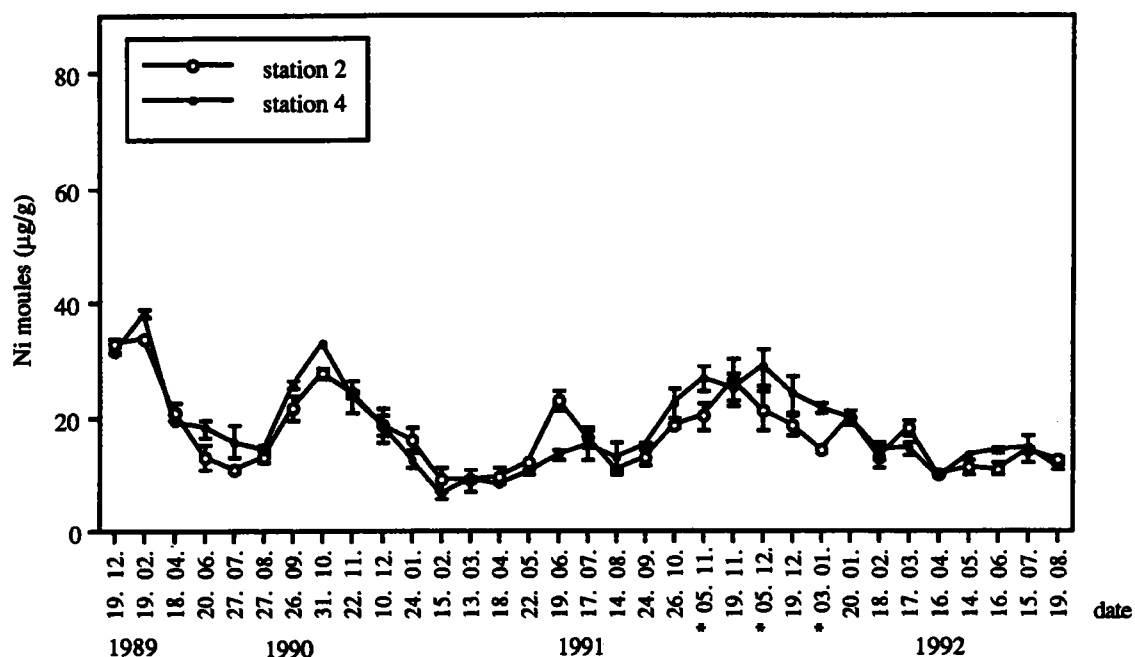


Figure 30. Comparaison directe de l'évolution des concentrations en nickel dans les dreissènes autochtones aux stations 2 et 4 de la retenue du Mirgenbach.

du lac, ce qui les charge en produits de corrosion. En revanche, la retenue est court-circuitée pendant des périodes prolongées en été. A l'absence de renouvellement du milieu vient s'ajouter une décantation importante de particules biologiques qui jouent un rôle déterminant dans l'élimination progressive du métal de la colonne d'eau (Kaiser *et al.*, 1989).

L'amplitude des fluctuations de cuivre et de zinc dans les dreissènes montre que cet organisme est capable d'accumuler une charge métallique importante en réponse à une contamination du milieu et de l'éliminer complètement lorsque la qualité de l'eau s'améliore. Les décontaminations rapides impliquent l'existence d'un mécanisme efficace de régulation. Des fluctuations similaires des charges en cuivre ont été observées dans plusieurs espèces de bivalves (Talbot, 1986; Cain et Luoma, 1990). Le cas du zinc a été discuté précédemment (cf. *Exp. 3*).

Les discordances apparentes entre la contamination de l'eau et l'accumulation dans les dreissènes ont deux causes possibles : d'une part les aléas du calendrier de prélèvement, et d'autre part la capacité du mollusque à intégrer une pollution en fonction de son intensité et de sa durée. Ces notions peuvent être illustrées en précisant les deux situations extrêmes susceptibles de se présenter au moment d'un épisode de pollution. Au début de l'épisode, il y a un décalage entre la détection de la contamination dans le milieu et dans les moules, parce que le processus d'accumulation nécessite un certain délai. Une fois que la pollution du milieu a

Date	Millery		Pont-à-Mousson		Apach
	station 2	station 4	station 2	station 4	station 2
26. 10. 91					
05. 11.	5	4	3	1	4
19. 11.	5	3	2	1	3
05. 12.	5	5	4	1	4
19. 12.	1	4	3	0	2
03. 01. 92	2	0	2	4	6
20. 01.	3	4	0	0	15
mortalité cumulée	13	12	9	3	15

Tableau 12. Taux de mortalité (%) dans des lots de trois populations de la Moselle (Millery, Pont-à-Mousson et Apach) transférés aux stations 2 et 4 de la retenue du Mirgenbach.

Date	Autochtones		Millery		Pont-à-Mousson		Apach
	station 2	station 4	station 2	station 4	station 2	station 4	station 2
26. 10. 91	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
05. 11.	83	94	92	65	92	72	73
19. 11.	81	72	58	71	83	58	58
05. 12.	86	76	77	85	81	77	78
19. 12.	71	72	76	78	64	84	55
03. 01. 92	60	67	63	58	55	73	62
20. 01.	54	74	77	56	82	54	21
moyenne ± écart-type	72 13	76 9	74 12	69 11	76 14	70 11	58 20

Tableau 13. Taux de fixation (%) des moules autochtones et des moules transférées aux stations 2 et 4 de la retenue du Mirgenbach.

n.d.: non déterminé.

cessé, les organismes conservent une empreinte qui s'atténue progressivement grâce aux possibilités physiologiques de décontamination. En définitive, un échantillonnage mensuel de dreissènes intervient à un moment bien précis au cours d'un cycle accumulation/élimination. Il constitue par conséquent une suite de bilans intermédiaires de la contamination des tissus de l'organisme. Comme dans le cas de l'indice de condition, l'amplitude maximale d'un événement de pollution peut échapper complètement à la surveillance.

L'existence d'une corrélation entre les concentrations métalliques dans l'eau et les niveaux de contamination des moules implique une évolution suffisamment lente de la qualité du milieu pour permettre un rééquilibrage continu des concentrations métalliques dans les dreissènes. Sur un plan fondamental, cette relation observée sur le terrain valide l'organisme en tant qu'indicateur biologique (Phillips, 1977). Sur un plan plus pratique, elle souligne la représentativité des échantillons d'eau et rend possible le calcul d'un flux de métal dans le milieu étudié.

L'intérêt comparé de l'expression des résultats en terme de concentration ou en terme de contenu métallique sera discuté dans le cadre des études de transfert de moules dans la retenue du Mirgenbach (*Exp. 5*) et dans la Wiltz (*Exp. 6*).

Pour les métaux qui ne sont pas des micropolluants spécifiques de la retenue (Cd, Pb, Fe, Ni), une propriété extrêmement importante de la dreissène a été mise en évidence, à savoir la constance des concentrations métalliques en cas de contamination faible du milieu. Cette stabilité contraste dans certains cas avec les fluctuations observées dans les échantillons d'eau. D'un point de vue toxicologique, cette caractéristique exclut les faux positifs. Lorsque les niveaux métalliques sont faibles, l'influence des variations de poids sec demeure négligeable.

#### **4.3. Surveillance active : validation de la technique des transferts (*Exp. 5*)**

##### **4.3.1. Présentation des résultats**

###### **4.3.1.1. Condition physiologique des dreissènes transférées**

###### **a) Mortalité**

La mortalité des différentes populations transférées à partir de la Moselle est restée faible pendant les 3 mois d'immersion dans la retenue (tableau 12). Le lot de Pont-à-Mousson exposé à la station 4 se distingue par un taux de mortalité cumulée minimal (3 %) tandis que les pertes les plus élevées sont observées dans la population d'Apach (15 %). Aucune différence statistique n'existe entre les 5 séries (test t;  $p > 0,05$ ;  $n = 6$ ).

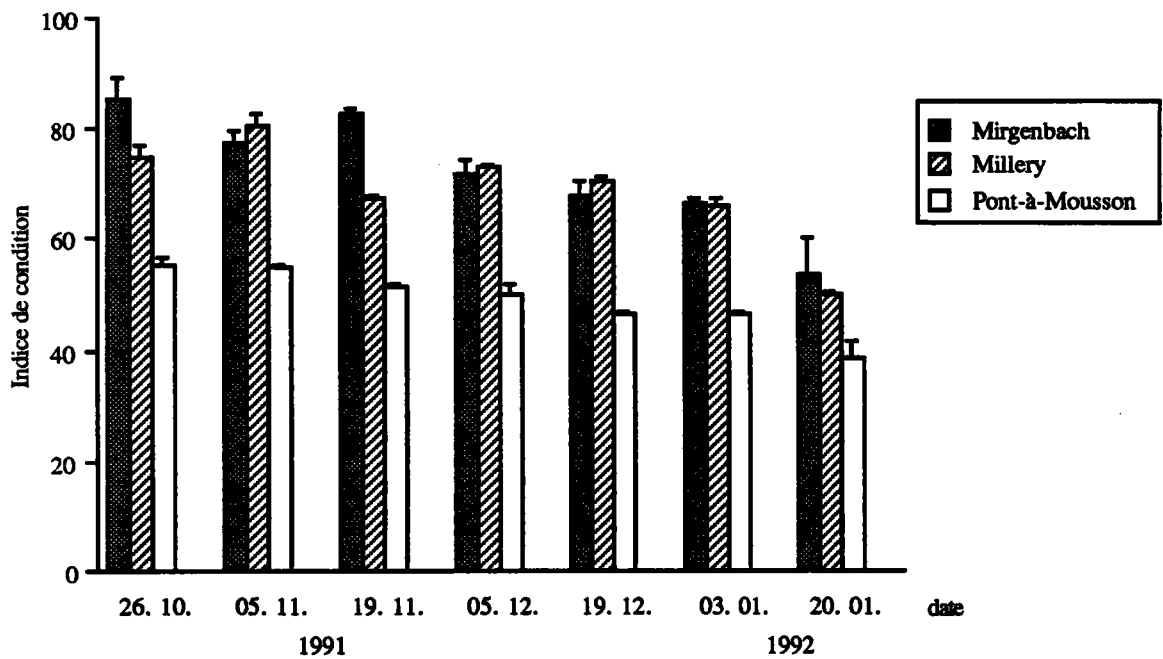
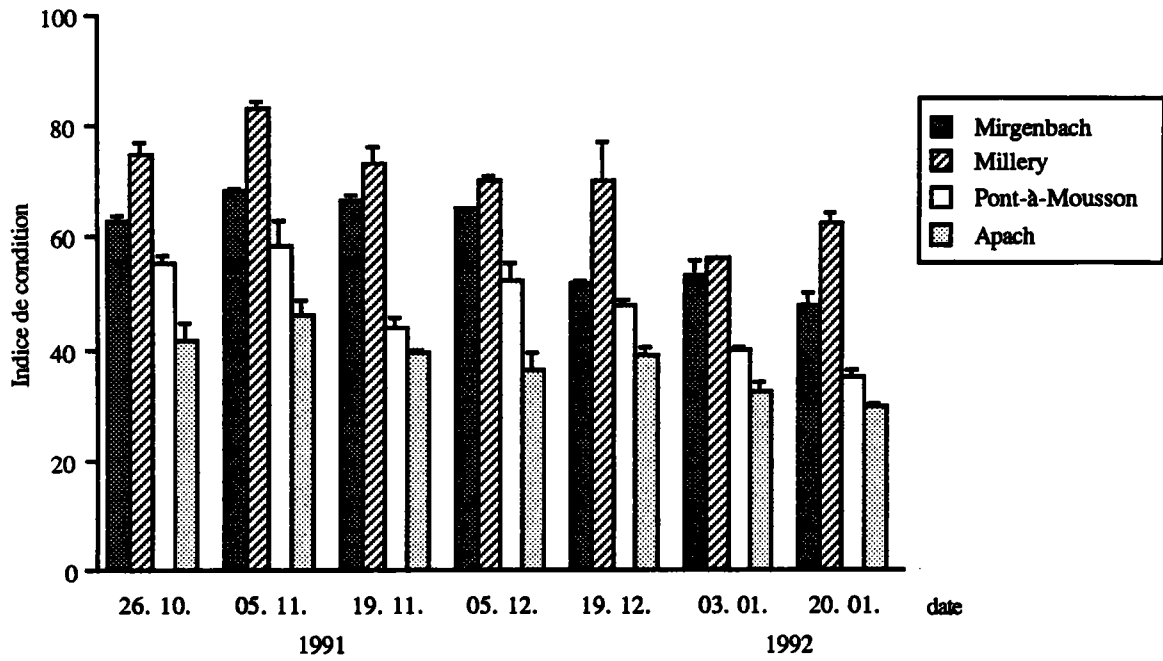


Figure 31. Evolution de l'indice de condition des moules autochtones et des moules transférées aux stations 2 (en haut) et 4 (en bas) de la retenue du Mirgenbach.

Les barres verticales représentent l'écart entre deux sous-échantillons.

## **b) Capacité de fixation**

Le taux de fixation des moules de l'ensemble des lots est élevé après les trois premiers prélèvements (tableau 13). A partir des échantillons du 19 décembre 1991 ou du 3 janvier 1992 selon la population, les pourcentages de fixation accusent une baisse sensible qui s'accroît dans certains cas lors du dernier prélèvement.

Aucune différence statistique n'est observée entre les deux sites, ni pour les dreissènes autochtones ni pour les deux populations transférées conjointement à la station 2 et à la station 4 ( $p > 0,05$ ;  $n = 6$ ). En revanche, la capacité de fixation des moules autochtones de la station 2 est significativement supérieure ( $p < 0,05$ ) à celle du lot en provenance d'Apach. Aucune autre différence entre populations n'a été mise en évidence.

## **c) Indice de condition**

Lorsque plusieurs populations sont comparées, l'indice de condition doit être préféré au seul poids sec des parties molles pour décrire l'évolution de l'état physiologique des moules. En effet, pour une masse identique de tissu vivant, c'est la taille ou le poids des coquilles qui détermine le degré de "remplissage" de la cavité formée par les deux valves. L'indice de condition, tel qu'il est défini (*flesh condition*; Lobel et Wright, 1982), tient donc compte des caractéristiques biométriques spécifiques de chaque population. Il rend possible la comparaison entre des populations d'origine différente.

Aussi bien les dreissènes indigènes que les lots transférés subissent une dégradation plus ou moins progressive de leur condition physiologique entre le début et la fin de l'expérience (figure 31). A la station 2, les quatre populations sont toutes significativement différentes ( $p < 0,01$ ;  $n = 7$ ). En revanche, il n'y a pas de différence ( $p > 0,05$ ) entre les moules autochtones de la station 4 et le lot transféré à partir de Millery. Seule la population de Pont-à-Mousson se distingue des deux autres ( $p < 0,01$ ) par un indice de condition plus faible. Les lots de même provenance immergés conjointement aux deux stations montrent une évolution similaire de leur état physiologique ( $p > 0,05$ ). Par contre, les dreissènes autochtones de la station 4 se caractérisent par un indice de condition significativement plus élevé ( $p < 0,01$ ) que celles de la station 2.

## **d) Comparaison entre les paramètres biologiques**

Pendant la dernière période d'exposition, le taux de mortalité dans la population transférée à partir d'Apach augmente alors que les deux paramètres sublétaux atteignent leur niveau minimal. Dans plusieurs autres cas, la chute la plus importante de l'indice de condition coïncide avec une diminution de la capacité de fixation. Cette situation est notamment observée pour les moules autochtones de la station 2 entre le 5 et le 19 décembre, à la même



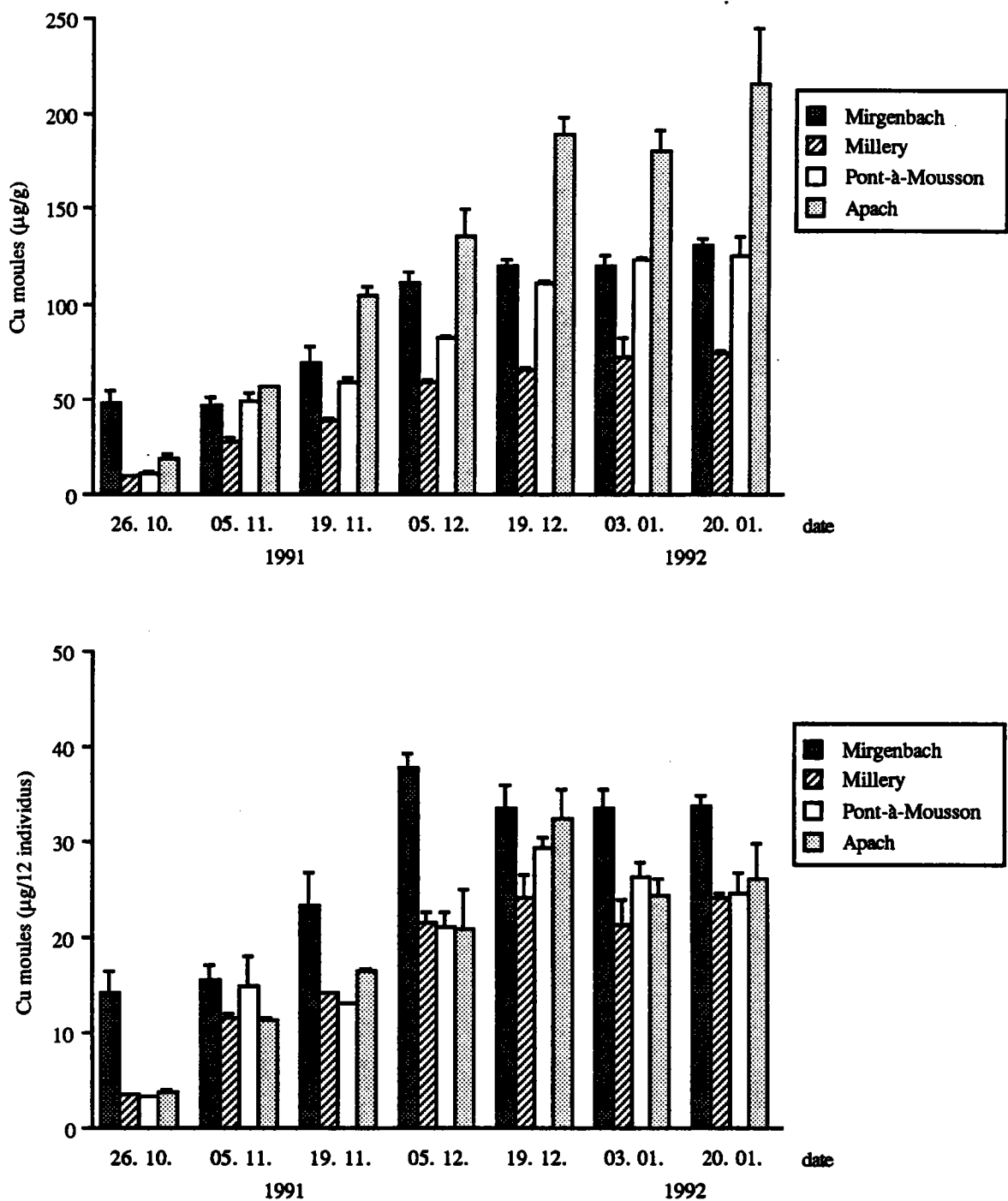


Figure 32. Evolution des concentrations (en haut) et des contenus (en bas) en cuivre dans les moules autochtones et dans les moules transférées à la station 2 de la retenue du Mirgenbach.

Les barres verticales représentent l'écart entre deux sous-échantillons.

station pour le lot de Millery entre le 19 décembre et le 3 janvier ou bien à la station 4 pour les moules de Pont-à-Mousson entre les deux derniers prélèvements.

#### **4.3.1.2. Profils de contamination dans les moules**

Entre octobre 1991 et janvier 1992, des variations substantielles des concentrations dans l'eau et dans les moules autochtones ont seulement été observées pour le cuivre et le zinc. Ce sont donc uniquement ces deux micropolluants qui présentent un intérêt dans le cadre du suivi des moules transférées.

##### **a) Cuivre**

Les concentrations initiales de cuivre dans les trois populations transférées sont nettement inférieures à celles observées dans les dreissènes indigènes (figure 32; station 2). Au bout de 11 jours d'exposition, les moules transférées atteignent des concentrations similaires à celles des animaux autochtones. A partir de ce premier prélèvement, des différences inter-populations s'établissent et s'accroissent avec une durée d'exposition croissante. Le lot d'Apach se distingue par les concentrations les plus élevées alors que la population de Millery affiche des niveaux nettement inférieurs à ceux des moules autochtones. A partir du 19 décembre, l'ensemble des lots indique un plateau avec des fluctuations plus ou moins importantes. La comparaison deux à deux des profils indique que les concentrations métalliques observées dans les quatre populations sont significativement différentes (test t;  $p < 0,05$  ou  $p < 0,01$ ;  $n = 7$ ).

Les profils obtenus à partir des contenus de cuivre dans les moules fournissent des indications différentes. En effet, la charge métallique accumulée par les trois lots introduits n'est pas significativement différente ( $p > 0,05$ ) ; seules les dreissènes autochtones se distinguent par des quantités plus importantes ( $p < 0,01$ ). L'accumulation dans les animaux indigènes est également plus rapide, notamment entre le 5 novembre et le 5 décembre. Les moules transférées atteignent leur contenu maximal seulement le 19 décembre. Pendant le mois suivant, on note un plateau ou une légère élimination de métal dans l'ensemble des populations.

La plupart des observations décrites pour le site 2 s'applique également à la station 4 (figure 33), notamment une accumulation plus importante ( $p < 0,01$ ) et plus rapide dans les dreissènes indigènes et l'absence de différence entre les contenus métalliques des deux populations transférées ( $p > 0,05$ ). L'effet de retard de la station 4 par rapport à la station 2 est mis en évidence aussi bien dans la population autochtone que dans les lots transférés qui atteignent leurs maxima respectifs le 19 décembre et le 3 janvier, c'est-à-dire chaque fois 15 jours après les moules de la station 2.

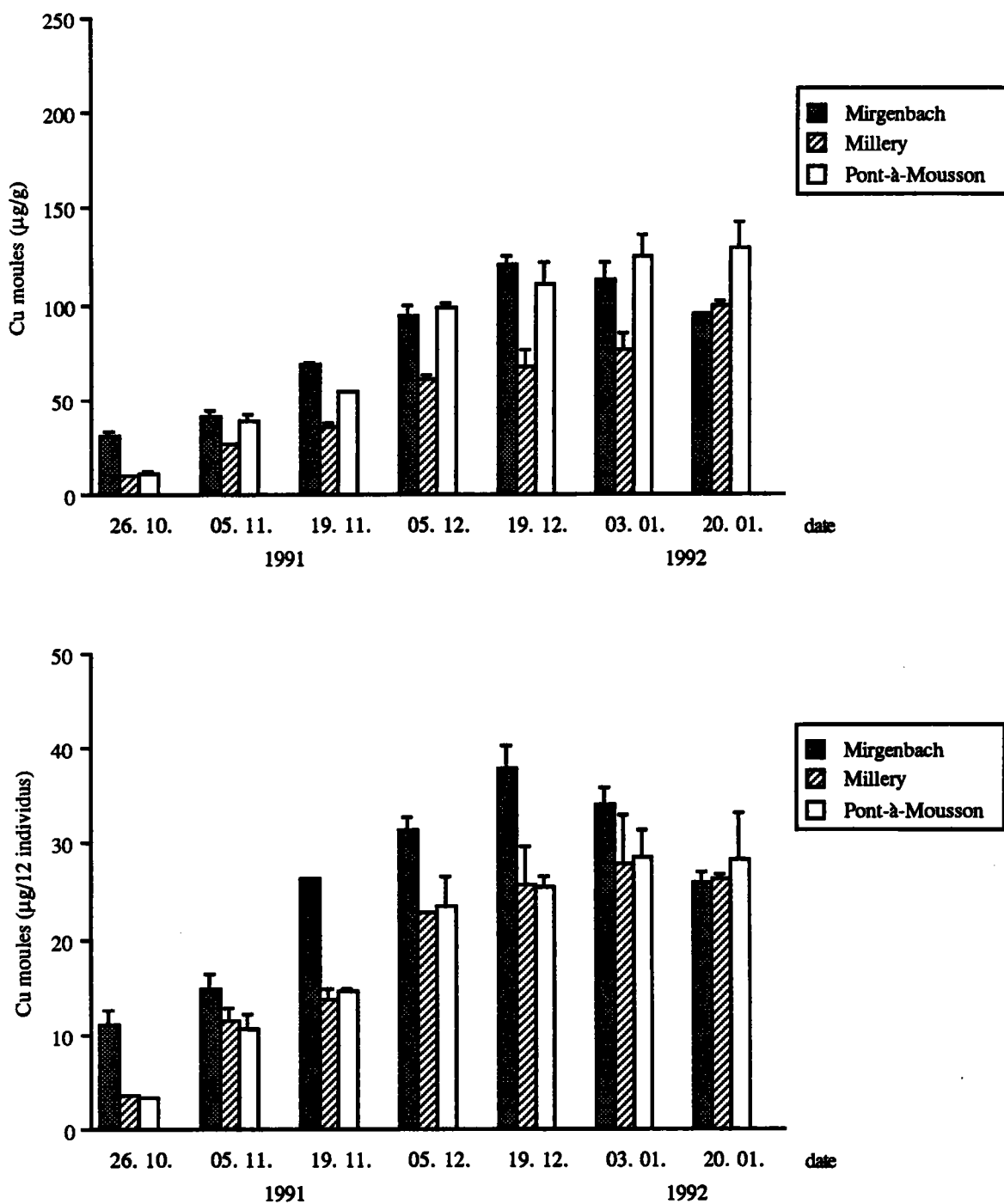


Figure 33. Evolution des concentrations (en haut) et des contenus (en bas) en cuivre dans les moules autochtones et dans les moules transférées à la station 4 de la retenue du Mirgenbach.

## **b) Zinc**

L'analyse des résultats concernant le zinc est rendue difficile par des amplitudes de variation relativement faibles (figure 34). Néanmoins, plusieurs caractéristiques déjà observées pour le cuivre sont identifiées, comme les différences de cinétique d'accumulation entre les moules autochtones et les lots transférés et l'influence des différences biométriques des populations. La comparaison des profils montre qu'en terme de concentration, toutes les populations sont différentes ( $p < 0,05$  ou  $p < 0,01$ ;  $n = 7$ ), à l'exception du couple lot autochtone/lot de Millery ( $p > 0,05$ ). En ce qui concerne les contenus de zinc, une seule différence statistique est détectée entre la population de Millery et celle d'Apach ( $p < 0,05$ ), la première ayant accumulé une charge plus importante que la seconde.

Les profils suggèrent également que le zinc est facilement régulé, même si, contrairement aux moules autochtones, les animaux transférés ne retrouvent pas leurs niveaux initiaux à la fin de l'expérience. Les résultats de la station 4 confirment dans les grandes lignes les observations de la station 2.

### **4.3.2. Discussion**

#### **4.3.2.1. Données biométriques**

Les taux de mortalité très faibles relevés dans les populations transplantées témoignent d'une part de la faisabilité technique des transferts et d'autre part de l'absence de stress à caractère aigu dans le nouvel environnement des moules.

La comparaison des paramètres biologiques a montré qu'une dégradation de l'état physiologique des moules (évalué par les deux descripteurs sublétaux : la capacité de fixation et l'indice de condition) n'a pas de répercussion immédiate sur le taux de mortalité. Néanmoins, les pertes de 15 % enregistrées dans le lot d'Apach pendant la dernière période d'exposition pourrait être interprétée comme la conséquence d'une détérioration irréversible de la condition des animaux. La signification écotoxicologique spécifique de chacun des trois descripteurs sera discutée en détail dans le cadre de l'étude de la Wiltz (*Exp. 6*).

Il est intéressant de noter que les différences dans la condition physiologique qui ont existé au moment de l'immersion des populations transférées se sont maintenues pendant toute la durée de l'expérience. La diminution progressive de l'indice de condition peut avoir deux causes possibles : d'une part la consommation des réserves métaboliques en hiver, et d'autre part un stress physiologique dû à un milieu ambiant défavorable. Les différences de condition des moules autochtones enregistrées aux deux sites de prélèvement s'expliquent probablement par leur situation géographique dans la retenue. On peut supposer en effet que les animaux de la station 2 sont soumis à un stress occasionné par les fluctuations de la qualité physico-

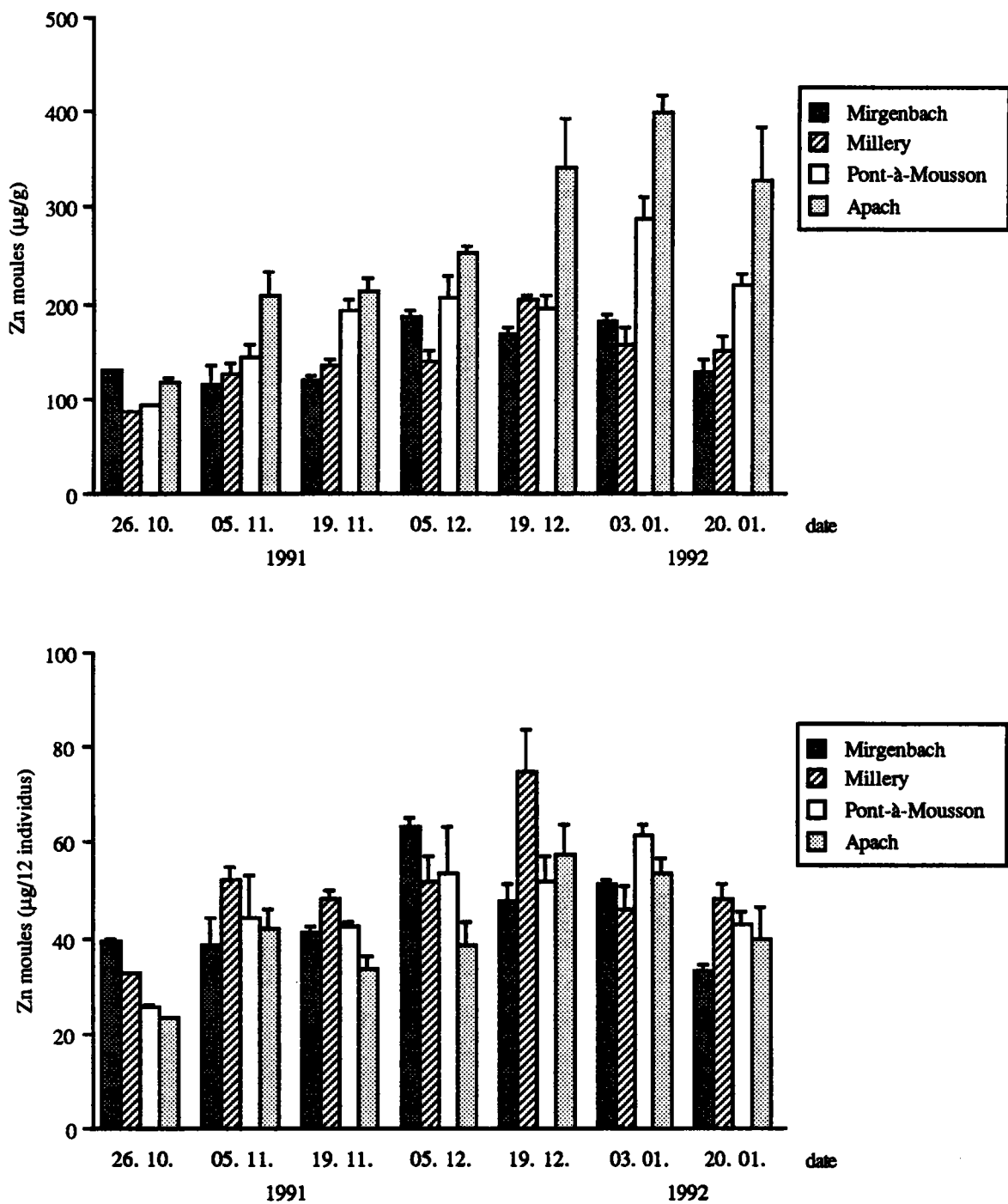


Figure 34. Evolution des concentrations (en haut) et des contenus (en bas) en zinc dans les moules autochtones et dans les moules transférées à la station 2 de la retenue du Mirgenbach.

chimique des eaux de purge. Plus loin du point d'injection, à la station 4, le milieu peut être considéré comme plus stable.

#### 4.3.2.2. Données écotoxicologiques

Cette expérience de transfert confirme l'interférence entre l'indice de condition (ou le poids sec) et la concentration métallique dans les moules. Deux cas peuvent être distingués. Lorsque le poids des animaux est élevé, une accumulation de cuivre ou de zinc se traduit par une augmentation modérée des concentrations, car le métal est en quelque sorte dilué dans la masse corporelle (Simpson, 1979; Fischer, 1983; Cossa, 1989). C'est le cas pour la population de Millery. En revanche, lorsque le poids est faible, une accumulation d'une importance identique se traduit par une augmentation marquée des concentrations tissulaires. Ce cas est illustré de façon spectaculaire par les moules d'Apach. Il faut préciser que ce raisonnement concerne l'organisme pris dans son ensemble ; il ne s'applique pas de façon isolée aux organes cibles. Les variations de poids des moules peuvent également masquer certains processus. Ainsi, les concentrations restent stables lorsqu'une élimination de métal est concomitante d'une diminution de poids. Cette situation a été observée dans toutes les populations et pour les deux métaux vers la fin de l'expérience.

Les différences entre les moules autochtones et transférées en ce qui concerne les cinétiques et les amplitudes d'accumulation du cuivre et, dans une moindre mesure, du zinc sont très difficiles à interpréter. Aucune comparaison de ce type n'a été rapportée dans la littérature. En fait, l'inverse de nos résultats aurait été plus logique, à savoir une accumulation plus lente et plus faible dans la population indigène. On peut en effet supposer que ces animaux sont "habitués" à gérer un excédent de cuivre et de zinc dans leurs tissus. Néanmoins, une tentative d'explication des observations peut être proposée. Les concentrations élevées en cuivre dans l'eau (ou plus globalement les conditions ambiantes défavorables) pourraient avoir une action toxique plus importante sur l'activité des moules transférées que sur celle des moules autochtones, qui, elles, sont adaptées à leur milieu. L'intoxication plus marquée des moules autochtones s'expliquerait donc par un contact plus étroit avec le milieu. Cette hypothèse est en accord avec les résultats de laboratoire en ce qui concerne la relation entre la toxicité du cuivre, le taux de filtration et l'accumulation du métal (cf. *Exp. 2*). Une seconde hypothèse pour expliquer les niveaux élevés de cuivre dans les dreissènes indigènes pourrait être une plus grande tolérance vis-à-vis du métal. Cette supposition impliquerait un mécanisme physiologique de détoxification intracellulaire très efficace qui serait également à mettre en rapport avec une certaine adaptation des animaux au milieu contaminé.

## 4.4. Conclusion et enseignements pratiques

### 4.4.1. Surveillance passive

Le suivi pendant presque trois ans de l'évolution des métaux dans les dreissènes autochtones de la retenue du Mirgenbach souligne l'intérêt de cette espèce en tant qu'indicateur biologique. En effet, les cinétiques et l'amplitude de variation des niveaux métalliques (accumulation et élimination) permettent d'obtenir un diagnostic fiable de la contamination du site. La moule intègre les événements de pollution en fonction de leur intensité et de leur durée. Ceci n'est évidemment pas le cas pour les échantillons ponctuels d'eau dont les fluctuations (pics) sont impossibles à interpréter en terme de risque (intensité et durée). Dans les dreissènes, l'évolution des niveaux métalliques est donc à la fois suffisamment lente pour garder une empreinte prolongée d'une contamination et suffisamment rapide pour refléter toute amélioration de la qualité du milieu.

Les différences fondamentales entre les deux compartiments analysés engendrent des discordances entre la contamination du milieu et l'intoxication des organismes. L'absence de relation statistique permanente eau/organismes montre également que les conditions dans la retenue sont moins stables qu'on ne l'avait supposé initialement lorsque la fréquence mensuelle des prélèvements a été décidée. Lors des périodes plus stables, les corrélations linéaires ont permis d'estimer le flux de cuivre rejeté dans la Moselle à environ 500 kg par mois lorsque les 4 réacteurs sont en service. D'un point de vue pratique, l'analyse des données écotoxicologiques mais aussi biométriques pourrait être affinée par une fréquence de prélèvement plus élevée.

Le tracé précis des profils de contamination obtenus à partir de l'analyse des moules est influencé par deux paramètres principaux : le moment exact des prélèvements et la condition physiologique des animaux. Les aléas du calendrier introduisent une certaine subjectivité dans les résultats, en ce sens que les prélèvements interviennent à un moment bien précis du cycle accumulation/élimination. Un prélèvement constitue donc un bilan intermédiaire qui ne permet pas nécessairement d'observer les niveaux extrêmes d'un épisode de pollution. La seconde source de variabilité, à savoir les fluctuations de poids sec, est facilement éliminée par l'expression des résultats écotoxicologiques en terme de contenu métallique. Ce paramètre est en effet indépendant de la condition des animaux.

La dreissène remplit une autre condition importante pour un indicateur biologique qui est la stabilité des concentrations métalliques dans le temps lorsque le niveau de contamination du milieu ambiant reste faible. Bien que la retenue du Mirgenbach ne puisse pas être considérée comme un site dépourvu de pollution, les concentrations métalliques ont chuté à des niveaux extrêmement bas pour certains éléments. Les minima observés en  $\mu\text{g g}^{-1}$  sont les suivants :

Cd : 0,4; Cr : 0,5; Cu : 25; Fe : 120; Hg : 0,08; Ni : 6; Pb : 0,8; Zn : 113. Il faudra tenir compte de ces données lors de la détermination des concentrations de référence.

#### **4.4.2. Surveillance active**

Les trois paramètres biologiques utilisés (mortalité, fixation, indice de condition) n'ont pas permis de mettre en évidence de perturbation physiologique des trois populations de moules (5 lots au total) transférées de la Moselle dans la retenue du Mirgenbach. En effet, le taux de mortalité des populations transplantées est resté faible. A une exception près, la capacité de fixation des moules introduites n'est pas différente de celle des animaux indigènes. Enfin, l'évolution de l'indice de condition a été similaire pour l'ensemble des quatre populations étudiées. Les différences inter-populations enregistrées au début de l'expérience se sont maintenues pendant les trois mois d'exposition.

En ce qui concerne les données écotoxicologiques, l'expérience de transfert a confirmé la nécessité de raisonner sur la base des contenus métalliques. En terme de charges, les trois populations transférées sont identiques pour le cuivre et, hormis une différence, également pour le zinc. En revanche, des différences d'ordre quantitatif et qualitatif ont été mises en évidence entre la population autochtone et les populations transférées, dans le cas du cuivre en particulier. Ces disparités dont l'amplitude reste tout de même faible pourraient s'expliquer par des phénomènes d'adaptation physiologique des animaux indigènes (sélection d'individus résistants) à leur milieu contaminé.

L'homogénéité globale des données biométriques et écotoxicologiques entre les moules zébrées autochtones et introduites souligne la faisabilité de la technique de transfert. On peut donc envisager une extension de la méthode à la surveillance active de sites dépourvus de populations indigènes de l'espèce.

Comme l'étude sur l'influence de l'origine de la population transférée s'est limitée à deux métaux physiologiques (Cu et Zn), une expérience analogue a été réalisée sur un site contaminé par des éléments non essentiels, à savoir la Wiltz (*Exp. 8*).



Paramètre	Station										n
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
température (°C)	14.6 ± 2.5	15.4 ± 3.2	14.5 ± 2.8	15.6 ± 3.2	17.0 ± 3.2	16.8 ± 3.2	16.6 ± 2.7	16.1 ± 2.4	15.7 ± 2.4	16.0 ± 2.6	16
conductivité (µS/cm)	318 ± 61	226 ± 22	318 ± 47	486 ± 109	614 ± 169	599 ± 153	637 ± 129	651 ± 125	560 ± 118	386 ± 74	16
Na (mg/L)	20 ± 6	9 ± 1	15 ± 3	23 ± 4	41 ± 16	43 ± 21	44 ± 21	44 ± 23	36 ± 19	22 ± 10	3
Cl (mg/L)	43 ± 10	20 ± 1	34 ± 4	35 ± 3	44 ± 15	47 ± 19	51 ± 19	51 ± 19	46 ± 19	32 ± 11	3
NH4 (mg/L)	1.4 ± 0.2	<0.1	<0.1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.3	0.4 ± 0.3	0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.1	3
NO2 (mg/L)	0.88 ± 0.32	0.24 ± 0.11	0.26 ± 0.19	0.23 ± 0.09	0.19 ± 0.08	0.23 ± 0.09	0.27 ± 0.10	0.29 ± 0.12	0.28 ± 0.11	0.10 ± 0.03	3
P total (mg/L)	1.12 ± 0.64	0.52 ± 0.11	0.64 ± 0.31	0.60 ± 0.35	0.72 ± 0.44	0.55 ± 0.28	0.69 ± 0.44	0.62 ± 0.34	0.47 ± 0.06	0.45 ± 0.17	3
O2 (% saturation)	103 ± 19	102 ± 6	113 ± 19	104 ± 25	97 ± 13	96 ± 16	92 ± 13	89 ± 9	102 ± 3	105 ± 8	3
DBO5 (mg O2/L)	7.9 ± 2.3	5.4 ± 0.5	5.5 ± 1.5	3.4 ± 1.8	4.5 ± 1.1	4.4 ± 1.3	5.7 ± 2.5	3.4 ± 2.2	5.2 ± 1.3	3.4 ± 1.7	3
Chlorophylle-a (µg/L)	2.2 ± 1.2	n.d.	1.7 ± 0.7	n.d.	n.d.	2.1 ± 1.4	n.d.	n.d.	1.2 ± 0.2	4.1 ± 4.1	4
I.B. (a) août 1990	5	8	8	n.d.	n.d.	5	7	n.d.	7	10	1
septembre 1989	6	8	8	n.d.	n.d.	4	4	n.d.	6	9	1

Tableau 14. Qualité physico-chimique et biologique de la rivière Wiltz.

(a) I.B.: indice biotique mesurant la diversité spécifique du peuplement de macro-invertébrés sur une échelle de 0 (mauvaise qualité) à 10 (bonne qualité), n.d.: non déterminé.

## **5. Etude de la Wiltz : surveillance active (Exp. 6) (\*)**

### **5.1. Rappel des objectifs**

Cette seconde expérience de surveillance biologique active a été réalisée sur une rivière dépourvue naturellement de populations de dreissènes. Il y a donc un intérêt tout particulier à suivre le comportement physiologique des animaux introduits. Ceci d'autant plus que la période d'étude (mai à juillet) se recoupe avec la saison de reproduction des moules.

Pendant la durée de l'exposition des moules, une étude des compartiments inorganique (physico-chimie) et biologique (indice biotique) a été entreprise. De plus, un second indicateur transféré, la mousse aquatique *Fontinalis antipyretica*, a été utilisé en parallèle selon un protocole qui a permis d'étudier séparément les 4 intervalles de temps définis pour les moules zébrées (cf. figure 10). Ce travail supplémentaire est destiné à recueillir des informations sur les caractéristiques physico-chimiques, biologiques et écotoxicologiques de la rivière.

Les objectifs de cette étude peuvent être résumés de la façon suivante : (1) définir les modalités de transfert des dreissènes en condition protégée, (2) évaluer l'état physiologique des organismes transférés à l'aide de trois descripteurs biologiques (mortalité, capacité de fixation, poids sec), (3) établir un profil de contamination métallique de la rivière, (4) étudier l'interférence des données biométriques avec les données écotoxicologiques et (5) comparer les capacités indicatrices de la moule et de la mousse.

### **5.2. Présentation des résultats**

#### **5.2.1. Qualité de l'eau de la rivière**

Les rejets d'effluents domestiques dans la partie belge de la Wiltz se traduisent à la station 1 par des niveaux élevés pour les composés azotés ( $\text{NH}_4$  et  $\text{NO}_2$ ), le phosphore total et la demande biochimique en oxygène ( $\text{DBO}_5$ , tableau 14). La qualité de l'eau s'améliore ensuite jusqu'au site 3 grâce à la capacité d'autoépuration de la rivière et à une dilution apportée par un affluent majeur (cf. figure 9). En particulier, l'ammoniaque toxique est entièrement dégradé. Dans ce tronçon de rivière, une oxygénation élevée est assurée par un courant rapide. Des effluents industriels rejetés en amont des sites 4 et 5 provoquent une augmentation de la température et de la minéralisation (Na et Cl) de l'eau. La conductivité

---

(\*) Ce travail a été financé par l'Administration Luxembourgeoise de l'Environnement. Il a donné lieu à une publication : Mersch J., Pihan J.C., 1993. Simultaneous assessment of environmental impact on condition and trace metal availability in zebra mussels *Dreissena polymorpha* transplanted into the Wiltz River, Luxembourg. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 25 (3): 353-364 (cf. annexe 1).

Station	Période d'exposition (jours)				Mortalité cumulée 0 - 90
	0 - 27	28 - 51	52 - 75	76 - 90	
1	4	15	33	74	39
2	3	5	7	10	13
3	2	8	7	8	13
4	1	6	40	44	34
5	4	25	59	n.d.	38 (a)
6	2	14	52	n.d.	33 (a)
7	6	8	20	33	24
8	2	6	28	26	24
9	4	6	9	11	14
10	2	6	7	3	10

Tableau 15. Taux de mortalité (%) des moules zébrées transférées durant chacune des 4 périodes d'exposition et mortalité cumulée.

(a) Trois valeurs seulement,  
n.d.: non déterminé.

Station	Echantillon				Moyenne ± écart-type
	1 (jour 27)	2 (jour 51)	3 (jour 75)	4 (jour 90)	
1	69	79	71	64	71 ± 7
2	79	78	83	66	77 ± 7
3	82	84	67	82	79 ± 8
4	40	22	9	19	23 ± 13
5	52	44	28	n.d.	41 ± 12 (a)
6	73	39	16	n.d.	43 ± 29 (a)
7	81	53	32	46	53 ± 21
8	69	56	22	36	46 ± 21
9	74	58	37	58	57 ± 15
10	87	57	77	66	72 ± 13

Tableau 16. Taux de fixation (%) des moules zébrées transférées déterminé pendant la phase de purge de 24 h qui suit le prélèvement.

(a) Trois valeurs seulement,  
n.d.: non déterminé.

électrique double sur une distance de moins d'un kilomètre. Le rejet de la station d'épuration au point 7 n'a qu'un impact limité sur la rivière. Comme prévu, la qualité générale de l'eau s'améliore ensuite progressivement en aval de la confluence de deux autres affluents majeurs faiblement pollués (stations 9 et 10). Les écart-types importants observés pour l'ensemble des paramètres physico-chimiques reflètent principalement les variations saisonnières des débits. En effet, les masses d'eau moyennes mesurées près de la station 3 (un quart du bassin versant) ont chuté d'un facteur 3 entre la première et la dernière période d'exposition des organismes, respectivement de  $0,61 \pm 0,20$  ( $n = 27$  jours) à  $0,20 \pm 0,04 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$  ( $n = 15$  jours).

Les concentrations en chlorophylle-*a* les plus faibles sont enregistrées à la station 9. La diminution de la densité phytoplanctonique est probablement due à un effet de dilution de l'affluent situé immédiatement en amont. Les valeurs les plus élevées sont observées à la station 10. Elles s'expliquent d'une part par une diminution de la pente qui réduit la vitesse d'écoulement de l'eau, et d'autre part par un ensoleillement accru dans ce tronçon de rivière.

Les indices biotiques relevés en août 1990 montrent une faible diversité des peuplements de macro-invertébrés à la station 1 et une chute notable à la station 6. La qualité biologique s'améliore chaque fois avec une distance croissante par rapport aux effluents domestiques et industriels. Une situation similaire a été observée une année auparavant (septembre 1989), avec tout de même une dégradation plus marquée en aval de la zone industrielle.

Les paramètres physico-chimiques et l'indice biotique fournissent des indications cohérentes sur les impacts anthropiques successifs sur la Wiltz. La meilleure qualité d'eau est observée à la station 10 qui fait ainsi figure de station de référence du bassin étudié.

### **5.2.2. Condition physiologique des moules transférées**

#### **a) Mortalité**

Deux situations différentes peuvent être clairement distinguées en analysant l'évolution du taux de mortalité en fonction du temps d'exposition (tableau 15). La mortalité reste faible et à peu près constante aux stations 2, 3, 9 et 10 tandis qu'elle augmente progressivement aux sites 1, 4, 5, 6, 7 et 8. Des pertes importantes sont relevées dès la deuxième période d'exposition aux stations 1, 5 et 6, mais seulement à partir de la troisième aux stations 4, 7 et 8. Ces observations suggèrent qu'à 4 des 10 stations, les conditions ambiantes ont été favorables pendant toute la durée de l'expérience tandis qu'aux 6 autres, de plus en plus d'individus sont devenus incapables de supporter les influences défavorables de leur environnement. La mortalité cumulée reflète bien les deux impacts majeurs sur la rivière, à savoir les effluents domestiques en aval de la station 1 et les rejets industriels aux stations 4 à 6. Comme conséquence des pertes élevées enregistrées aux sites 5 et 6, les moules n'ont plus été suffisamment nombreuses pour constituer un quatrième échantillon.

## **b) Capacité de fixation**

A l'exception des trois premières stations, les pourcentages de fixation des moules varient considérablement en fonction du temps (tableau 16). En aval des rejets industriels, une diminution progressive de la capacité de fixation est observée entre le premier et le troisième échantillon. L'augmentation au niveau du quatrième échantillon peut être interprétée de deux façons : soit comme une conséquence de l'élimination des individus les plus faibles au cours des trois périodes précédentes, soit, plus simplement, comme le fruit d'une amélioration des conditions environnementales. Dans plusieurs cas, notamment aux stations 6 à 8, les pourcentages de fixation décroissants sont concomitants de taux de mortalité croissants. En revanche, trois différences ponctuelles existent entre ces deux descripteurs. A la station 4 d'abord, la capacité de fixation des moules chute à 22 % à la fin de la deuxième période d'exposition alors que la mortalité reste faible. L'inverse est observé à la station 1 où un taux de mortalité élevé n'est pas accompagné par une chute du pouvoir de fixation. Enfin, les taux de fixation atteignent des niveaux étonnamment bas aux sites 9 et 10, sans pour autant avoir de répercussion sur la survie.

## **c) Poids sec des parties molles**

Les moules transférées ont été capables d'augmenter leur poids sec pendant les 27 premiers jours d'exposition à l'ensemble des stations, à l'exception des sites 5 et 6 (figure 35). Aux stations 2 et 3, la masse corporelle des animaux est restée à peu près constante pendant toute l'expérience. En revanche, les animaux immergés aux autres stations ont perdu du poids de façon progressive. La perte la plus spectaculaire est observée à la station 4 au cours de la deuxième et de la troisième période d'exposition. Cette réduction de masse coïncide avec des capacités de fixation très faibles et un taux de mortalité élevé. Une diminution substantielle de poids est également observée aux sites 9 et 10, mais seulement pendant la deuxième moitié de l'expérience. Cette perte rapide de masse, qui atteint 44 % en 39 jours à la dernière station, n'a pas d'influence sur la survie des animaux.

## **d) Relation entre les descripteurs de condition et comparaison entre les stations**

Une régression de type linéaire entre le taux de mortalité d'une part, et la capacité de fixation et le poids sec d'autre part, fournit des coefficients de corrélation respectivement de 0,53 et 0,48 ( $p < 0,01$ ;  $n = 38$ ). La corrélation la plus faible est observée pour la relation entre la fixation et le poids sec ( $r = 0,38$ ;  $p < 0,05$ ). Des relations linéaires significatives existent également entre la qualité biologique de la Wiltz en août 1990 (indice biotique) et la mortalité cumulée ( $r = 0,90$ ;  $p < 0,01$ ;  $n = 7$ ) ou bien le poids sec moyen par station ( $r = 0,80$ ;  $p < 0,01$ ;  $n = 7$ ). En revanche, l'indice biotique n'est pas corrélé avec la capacité moyenne de fixation ( $p > 0,05$ ).

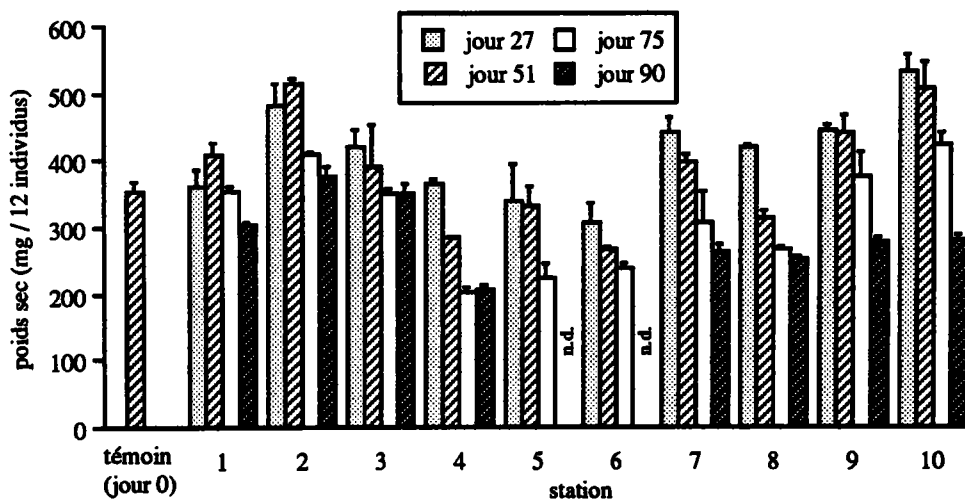


Figure 35. Poids sec des moules zébrées après chacune des 4 périodes d'exposition dans la Wiltz.

Les barres verticales indiquent l'écart entre deux sous-échantillons.

Les différences inter-sites de la condition des moules ont été analysées à l'aide du test *t* (avec valeurs appariées) appliqué aux deux paramètres sublétaux. La mortalité s'est révélée peu intéressante, puisqu'aucune différence inter-sites n'a pu être mise en évidence. La capacité de fixation et le poids sec des moules ne sont pas significativement différents aux stations 1 et 3. A la station 4, la dégradation de la condition des animaux est identifiée par une diminution hautement significative des deux descripteurs ( $p < 0,01$ ;  $n = 4$ ). Le taux de fixation augmente ensuite entre les points 4 et 5 ( $p < 0,05$ ;  $n = 3$ ) alors que le poids reste inchangé jusqu'à la station 6. L'amélioration la plus prononcée, détectée par les deux paramètres, est observée entre les sites 6 et 7 ( $p < 0,025$ ;  $n = 3$ ). La situation reste ensuite stable jusqu'au point 9 ( $p > 0,05$ ). Dans ce secteur, plusieurs impacts diffus empêchent une amélioration rapide de la qualité de l'eau. Entre les deux dernières stations, uniquement le poids sec des moules est significativement plus élevé en aval ( $p < 0,05$ ;  $n = 4$ ).

### 5.2.3. Profils des micropolluants métalliques dans l'eau, dans les moules et dans les mousses

Parmi les métaux analysés, les profils obtenus pour le cadmium, le chrome, le cuivre, le plomb et l'étain sont présentés en détail. Ces métaux sont d'origine géochimique (Cd, Pb) et industrielle (Cd, Cr, Cu, Sn). Comme pour l'expérience précédente, les niveaux métalliques dans les dreissènes sont exprimés sous deux formes, à savoir en concentration ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) et en contenu ( $\mu\text{g 12 individus}^{-1}$ ).

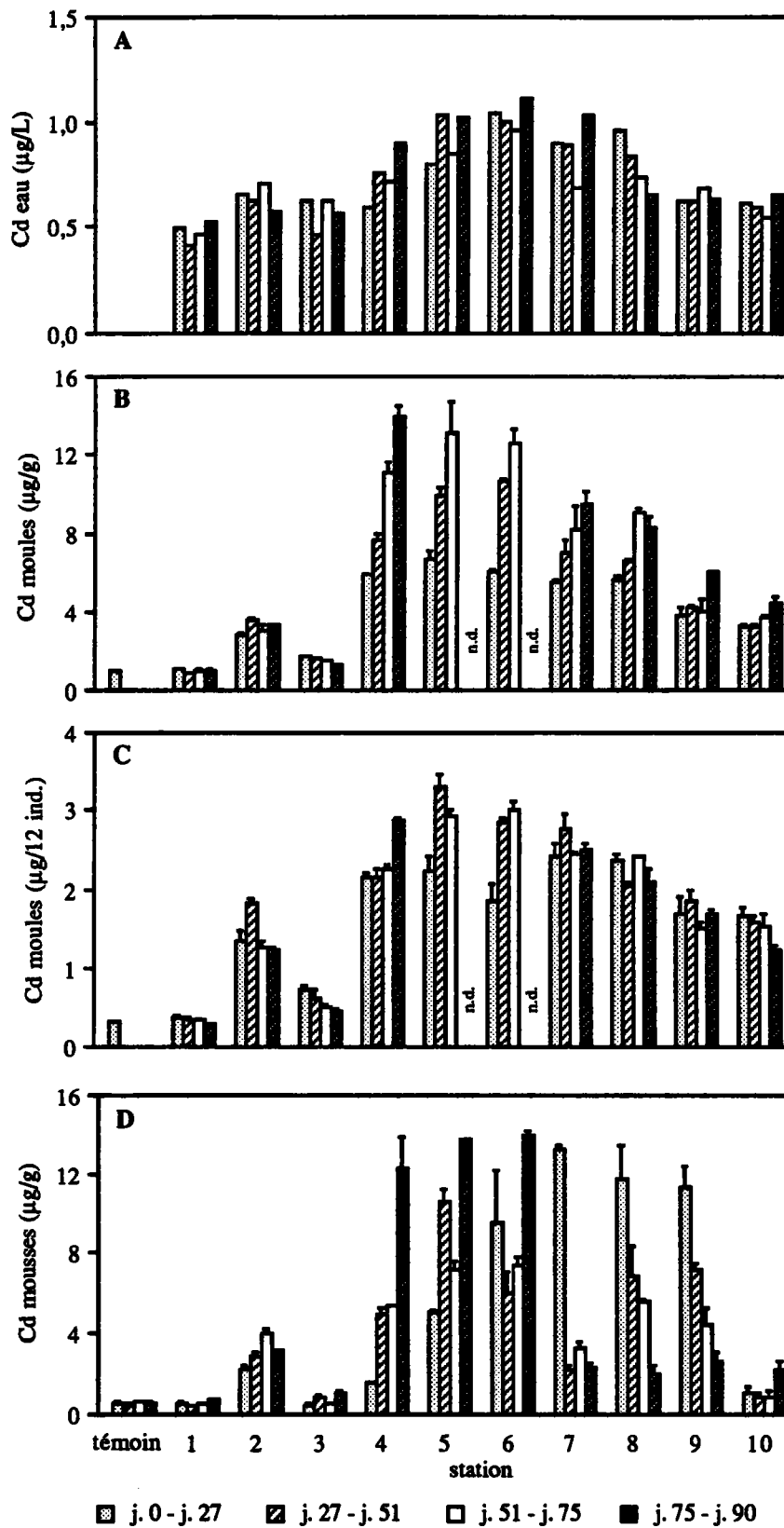


Figure 36. Cadmium dans la Wiltz pendant les 4 périodes d'étude consécutives.

A : concentration dans l'eau, B : concentration dans les moules transférées, C : contenu dans les moules, D : concentration dans les mousses transférées, les barres verticales représentent l'écart entre deux sous-échantillons.

### **a) Cadmium**

Le profil des concentrations de cadmium dans l'eau ne fournit que peu de renseignements sur des rejets éventuels (figure 36). Lorsqu'on compare les concentrations moyennes par station ( $n = 4$ ), l'étendue maximale de la contamination de la Wiltz n'excède pas un facteur de 2,2 entre les stations 1 et 6. Curieusement, les débits décroissants entre la première et la quatrième période d'exposition n'ont que peu d'influence sur les concentrations de cadmium dans l'eau.

Contrairement aux échantillons d'eau, les organismes indicateurs identifient clairement deux sources majeures de contamination, l'une à la station 2 et l'autre aux sites 4 à 6. Dans le premier cas, le métal est d'origine géochimique et dans le second, il s'agit de rejets industriels. Comme le démontrent les contenus métalliques, l'augmentation progressive des concentrations de cadmium dans les moules observée à plusieurs stations peut être attribuée davantage à une réduction de poids plutôt qu'à un effet cumulatif de la bioaccumulation. C'est au point 5 que les moules accumulent le cadmium à un niveau maximal et non pas à la station 4 comme le profil des concentrations aurait pu le laisser supposer. Par ailleurs, deux événements clairement mis en évidence dans les mousses peuvent seulement être détectés dans les dreissènes lorsqu'on considère les contenus. Il s'agit du quatrième échantillon à la station 4 et du premier échantillon à la station 7. L'impact important des rejets industriels sur la rivière est souligné par les niveaux élevés de cadmium dans les moules immergées à la station 10. Cette station se trouve en effet à plus de 20 km en aval de la zone de rejet. A cette dernière station, la perte de poids des animaux coïncide avec une augmentation des concentrations et une légère diminution des contenus en cadmium.

### **b) Chrome**

Les moules identifient clairement une seule source de pollution par le chrome à la station 4 (figure 37). Le rejet en question influence fortement l'ensemble des stations situées en aval. Comme pour le cadmium, les échantillons d'eau indiquent bien une contamination, mais le point de rejet ne peut pas être localisé de façon précise. Le profil des contenus de chrome montre que l'accumulation a été cumulative dans les mollusques. A la station la plus proche du rejet (point 4), les cinétiques d'accumulation sont linéaires en fonction du temps ( $r = 0,99$ ;  $p < 0,01$ ;  $n = 5$ ). A la dernière station d'étude, les variations de poids ont une influence considérable sur les concentrations tandis que les contenus ne varient presque pas. Dans les mousses, l'accumulation est restée très faible avec une moyenne maximale de  $16 \mu\text{g g}^{-1}$  à la station 5 et une moyenne minimale de  $7 \mu\text{g g}^{-1}$  à la station 10.

### **c) Cuivre**

Les deux organismes sentinelles identifient un effluent riche en cuivre à la station 4



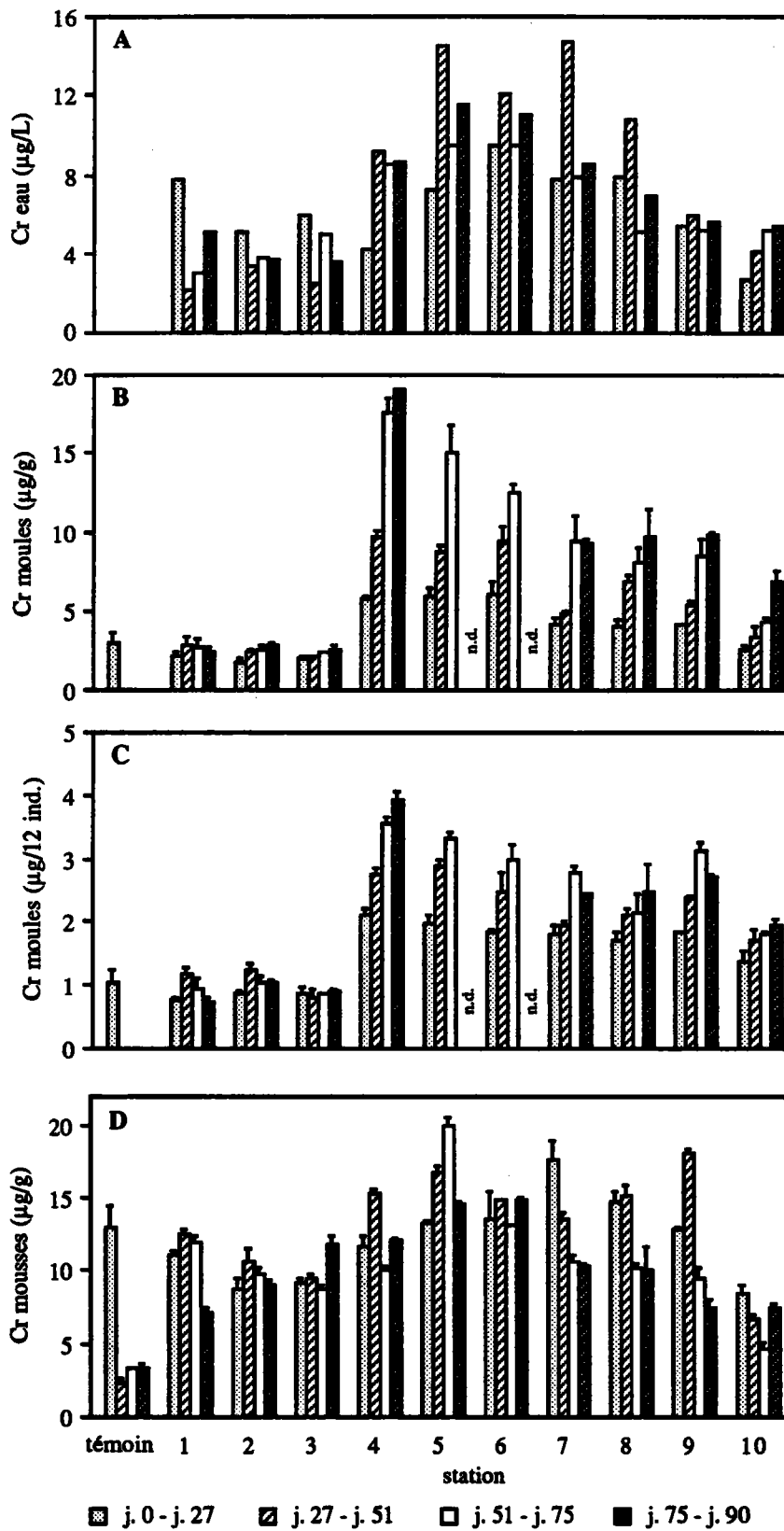


Figure 37. Chrome dans la Wiltz pendant les 4 périodes d'étude consécutives.

Légende comme figure 36.

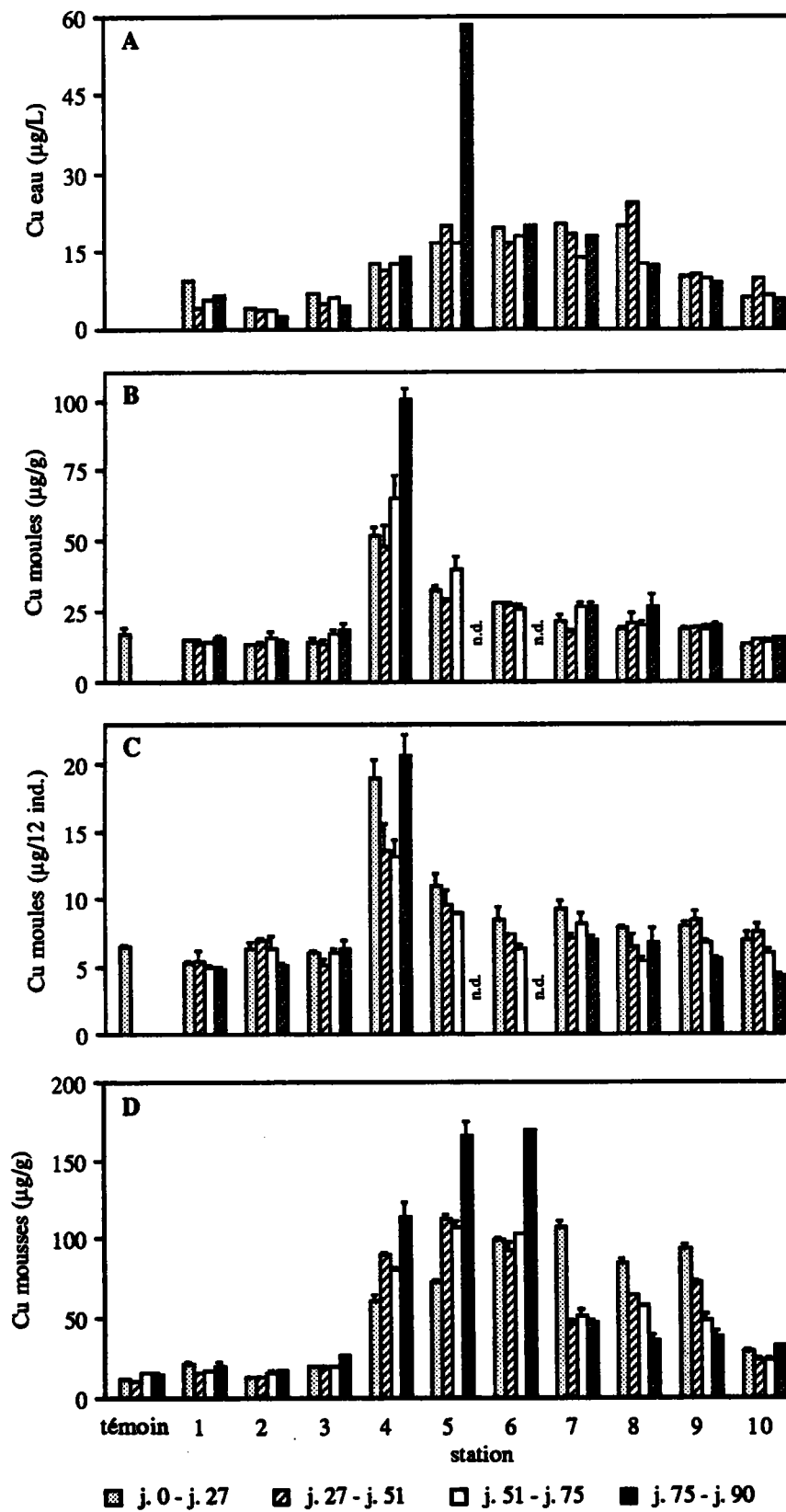


Figure 38. Cuivre dans la Wiltz pendant les 4 périodes d'étude consécutives.

Légende comme figure 36.

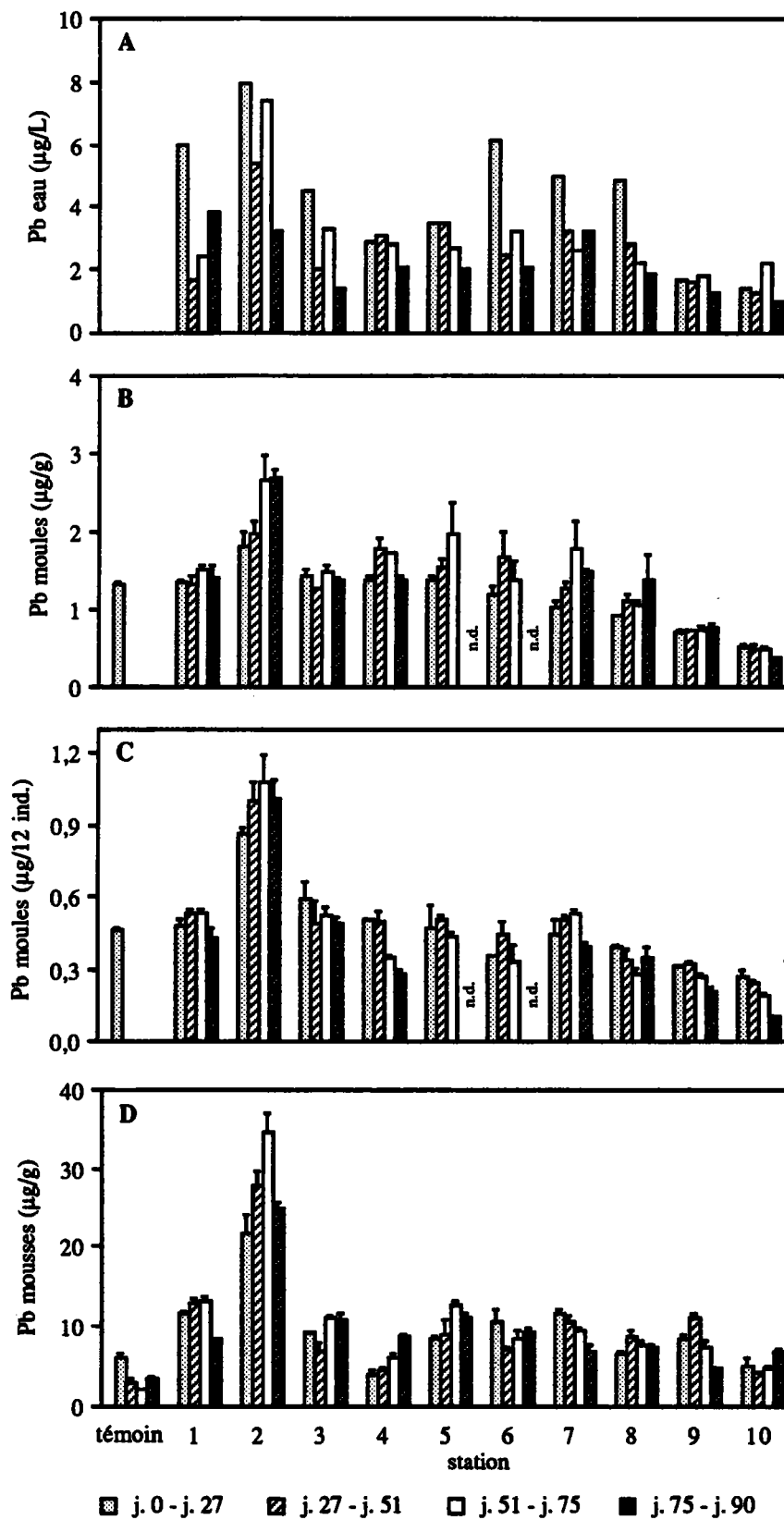


Figure 39. Plomb dans la Wiltz pendant les 4 périodes d'étude consécutives.

Légende comme figure 36.

(figure 38). Les concentrations les plus élevées sont détectées lors de la dernière phase de l'étude. Dans les bryophytes, le niveau maximal de cuivre est seulement atteint à la station 5. Il coïncide avec un pic important dans l'eau, qui est imputable à un rejet de type accidentel. Cette seconde source possible de cuivre au point 5 n'est pas détectée par les mollusques. Ceux-ci, en fait, accumulent le métal uniquement à la station la plus proche du point de rejet (station 4). En revanche, les mousses présentent des niveaux en cuivre nettement supérieurs à ceux des témoins jusqu'à la station 10. Aux deux derniers sites, les concentrations de cuivre dans les moules restent constantes alors que les charges diminuent avec la perte de poids.

#### **d) Plomb**

Du plomb d'origine géochimique est clairement détecté par les deux organismes indicateurs immergés à la station 2 (figure 39). L'influence de la contamination de l'affluent sur la Wiltz reste tout de même faible. Une diminution des concentrations en plomb est ensuite observée dans les mousses en aval du premier rejet industriel (station 4). Les moules, pour leur part, présentent des concentrations et des contenus relativement stables entre les sites 3 et 8. L'absence d'élimination de plomb dans ce tronçon de rivière est vraisemblablement due à des apports diffus, notamment par l'intermédiaire de la station d'épuration (station 7) et de la décharge (station 8). Aux deux dernières stations, les contenus métalliques montrent que le plomb est progressivement éliminé par les moules. Par rapport à la charge initiale des animaux introduits, l'élimination maximale après 90 jours d'exposition est de 78 % à la station 10.

#### **e) Etain**

Comme le chrome, l'étain est à peine détecté dans les mousses (figure 40). Les concentrations observées dépendent fortement des niveaux initiaux dans les échantillons introduites. Une chute similaire à celle observée pour le plomb est enregistrée en aval de la station 4. Contrairement aux bryophytes, les bivalves ont accumulé de l'étain à l'ensemble des stations situées en aval des industries. L'élimination observée pendant la deuxième moitié de l'expérience est particulièrement bien visualisée par le profil des contenus. Celui-ci indique qu'il y a trois sources de contamination au moins, à savoir en amont des stations 4, 5 (voir deuxième échantillon) et 7 (voir premier échantillon). Les niveaux d'étain dans les animaux diminuent ensuite jusqu'à la station 10, mais restent constamment supérieurs à ceux du témoin. Aux deux derniers sites, les contenus d'étain dans les moules diminuent avec la perte de poids.

#### **f) Traitement statistique**

L'accumulation des micropolluants métalliques dans la moule zébrée peut être modélisée par une analyse de régression multiple. Le modèle utilisé est conçu selon le protocole de prélèvement appliqué (cf. figure 10). On admet que le niveau métallique dans les

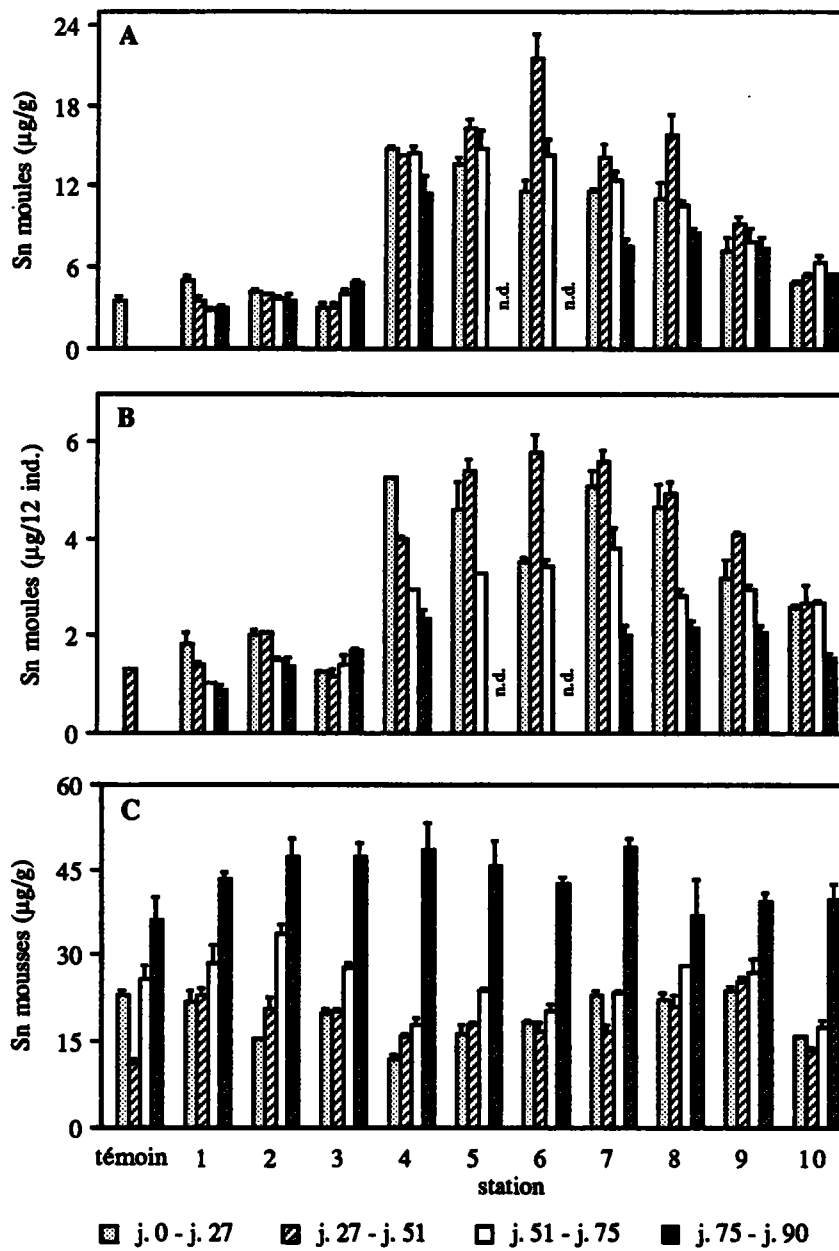


Figure 40. Etain dans la Wiltz pendant les 4 périodes d'étude consécutives.

A : concentration dans les moules transférées, B : contenu dans les moules,  
 C : concentration dans les mousses transférées,  
 les barres verticales représentent l'écart entre deux sous-échantillons.

moules (*Dreissena polymorpha*) après une période d'exposition donnée  $Dp(t)$  est influencé d'une part par la quantité observée dans l'échantillon précédent  $Dp(t-1)$ , et d'autre part par les changements courants dans le milieu, évalués à l'aide des échantillons indépendants de mousses (*Fontinalis antipyretica*)  $Fa(t)$ . Le modèle suivant, à deux facteurs, est testé :

$$Dp(t) = a Dp(t-1) + b Fa(t) + c.$$

Dans le cas des moules, la série de données relative aux contenus est préférée à celle des concentrations métalliques, puisqu'une source importante de variabilité est déjà éliminée. Le modèle fournit des équations avec des coefficients de corrélation hautement significatifs pour tous les métaux, Cd : 0,85; Cr : 0,91; Cu : 0,67; Sn : 0,65 et Pb 0,93 ( $p < 0,01$ ;  $n = 38$ ). La variabilité expliquée varie entre 42 et 86 % respectivement pour l'étain et le plomb. La régression pas-à-pas montre que le modèle de base n'est pas amélioré de façon significative en ajoutant des termes explicatifs ou en utilisant des variables transformées. Dans les cas du cadmium, du plomb et du cuivre, les deux facteurs  $Dp(t-1)$  et  $Fa(t)$  ont des probabilités similaires d'être maintenus dans le modèle. En revanche,  $Dp(t-1)$  explique la majeure partie de la variabilité dans le modèle du chrome. Dans l'équation de l'étain, le coefficient directeur du terme  $Fa(t)$  est négatif.

### 5.3. Discussion

#### 5.3.1. Données biométriques

Le transfert d'organismes dans une rivière dépourvue de populations naturelles de l'espèce soulève la question de la suffisance des ressources trophiques dans le milieu. D'après Walz (1978), les moules zébrées du Lac de Constance réalisent 80 % de leur production annuelle pendant le premier pic phytoplanctonique entre avril et mai. La quantité de nourriture diminue ensuite de manière drastique à cause du développement de zooplancton. Un suivi de plusieurs années a montré que des populations de dreissènes sont capables de se développer dans la rivière Oise avec des concentrations en chlorophylle-*a* inférieures à  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  pendant 6 mois et même autour de  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  pendant 4 mois par an (Testard, 1991). De façon similaire, Smit *et al.* (1992) ont mesuré une concentration moyenne de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  de chlorophylle-*a* (entre 3 et  $29 \mu\text{g L}^{-1}$  sur la base d'analyses hebdomadaires) entre mars et septembre dans la rivière Ijssel, un bras du Rhin néerlandais. Dans la Wiltz, les moules introduites ont réussi à augmenter leur poids à la plupart des stations pendant la première ou les deux premières périodes d'exposition alors que les concentrations maximales en chlorophylle-*a* n'avaient pas encore été atteintes. Par conséquent, il n'y a pas d'indication qui permette de conclure à un stress trophique pour les animaux transférés. Les variations de la condition des moules doivent donc être attribuées à l'influence de la qualité physico-chimique de l'eau à chacune des stations d'étude.

Les taux de mortalité les plus élevés sont observés dans les lots de moules exposés dans les tronçons de rivière qui reçoivent des effluents domestiques (station 1) ou industriels (stations 4 à 6). Les niveaux les plus faibles sont relevés aux stations 2, 3, 9 et 10 qui se caractérisent par des eaux d'une bonne qualité physico-chimique et biologique.

La mortalité cumulée des moules transférées est corrélée avec l'indice biotique. Ce résultat est remarquable, puisque la connaissance de la qualité biologique d'un milieu permet, dans une certaine mesure, de prévoir la faisabilité d'une expérience de transfert de dreissènes.

Les pertes enregistrées aux stations 2, 3, 9 et 10 (entre 10 et 14 % en 3 mois) sont proches de la mortalité naturelle rapportée pour la population autochtone du Lac de Neuchâtel (Pedroli, 1978). Plus récemment, Sprung (1992) a montré que le taux de mortalité des dreissènes de deux lacs près de Cologne était extrêmement variable dans le temps, car fortement influencé par les conditions externes. En fait, les observations de cet auteur tendent à remettre en cause le concept de mortalité naturelle progressive en fonction de l'âge de la cohorte (cf. analyse bibliographique). Il faut également préciser que les données de mortalité rapportées dans la littérature sont souvent biaisées, du fait qu'elles incluent la prédation.

Bien que des corrélations aient été observées entre la mortalité et les paramètres sublétaux, la signification biologique de ces descripteurs est bien spécifique. Ainsi, une mortalité élevée à la station 1 n'a pas été concomitante d'une chute de la capacité de fixation et du poids sec. Les individus qui survivent demeurent donc dans un état physiologique satisfaisant. Cette observation suggère que la mortalité a pu être causée par des événements de toxicité aiguë, peut-être des à-coups (*pulses*) d'ammoniaque ou de nitrites. A l'opposé, les paramètres sublétaux rendent compte d'un impact précoce des conditions environnementales sur les animaux exposés en aval des rejets industriels. En effet, une diminution de la capacité de fixation et du poids sec survient déjà au cours de la première période d'exposition alors qu'une augmentation du taux de mortalité n'est constatée que lors de la deuxième, voire de la troisième phase expérimentale. Il faut préciser qu'aux sites 5 et 6, les pertes accrues sont partiellement imputables à un dépôt d'une boue gluante, sans doute d'origine industrielle. La dégradation de la condition des moules à proximité de ces effluents peut être attribuée d'une part à une consommation d'énergie à des fins de décontamination, et d'autre part à une mauvaise alimentation causée par des effets toxiques sur l'activité de filtration. L'effluent de la station 4 est en effet fortement chargé en cuivre qui est un métal particulièrement toxique vis-à-vis des mollusques bivalves (Davenport et Manley, 1978; Mouabad, 1991; Kraak *et al.*, 1992; *Exp. 2*). Une diminution de la masse corporelle de moules zébrées transférées dans un environnement pollué a déjà été signalée (Léglize et Crochard, 1987). Foe et Knight (1987) ont observé une chute de poids chez *Corbicula fluminea* consécutive à un stress thermique.

Les taux de fixation et les poids secs décroissants chez les dreissènes immergées à la

station 10 indiquent que ces animaux ont également subi un stress physiologique. Comme les conditions ambiantes ont été favorables, il faut attribuer la perte brusque de poids à des événements inhérents à la biologie de la moule, plus précisément à la reproduction. Ceci dit, l'interprétation des données nécessite de la prudence, car, surtout dans le cas d'organismes transférés, il est extrêmement difficile de distinguer clairement les influences externes des variations naturelles. Toutefois, dans le cas particulier de la station 10, l'existence d'une activité de reproduction est confirmée par des observations macroscopiques de la taille des gonades durant la dissection. De plus, en analysant l'évolution de la température de l'eau en fonction du temps, on peut admettre que la température nécessaire au démarrage de la ponte (Stanczykowska, 1977; Tourari *et al.*, 1988; Borcharding, 1991) a été atteinte vers la fin du mois de juin. Ce moment précis coïncide avec la chute de poids observée pendant la troisième et la quatrième période d'exposition. Par opposition à la station 10, aucun développement de la gonade n'a été observé au site 4. Un fait analogue a été rapporté par Légize et Crochard (1987); ces auteurs ont constaté que des moules zébrées ayant séjourné dans un milieu fortement pollué étaient devenues stériles. Sprung et Borcharding (1991) ont souligné la possibilité de résorber le tissu gonadique hautement énergétique en cas de stress physiologique. En amont de la station 4, aucune variation prononcée de poids sec n'a été mise en évidence, malgré des gonades actives. Cette observation pourrait trouver son explication dans les températures de l'eau trop faibles. En effet, la moule zébrée est capable de retarder le démarrage du processus de ponte (Borcharding, 1991) jusqu'à ce que la température de l'eau ait atteint la valeur requise pour le développement des larves (Sprung, 1987).

Il est intéressant de noter, qu'en dépit de causes très différentes, la diminution de poids est semblable pour les moules qui subissent un stress toxique et pour celles qui se reproduisent. Seul dans le premier cas, il y a une répercussion sur le taux de mortalité. Ces observations suggèrent qu'il y a un poids corporel minimal nécessaire à la survie de l'animal. Laisseée sans nourriture pendant trois mois, la moule marine *Mytilus edulis* est capable de supporter une perte de poids sec de 43 % sans mourir (Chou et Uthe, 1991). Dans des conditions analogues, *Dreissena polymorpha* a perdu 35 % de sa masse en 4 semaines (Herwig *et al.*, 1989). Lors de la reproduction, la chute de poids des mollusques bivalves peut atteindre 40 à 60 % (Fischer, 1983; Borcharding, 1992). Cette interprétation des données est compatible avec l'idée d'une reproduction opportuniste d'une espèce envahissante comme les mollusques bivalves (Harvey et Vincent, 1989). Les moules investissent un maximum d'énergie dans la reproduction à condition qu'une maintenance physiologique minimale soit assurée.

### **5.3.2. Données écotoxicologiques**

Au moins trois sources différentes de contamination métallique ont été identifiées par les organismes indicateurs. A la station 2, du cadmium et du plomb géochimiques ont été



détectés dans un affluent qui reçoit les eaux d'exhaure de l'ancienne mine de plomb de Chifontaine (Belgique). Plus en aval, les organismes sentinelles indiquent des métaux d'origine industrielle. Comme plusieurs points de rejet très rapprochés existent le long des bâtiments qui bordent la Wiltz, l'origine exacte des différents métaux a seulement pu être établie avec l'aide des industriels eux-mêmes. Ainsi, le producteur de feuilles métalliques par électrodeposition est responsable de la contamination de la rivière par le cuivre et par le chrome à la station 4. Le fabricant de produits à base de PVC rejette des effluents contenant du cadmium et de l'étain à proximité des stations 4, 5 et 6. Ces informations suggèrent que les profils de contamination obtenus à partir de l'analyse des moules sont particulièrement fiables. En effet, celles-ci ont accumulé un maximum de chrome et de cuivre à proximité immédiate de l'effluent de la station 4. Le cadmium et l'étain ont bien été détectés à cette même station, mais l'accumulation la plus importante (profil des contenus) a seulement été observée respectivement aux stations 5 et 6. Les profils des charges métalliques démontrent par ailleurs que des effluents industriels contenant du cadmium et de l'étain sont rejetés *via* la station d'épuration communale (station 7).

Plusieurs différences notables ont été relevées entre les données obtenues avec les moules et celles fournies par les mousses. Les bryophytes n'ont pas clairement identifié le rejet unique de cuivre à la station 4, puisque les concentrations maximales sont seulement enregistrées au site 5. Les profils suggèrent également que les mousses sous-estiment l'importance du premier effluent de cadmium (station 4). Parallèlement à ce défaut d'accumulation de cuivre et de cadmium, il y a une élimination de plomb et d'étain dans ce même tronçon de rivière. Ces deux observations s'expliquent probablement par un effet de compétition entre les métaux traces et les cations majeurs dans les effluents fortement minéralisés. Une biosorption compétitive a été rapportée pour diverses surfaces biologiques (Xue *et al.*, 1988; Breuer et Melzer, 1990a; Fourest et Roux, 1992). Les mécanismes d'accumulation des métaux dans les bryophytes fournissent également une explication possible pour l'absence de détection du chrome et de l'étain. On peut supposer en effet que la forme chimique de ces deux métaux n'est pas compatible avec une fixation sur les mousses. Compte tenu du contexte industriel, le chrome est sans doute du Cr VI anionique et l'étain est inclus dans des composés organiques du type dibutylétain bis(alkoxy-carbonylméthyl sulfide) utilisés comme stabilisants du PVC contre la dégradation thermique. La faible accumulation de chrome dans les mousses peut s'expliquer soit par une détection de chrome anionique, soit par la présence d'une fraction mineure d'espèces cationiques dans l'effluent industriel. D'autres éléments d'explication seront apportés dans le cadre de l'étude de la Meurthe (*Exp. 7*). Une dernière différence notable entre les deux organismes indicateurs a été observée pour le cuivre. Contrairement aux mousses, les moules n'accumulent ce métal qu'à proximité immédiate du point de rejet. Les faibles concentrations détectées dans les moules exposées plus en aval suggèrent l'existence

d'un mécanisme de contrôle métabolique. Cette observation rejoint les conclusions de deux études précédentes, à savoir que le cuivre n'est pas accumulé pour de faibles concentrations dans l'eau (cf. *Exp. 2*) et efficacement régulé après un événement de pollution (cf. *Exps. 4* et *5*).

Les profils de contamination dans les organismes montrent qu'il y a aussi bien des variations inter-sites que des variations intra-site. Une diminution progressive des niveaux métalliques dans les organismes en fonction de la distance au point d'impact est observée pour le cadmium, le chrome et l'étain dans les moules et pour le cadmium et le cuivre dans les mousses. Ces variations spatiales traduisent d'une part un effet de dilution par les affluents peu contaminés, et d'autre part une chute de la biodisponibilité des métaux par des processus comme l'adsorption des métaux sur des surfaces solides ou leur complexation par des ligands organiques.

Les variations intra-site, pour leur part, n'ont pas la même signification dans les mousses et dans les moules, à cause des différences dans le protocole expérimental. Les quatre échantillons indépendants de mousses révèlent que les variations saisonnières sont restées faibles. Dans les moules, l'augmentation des concentrations de plusieurs métaux aurait pu être interprétée comme une accumulation cumulative dans le temps. Toutefois, une partie importante des variations observées est imputable à la diminution du poids sec des animaux, comme en témoignent les contenus métalliques. Lorsque cette source de variation est éliminée, uniquement le chrome présente des propriétés de polluant cumulatif.

Les dreissènes sont également dotées d'une importante capacité d'élimination de métal. Ainsi, une décontamination progressive est observée dans le cas du plomb entre les stations 8 et 10. De même, après une forte accumulation lors de la première période d'exposition, l'étain a pu être éliminé aux stations situées en aval des industries. Un contrôle somatique efficace du plomb (Simpson, 1979) et de l'étain organique et inorganique (Zuolian et Jensen, 1989) a été rapporté pour *Mytilus edulis*. Dans le cas particulier de la station 10, les moules éliminent du cadmium, du cuivre, du plomb et de l'étain de façon concomitante d'une chute brusque de poids pendant la dernière période d'étude. A l'exception du plomb, une décontamination analogue n'a pas été observée à la station 4. Ceci confirme l'hypothèse d'une signification spécifique des pertes de poids aux stations 4 et 10, respectivement dues à un stress toxique et à la reproduction. En effet, avec la ponte, la fraction métallique associée aux produits sexuels est éliminée avec l'expulsion des gamètes. Des quantités élevées de cuivre et de zinc ont été observées dans les produits sexuels de *Saccostrea cucullata* (Talbot, 1986). Pour des composés fortement lipophiles comme les PCBs, une diminution des charges accumulées a été attribuée à une exportation par l'intermédiaire de la ponte (Castro *et al.*, 1990; Hummel *et al.*, 1990). En revanche, des études histo-chimiques ont montré que les gamètes de *Dreissena*

*polymorpha* intoxiqué expérimentalement restent dépourvus de cadmium (Herwig *et al.*, 1989).

Les résultats de la régression multiple appliquée aux données écotoxicologiques confirment plusieurs observations discutées ci-dessus. L'absence de détection du chrome dans les mousses s'est traduite par une faible probabilité de maintenir le facteur  $Fa(t)$  dans l'équation. Par ailleurs, la pente négative pour l'étain indique qu'une accumulation dans les bivalves coïncide avec une élimination par les bryophytes. Dans le cas du plomb, le modèle explique 84 % de la variabilité totale du système. Cette valeur élevée peut être attribuée à la bonne concordance entre les moules et les mousses, mais également à l'absence de fluctuations des niveaux métalliques dans le milieu. En revanche, la variabilité résiduelle élevée pour le cuivre (58 %) peut s'expliquer par les différences de détection entre les deux organismes sentinelles.

Lorsqu'on fait abstraction des différences dues à des mécanismes spécifiques d'accumulation, la comparaison des profils de contamination obtenus avec les deux organismes ne permet pas de détecter une influence de la condition des moules, autre que celle du poids sec, sur leur capacité indicatrice. Par conséquent, les résultats d'une surveillance active restent valables, même aux stations où une sévère dégradation de l'état physiologique des animaux est intervenue.

Bien que la biosurveillance soulève de nombreuses difficultés, son intérêt par rapport aux mesures directes dans l'eau est indéniable. Malgré un effort d'échantillonnage important, les points de rejet n'ont pas pu être localisés de façon précise à l'aide des profils de contamination dans l'eau. De plus, l'étendue des concentrations métalliques dans l'eau est restée très faible. Il y a deux explications possibles pour interpréter les différences observées entre ces deux compartiments, notamment en ce qui concerne les métaux d'origine industrielle. D'une part, une faible augmentation des concentrations métalliques dans l'eau pourrait être suffisante pour causer une accumulation substantielle dans les organismes. Cette hypothèse pourrait s'appliquer au cas du cadmium. D'autre part, les échantillons d'eau pourraient simplement ne pas être représentatifs de la contamination moyenne d'un site. En définitive, et d'un point de vue pratique, la question de la fiabilité et la signification des échantillons d'eau ne présente qu'un intérêt limité, puisqu'ils n'ont aucune valeur indicative pour décrire la contamination de l'environnement. Ces considérations rejoignent les conclusions des études de la Moselle (cf. *Exp. 3*) et de la retenue du Mirgenbach (cf. *Exp. 4*).

#### **5.4. Conclusion et enseignements pratiques**

Malgré l'existence de corrélations statistiques entre les trois paramètres de condition que sont la mortalité, la fixation et le poids sec, leur signification biologique est bien différente. La mortalité est un descripteur efficace pour évaluer les effets d'un environnement

défavorable, puisque, logiquement, la mort intervient lorsque toutes les possibilités de lutte dont dispose l'organisme sont épuisées. Toutefois, en l'absence de toxicité aiguë, le taux de mortalité ne rend pas compte de l'état général des moules. Les changements précoces de la condition des animaux confrontés à un milieu défavorable sont obtenus avec les paramètres sublétaux qui doivent donc être considérés comme plus sensibles. Ceux-ci sont néanmoins fortement influencés par plusieurs phénomènes qui peuvent biaiser l'évaluation de l'impact des facteurs externes sur la condition des mollusques. D'abord, l'état physiologique des animaux est surestimée lorsque le taux de mortalité est élevé, car les individus les plus faibles sont progressivement éliminés. Ensuite, les variations sublétales intègrent à la fois des influences extrinsèques (stress environnemental) et des changements intrinsèques (cycle biologique naturel). L'interférence entre les différents descripteurs biologiques plaide en faveur d'une utilisation en parallèle de plusieurs paramètres de condition. Dans ce travail, la mortalité, la capacité de fixation et le poids sec ont permis d'évaluer correctement la condition physiologique des moules transférées sans faire appel à des moyens sophistiqués. Les impacts successifs du milieu sur les animaux ont pu être interprétés à l'aide des données sur la qualité physico-chimique et biologique de l'eau.

Les profils de contamination dans les moules zébrées transférées dans la Wiltz suggèrent que les niveaux métalliques dépendent essentiellement de trois facteurs : (1) les concentrations de métal dans l'eau, (2) l'accumulation cumulée dans le temps et (3) les variations de poids sec. La part de variabilité dans les résultats de surveillance due aux fluctuations de masse corporelle a pu être éliminée par le calcul des contenus métalliques. Cependant, les charges doivent être considérées comme un concept artificiel destiné à assurer une interprétation correcte des résultats ; la réalité toxicologique à l'intérieur des tissus de l'animal est bien la concentration d'un polluant. Par ailleurs, la concentration, à l'opposé du contenu, rend compte d'un impact double sur les moules transférées, à savoir la bioaccumulation réelle et une accumulation virtuelle liée à la perte de poids sec, quelle qu'en soit la cause.

L'utilisation simultanée et comparative de deux indicateurs a permis de recueillir des renseignements très détaillés sur l'état de contamination métallique de la rivière étudiée. Bien que la moule zébrée ait été plus efficace pour localiser de façon précise les différentes sources de pollution, les indications concernant le cadmium, le cuivre et le plomb obtenues avec l'un des indicateurs sont en général confirmées avec l'autre. Cette cohérence entre deux organismes sentinelles très différents confère une importante fiabilité aux résultats de surveillance. Les cas du chrome et de l'étain ont tout de même révélé des différences fondamentales dans les mécanismes qui régissent l'accumulation dans les deux indicateurs. En effet, ces deux métaux ont été fortement accumulés par les moules, mais n'ont pratiquement pas été détectés par les mousses.

La forte pollution de la rivière est soulignée par l'impact spatial de plusieurs éléments. Ainsi, des niveaux de cadmium et de chrome enregistrés dans les moules exposées à environ 20 km en aval du point de rejet sont au moins deux fois plus élevés que ceux mesurés immédiatement en amont de la zone industrielle. Par rapport aux indicateurs biologiques, les échantillons d'eau n'ont pas fourni de renseignements valables concernant l'impact des différents effluents industriels sur la rivière.

Un point essentiel de ce travail a été de montrer que la dégradation de la condition des moules n'a pas d'influence détectable sur leur capacité indicatrice. Par conséquent, les résultats de surveillance fondés sur l'analyse des tissus de moules restent fiables, même lorsque des modifications importantes interviennent dans la condition physiologique des animaux.

Le transfert de moules zébrées peut donc être considéré comme une technique intéressante pour évaluer simultanément la qualité générale de l'eau (impact légal ou sublégal) et la biodisponibilité des micropolluants métalliques. Nos résultats suggèrent qu'une période d'exposition de deux mois est nécessaire pour avoir une réponse fiable dans les deux domaines d'application.

## **6. Etude de la Meurthe et de la Plaine : deuxième exemple de surveillance active (*Exp. 7*) (\*)**

### **6.1. Rappel des objectifs**

Lors de l'étude de la Wiltz (*Exp. 6*), la comparaison entre les deux organismes sentinelles transférés, les moules et les mousses, n'a été qu'un objectif annexe. Dans le concept de départ en effet, les bryophytes étaient essentiellement prévues comme un indicateur supplémentaire destiné à recueillir un maximum de données sur la situation de contamination de la rivière. Or, il s'est avéré que, pour la plupart des métaux, les indications fournies par les deux indicateurs ont été concordantes.

Cette seconde expérience poursuit l'objectif plus spécifique de préciser les propriétés indicatrices de chacun des deux organismes. Afin d'éviter les difficultés en relation avec les variations saisonnières de poids sec des dreissènes (cf. *Exps. 5* et *6*), l'étude a été réalisée à la fin du cycle biologique de l'espèce, plus précisément pendant les mois d'octobre et de novembre.

---

(\*) Cette étude a été financée par l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse. La partie relative aux mousses a été réalisée par Mlle Lena Johansson dans le cadre de son projet de fin d'étude à l'Ecole Polytechnique de Stockholm. L'ensemble du travail a donné lieu à une publication : Mersch J., Johansson L., 1993. Transplanted aquatic mosses and freshwater mussels to investigate the trace metal contamination in the rivers Meurthe and Plaine, France. *Environ. Technol.*, 14:1027-1036 (cf. annexe 1).

Le protocole des transferts et des prélèvements est similaire à celui utilisé dans le cadre de l'étude de la Wiltz (*Exp. 6*). L'unique différence est la réduction du nombre des prélèvements (de 4 à 2). A la fin de l'expérience, des échantillons de mousses autochtones ont été récoltés à proximité des lots immergés dans le but de comparer les données fournies par des bryophytes indigènes et introduites.

## **6.2. Présentation des résultats**

### **6.2.1. Condition physiologique des moules transférées**

Le taux de mortalité cumulée des moules zébrées pendant les 6 semaines de l'étude est resté en-dessous de 8 % à l'ensemble des stations, à l'exception du site 4 où 71 % des individus sont morts. Cette perte élevée à la station amont de la Plaine peut être attribuée à une pollution de caractère aigu. En effet, des observations de terrain, en l'occurrence les coquilles vides dans les cages, ont montré que l'événement en question s'est produit pendant la troisième semaine d'exposition. Suffisamment de moules vivantes ont tout de même pu être récupérées pour l'analyse des métaux (deux échantillons de 20 individus).

Aucune différence de poids sec n'est observée ni entre les 8 stations (test t;  $p > 0,05$ ;  $n = 4$  sous-échantillons) ni entre les deux séries de moules récoltées après 3 et 6 semaines d'exposition ( $p > 0,05$ ;  $n = 16$  sous-échantillons). Le troisième descripteur de l'état physiologique, la capacité des moules à se refixer pendant la phase de purge au laboratoire, ne fournit pas non plus de résultats exploitables. Ces données biométriques ne sont pas illustrées.

La situation rencontrée dans le bassin de la Meurthe est donc différente de celle observée dans la Wiltz (*Exp. 6*) en ce sens que, mis à part la mortalité élevée à la station 4, la physiologie des moules n'est pas affectée par la qualité de l'eau. Une première conséquence pratique de l'absence de variation du poids sec est la présentation des données écotoxicologiques en terme de concentration uniquement.

### **6.2.2. Profils de contamination des moules et des mousses**

L'analyse des organismes indicateurs a montré que les micropolluants métalliques majeurs du bassin sont le chrome, le nickel, le plomb et le zinc.

#### **a) Chrome**

L'accumulation de chrome dans les organismes exposés à la station 1 indique que des rejets existent en amont du tronçon de rivière étudié (figure 41). La diminution des concentrations en fonction de la distance est plus progressive dans les moules que dans les mousses, puisque des niveaux similaires à ceux du témoin ne sont retrouvés qu'à la dernière station d'étude. Les mollusques indiquent en outre une contamination importante de chrome au

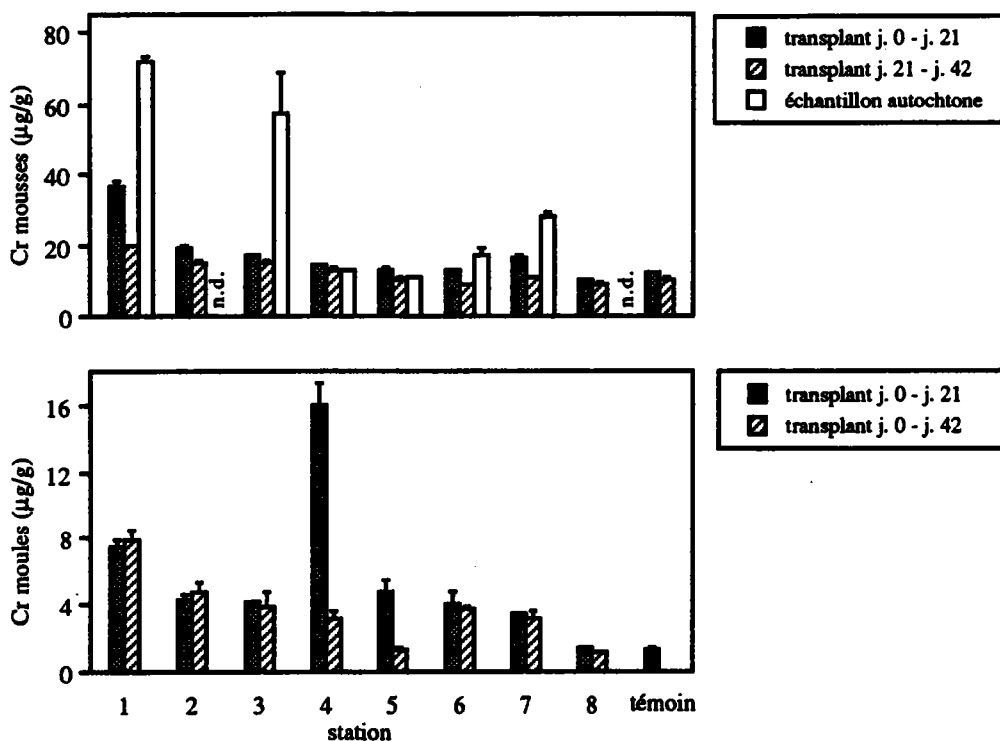


Figure 41. Concentration en chrome dans les mousses (*Cinclidotus nigricans*) et dans les moules transférées après les 2 périodes d'exposition consécutives ainsi que dans les mousses autochtones (*Fontinalis antipyretica*) collectées à la fin de l'expérience.

Les stations 4 et 5 sont localisées sur la Plaine, les sites 1 à 3 et 6 à 8 sur la Meurthe, les barres verticales représentent l'écart entre deux sous-échantillons,

n.d.: non déterminé, car des mousses autochtones n'ont pas pu être trouvées.

niveau de la Plaine. L'accumulation à la station 4, et dans une moindre mesure à la station 5, est suivie d'une élimination substantielle pendant la deuxième période de l'étude. Curieusement, la pollution de la Plaine n'est pas détectée dans les mousses. Celles-ci accumulent le chrome surtout aux sites 1 et 3. Dans les deux cas, les bryophytes indigènes (*Fontinalis antipyretica*), récoltées lorsque le deuxième échantillon transféré (*Cinclidotus nigricans*) a été récupéré, présentent des concentrations nettement plus élevées que les mousses introduites. Aux autres stations, les différences inter-spécifiques demeurent plus faibles.

## b) Nickel

Par rapport aux échantillons témoin, les mousses transférées accumulent le nickel uniquement à la station avale de la Plaine (site 5; figure 42). Des niveaux élevés sont observés pendant les deux périodes consécutives d'exposition. Cette pollution est confirmée par les bryophytes indigènes. En revanche, la contamination de la Meurthe (sites 6 et 7) par ce métal est détectée seulement dans les mousses autochtones. Les moules, pour leur part, accumulent le nickel à l'ensemble des stations, mais les concentrations les plus élevées sont

également observées à la station 5. Les différences inter-sites restent nettement plus faibles dans les moules que dans les mousses.

### c) Plomb

Par comparaison avec les bryophytes indigènes, les mousses introduites (voir témoins) doivent être considérées comme fortement contaminées par le plomb (figure 43). Curieusement, l'élimination demeure très faible pendant l'exposition, même aux sites les moins pollués (4 et 5). En fait, les mousses transférées détectent du plomb uniquement en aval d'un effluent de cristallerie (station 7). De nouveau, les mousses indigènes présentent des concentrations supérieures aux échantillons introduits. Aux autres stations, la situation réelle de pollution par le plomb n'est reflétée que par les bryophytes autochtones. Celles-ci détectent une contamination à la station 1, tandis que la Plaine se distingue par des niveaux très faibles. Les moules introduites identifient des sources de pollution en amont des sites 1 et 7. Dans les deux cas, la contamination reste détectable dans les animaux exposés plus en aval.

### d) Zinc

Les mousses transférées accumulent du zinc aux trois stations amont de la Meurthe (figure 44). Lorsque la comparaison est possible, les concentrations sont plus élevées dans les bryophytes autochtones que dans les échantillons transférés de la deuxième série. Comme pour le plomb, la contamination du matériel de référence est révélée par les concentrations nettement plus faibles observées dans les échantillons de mousses indigènes, en particulier ceux de la Plaine (stations 4 et 5). Par ailleurs, les bryophytes autochtones mettent en évidence une contamination marquée aux sites 6 et 7, qui n'est détectée par aucun des organismes introduits. Dans les moules, les concentrations en zinc diminuent progressivement d'amont en aval. Cet indicateur ne fournit pas de preuve pour des rejets autres que ceux effectués en amont de la station 1.

## 6.3. Discussion

Des différences quantitatives sont observées entre les deux lots de bryophytes prélevées simultanément à la fin de l'expérience, à savoir le second échantillon transféré (*Cinclidotus nigricans*) et l'échantillon autochtone (*Fontinalis antipyretica*). Lorsqu'une contamination importante est détectée, les niveaux métalliques les plus élevés sont mesurés dans les mousses indigènes. Ceci est le cas pour le chrome et le zinc aux stations 1 et 3, le nickel à la station 5 et le plomb à la station 7. Ces différences sont en partie imputables à des capacités spécifiques d'adsorption (Wehr *et al.*, 1983; Breuer et Melzer, 1990a; Frost, 1990). Cependant, les disparités inter-spécifiques ne permettent pas seules d'expliquer l'ensemble des observations, en particulier les contaminations qui ont été détectées uniquement dans les mousses autochtones, comme le nickel et le zinc aux stations 6 et 7. Ces différences qualita-



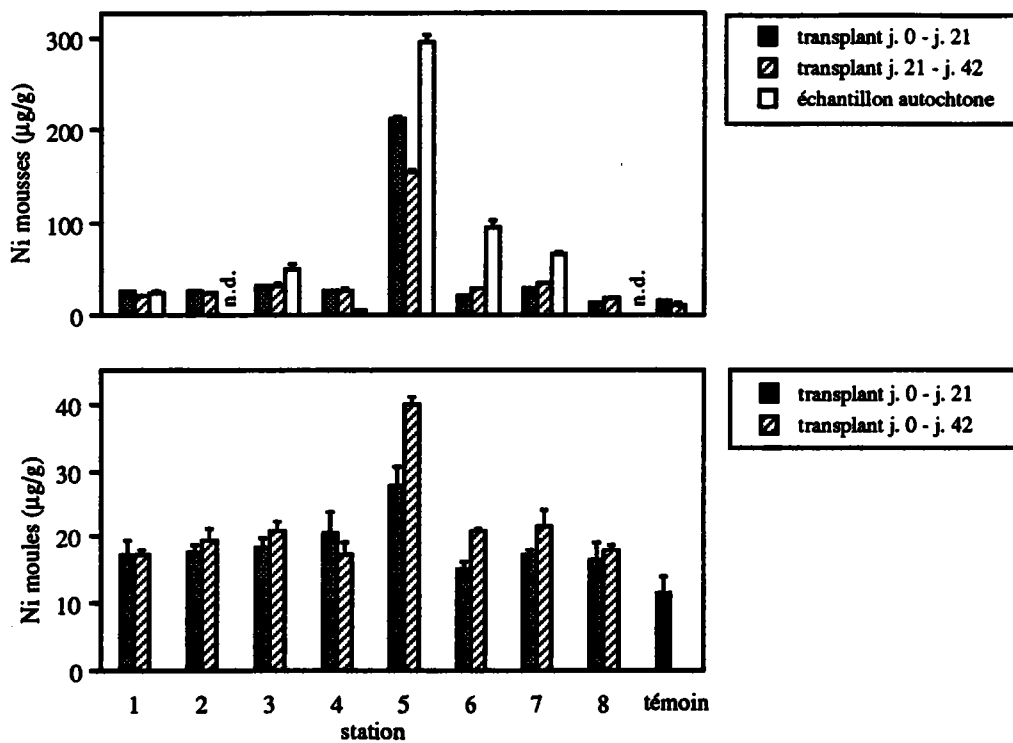


Figure 42. Concentration en nickel dans les mousses et les moules transférées et dans les mousses autochtones. Légende comme figure 41.

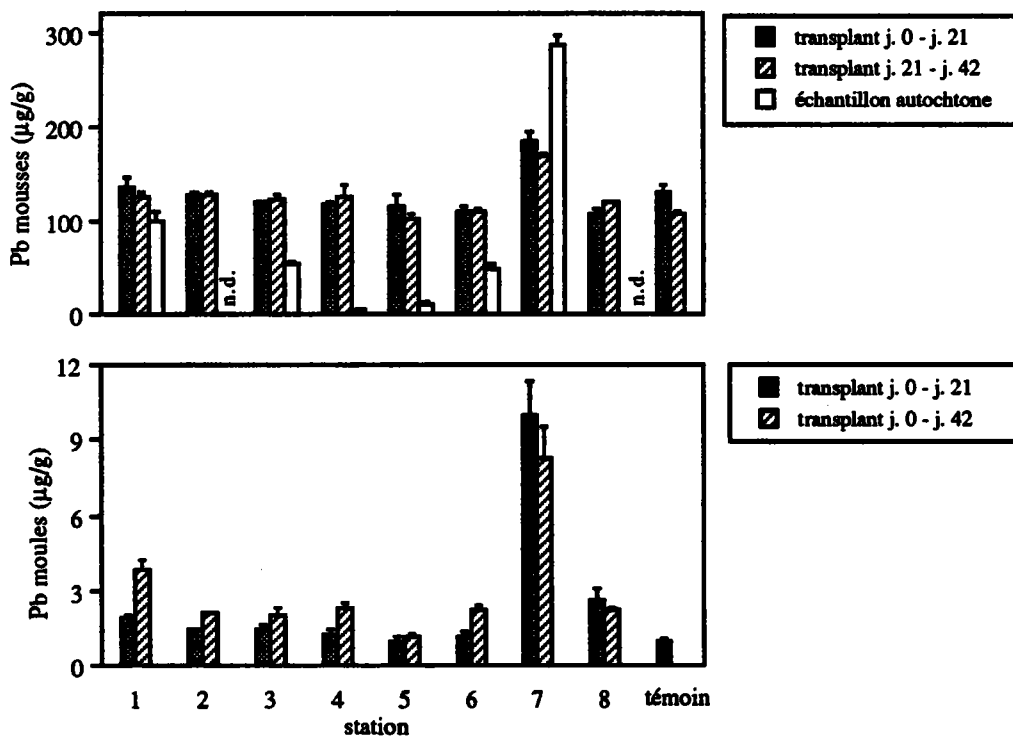


Figure 43. Concentration en plomb dans les mousses et les moules transférées et dans les mousses autochtones. Légende comme figure 41.

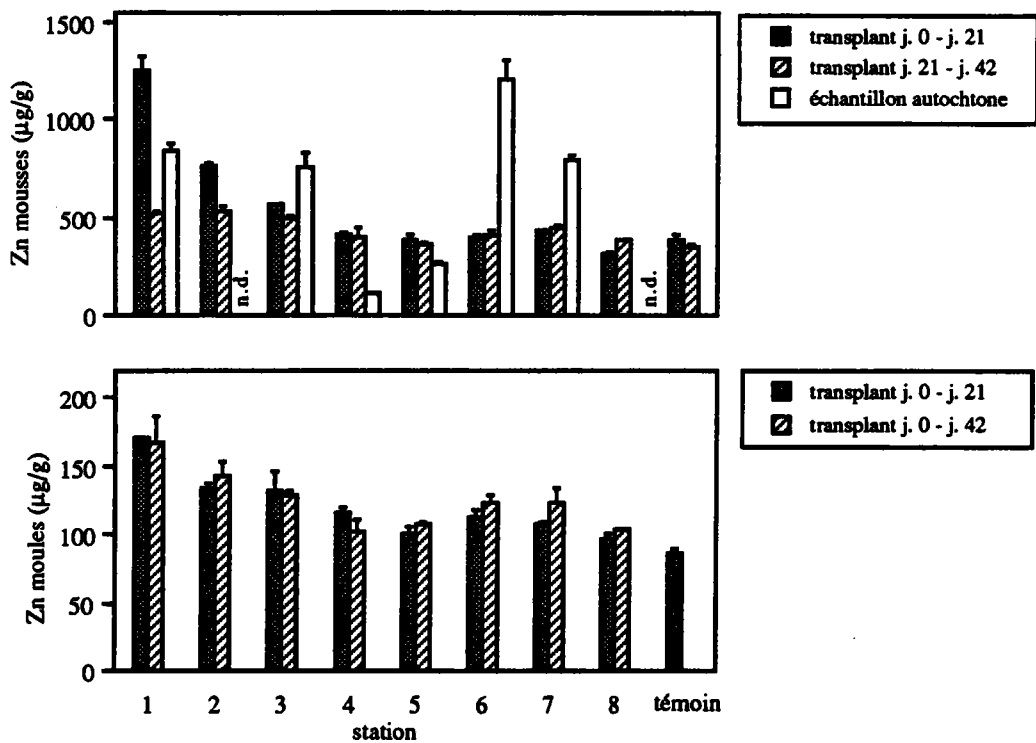


Figure 44. Concentration en zinc dans les mousses et les moules transférées et dans les mousses autochtones.

Légende comme figure 41.

tives doivent être attribuées à des événements de pollution antérieurs à l'expérience de transfert. On peut supposer que la quantité de métal détectée correspond à une fraction de métal durablement fixée qui n'a pas pu être éliminée par les mousses (voir plus loin).

Lorsque les bryophytes destinées au transfert ont été collectées, une contamination modérée du matériel n'a pas été nécessairement considérée comme un inconvénient. En effet, cette situation offre la possibilité d'étudier conjointement les propriétés d'accumulation des métaux aux sites pollués et les capacités d'élimination aux stations les moins contaminées. La comparaison avec les mousses indigènes a révélé que les bryophytes introduites étaient contaminées par le plomb ( $130 \mu\text{g g}^{-1}$ ) et, dans une moindre mesure, par le zinc ( $380 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Ceci est confirmé par les concentrations métalliques de référence dans les mousses aquatiques, déterminées à partir de données collectées dans une large variété de rivières non polluées d'Europe de l'Ouest (Pb : 19 et Zn :  $200 \mu\text{g g}^{-1}$ ; Mouvet, 1986) ou, plus spécifiquement, pour *Fontinalis antipyretica* dans les cours d'eau suédois (Pb : 3 et Zn :  $100 \mu\text{g g}^{-1}$ ; Agence Suédoise pour la Protection de l'Environnement, 1991). Curieusement, la décontamination des mousses transférées est restée extrêmement faible lors de leur exposition. De toute évidence, ces métaux fortement fixés n'ont pas suivi le schéma général d'échange cationique rapide à la surface des feuilles (Clymo, 1963; Breuer et Melzer, 1990a; Wieder, 1990). Pour expliquer

des observations analogues, Wehr *et al.* (1983) ont émis l'hypothèse qu'un pool de métaux inéchangeable pourrait être piégé par coprécipitation dans une gangue formée par des oxydes de manganèse et de fer autour des parties les plus âgées des tiges et des feuilles. Comme cette expérience-ci a été réalisée à la fin de la période de végétation, une partie des brins de mousse, voire la totalité, peut être considérée comme âgée. Une analyse microscopique sommaire a d'ailleurs permis de visualiser des dépôts, même sur les feuilles les plus jeunes.

Mis à part la capacité d'adsorption spécifique, l'absence d'élimination de métal dans les mousses autochtones pourrait être une seconde explication pour les différences quantitatives enregistrées entre les mousses indigènes et transférées (voir plus haut). Des indications supplémentaires destinées à distinguer ces deux influences auraient pu être obtenues par des analyses de mousses autochtones lors de chacune des 3 campagnes, c'est-à-dire au début de l'expérience, puis après 3 et 6 semaines d'étude.

D'après les trois descripteurs biologiques utilisés, les moules zébrées transférées n'ont pas subi de dégradation de leur condition physiologique pendant leur séjour dans la Meurthe et dans la Plaine. Les individus affectés par les différentes étapes du transfert sont morts dès les premiers jours d'exposition. A l'exception de la station 4 où la perte massive reflète un épisode de pollution aiguë, pratiquement aucune mortalité n'est survenue après la première semaine. Cette observation n'est pas surprenante, puisque les secteurs amont des bassins adjacents de la Moselle (site d'origine des animaux) et de la Meurthe sont similaires du point de vue de la qualité physico-chimique de l'eau. Par ailleurs, les poids secs des moules n'ont pas varié de façon significative. L'absence de bouleversement physiologique est compatible avec le cycle physiologique de la dreissène : après la saison de reproduction, l'espèce entre dans une phase de repos sexuel (Tourari *et al.*, 1988; Borcharding, 1992). Par conséquent, une augmentation des niveaux métalliques dans les moules reflète uniquement une contamination du milieu et non pas une variation de leur condition physiologique. En l'absence de cette source de variabilité, la conversion des concentrations en contenus métalliques est inutile.

La différence d'indication la plus importante entre les moules et les mousses concerne la contamination de la Plaine (stations 4 et 5) par le chrome. Les mollusques ont fortement accumulé ce métal alors que les bryophytes ne l'ont pas détecté. Cette différence a déjà été observée lors du travail sur la Wiltz (*Exp. 6*). Dans le cas de la Plaine, l'élimination rapide qui a suivi l'accumulation dans les moules suggère que l'épisode de pollution était de courte durée et ne s'est pas reproduit pendant la seconde période de l'exposition. L'absence de détection du chrome dans les mousses peut être attribuée soit à une élimination rapide déjà avant la fin de la première période d'exposition, soit à une impossibilité de l'accumuler. Compte tenu des observations réalisées précédemment sur la Wiltz, la deuxième explication peut être

privé. L'hypothèse d'une absence de détection de chrome VI anionique est par ailleurs tout à fait compatible avec le mécanisme d'échange ionique à la surface des mousses. En effet, le pouvoir de complexation est nettement plus élevé pour les cations que pour les anions du fait de la prédominance d'acides polyuroniques au niveau des parois cellulaires (Clymo, 1963; cf. *Exp. 2*). Des études portant sur la chimie environnementale du chrome ont montré en outre que la spéciation de ce métal dépend de multiples facteurs et qu'en particulier la réduction du Cr VI en Cr III n'est pas nécessairement une réaction instantanée (Rai *et al.*, 1989; Saleh *et al.*, 1989). Selon les conditions de milieu, la forme anionique du chrome possède donc une certaine stabilité.

Dans les moules, les métaux physiologiques comme le nickel (station 5) et le zinc (station 1) ont été maintenus à des niveaux faibles. Dans les mêmes conditions d'exposition, les mousses y ont indiqué de fortes contaminations. Cette situation peut être attribuée d'une part au potentiel de contrôle métabolique des métaux par les moules, et d'autre part aux caractéristiques mêmes d'une pollution. En effet, un rejet intermittent ou chronique ne sera pas reflété de la même manière par les deux indicateurs qui se caractérisent par des cinétiques d'accumulation et d'éliminations très différentes. Un exemple pour chacun des organismes permet d'illustrer ce point. Un échange cationique rapide permet aux mousses d'accumuler des quantités élevées de métal en très peu de temps (Vray *et al.*, 1992; Mouvet *et al.*, 1993; cf. *Exp. 2*). Si le prélèvement est réalisé immédiatement après un épisode polluant, la contamination moyenne du site est surestimée. A l'opposé, lorsque les moules sont exposées à une pollution intermittente, même importante, leur concentration métallique reste à un niveau faible, car les cinétiques d'accumulation sont lentes (Bias et Karbe, 1985; Jenner *et al.*, 1991; cf. *Exp. 2*) et l'élimination de métal est efficace une fois que la contamination a disparu dans l'eau (cf. *Exp. 4*). D'après les profils observés dans les deux organismes, on peut supposer que les rejets de chrome et de nickel dans la Plaine sont intermittents, alors que la pollution de la Meurthe par le chrome et par le plomb est chronique.

#### **6.4. Conclusion et enseignements pratiques**

Les deux organismes sentinelles transférés, les moules zébrées et les mousses aquatiques, fournissent des indications similaires et cohérentes sur la contamination de la Meurthe et de la Plaine par les métaux lourds. Tous deux ont accumulé du chrome, du plomb et du zinc à la station 1, du nickel à la station 5 et du plomb à la station 7. La seule différence notable concerne le chrome dans la Plaine, une pollution qui n'a pas été reflétée dans les mousses.

Afin de détecter toute contamination du milieu avec un maximum de sensibilité, il est important d'utiliser un matériel biologique dont les concentrations métalliques sont les plus faibles possibles. Les moules zébrées de la Moselle amont remplissent cette condition

(cf. *Exp. 1*). En revanche, le site d'origine des mousses, le Woigot à Briey, n'est pas dépourvu de contamination. L'ampleur de la pollution est tout de même inhabituelle pour cette rivière qui a servi de référence dans de nombreux travaux du Centre de Recherches Ecologiques. La présence dans les mousses transférées de concentrations élevées de plomb et de zinc durablement fixés a rendu impossible un diagnostic correct de la situation de contamination du bassin par ces deux métaux, en particulier aux sites faiblement pollués. De même, un pool métallique inéchangeable dans les mousses autochtones n'a pas non plus permis d'obtenir des indications sur l'état récent de contamination aux sites de prélèvement. Par conséquent, une surveillance limitée dans le temps qui utilise des organismes transplantés provenant de sites de référence adéquats apparaît comme la technique la plus efficace pour évaluer la situation de pollution présente ou récente d'une rivière.

A plusieurs points de vue, il y a complémentarité entre les deux indicateurs. D'abord, des résultats de surveillance similaires obtenus avec des organismes sentinelles fondamentalement différents peuvent être considérés comme particulièrement fiables. Ensuite, des différences dans les cinétiques d'accumulation et d'élimination des métaux entre les mollusques et les bryophytes offrent la possibilité d'étudier différents types de contamination, tels que les pollutions accidentelles ou les rejets intermittents et chroniques. Enfin, les moules permettent d'évaluer un impact biologique d'une contamination tandis que les mousses indiquent plutôt une disponibilité physico-chimique des cations.

## **7. Seconde expérience de transfert de moules et de mousses dans la Wiltz**

### **(Exp. 8)**

#### **7.1. Rappel des objectifs**

Ce second travail sur la Wiltz a consisté à exposer dans les mêmes conditions expérimentales deux populations de dreissènes dont le passé biologique est totalement différent. Le premier lot transféré provient de la Moselle à Pont-à-Mousson, une station qui se trouve sous l'influence de rejets sidérurgiques ; le second a été collecté dans la Meuse à Commercy, un site dépourvu de pollution métallique (cf. *Exp. 1*). Comme il a été déjà mentionné, cette étude n'est pas redondante par rapport à l'expérience de transfert réalisée dans la retenue du Mirgenbach (*Exp. 5*), car la Wiltz offre la possibilité de suivre l'impact de plusieurs métaux non physiologiques (cf. *Exp. 6*).

En parallèle, l'hétérogénéité des données obtenues avec deux espèces différentes de mousses d'un même site d'origine (l'Orne à Hatrize) a été évaluée à titre de comparaison. Ce travail s'impose, car la méthode utilisée par les Agences de Bassin considère une grille de qualité unique pour l'interprétation des résultats obtenus à partir d'espèces de mousses différentes (Mouvet, 1986).

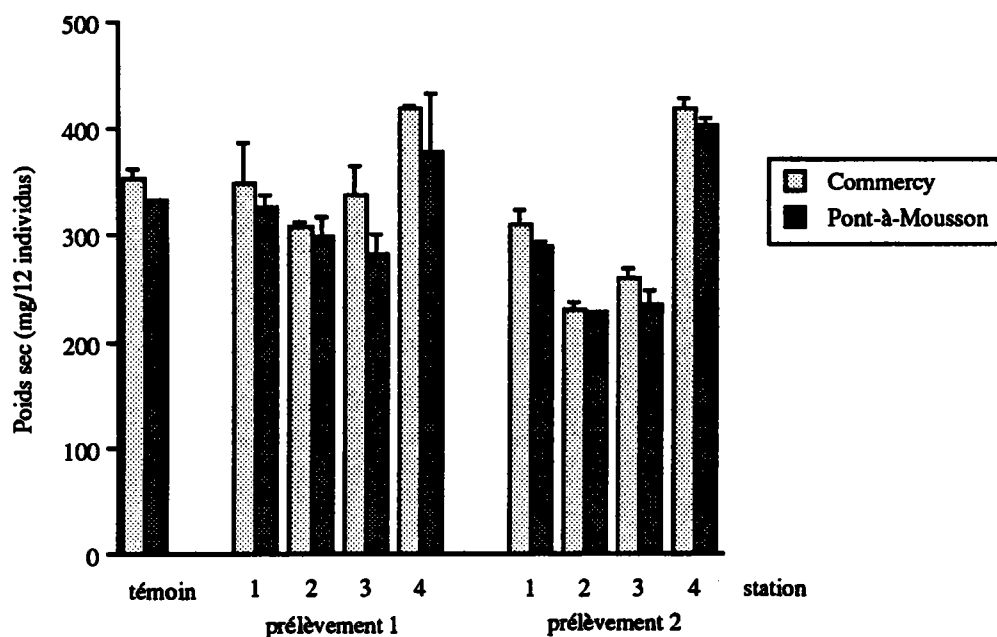


Figure 45. Evolution du poids sec de deux populations de dreissènes transférées dans la Wiltz.

## 7.2. Moules zébrées

### 7.2.1. Présentation des résultats

#### 7.2.1.1. Poids sec des parties molles

Bien que les poids secs des deux populations transférées soient significativement différents (test t;  $p < 0,05$ ;  $n = 8$ ), leur évolution spatiale et temporelle est similaire (figure 45). L'écart enregistré entre les lots témoin se maintient jusqu'à la fin de l'expérience. L'état physiologique des moules se dégrade progressivement aux stations situées sous l'influence des rejets industriels (points 1 à 3). Les poids secs les plus élevés sont observés au site 4, localisé à quelques 20 km en aval. Cette dernière station correspond exactement au point 10 de la première expérience sur la Wiltz (cf. *Exp. 6*).

Comme les différences de poids sec entre les deux populations restent faibles, on pourrait se contenter d'exprimer les résultats en terme de concentration métallique (cf. *Exp. 7*). Dans le cas présent, le calcul des contenus, donc de l'accumulation réelle, se justifie par les différences inter-sites de poids (cf. *Exps. 5 et 6*).

#### 7.2.1.2. Profils de contamination

##### a) Cadmium

Le cadmium est fortement accumulé par les deux populations (figure 46). Dès le

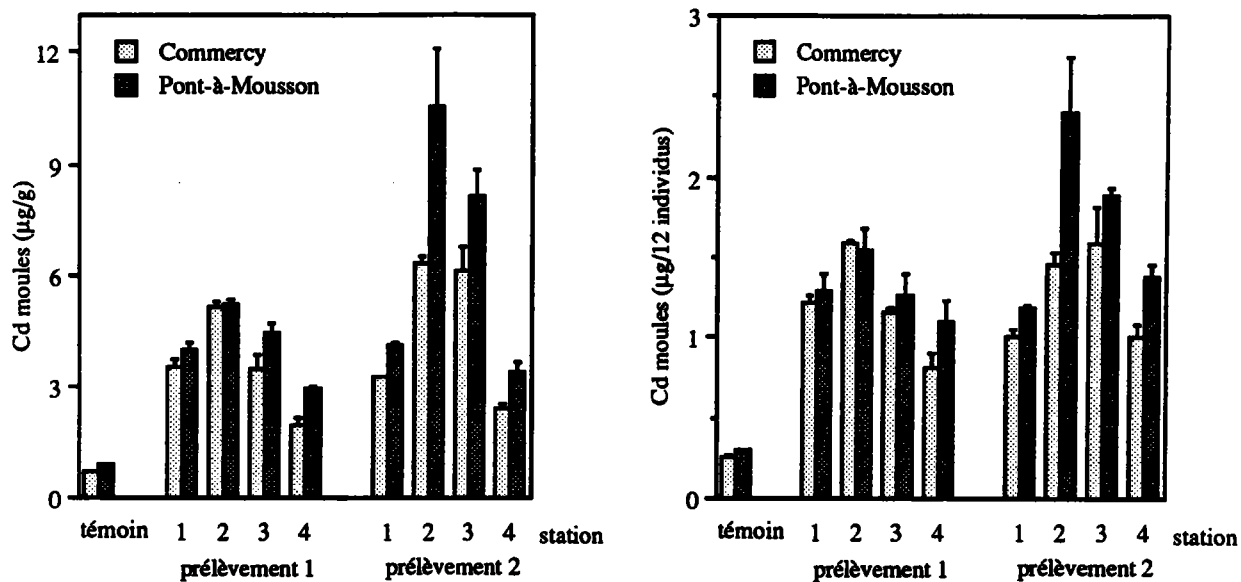


Figure 46. Concentration (à gauche) et contenu (à droite) en cadmium dans deux populations différentes de moules zébrées transférées dans la Wiltz.

Les barres verticales représentent l'écart entre deux sous-échantillons.

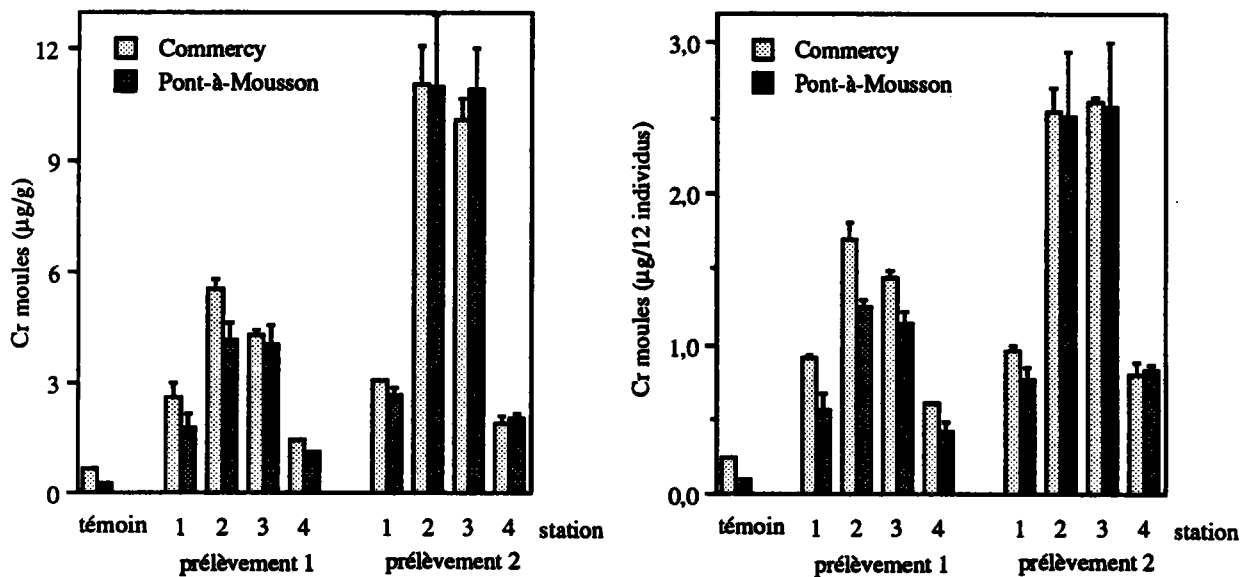


Figure 47. Concentration (à gauche) et contenu (à droite) en chrome dans deux populations différentes de moules zébrées transférées dans la Wiltz.

premier prélèvement, les moules de Pont-à-Mousson présentent des niveaux légèrement plus élevés que les animaux de Commercy. Ces différences s'accroissent au cours de la seconde période d'exposition, notamment aux stations 2 et 3. L'expression des données en contenu de cadmium souligne bien la portée spatiale de la pollution, quelque peu sous-estimée par les concentrations à cause des poids secs élevés à la station 4.

#### **b) Chrome**

Les profils de contamination sont similaires pour les deux populations (figure 47). Pendant la première période d'exposition, les moules de Commercy accumulent légèrement plus de chrome que celles de Pont-à-Mousson. Le cas du chrome illustre également l'influence du poids des dreissènes sur l'allure général des profils.

#### **c) Cuivre**

La seule différence notable entre les deux populations est observée à la station 2 lors de la seconde période d'étude (figure 48). Pour tous les autres prélèvements, les moules de Commercy présentent des charges de cuivre légèrement supérieures à celles de Pont-à-Mousson.

#### **d) Plomb**

L'interprétation des données est plus délicate que pour les éléments précédents, à cause des écarts élevés entre les deux sous-échantillons (figure 49). Néanmoins, les indications fournies par les deux populations sont analogues tant d'un point de vue qualitatif que quantitatif.

#### **e) Zinc**

Les contenus métalliques sont systématiquement plus élevés dans les moules de Commercy que dans celles de Pont-à-Mousson (figure 50). Hormis les différences quantitatives, l'allure générale des profils est similaire.

#### **f) Remarques complémentaires**

En dépit de sites d'origine très contrastés, les écarts de contamination des deux populations au début de l'expérience (échantillon témoin) sont étonnamment faibles pour l'ensemble des métaux étudiés. Les contenus en chrome et en zinc sont même plus élevés à Commercy qu'à Pont-à-Mousson.

En ce qui concerne l'importance de la pollution du site, les profils de contamination observés lors de cette étude sont semblables à ceux obtenus deux ans auparavant (cf. *Exp. 6*).



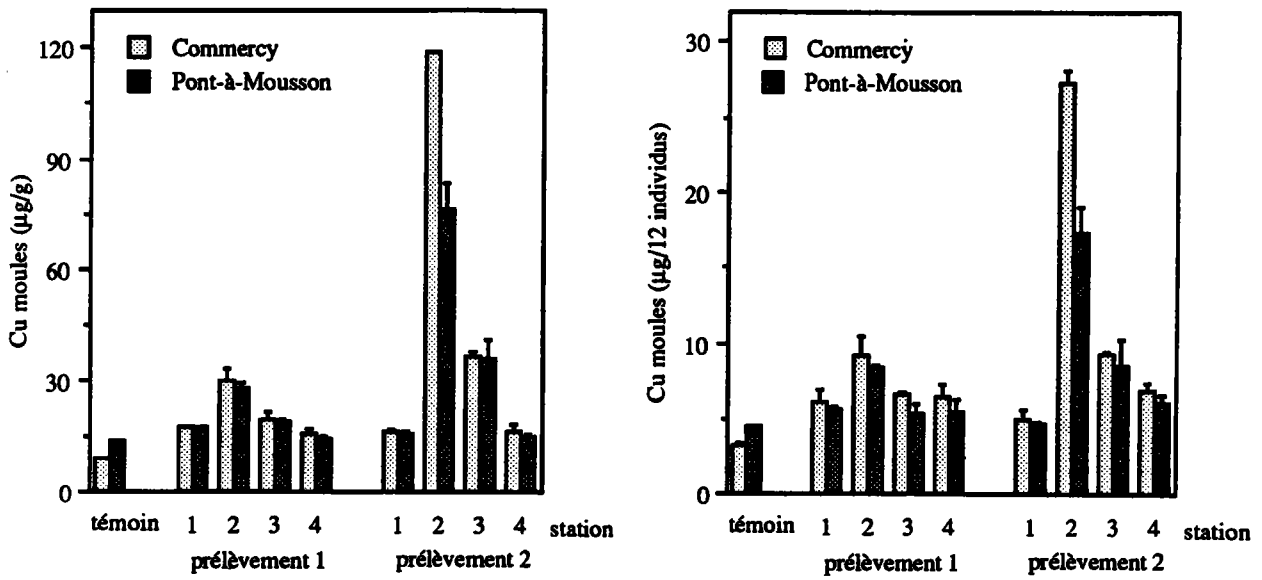


Figure 48. Concentration (à gauche) et contenu (à droite) en cuivre dans deux populations différentes de moules zébrées transférées dans la Wiltz.

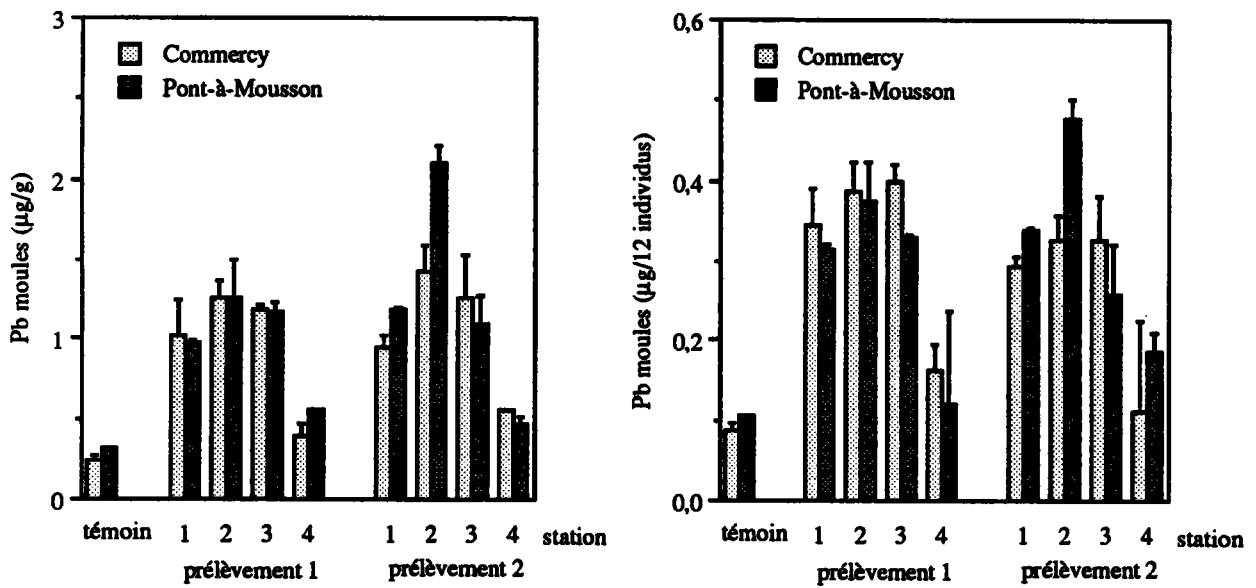


Figure 49. Concentration (à gauche) et contenu (à droite) en plomb dans deux populations différentes de moules zébrées transférées dans la Wiltz.

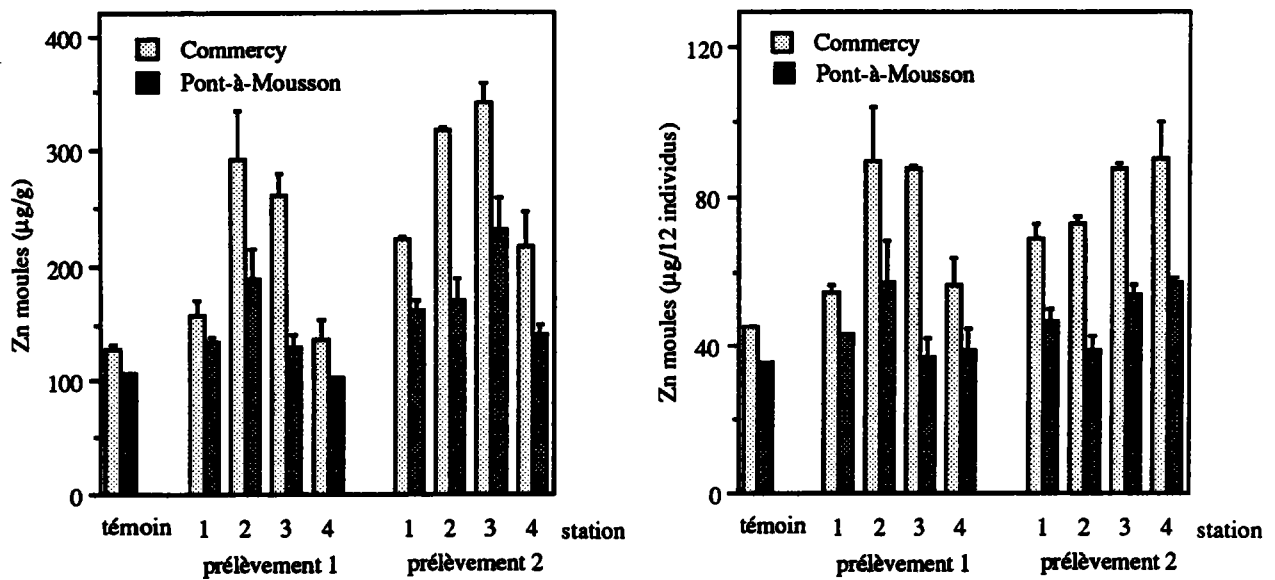


Figure 50. Concentration (à gauche) et contenu (à droite) en zinc dans deux populations différentes de moules zébrées transférées dans la Wiltz.

## 7.2.2. Discussion

### 7.2.2.1. Données biométriques

Certaines caractéristiques biométriques déjà observées lors de la première étude de la Wiltz (*Exp. 6*) se retrouvent ici, à savoir une chute du poids sec des moules placées à proximité des effluents industriels et le maintien d'une masse corporelle élevée à la station aval. Une autre confirmation importante apportée par cette étude est le rôle déterminant de la condition initiale d'une population transférée. Des différences de condition sensiblement constantes dans le temps et dans l'espace ont déjà été observées lors du suivi de trois populations introduites dans la retenue du Mirgenbach (*Exp. 5*).

### 7.2.2.2. Données écotoxicologiques

L'homogénéité des données obtenues à partir des deux populations de moules zébrées d'origine différente est particulièrement satisfaisante pour le chrome, mais aussi pour le cadmium et le cuivre. Si des différences quantitatives existent, les niveaux les plus élevés sont systématiquement observés dans l'une des deux populations, en l'occurrence celle de Commercy pour le chrome et le cuivre et celle de Pont-à-Mousson pour le cadmium. Il faut noter que pour deux des trois métaux, les différences les plus marquées sont observées lorsqu'une forte contamination est détectée à la station 2 au cours de la deuxième période d'étude.

La situation du plomb est un peu particulière car le niveau de contamination reste faible et la

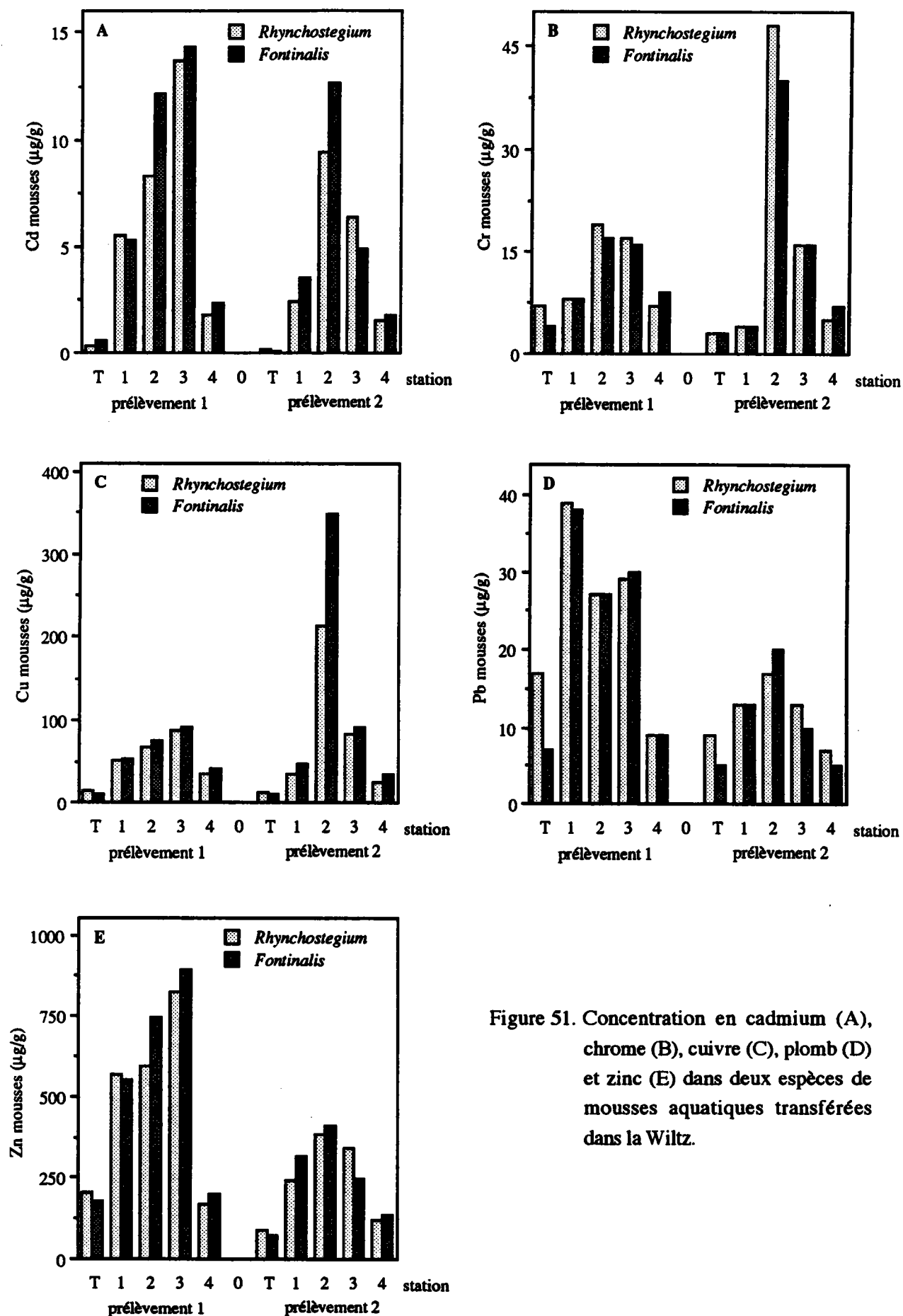


Figure 51. Concentration en cadmium (A), chrome (B), cuivre (C), plomb (D) et zinc (E) dans deux espèces de mousses aquatiques transférées dans la Wiltz.

variabilité biologique est élevée. Ceci rend une interprétation détaillée très difficile.

Le cas du zinc (et du nickel qui n'a pas été présenté) contraste avec celui de tous les autres métaux analysés, car les deux populations présentent des niveaux de contamination très différents. De plus, la situation trouvée ici est en contradiction avec celle observée lors de l'étude de la retenue du Mirgenbach (*Exp. 5*). L'hypothèse considérée alors comme la plus logique, c'est-à-dire celle de niveaux de zinc plus faibles dans les animaux régulièrement confrontés à des contaminations par ce métal pourrait s'appliquer dans le cas présent. En effet, les moules issues de la Moselle s'intoxiquent moins que les animaux transférés à partir de Commercy. Dans le même ordre d'idée, les concentrations plus faibles dans les moules témoin de la Moselle comparées à celles de la Meuse s'expliqueraient par une efficacité plus grande dans l'élimination du zinc.

D'une manière plus générale, les différences quantitatives inter-populations, plus ou moins prononcées selon le métal, sont extrêmement difficiles à interpréter, car c'est soit l'une soit l'autre des deux populations qui s'intoxique davantage et non pas systématiquement la même. Aucune étude de comparaison entre populations n'est rapportée dans la littérature. Toute tentative d'explication est prématurée.

### **7.3. Mousses**

#### **7.3.1. Présentation des résultats**

Lorsque les niveaux de pollution sont faibles, les deux espèces de mousses, *Rhynchostegium riparioides* et *Fontinalis antipyretica*, fournissent des indications analogues (figure 51). Des différences quantitatives apparaissent lorsque les concentrations métalliques augmentent. Cette situation a été observée notamment à la station 2 pour le chrome, le cadmium et le cuivre. Il faut préciser que les écarts entre les deux sous-échantillons analysés sont très faibles. Ils ne sont pas reportés sur les graphiques.

#### **7.3.2. Discussion**

Les différences quantitatives inter-espèces s'expliquent par des capacités spécifiques de biosorption (Clymo, 1963; Breuer et Melzer, 1990a; cf. *Exp. 7*). Les écarts observés dans ce travail sont nettement plus faibles que ceux mis en évidence lors d'intoxications en laboratoire (Mouvet, 1987) ou d'autres études de terrain (Wehr *et al.*, 1983; Frost, 1990; Mersch, 1992). La seule explication tangible est une accentuation des différences d'accumulation entre espèces avec des niveaux de pollution croissants.

### **7.4. Conclusion et enseignements pratiques**

Les deux populations de moules zébrées transférées, l'une de la Meuse et l'autre de la

Moselle, fournissent des indications similaires sur la situation de contamination de la Wiltz, tant d'un point de vue qualitatif que quantitatif.

Les différences (quantitatives) observées ne doivent pas être surévaluées. En effet, les deux populations utilisées sont caractérisées par un passé totalement différent puisqu'elles proviennent de deux rivières dont les conditions physico-chimiques, et donc biologiques, sont très contrastées. Aux facteurs du milieu d'origine s'ajoutent certainement des spécificités génétiques. D'un point de vue phénotypique, les moules des deux sites se distinguent clairement par la forme, la couleur et les ornementsations de leur coquille. La structure des populations est également très différente : à Commercy, la gamme 18-22 mm représente des individus de taille moyenne alors qu'à Pont-à-Mousson, elle représente les individus les plus gros. Cette variabilité inter-populations existe probablement également au niveau physiologique, notamment dans les processus biochimiques engagés dans la lutte contre les agressions extérieures. Compte tenu de ces différences entre les deux lots utilisés, l'homogénéité et la cohérence des données biométriques et écotoxicologiques apparaissent remarquables.

Les différences entre les deux espèces de mousses aquatiques sont à peu près du même ordre de grandeur que les différences inter-populations des moules zébrées. Les écarts relevés dans ce travail sont tout de même inférieurs à ceux observés dans d'autres expériences de comparaison inter-espèces.

D'un point de vue pratique, ce travail confirme d'une part l'importance de la pollution de la Wiltz (cf. *Exp. 6*), et d'autre part la concordance des données de surveillance biologique obtenues avec les deux organismes sentinelles (cf. *Exps 6 et 7*).

## **CHAPITRE IV**

### **SYNTHESE**

Dans ce chapitre, les enseignements tirés des différentes expériences seront analysés dans un esprit de synthèse et dans une optique pratique. L'objectif est de proposer des **stratégies** et des **modalités** d'utilisation des deux organismes sentinelles sur le terrain ainsi qu'un système simple et pragmatique de hiérarchisation des données recueillies.

Il faut préciser que les différentes données ne seront pas rediscutées. Chaque fois que c'est nécessaire, un renvoi à l'une ou plusieurs des expériences indiquera l'origine précise de l'information.

## **1. Propriétés indicatrices de la moule zébrée**

L'étude des caractéristiques indicatrices de la moule zébrée vis-à-vis des micropolluants métalliques revient à analyser les principaux facteurs influençant l'accumulation et l'élimination.

### **1.1. Comportement**

La première barrière protectrice de l'organisme face à son environnement est la réaction comportementale. La dreissène réduit son taux de filtration lorsqu'elle détecte un **composé toxique** dans le milieu. La réaction ultime est l'isolement complet de l'animal par fermeture des valves (Jenner *et al.*, 1992; Mouabad et Pihan, 1992). La relation très étroite entre la réaction comportementale de la moule et l'accumulation a pu être vérifiée dans le cas du cuivre (*Exp. 2*).

Une diminution de l'accumulation a également été observée en absence de **nourriture** (*Exp. 2*). L'interaction entre ces deux facteurs est toutefois extrêmement complexe. D'une part, les particules en suspension exercent une forte stimulation sur l'activité de filtration des dreissènes (Sprung et Rose, 1988; Reeders *et al.*, 1989). On peut supposer que l'activation du métabolisme général favorise l'ensemble des processus consommateurs d'énergie, en l'occurrence la détoxification des métaux, leur transport vers les organes cibles et leur excrétion. A l'opposé, une faible activité réduit le contact avec le milieu contaminé, et donc l'accumulation de métal, mais également les capacités d'élimination. Les différents effets en cascade que peut entraîner la détection d'un composé toxique sont encore mal connus.

### **1.2. Capacité d'intégration d'une contamination**

Lorsque le milieu ambiant est contaminé, le métal au contact avec les surfaces exposées pénètre dans les tissus (cf. analyse bibliographique). L'importance de l'accumulation dépend d'une part des **cinétiques de prise de métal** propres à l'indicateur (*Exp. 2*), et d'autre part des **caractéristiques de la pollution** en présence, plus précisément de son intensité et de sa durée. Dans la cas de la dreissène, une première conséquence des cinétiques d'accumu-

lation relativement lentes sera une faible détection des pollutions de type accidentel, d'autant plus que l'animal a la possibilité de se protéger complètement lors des conditions ambiantes défavorables (cf. § 1.1). L'incapacité du mollusque à indiquer des épisodes de courte durée a été discutée à deux reprises (*Exps. 2 et 7*). La notion de capacité d'intégration sera développée ultérieurement.

### 1.3. Régulation intracellulaire

La moule zébrée, comme tout être vivant, lutte en permanence pour le maintien de l'homéostasie métallique intracellulaire (George et Viarengo, 1985). L'organisme doit d'un côté couvrir ses besoins en oligoéléments métalliques, et de l'autre gérer (détoxifier, transporter, stocker, éliminer) ses excédents.

Grâce à leurs capacités de régulation, les moules arrivent à **éviter une accumulation** lorsque les concentrations des métaux essentiels dans l'eau restent suffisamment faibles. Dans ce cas, il existe un équilibre dynamique entre la prise et l'élimination de métal. Cette situation a été observée pour le cuivre (*Exps. 2 et 6*), le zinc (*Exps. 3, 4, 5 et 7*) et le nickel (*Exp. 7*). Au delà d'un certain **seuil**, les capacités de régulation sont dépassées et une **accumulation** peut alors se produire. Dans le cas des métaux non physiologiques, ce seuil est extrêmement faible si bien que seules des concentrations dans l'eau proches des niveaux géochimiques permettent de maintenir l'homéostasie dans l'organisme. Ces différents points ont été discutés dans le cadre de l'expérience de laboratoire (*Exp. 2*).

Lorsque la qualité du milieu s'améliore, la **décontamination** est particulièrement performante et rapide dans le cas des métaux physiologiques comme le cuivre et le zinc (*Exps. 4 et 5*). Elle est également efficace pour les métaux non essentiels comme le cadmium, l'étain (*Exp. 6*) et le chrome (*Exps. 6 et 7*). Dans le cas du plomb, l'élimination enregistrée dans la Wiltz est étonnamment aisée (*Exp. 6*). Des observations analogues ont été rapportées par d'autres auteurs (Simpson, 1979; Nourisson *et al.*, 1985; Chan, 1989). D'après Chou et Uthe (1991), le plomb suit le même type de régulation que le zinc chez *Mytilus edulis* placé en condition de stress trophique. Ces observations justifient qu'on se pose la question de savoir si le plomb n'a pas de fonction métabolique chez les mollusques bivalves.

La capacité de la dreissène à réguler les métaux a deux **conséquences** importantes sur le plan pratique. D'abord, elle permet à l'organisme de maintenir ses niveaux métalliques constants en absence de contamination du milieu. Cette stabilité est une caractéristique essentielle pour un indicateur biologique, car elle le place à l'abri de réponses faussement positives. Cette propriété a été illustrée lors du suivi des dreissènes autochtones de la retenue du Mirgenbach (*Exp. 4*), mais a également pu être vérifiée au cours d'autres expériences (cas non présentés). Ensuite, la capacité d'élimination de métaux essentiels et non-essentiels suggère qu'une faible



contamination de la population de référence ne constitue pas un obstacle majeur pour des programmes de surveillance active.

## **2. Interférence entre le cycle biologique et le bilan écotoxicologique**

### **2.1. Biologie de la dreissène**

La moule zébrée subit des bouleversements physiologiques énormes au cours de son cycle annuel. La cause principale des variations de poids est un investissement d'énergie très important dans la reproduction (cf. analyse bibliographique). Les différents flux énergétiques sont toutefois très malléables, ce qui conduit à parler de **reproduction opportuniste**. Cette notion a été discutée à plusieurs reprises (*Exps. 4 et 6*). L'extrême plasticité physiologique confère d'ailleurs à la dreissène une efficacité particulière pour s'adapter à de nouveaux milieux (Sprung, 1992).

### **2.2. Conséquence de la biologie sur les données écotoxicologiques**

Une variation (augmentation/diminution) des concentrations métalliques dans les moules peut être le fruit de deux phénomènes bien distincts qui se superposent, à savoir une variation de la charge métallique dans les tissus (accumulation/élimination) et une variation (diminution/augmentation) du poids des animaux (*Exps. 4, 5, 6 et 8*). Il y a donc un risque de surestimer une évolution si les deux facteurs varient en sens inverse (*Exp. 6*), ou de masquer complètement un processus lorsque les deux paramètres varient de façon concomitante (*Exp. 5*). Il s'agit par conséquent de trouver un moyen d'évaluer la partie de la variation des concentrations métalliques qui constitue une accumulation métallique virtuelle liée aux fluctuations de poids sec.

Une procédure toute simple et souvent proposée consisterait à contourner ces difficultés en réalisant les expériences en dehors de la période de reproduction (*Exp. 7*). Cependant, le tissu gonadique de la moule zébrée est actif, et donc sujet à des fluctuations de poids, pendant 10 mois par an (Borcherding, 1991). De plus, la seule période d'étude possible serait l'automne, à une époque de l'année où les niveaux d'eau très fluctuants dans les rivières rendent le travail de terrain très difficile. Par conséquent, la seule solution consiste à **intégrer les variations de poids des tissus** dans les programmes de surveillance. Plusieurs concepts ont été proposés pour maîtriser ce facteur de variabilité (Simpson, 1979; Fischer, 1983; Talbot, 1986; cf. analyse bibliographique).

### **2.3. Choix du critère**

La détermination du **contenu métallique** des moules (Simpson, 1979) permet sans difficulté de distinguer l'évolution de l'accumulation ou de l'élimination réelles par rapport

aux variations virtuelles liées au poids.

Le calcul des contenus s'impose dans deux situations : d'une part lorsqu'il y a des changements de poids sec dans le temps et dans l'espace au sein d'une même population (*Exp. 4, 5, 6 et 8*), et d'autre part lorsque différentes populations sont comparées (*Exp. 5*). En l'absence de variabilité biométrique, la conversion des concentrations en contenus métalliques est inutile (*Exp. 7*). Il est important en effet de préciser que le contenu doit être considéré uniquement comme un **outil d'interprétation** des données. La réalité à laquelle est confrontée l'organisme est bien la concentration dans ses tissus. Cette idée sera développée ultérieurement.

### 3. Comparaison des supports analytiques utilisés

#### 3.1. Relation entre la contamination du milieu et la détection par les moules zébrées

L'étude de laboratoire (*Exp. 2*) a montré qu'en condition d'exposition chronique, la dreissène accumulait le cuivre et le cadmium d'une manière proportionnelle à la concentration dans l'eau. L'existence de ce type de relation est une condition de base pour un organisme indicateur (Phillips, 1977).

Sur le terrain, une relation significative entre la concentration dans l'eau et celle dans les moules a rarement été observée (*Exps. 3, 4 et 6*). Deux causes principales peuvent être avancées. D'abord, il y a une certaine **inertie** entre la contamination du milieu et la détection dans les mollusques, aussi bien dans le sens de l'accumulation que dans celui de l'élimination. Le décalage de l'indication vient s'ajouter aux trois autres facteurs qui modulent l'évolution des concentrations dans l'organisme, à savoir son comportement, ses propriétés d'intégration d'une pollution et ses capacités de régulation (cf. § 1). Ensuite, l'indication est influencée par le **moment exact du prélèvement**. En effet, la collecte et l'analyse interviennent à un moment bien précis au cours d'un épisode de contamination dans l'eau et au cours d'un cycle accumulation/élimination dans les organismes (*Exp. 4*). Ceci introduit une certaine subjectivité dans les mesures. La seule solution pour optimiser la représentativité de l'information, du moins en ce qui concerne l'indicateur, consiste à multiplier les prélèvements dans le temps.

En définitive, une corrélation entre les concentrations dans les moules et celles dans l'eau peut seulement être attendue dans le cas où l'évolution de la contamination du milieu est suffisamment lente pour permettre un rééquilibrage permanent des niveaux métalliques dans les dreissènes. Cette situation a été rencontrée lors du suivi de la population autochtone de la retenue du Mirgenbach (*Exp. 4*).

### 3.2. Signification écotoxicologique du compartiment moule

Le diagnostic obtenu à partir de l'analyse des tissus du mollusque constitue un **bilan biologique intégré intermédiaire** de la contamination de la phase circulante d'un écosystème.

Les quatre premières notions ont été précisées dans les paragraphes 1.2 et 3.1. La représentativité d'un organisme filtreur pour la **phase circulante** d'un écosystème est certes triviale, mais a tout de même pu être vérifiée lors d'un travail de comparaison de plusieurs supports analytiques de la retenue du Mirgenbach (Mersch *et al.*, sous presse).

### 3.3. Signification des échantillons d'eau

A travers la question de l'absence de corrélation entre les concentrations métalliques dans le milieu et celles dans les moules, c'est en fait le problème de la représentativité temporelle et spatiale des échantillons d'eau qui est posé. Pour plusieurs raisons, l'analyse directe des métaux dans l'eau occupe une partie importante dans ce travail. D'abord, la validation d'un indicateur exige l'existence d'une relation stable eau/organisme. Ensuite, paradoxalement, il existe très peu d'études de comparaison entre les deux compartiments. Enfin, de nombreux programmes de surveillance restent basés sur l'analyses d'échantillons d'eau ou plus généralement de supports inertes.

Dans la grande majorité des cas, les échantillons ponctuels d'eau n'ont **aucune valeur indicative** (*Exps. 3, 4 et 6*). Les données obtenues sont impossibles à interpréter en termes quantitatifs (intensité et durée d'une pollution) et encore moins en terme de risque écologique (biodisponibilité d'un composé nocif vis-à-vis des organismes vivants). En définitive, la différence de concept entre les deux types de supports analytiques (cf. § 3.1) rend leur comparaison illusoire (*Exps. 4 et 6*).

### 3.4. Comparaison entre les caractéristiques indicatrices des moules et des mousses

Les propriétés indicatrices des moules et des mousses ont été comparées à trois reprises (*Exps. 2, 6 et 7*). Les mécanismes passifs de l'accumulation des métaux dans les bryophytes ont été abondamment discutés. Par rapport aux moules qui disposent de plusieurs niveaux de lutte contre les agressions de l'extérieur (cf. § 1), les mousses apparaissent comme un modèle relativement simple. Les facteurs susceptibles de moduler l'accumulation et l'élimination des cations sont d'un tout autre ordre. Ils se situent en effet principalement sur un plan physico-chimique (*Exp. 2, 6 et 7*).

D'un point de vue pratique, la différence fondamentale entre les deux indicateurs réside dans la capacité d'intégration d'un événement de pollution dans le temps : la réponse est **rapide** et **relativement éphémère** chez les mousses, **lente** et **plus durable** chez les moules.

Les bryophytes réagissent très vite à une variation des concentrations métalliques dans le milieu (*Exp. 2*). Elles sont donc capables de détecter des pollutions de courte durée. Toutefois, les cinétiques rapides accentuent la subjectivité de la mesure, signalée dans le cas des moules (cf. § 3.1). L'appréciation de la situation moyenne de pollution exige par conséquent une fréquence de prélèvement élevée. Par rapport aux mousses, les moules se caractérisent par une inertie plus grande (cf. § 1.2). Leur intérêt se situe donc au niveau de surveillances à plus long terme qui consistent à mesurer un impact biologique d'une contamination. Les stratégies de terrain devront respecter au maximum les spécificités de chacun des deux indicateurs biologiques.

## 4. Stratégies de la surveillance biologique

### 4.1. Concepts d'utilisation de la moule zébrée

#### 4.1.1. Surveillance passive

Le prélèvement d'organismes indicateurs autochtones à des stations espacées régulièrement ou à des intervalles de temps déterminés représente le concept le plus simple (*Exps. 3* et *4*). L'étude longitudinale de la Moselle (*Exp. 3*) a montré que la surveillance passive **non orientée** constitue une approche tout à fait valable lorsqu'il s'agit de faire une première évaluation (*screening*) des sources de pollution existant dans le bassin. L'intérêt est souligné en particulier par des pics qui n'ont pas trouvé d'explication par rapport à des rejets connus. Cette stratégie comporte néanmoins un défaut majeur. En effet, les profils de contamination obtenus sont fortement influencés par la localisation précise de chacune des stations de prélèvement. Comme la fraction biodisponible d'un polluant dans la phase circulante diminue avec la distance au point de rejet (*Exps 3, 6, 7* et *8*), un pic d'une amplitude donnée dans les organismes peut refléter aussi bien un ou plusieurs effluents d'une importance faible rejetés à proximité qu'un ou plusieurs effluents très polluants rejetés plus loin en amont (cf. *Exp. 2*).

Le second concept découle directement du premier : il consiste à affiner l'analyse en rapprochant progressivement les points de collecte de façon à encadrer les effluents les plus polluants du bassin. La surveillance passive **orientée** permet de localiser de façon précise les sources de pollution et d'en évaluer l'impact en fonction du temps et en fonction de la distance. La mise en oeuvre de cette seconde stratégie risque toutefois de se heurter à la contrainte de trouver des populations de dreissènes exploitables aux endroits souhaités.

La limite plus générale de la surveillance passive est son application exclusive aux rivières colonisées par la moule zébrée. Dans notre région, il s'agit de tronçons du Rhin, de la Moselle, de la Meuse et de la Sarre. La technique qui permet d'étendre la méthode de l'indication biologique par la moule zébrée consiste à transférer des organismes en condition protégée.

## 4.1.2. Surveillance active

### 4.1.2.1. Avantages du concept et faisabilité technique

Les avantages de la technique de transfert sont principalement de trois ordres : (1) la possibilité d'étudier des sites dépourvus de populations autochtones, (2) le choix de l'emplacement précis des stations et (3) l'évaluation de la qualité récente du site par une exposition limitée dans le temps. Par ailleurs, des résultats de surveillance obtenus sur des sites d'étude très différents sont directement comparables lorsque les animaux transférés proviennent d'une même population de référence.

La faisabilité technique et biologique du transfert de dreissènes a été vérifiée lors de quatre expériences (*Exps. 5 à 8*). Un résultat particulièrement intéressant a été observé lors de l'étude de la Wiltz (*Exp. 6*), à savoir une corrélation entre la mortalité cumulée des moules et la qualité biologique de la rivière (indice biotique) aux différentes stations. Si cette relation se confirme, elle permettrait, dans une certaine mesure, de prédire la faisabilité biologique d'une étude de surveillance qui utilise la moule zébrée comme organisme sentinelle.

### 4.1.2.2. Etat physiologique des moules

Le déplacement d'un organisme de son site d'origine vers un environnement récepteur engendre forcément un traumatisme physiologique. Un suivi de la condition générale des mollusques transférés est donc indispensable. Dans ce travail, trois **descripteurs biologiques** simples ont été retenus, à savoir la mortalité, la capacité de fixation après exposition et le poids sec des parties molles (*Exps. 4 à 8*). Dans les trois cas, il s'agit de paramètres qui prennent en compte l'état général de l'animal. Ce volet d'étude pourrait être étendu à des indices de stress plus spécifiques, comme le potentiel de croissance (Widdows, 1978), le bilan énergétique (Poulsen *et al.*, 1982) ou la capacité de survie anoxique (Veldhuizen-Tsoerkan *et al.*, 1991).

Toutefois, les descripteurs utilisés ont permis d'évaluer, sans moyen sophistiqué, la condition des moules aux différents sites. Leur **signification spécifique** a été discutée en détail lors de l'étude de la Wiltz (*Exp. 6*). En résumé, la mortalité reflète les événements à caractère aigu et l'épuisement irrécupérable des animaux tandis que les paramètres sublétaux fournissent des réponses précoces sur l'évolution de leur condition générale. La dégradation de l'état physiologique des moules a deux causes possibles : d'une part un facteur extrinsèque qui est le stress occasionné par des conditions de milieu défavorables, et d'autre part un facteur intrinsèque qui est la reproduction. La distinction des deux influences pourrait être affinée par une analyse microscopique du tissu gonadique (Léglize et Crochard, 1987; Tourari *et al.*, 1988; Borcharding, 1991).

#### 4.1.2.3. Concentration et contenu métalliques

La solution préconisée pour surmonter le problème des variations de poids sec dans les moules consiste à raisonner sur la base des contenus métalliques dans les moules (cf. § 2). Il faut toutefois insister sur le fait que cette procédure est exclusivement destinée à assurer une interprétation correcte des données. L'expression des résultats doit prendre en compte la **réalité toxicologique** à laquelle la moule fait face, c'est-à-dire la **concentration** d'un polluant. Par ailleurs, la concentration, à l'opposé du contenu, intègre l'impact double que subissent les organismes transférés, d'une part les conditions générales du milieu, et d'autre part la bioaccumulation des micropolluants.

L'application de cette procédure ne s'impose pas dans le cas où les poids des moules restent constants aux différents sites d'étude pendant tout le temps de l'expérience (*Exp. 7*; cf. § 2.3). En revanche, elle prend tout son sens lorsque d'importants bouleversements de la physiologie des moules interviennent (*Exps. 6 et 8*) ou lorsque des populations caractérisées par des différences biométriques sont comparées (*Exp. 5*).

#### 4.2. Surveillance active simultanée avec les moules et les mousses

Dans le cas des mousses, le problème du pool métallique inéchangeable a retenu une attention particulière (*Exp. 7*). Le métal durablement fixé représente en effet un obstacle majeur à l'utilisation de bryophytes autochtones en ce sens que celles-ci ne reflètent pas la situation de pollution moyenne et récente. Par conséquent, la **technique de transfert** à partir d'un site de référence adéquat apparaît également comme une alternative de choix.

Les **stratégies** d'utilisation des deux indicateurs découlent directement de leurs propriétés indicatrices respectives (cf. § 3.4). Compte tenu de leur pouvoir d'intégration rapide, les mousses peuvent être avantageusement utilisées pour étudier séparément des périodes consécutives courtes. Les moules sont plus intéressantes pour détecter une contamination à plus long terme.

Une certaine **complémentarité** entre les deux organismes sentinelles a été mise en évidence à plusieurs reprises. D'abord, des informations concordantes obtenues avec deux indicateurs différents peuvent être considérées comme particulièrement fiables (*Exps. 6 à 8*). Ensuite, les différences dans la capacité d'intégration rendent possible la détection de différents types de pollution (*Exp. 7*). Lorsque deux indicateurs sont utilisés simultanément, l'un peut compenser les "faiblesses" de l'autre. Quelques exemples peuvent illustrer ce point. Contrairement aux moules, les mousses sont capables de détecter des contaminations de métaux physiologiques, car il n'y a pas ou peu d'interférence de la régulation (*Exps. 6 et 7*). Une pollution de type accidentelle sera également mieux reflétée par les bryophytes, car les mollusques n'arrivent pas à l'intégrer suffisamment rapidement (cf. § 1.2). Les moules, en

revanche, offrent la possibilité d'étudier des micropolluants métalliques qui ne sont pas accumulés par les mousses, notamment le chrome anionique (*Exps. 6 et 7*) et l'étain organique (*Exp. 6*). Par ailleurs, elles se sont révélées plus fiables pour localiser avec précision les différentes sources de pollution industrielle lors de l'étude de la Wiltz (*Exp. 6*). Enfin, la nature même de la mesure réalisée avec les deux indicateurs est différente. La moule permet d'évaluer un impact biologique d'une contamination tandis que la mousse indique essentiellement la disponibilité physico-chimique des cations circulants.

## 5. Outil de hiérarchisation des données écotoxicologiques

L'objectif d'un outil de hiérarchisation consiste à proposer une aide à la décision pour l'exploitation des données de routine recueillies sur le terrain. Il faut insister sur le fait que la démarche adoptée représente une **simplification** anthropocentrique de la réalité biologique et comporte une certaine **subjectivité** de la part de l'auteur.

### 5.1. Concentrations métalliques de référence dans la moule zébrée

L'étude des concentrations métalliques dans les moules zébrées prélevées sur des sites dépourvus de pollution directe a suggéré qu'il est plus correcte de considérer une gamme de concentrations naturelles plutôt qu'une concentration unique de référence (*Exp. 1*). Toutefois, comme une approche pragmatique doit être adoptée, la définition de concentrations de référence est incontournable.

Les concentrations métalliques de référence proposées pour *Dreissena polymorpha* (tableau 17) appellent plusieurs commentaires. Pour 4 des 8 métaux étudiés, les niveaux de repère établis par Kraak *et al.* (1991) sont maintenus, à savoir Cd : 1, Cu : 12, Pb : 0,5 et Zn : 110  $\mu\text{g g}^{-1}$  (cf. tableau 7). Les concentrations relativement élevées retenues pour le cadmium et le chrome (1  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) sont justifiées par la sensibilité de la dreissène vis-à-vis de ces deux métaux (cf. § 1.3). L'écart par rapport aux concentrations les plus faibles observées (*Exps. 1 et 4*) représente donc une gamme de sécurité. Les références proposées pour le cuivre, le zinc, mais aussi pour le mercure (0,1  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ont pu être fixées sans difficulté, compte tenu de la bonne concordance entre les données de ce travail et celles rapportées dans la littérature. En revanche, la variabilité élevée observée pour le fer et le nickel pose quelques difficultés. Dans le premier cas, la gamme comprise entre 100 et 200  $\mu\text{g g}^{-1}$  reste quelque peu spéculative ; dans le second cas, la concentration de repère de 12  $\mu\text{g g}^{-1}$  a pu être déterminée avec une sécurité maximale, notamment à l'aide de données supplémentaires qui n'ont pas été présentées dans le cadre de ce mémoire. Le plomb est un cas spécifique pour notre région (*Exps. 1 et 3*). Le repère fixé à 0,5  $\mu\text{g g}^{-1}$  semble un peu élevé de prime abord, mais est tout à fait justifié par rapport aux concentrations faibles observées dans la Meuse (*Exp. 1*).

Métal	Concentration de repère
Cd	1
Cr	1
Cu	12
Fe	100 - 200
Hg	0,1
Ni	12
Pb	0,5
Zn	110

Tableau 17. Concentrations métalliques de repère ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec) dans la moule zébrée.

## 5.2. Grille de qualité relative aux moules zébrées

### 5.2.1. Remarques préliminaires

Pour des raisons évoquées précédemment (cf. § 4.1.2.3), la grille de qualité est définie par rapport aux concentrations et non pas par rapport aux contenus métalliques dans les tissus de la moule. Par ailleurs, l'utilisation pratique de la méthode exige la mise au point d'un système d'interprétation unique qui soit applicable indifféremment aux données recueillies lors d'expériences de surveillance biologique passives ou actives. Les classes de qualité devront être définies de manière à ce que les différences entre populations (*Exps. 5 et 8*) engendrent le moins souvent possible un changement de classe.

### 5.2.2. Définition des différentes classes

Le concept de base est constitué d'une grille à 4 niveaux ouverte aux deux extrémités. Pour un métal donné, la classe 1 inclut les échantillons dont la concentration est inférieure au point de repère (valeur de référence). La limite entre la deuxième et la troisième classe devra être choisie de façon à ce que la classe 3 ne contienne pas (ou le moins possible) d'échantillons dont l'accumulation puisse encore être attribuée à la géochimie du milieu. Il est à noter que l'impact des affleurements de minerai est exclu de ce raisonnement. Le deuxième niveau est donc une zone d'incertitude qui s'étend d'une situation d'absence de contamination à une situation de forte suspicion de pollution. Les deux dernières classes regroupent, avec une sécurité maximale, l'ensemble des sites dont la pollution est établie. La limite qui les sépare tente de hiérarchiser l'importance des pollutions métalliques en plaçant dans la classe 4 les échantillons considérés comme fortement contaminés pouvant aller jusqu'à une limite supérieure qui causera la mort de l'organisme.



Il faut remarquer qu'il n'y a **pas de logique systématique** (par exemple de progression géométrique) dans la fixation des bornes de classe. Cette précaution permet de prendre en compte les caractéristiques toxicologiques propres à chacun des métaux étudiés.

**Terminologie de la grille de qualité et code couleur proposés :**

- classe 1 : absence de pollution (bleu),
- classe 2 : situation intermédiaire (vert-jaune),
- classe 3 : pollution certaine (orange),
- classe 4 : pollution importante (rouge).

### **5.2.3. Justification des limites de classe pour le cadmium et le cuivre**

Les différentes étapes qui aboutiront à la proposition d'une grille de qualité prennent en considération non seulement les résultats obtenus dans le cadre de ce travail, mais également l'ensemble des données disponibles dans la littérature.

Pour avoir une idée de l'étendue de la contamination de *Dreissena polymorpha*, il convient de s'intéresser aux concentrations maximales relevées sur le terrain (tableau 18). Il faut préciser que des listings complets de données ont pu être consultés dans le cas des travaux de Nourisson *et al.* (1985), de la Commission Internationale pour la Protection du Rhin (CIPR, 1989) et de Busch (1991).

#### **a) Cadmium**

En l'absence de pollution, les concentrations de cadmium dépassent rarement 1 ou  $1,5 \mu\text{g g}^{-1}$  dans la dreissène. Les niveaux sont même restés inférieurs à ces valeurs lors de l'étude du bassin de la Meurthe (*Exp. 7*, cas non présenté) et lors d'une expérience de surveillance active de l'Orne (Mersch, 1993b). Dans la retenue du Mirgenbach (*Exp. 4*), les concentrations de cadmium ont rarement atteint  $2 \mu\text{g g}^{-1}$ . La valeur la plus élevée observée dans les moules autochtones de la Moselle (*Exp. 3*, cas non présenté) est de  $2,8 \mu\text{g g}^{-1}$ . Le seuil maximal compris entre  $1,5$  et  $2 \mu\text{g g}^{-1}$  en l'absence de pollution est confirmé par les données de la littérature. On peut par conséquent envisager de fixer la limite entre les classes 2 et 3 (cf. § 5.2.2) à  $2,5$  ou  $3,0 \mu\text{g g}^{-1}$ . L'écart supplémentaire de  $1 \mu\text{g g}^{-1}$  réserve une marge de sécurité. Les caractéristiques écotoxicologiques du cadmium justifient que le choix se porte sur la valeur inférieure, c'est-à-dire  $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$ .

La délimitation de la classe 3 vers le haut est plus difficile à argumenter. Des concentrations de cadmium supérieures à celles observées dans le présent travail ont uniquement été rapportées pour deux sites, à savoir la Ruhr, un affluent du Rhin à vocation industrielle se caractérisant par une densité élevée d'industrie lourde, et le Danube ukrainien (cf. tableau 18). Mis à part un pic sur la Meuse à  $9 \mu\text{g g}^{-1}$ , les valeurs maximales relevées sur l'ensemble des

Auteur(s)	Rivière	Année	Au/Tr (a)	Concentration maximale observée à plusieurs reprises						Concentration maximale observée					
				Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
Nourisson et al. (1985)	Orne	1983-84	Tr (257 j.)	n.d.	6	30	n.d.	60	800	n.d.	11,2	36	n.d.	253	1296
	Moselle	1983-84	Tr (257 j.)	n.d.	8	25	n.d.	18	250	n.d.	5,6	33	n.d.	30	375
	Moselle	1984	Au	n.d.	8	30	n.d.	15	250	n.d.	13,0	49	n.d.	52	487
CIPR (1989) (b)	Rhin (c)	1988	Tr (70 j.)	1,2	6,5	20	n.d.	4	n.d.	1,5	9,5	31	n.d.	5,5	n.d.
Yevtushenko et al. (1990)	Danube	1986-88	Au	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	30	n.d.	104	47	148	553
Kraak et al. (1991)	Rhin (c, d)	1982	Tr (60 j.)	20	n.d.	18	n.d.	n.d.	300	90	n.d.	30	n.d.	n.d.	560
	Meuse (c)	1982	Tr (30 j.)	4	n.d.	20	n.d.	10	n.d.	9	n.d.	25	n.d.	24	n.d.
Busch (1991)	Weser	1986-88	Au	5	5	30	25	3,5	300	5,8	6,8	40	41	6,6	488
		1987-88	Tr (84 j.)	3	5	25	40	5	350	3,7	9,0	34	52	9,0	495
ARGE Elbe (1991) (e, f)	Elbe (c)	1989-90	Tr (300 j.)	1,5	30	35	n.d.	8	250	1,7	124	55	n.d.	13	390
Ce travail (g, h)				6	15	120	60	12	400	13,9	19,0	238	88	19,8	1162

Tableau 18. Concentrations métalliques maximales observées dans la moule zébrée.

- (a) Au/Tr : moules autochtones ou transférées (j : temps d'exposition en jours),  
 (b) CIPR : Commission Internationale pour la Protection du Rhin,  
 (c) Valeurs estimées à partir de graphiques,  
 (d) Niveau de cadmium exceptionnellement élevé dû à la pollution de la Ruhr, un affluent à vocation industrielle,  
 (e) ARGE Elbe : Commission Allemande pour la Protection de l'Elbe,  
 (f) Fiabilité de la mesure du chrome remise en question par les auteurs,  
 (g) Pas de distinction entre les expériences de biosurveillance passive et active,  
 (h) La valeur maximale du zinc a été observée lors d'un travail qui n'est pas présenté dans ce mémoire (Mersch, 1993a),  
 n.d.: non déterminé.

autres sites prospectés restent inférieures à  $6 \mu\text{g g}^{-1}$ . Une concentration de  $8 \mu\text{g g}^{-1}$  dans les dreissènes peut par conséquent être considérée comme le reflet d'une pollution importante. Cette valeur est en effet 8 fois plus élevée que le niveau de repère ( $1 \mu\text{g g}^{-1}$ ) et au moins 12 fois supérieure à la concentration moyenne relevée dans les moules de sites non contaminés (*Exp. 1*). Dans le cadre du présent travail, ce seuil de  $8 \mu\text{g g}^{-1}$  a seulement été observé lors des deux expériences de surveillance active de la Wiltz (*Exps. 6 et 8*).

## b) Cuivre

Le cas du cuivre est complètement différent de celui du cadmium. En effet, la moule régule fortement ce métal essentiel lorsque la concentration dans l'eau reste faible (cf. § 1.3). Il n'est accumulé que lorsque les capacités de contrôle métabolique sont dépassées. Les différences fondamentales entre ces deux métaux montrent que l'indication des moules zébrées intègre parfaitement la notion de risque écologique.

Les concentrations maximales rapportées dans la bibliographie sont relativement faibles. Les maxima observés à plusieurs reprises ne dépassent pas  $35 \mu\text{g g}^{-1}$  (cf. tableau 18). Cette situation suggère que dans la plupart des cas, les moules arrivent à gérer un excédent de cuivre dans le milieu. En ajoutant une marge de sécurité, il est donc raisonnable de penser qu'à partir d'une concentration de 40 ou  $45 \mu\text{g g}^{-1}$ , la capacité de régulation des organismes est dépassée et que toute valeur supérieure reflète une pollution. Comme le cuivre est un élément physiologique, une limite trop contraignante n'est pas justifiée.

Lorsque la concentration de cuivre dans l'eau augmente, un effet de toxicité chronique ou même subaigu peut se manifester (*Exp. 2*). A ce titre, une sévérité accrue s'impose pour fixer l'étendue de la classe 3 d'autant plus que l'animal tente de se protéger en réduisant son activité (cf. § 1.1) et par là même l'accumulation. Une seconde limite fixée à  $80 \mu\text{g g}^{-1}$  classe la retenue du Mirgenbach (*Exp. 4*) et la Wiltz (*Exps. 6 et 8*) - dont la pollution par le cuivre est établie - parmi les sites fortement contaminés. En ce qui concerne les données de la littérature, uniquement les moules autochtones du Danube sont à ranger dans la classe 4 (cf. tableau 18).

Les raisonnements conduits pour les 4 autres métaux étudiés sont analogues. Ils ne seront pas détaillés.

### 5.2.4. Classes de qualité

La grille de qualité complète proposée pour interpréter les concentrations de six métaux (cadmium, chrome, cuivre, nickel, plomb et zinc) mesurées dans la moule zébrée est reportée dans le tableau 19. Sa présentation est conforme au concept adopté, c'est-à-dire qu'en définitive, elle est composée de deux grands ensembles : les classes 1 et 2 qui représentent

Métal	Classe de qualité			
	1	2	3	4
Cd	≤ 1	1 - 2,5	2,5 - 8	> 8
Cr	≤ 1	1 - 3,5	3,5 - 10	> 10
Cu	≤ 12	12 - 45	45 - 80	> 80
Ni	≤ 12	12 - 45	45 - 100	> 100
Pb	≤ 0,5	0,5 - 4	4 - 14	> 14
Zn	≤ 110	110 - 220	220 - 400	> 400

Tableau 19. Grille de qualité proposée pour interpréter les concentrations métalliques ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec) observées dans les moules zébrées.

Classe 1 : absence de pollution,  
 classe 2 : situation intermédiaire,  
 classe 3 : pollution certaine,  
 classe 4 : pollution importante.

une gamme de situations allant d'une absence de contamination jusqu'à une suspicion très forte de pollution et les classes 3 et 4 qui indiquent une pollution certaine avec une appréciation quantitative (cf. § 5.2.2).

### 5.3. Facteurs de pollution

#### 5.3.1. Définitions

Une seconde possibilité d'exploitation des données de terrain consiste à calculer les facteurs de pollution (FP). Deux types peuvent être distingués. Le **facteur de pollution standard** (FPS) est exprimé par le rapport entre la valeur observée et la concentration de référence standard. Ce paramètre est indépendant du bassin étudié et permet de classer les sites les uns par rapport aux autres. Le **facteur de pollution ajoutée** (FPA) compare un échantillon d'une station soumise à une pollution à un témoin placé dans le secteur amont de la même rivière. Ce descripteur tient compte des spécificités de chaque bassin étudié.

#### 5.3.2. Application

Pour le calcul du FPS, les concentrations métalliques de référence correspondent évidemment aux niveaux de repère proposés précédemment (cf. tableau 17). Les contenus métalliques de référence sont donnés à titre indicatif (tableau 20). Ces références doivent être utilisées avec toutes les précautions exposées plus haut (cf. § 4.1.2.3) auxquelles s'ajoutent les restrictions présentées ci-dessous.

Métal	Contenu de repère
Cd	0,3
Cr	0,3
Cu	4
Fe	35 - 70
Hg	0,03
Ni	4
Pb	0,17
Zn	35

Tableau 20. Contenus métalliques de repère ( $\mu\text{g}/12$  individus) dans les moules zébrées.

### 5.3.3. Avantages et inconvénients

Un avantage indéniable des FP est la possibilité de hiérarchiser les données recueillies de façon indépendante d'un système de classement qui est forcément caractérisé par une certaine subjectivité.

La critique majeure formulée à l'adresse des FPS est leur rigidité et leur manque de spécificité. En effet, une contamination est évaluée par rapport à une concentration unique de référence. Or, cette valeur de repère n'a pas de réelle justification écotoxicologique (*Exp. 1*; cf. § 5.1), alors qu'elle prend une importance primordiale dans l'expression de ce descripteur.

Les désavantages du FPA peuvent être illustrés par des cas concrets observés lors de ce travail. A la station la plus en amont possible d'un cours d'eau, par exemple, la concentration de cadmium dans les dreissènes transférées a augmenté pour une raison inconnue de 0,8 à  $1,6 \mu\text{g g}^{-1}$ . Un rejet en aval a provoqué une accumulation à  $10 \mu\text{g g}^{-1}$ ; le FPA atteint donc une valeur de 6,3. Dans un deuxième exemple, les moules transférées à partir de Commercy ont réussi à maintenir leur concentration de plomb à  $0,4 \mu\text{g g}^{-1}$ . Une concentration de  $3 \mu\text{g g}^{-1}$  observée en aval permet d'attribuer à l'effluent une cote de 7,5. Bien que ces données soient tout à fait justes, un tableau synthétique des FPA ne rendra pas compte de la situation réelle de l'impact biologique ou du risque écologique.

## 5.4. Grille de qualité relative aux mousses aquatiques

### 5.4.1. Présentation des grilles existantes

Deux grilles de qualité différentes ont été publiées, l'une s'applique à l'ensemble des mousses aquatiques sans distinction d'espèce (Mouvet, 1986), et l'autre s'appuie plus spécifi-

Métal	Mouvet (1986)	Agence Suédoise pour la Protection de l'Environnement (1991)
Cd	1	0,5
Cr	7	5
Cu	19	10
Fe	3000	n.d.
Hg	0,08	0,05
Ni	20	10
Pb	19	3
Zn	200	100

Tableau 21. Concentrations métalliques de référence ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec) dans les mousses aquatiques.

n.d.: non déterminé.

quement sur le genre *Fontinalis* (Agence Suédoise pour la Protection de l'Environnement, 1991). Les deux systèmes ne sont pas organisés de la même façon. La première grille respecte une logique systématique qui est axée autour des notions de concentration de référence et de facteur de pollution standard (tableaux 21 et 22). Les critères qui ont permis de délimiter les différents niveaux de la grille suédoise (tableau 23) ne sont pas détaillés dans le document.

La comparaison des deux grilles montre que les **différences d'appréciation** d'une même situation de contamination sont très importantes. Pour 3 des 6 métaux étudiés, la différence entre les seuils de la classe 5 dépasse même un facteur 10. De plus, ni l'une ni l'autre n'apparaît complètement satisfaisante dans le cas présent. Or, une certaine homogénéité dans l'exploitation des données doit être recherchée, si les deux organismes indicateurs veulent être utilisés en parallèle (cf. § 4.2).

#### 5.4.2. Mise au point d'une nouvelle grille

La mise au point d'une grille adaptée au contexte présent doit respecter plusieurs critères. D'abord, le système d'exploitation devra être conforme au concept adopté dans le cas des moules. Ensuite, il s'agit de trouver un compromis optimal entre les deux grilles existantes, tout en respectant les recommandations de Mouvet (1986) pour l'établissement d'une grille unique applicable à l'ensemble des espèces de mousses susceptibles d'être échantillonnées (principalement les genres *Rhynchostegium* et *Fontinalis*). Enfin, la nouvelle grille devra être en accord avec les résultats des expériences de comparaison entre les moules et les mousses.

La fixation des bornes de classes a fait appel non seulement aux résultats obtenus au cours de

Métal	Classe de qualité				
	1 FP ≤ 2	2 2 < FP ≤ 6	3 6 < FP ≤ 18	4 18 < FP ≤ 54	5 54 < FP
Cd	≤ 2	2 - 6	6 - 18	18 - 54	> 54
Cr	≤ 14	14 - 42	42 - 126	126 - 378	> 378
Cu	≤ 38	38 - 114	114 - 342	342 - 1026	> 1026
Ni	≤ 40	40 - 120	120 - 360	360 - 1080	> 1080
Pb	≤ 38	38 - 114	114 - 342	342 - 1026	> 1026
Zn	≤ 400	400 - 1200	1200 - 3600	3600 - 10800	> 10800

Tableau 22. Grille de qualité utilisée pour interpréter les concentrations métalliques ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec) observées dans les mousses aquatiques (toutes espèces confondues; Mouvet, 1986).

FP : facteur de pollution, défini par le rapport entre la concentration observée et la valeur de référence standard (cf. tableau 21).

Métal	Classe de qualité				
	1	2	3	4	5
Cd	≤ 0,2	0,2 - 0,7	0,7 - 2,0	2,0 - 5,0	> 5,0
Cr	≤ 1	1 - 5	5 - 20	20 - 100	> 100
Cu	≤ 5	5 - 10	10 - 40	40 - 100	> 100
Ni	≤ 2	2 - 10	10 - 40	40 - 200	> 200
Pb	≤ 2	2 - 10	10 - 25	25 - 100	> 100
Zn	≤ 50	50 - 150	150 - 400	400 - 1000	> 1000

Tableau 23. Grille de qualité utilisée pour interpréter les concentrations métalliques ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec) dans les mousses du genre *Fontinalis* (Agence Suédoise pour la Protection de l'Environnement, 1991).

Métal	Classe de qualité			
	1	2	3	4
Cd	≤ 1	1 - 4	4 - 10	> 10
Cr	≤ 7	7 - 25	25 - 100	> 100
Cu	≤ 19	19 - 70	70 - 150	> 150
Ni	≤ 15	15 - 70	70 - 200	> 200
Pb	≤ 15	15 - 80	80 - 250	> 250
Zn	≤ 150	150 - 500	500 - 2000	> 2000

Tableau 24. Grille de qualité proposée pour interpréter les concentrations métalliques ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec) observées dans les mousses aquatiques. (pour la signification des classes : voir tableau 19)

ce travail, mais également aux données de la littérature. A ces données vient s'ajouter la compétence du Centre de Recherches Ecologiques dans le domaine de la surveillance de routine. Le développement qui a conduit à la mise au point de la grille de qualité proposée (tableau 24) ne peut pas être détaillé dans le cadre de ce mémoire.

#### 5.4.3. Remarques complémentaires

Il faut bien préciser que la grille proposée trouve son utilité première dans l'interprétation des données de surveillance biologique simultanée moules/mousses. Elle n'a nullement l'ambition de se substituer aux deux précédentes.

L'étendue maximale de la contamination des mousses est beaucoup plus importante que celle des moules. Cette caractéristique s'explique d'une part par un mécanisme passif d'accumulation, et d'autre part par le fait que l'indication reste possible au-delà de la mort du végétal. Il y a donc possibilité d'étudier des cours d'eau ou des effluents dans lesquels aucune vie n'est possible. Ainsi, les concentrations maximales observées sur le terrain sont de  $428 \mu\text{g g}^{-1}$  de cadmium, de  $3,7 \text{ mg g}^{-1}$  de cuivre, de  $27,9 \text{ mg g}^{-1}$  de chrome, de  $4,5 \text{ mg g}^{-1}$  de plomb et de  $277 \text{ mg g}^{-1}$  de zinc (Mouvet, 1985; Mouvet *et al.*, 1987).

Les facteurs de pollution peuvent également être appliqués dans le cas des mousses. Les concentrations de référence à utiliser pour le calcul du FPS correspondent aux valeurs de repère définissant la classe 1 de la grille de qualité (cf. tableau 24).



## 6. Modalités d'utilisation des indicateurs biologiques

Ce chapitre est consacré à la proposition d'un **catalogue de modalités pratiques** en vue de l'exploitation optimale des caractéristiques indicatrices des deux organismes sentinelles. Bien qu'il s'appuie à la fois sur l'expérience acquise au cours de ce travail et sur les recommandations de la littérature, ce volet pratique n'est pas dépourvu d'une certaine subjectivité. Par ailleurs, un compromis optimal doit être trouvé entre un protocole de terrain souhaitable, mais trop lourd et une démarche réalisable en routine, forcément allégée.

### 6.1. Difficultés de terrain

Avant de présenter les modalités proprement dites, il convient de s'intéresser aux difficultés susceptibles d'être rencontrées sur le terrain. Ce paragraphe relève d'une importance primordiale, car il permet de cerner les contraintes et les limites qui existent dans le cadre du travail de terrain. Par ailleurs, ces renseignements sont rarement fournis dans la littérature scientifique.

La **mortalité** des dreissènes constitue le premier facteur limitant pour les études de surveillance active qui utilisent cet indicateur (*Exps. 6 et 7*). Il est clair que lorsque les conditions de milieu sont trop défavorables pour la survie même de l'organisme, l'évaluation de l'impact biologique des micropolluants devient impossible. Toutefois, la mortalité n'est pas seulement un inconvénient de la méthode. En effet, le taux de mortalité est une **donnée en soi**, car il renseigne sur la qualité générale de l'eau (*Exps. 6 et 7*). Il permet de sélectionner les sites pour lesquels des mesures d'assainissement s'imposent pour éliminer en priorité la toxicité aiguë ou subaiguë avant de s'intéresser à la toxicité chronique, en l'occurrence la biodisponibilité des micropolluants. Dans cette optique, la relation trouvée entre la survie des moules transférées dans la Wiltz (*Exp. 6*) et l'indice biotique qui mesure la diversité du peuplement de macro-invertébrés benthiques apparaît comme prometteuse pour décider *a priori* de la faisabilité d'une étude de surveillance active. Cette corrélation nécessite néanmoins d'être confirmée et précisée.

Une deuxième difficulté de terrain est le **dépôt de matériel solide** (sédiment, détritrus, végétaux arrachés, etc.) sur le dispositif expérimental. Un entretien régulier est indispensable pour éviter l'asphyxie des moules et le colmatage des mousses (cf. chapitre II). Le nettoyage est particulièrement important après des crues. Les crues elles-mêmes constituent un autre problème, car l'accès aux échantillons devient impossible. Ce cas a été rencontré lors du travail sur la Wiltz (*Exp. 6*) et sur la Meurthe (*Exp. 7*). La seule solution consiste alors à jouer sur le calendrier des prélèvements, soit en échantillonnant avant une crue plus ou moins prévisible, soit en attendant la décrue. Une dernière difficulté est la **perte du dispositif**, soit par la force du courant lors de crues ou alors par vandalisme. Dans le premier cas, la

défixation peut être évitée par une surveillance scrupuleuse de l'ancrage des cages au niveau de la berge ou du lit de rivière. Dans le second cas, il n'y a guère que la discrétion rigoureuse qui soit efficace. Ces difficultés conduisent le plus souvent à la suppression de la station concernée.

**Les risques pour l'expérimentateur** lors du travail de terrain ne doivent pas être méconnus. Bien souvent, on avance dans la rivière sans pouvoir évaluer le danger, car la vision à travers la surface de l'eau est limitée. Par ailleurs, on a toujours tendance à sous-estimer la force de l'eau, même pour des hauteurs de 30 ou 50 cm.

## **6.2. Décision de la stratégie à adopter et mise en oeuvre**

### **6.2.1. Localisation précise des stations d'étude**

Comme les moules et les mousses sont des indicateurs représentatifs de la phase circulante, la surveillance doit être réalisée à proximité de l'impact d'un rejet, d'un affluent pollué ou d'une contamination d'origine géochimique. Cette recommandation figure également dans la législation européenne qui préconise de "mesurer les objectifs de qualité suffisamment **proche du point de rejet**" (cf. analyse bibliographique). Il est par conséquent raisonnable de respecter une distance de 50 à 100 m entre le lieu d'impact et la première station d'étude. La biodisponibilité d'un composé peut ensuite être suivie dans l'espace en ajoutant des stations supplémentaires en aval (*Exps. 3, 6, 7 et 8*).

### **6.2.2. Surveillance passive ou active**

La surveillance biologique **passive**, d'abord non orientée et ensuite orientée, pourrait être particulièrement **intéressante** dans le cadre de la gestion de rivières (internationales) afin de décider des actions prioritaires à mener au niveau d'un bassin pris dans son ensemble. Par ailleurs, en utilisant un support analytique commun, une comparaison de l'état de pollution de différents cours d'eau devient possible (*Exp. 3*). L'exploitation d'une population autochtone est également recommandée pour une surveillance dans le temps, car elle est continuellement renouvelée par plusieurs cohortes annuelles de larves (*Exp. 4*).

Mis à part ces deux cas, la **surveillance active doit être préférée** pour les raisons évoquées précédemment (cf. § 4.1.2.1). Une procédure qu'il faudra inclure dans les études de surveillance est le suivi simultané des caractéristiques de la population d'origine. En effet, la comparaison du comportement des moules sur le site d'origine et de celles introduites à la station témoin du site étudié permettra d'évaluer le stress occasionné par le transfert lui-même. Par ailleurs, cette démarche affinera l'étude de l'impact biologique aux stations localisées à proximité des rejets (cf. § 4.1.2.2). Dans cette optique, l'utilisation d'une population de référence permanente représente une situation idéale. Ce rôle pourrait être joué

dans notre région par la population de la Meuse à Commercy (*Exp. 1*). La surveillance biologique et écotoxicologique régulière pourrait être assurée par des prélèvements bimensuels. Il faut toutefois préciser que le choix de la population à utiliser lors d'un transfert dépend également du site à étudier. Pour minimiser le stress environnemental, les caractéristiques physico-chimiques des deux sites doivent être aussi proches que possible.

### **6.3. Démarche pratique et mesures à réaliser**

#### **6.3.1. Biométrie des moules**

Un suivi des caractéristiques biologiques est **indispensable** dans le cas d'expériences de **surveillance active** (cf. § 2 et § 4.1.2.2). Au sein d'une même population, le poids sec des moules peut être assimilé à l'indice de condition, sous réserve que l'échantillonnage selon la taille des individus soit rigoureux (*Exp. 3*).

L'évaluation des caractéristiques biométriques suivie du calcul des contenus métalliques est également **recommandée** lors de **surveillances passives**. Cette mesure est justifiée par la différence de poids sec observée dans les trois populations de la Moselle transférées dans la retenue du Mirgenbach (*Exp. 5*). Pour comparer l'état physiologique de plusieurs populations, l'indice de condition doit compléter le poids sec, car il tient compte des caractéristiques biométriques propres à chaque population (*Exp. 5*).

La variabilité intra-échantillon observée tant pour les mesures biométriques que toxicologiques reste à un niveau raisonnable. L'analyse séparée de **deux sous-échantillons** d'un effectif de **12 individus** chacun peut donc être maintenue. L'ajout d'un troisième sous-échantillon permettrait d'exprimer les résultats par une moyenne suivie d'un écart-type.

#### **6.3.2. Epoque de l'étude**

La question de la saison la plus avantageuse pour réaliser une étude a déjà été abordée au point 2.2. Le présent travail n'a pas permis de mettre en évidence une influence directe de la saison sur les performances d'accumulation de la moule zébrée. Des expériences peuvent donc être réalisées pendant **toute l'année**, à condition de surveiller les caractéristiques biométriques des animaux et d'exploiter les données écotoxicologiques sur la base des contenus (cf. § 2 et § 4.1.2.3).

#### **6.3.3. Protocole d'exposition des dreissènes**

La durée recommandée pour une étude de surveillance active est de **60 à 90 jours**. Ce temps d'exposition permet d'obtenir une réponse fiable des moules zébrées dans les deux champs d'application, à savoir l'impact des caractéristiques du milieu sur leur condition physiologique et la détection de micropolluants (cf. *Exps. 6 à 8*). Les **prélèvements** de

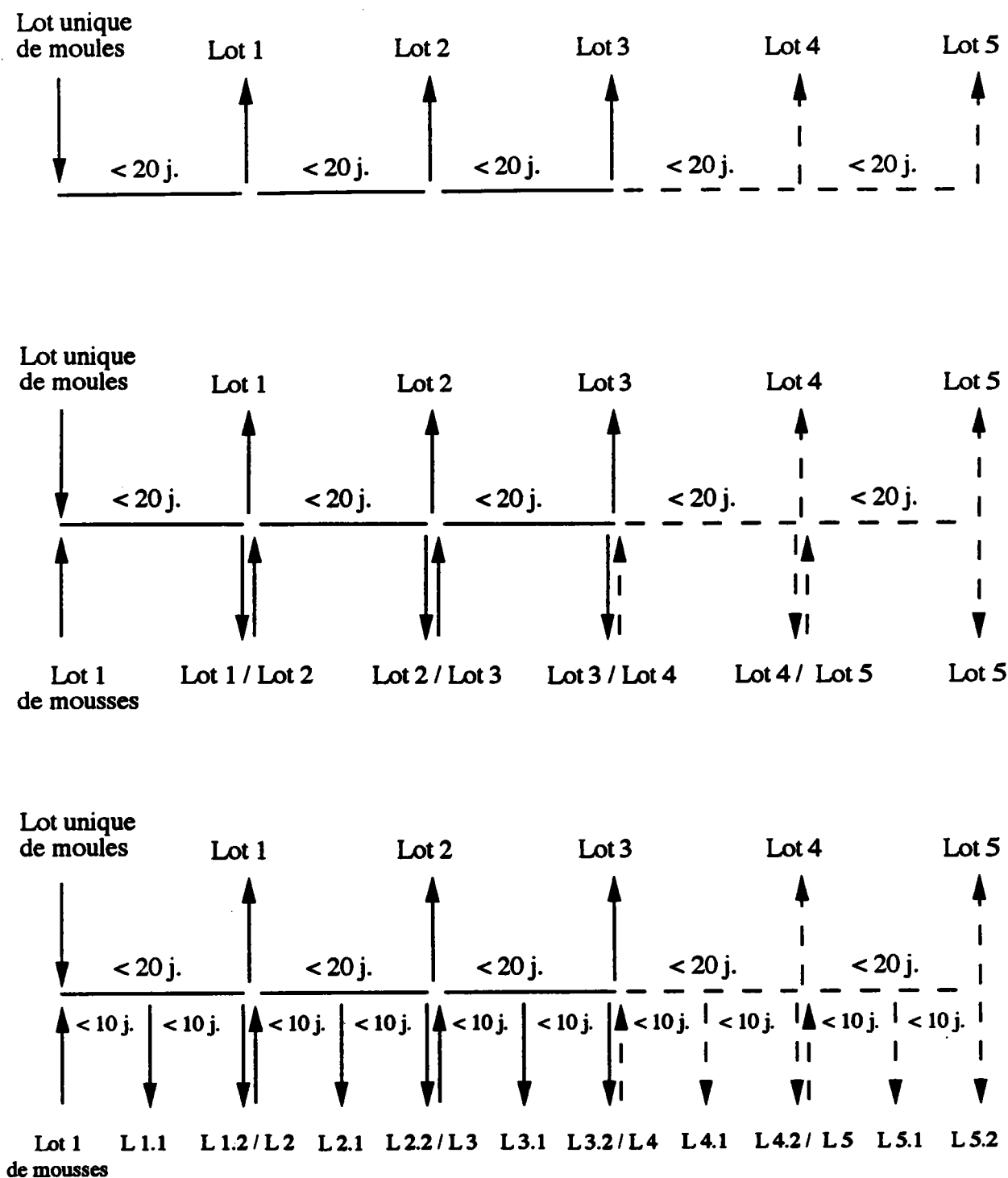


Figure 52. Proposition d'un protocole de surveillance active utilisant la moule zébrée seule ou en combinaison avec une mousse aquatique ; l'organisation du programme d'étude présente des alternatives à complexité croissante (de haut en bas) sur un même schéma de base.

Traits et flèches en pointillé : extension facultative dans le temps.

moules à partir du stock unique introduit doivent être espacés de **moins de 20 jours** (*Exp. 4*). Le nombre des prélèvements devrait être compris entre **3 et 5**.

#### **6.3.4. Protocole d'exposition simultanée de moules et de mousses**

La surveillance peut être affinée en greffant le second indicateur sur le protocole du premier. Les mousses aquatiques pourraient être utilisées de manière à réaliser un ou plusieurs cycles indépendants pendant l'intervalle de temps compris entre deux prélèvements de moules. Le protocole proposé consiste donc à **surveiller les événements de courte durée à l'aide des mousses aquatiques et de mesurer l'impact biologique à moyen terme avec les moules zébrées**. Cette stratégie exploite d'une façon optimale les caractéristiques indicatrices de chacun des deux organismes sentinelles (cf. § 3.4 et § 4.2). Une série de protocoles expérimentaux avec une complexité croissante est illustrée de façon schématique (figure 52).

Dans la pratique, un protocole malléable sur un même schéma de base permet sans difficulté d'adapter l'organisation d'une étude de surveillance à l'objectif recherché et aux possibilités ou contraintes de l'expérimentateur. Pour une durée d'étude donnée, **une augmentation de la complexité du protocole et une multiplication des prélèvements** (réduction des intervalles de temps) **signifient un gain d'efficacité** ; une simplification du programme et un allongement des durées équivalent à une perte d'efficacité.

### **6.4. Résumé des différentes étapes de la surveillance active**

#### **6.4.1. Protocole relatif aux moules**

- \* Collecte des organismes sur le site de référence permanent;
- \* Transfert en condition protégée d'un effectif de moules de 30 à 50 % (selon l'emplacement de la station) supérieur au nombre réellement requis pour les analyses;
- \* Surveillance et entretien réguliers du dispositif expérimental;
- \* Prélèvement de 3 à 5 échantillons de 24 ou 36 individus;
- \* Surveillance biologique (mortalité, capacité de fixation, poids sec et/ou autres descripteurs) et écotoxicologique simultanée sur le site d'origine et aux stations d'étude;
- \* Au terme du travail de terrain, retour des moules non utilisées sur leur site d'origine (suffisamment loin du point de collecte);
- \* Analyse des micropolluants et expression des résultats en concentration et contenu métalliques;
- \* Exploitation des résultats à l'aide de la grille de qualité (concentration); calcul éventuel des facteurs de pollution standard et des facteurs de pollution ajoutée (concentration et contenu).

#### **6.4.2. Protocole relatif aux mousses**

Le protocole de surveillance proposé pour les mousses est en fait une succession d'expériences élémentaires avec des échantillons indépendants. A part les collectes répétées sur le site d'origine, la mise en oeuvre de la méthode reste classique. L'exploitation des résultats est effectuée à l'aide de la grille proposée dans ce travail.

### **7. Législation européenne**

Le protocole de surveillance active fondé sur la capacité bioindicatrice de la moule zébrée est tout à fait applicable pour contrôler la conformité de rejets industriels aux objectifs de qualité définis dans le cadre des dispositions légales européennes relatives au mercure, au cadmium et au chrome. En effet, il est stipulé dans la directive concernant le chrome, par exemple, que "la teneur en chrome dans les sédiments et/ou dans les mollusques et crustacés d'eau douce et/ou d'eau de mer ne doit pas augmenter de manière significative avec le temps" (cf. analyse bibliographique).

La portée de la méthode des transferts de moules d'eau douce est donc considérable, car tout effluent contenant du mercure, du cadmium et du chrome qui "à une distance suffisamment proche du point de rejet" provoque une accumulation est non conforme à la réglementation européenne en vigueur. Les rejets de cadmium et de chrome dans la Wiltz (*Exps. 6 et 8*) et le rejet de chrome dans la Plaine (*Exp. 7*) sont à ce titre concernés.

**CONCLUSION GENERALE**  
**PERSPECTIVES**

## Conclusion générale

La moule zébrée *Dreissena polymorpha* fournit un bilan biologique intégré de l'état de pollution de son milieu environnant par les micropolluants métalliques. L'indication est modulée d'une part par les caractéristiques des épisodes successifs de contamination, et d'autre part par les moyens de lutte dont dispose l'animal. La première barrière protectrice est une réaction comportementale qui permet à la moule de réduire le contact avec un environnement défavorable par une diminution de l'activité de filtration. Si le métal n'est pas détecté ou bien si la pollution persiste, l'animal s'intoxique en fonction de l'intensité et de la durée de la contamination dans le milieu ambiant. En cas de forte pollution, le système de contrôle métabolique des métaux trace n'est pas suffisamment efficace pour éviter une accumulation. Toutefois, le mécanisme de recherche permanente de l'homéostasie métallique intracellulaire lui permet de retrouver progressivement les niveaux de base dans ses tissus lorsque la qualité de l'eau s'améliore.

Le cycle biologique de la dreissène se caractérise par de fortes variations de poids sec. Ces changements de condition ont une influence considérable sur les données écotoxicologiques lorsque celles-ci sont exprimées en terme de concentration. Un raisonnement sur la base des contenus de métal dans la moule permet de distinguer les variations dues à une accumulation ou à une élimination réelles des variations virtuelles liées à une évolution du poids des animaux.

Différentes stratégies de surveillance biologique sont envisageables. La surveillance passive, qui consiste à échantillonner des populations autochtones, présente un intérêt indéniable pour suivre l'évolution des niveaux de pollution d'un bassin dans l'espace et dans le temps. La limite de ce type d'étude est son application exclusive aux rivières colonisées par l'espèce. La technique de transfert permet d'étendre la méthode de l'indication biologique avec la moule zébrée à des sites dépourvus de populations naturelles. La surveillance active présente en outre les avantages de pouvoir choisir sans contrainte l'emplacement précis des stations et de pouvoir réaliser des études limitées dans le temps, seules capables d'évaluer la qualité récente d'un site.

Lors d'études de surveillance, et plus particulièrement dans le cas de moules transférées, l'évaluation de l'état physiologique des animaux est recommandée. Le comportement des dreissènes constitue une réponse biologique en soi qui renseigne sur la qualité de l'environnement qu'elles affrontent. Dans le présent travail, trois descripteurs simples, la mortalité, la capacité de fixation et le poids sec (nécessaire pour calculer le contenu métallique), ont permis de décrire la condition générale des moules sans faire appel à des moyens sophistiqués.



La surveillance biologique peut être affinée par l'utilisation simultanée d'un second indicateur : les mousses aquatiques. De plusieurs points de vue, en effet, les deux organismes sentinelles peuvent être considérés comme complémentaires. Leur différence fondamentale réside dans la capacité d'intégration d'un événement de pollution dans le temps : la réponse est rapide et relativement éphémère chez les mousses, lente et plus durable chez les moules. Ces caractéristiques spécifiques offrent la possibilité de détecter différents types de pollution. Ainsi, les mousses peuvent être avantageusement utilisées pour surveiller des épisodes de pollution de courte durée tandis que les moules sont plus appropriées pour mesurer un impact biologique à moyen terme. Le protocole d'étude proposé dans le cadre du présent travail tente d'exploiter au mieux les propriétés indicatrices propres à chacun des deux organismes.

L'interprétation des données recueillies sur le terrain avec les indicateurs est réalisée à l'aide de grilles de qualité. Le concept de base adopté pour établir les deux grilles à 4 niveaux consiste à distinguer clairement deux types de situations. La première catégorie de sites englobe les cas depuis une situation d'absence de contamination (classe 1) jusqu'à une suspicion très forte de pollution (limite supérieure de la classes 2). Les niveaux 3 et 4 regroupent les sites pour lesquels la situation de pollution est établie. La limite entre les deux dernières classes est destinée à apporter une appréciation quantitative de la pollution observée (certaine ou importante). Il faut préciser que dans le cas des moules, l'interprétation est réalisée sur la base des concentrations métalliques. En effet, c'est bien la concentration des métaux dans les tissus, et non pas le contenu métallique, qui représente la réalité toxicologique à laquelle la moule fait face. En outre, la concentration intègre l'influence double que subissent les animaux transférés en aval d'une source de pollution, à savoir l'impact des conditions générales du milieu sur leur condition physiologique (voir plus haut) et celui de la contamination spécifique de l'eau par les micropolluants métalliques.

Il faut insister sur le fait qu'une grille de qualité constitue un outil de travail destiné à hiérarchiser les données de routine recueillies sur le terrain. Bien qu'ils aient été établies avec un maximum de rigueur, les différents niveaux ne correspondent pas à des évidences biologiques. Ils peuvent donc être remis en cause à la lumière de nouveaux résultats.

## Perspectives

Des travaux supplémentaires de recherche sont nécessaires pour apporter des réponses plus complètes dans plusieurs domaines. Parmi les points les plus importants qu'il s'agit d'éclaircir en priorité, il faut citer :

- \* la relation entre l'activité de filtration des moules et l'accumulation des métaux. En effet, cette relation est complexe et non dépourvue d'une certaine contradiction. D'une part, une activité élevée favorise la pénétration de micropolluants, mais stimule également les performances métaboliques de leur élimination. D'autre part, une protection comportementale de l'animal diminue l'accumulation, mais le métabolisme énergétique nécessaire à la prise en charge des toxiques risque d'être très vite défaillant.
- \* la relation entre le taux de mortalité des moules et la qualité biologique du milieu. Si l'existence d'une corrélation entre ces deux paramètres est confirmée, elle permettrait de prévoir, dans une certaine mesure, la faisabilité biologique d'une étude de surveillance active.
- \* les possibilités dont dispose la moule à exporter une partie des métaux physiologiques, mais également non physiologiques, avec les produits sexuels.
- \* la mise au point d'indices de stress physiologique simples, mais plus spécifiques que ceux utilisés dans ce travail.
- \* l'étude de la variabilité génétique entre les populations de dreissènes de différents sites.

Un autre objectif prioritaire consiste à valider les stratégies et les modalités d'utilisation des deux organismes sentinelles. Une ou plusieurs études de surveillance (active et passive) à complexité maximale permettraient également de vérifier la pertinence des grilles de qualité proposées. Par ailleurs, il faut continuer les prospections pour compléter les grilles de qualité pour d'autres métaux, comme l'arsenic, l'étain ou le mercure.

Les travaux du Centre de Recherches Ecologiques ont permis de mettre au point diverses techniques écophysologiques et écotoxicologiques à partir d'un support commun qui est la moule zébrée. La toxicité létale, aiguë, subaiguë - et de façon plus générale le potentiel de croissance - sont étudiés par respirométrie (Mouabad, 1991; Mouabad et Mersch, 1991; Mouabad et Pihan, 1992). A un niveau cellulaire, des systèmes enzymatiques spécifiques activés par la présence de polluants rendent compte d'un stress métabolique (Giamberini, en préparation). Au niveau de l'individu, ce sont les changements biométriques (Léglize et Crochard, 1987; ce travail) et plus spécifiquement l'organisation du tissu gonadique (Tourari, 1988; Tourari *et al.*, 1988) qui reflètent l'état physiologique de l'animal. La toxicité chronique, plus précisément les propriétés de bioaccumulation de plusieurs catégories de composés ont été étudiées, notamment les métaux (Léglize et Crochard, 1987; Mersch, 1989;

ce travail) les substances organochlorées (Jeanjean, 1989) et les radionucléides (Spor, 1989).

Ce bref descriptif non exhaustif montre que la moule zébrée fournit à elle seule toute une batterie de tests *in vitro* comme *in situ*. Ces différentes méthodes offrent la possibilité de réaliser une surveillance intégrée qui englobe plusieurs formes de toxicité. La moule d'eau douce peut donc être considérée comme un indicateur biologique multiface. L'intérêt comparé et les modalités d'utilisation de ces différentes techniques sur le terrain pourraient être analysés lors d'une même étude de surveillance.

Enfin, on peut envisager une extension de la méthode de l'indication biologique en milieu d'eau douce à d'autres groupes de composés comme les dioxines ou les AOx (terme désignant l'ensemble des organohalogénés) ou même à d'autres expressions de la toxicité, comme la génotoxicité.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Abaychi J.K., Mustafa Y.Z., 1988. The asiatic clam, *Corbicula fluminea* : an indicator of trace metal pollution in the Shatt al-Arab River, Iraq. *Environ. Pollut.*, 54:109-122.
- AFNOR, Association Française de Normalisation, 1990. Recueil de normes françaises; Eaux méthodes d'essais. Tour Europe, Cedex 7, 92049 Paris-La-Défense, 736 p.
- Agence Suédoise pour la Protection de l'Environnement (Swedish Environmental Protection Agency), 1991. Quality criteria for lakes and watercourses; A system for classification of water chemistry and sediment and organism metal concentrations. S-17185 Solna, 32 p.
- ARGE Elbe, Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe der Länder Hamburg, Niedersachsen und Schleswig-Holstein, 1991. Biologisches Effektmonitoring mit der Dreikantmuschel *Dreissena polymorpha* in der Meßstation Schnackenburg. Focksweg 32a, D-2103 Hamburg 95, 104 p.
- Bayne B.L., Widdows J., 1978. The physiological ecology of two populations of *Mytilus edulis* L. *Oecologia*, 37:137-162.
- Bayne B.L., Clarke K.R., Moore M.N., 1981. Some practical considerations in the measurement of pollution effects on bivalve molluscs, and some possible ecological consequences. *Aquat. Toxicol.*, 1:159-174.
- Bayne B.L., 1989. Measuring the biological effects of pollution : the mussel watch approach. *Water Sci. Technol.*, 21:1089-1100.
- Bender F.K., 1986. Mineral resource availability and global change. *Episodes*, 9:150-154.
- Benyahia M., Crochard C., Pihan J.C., 1988. Toxicité, bioaccumulation et relargage du plomb chez *Dreissena polymorpha*; Effet de l'EDTA et des phosphates. *Haliotis*, 18:239-249.
- Benyahia M., 1991. Etude de la contamination du bivalve d'eau douce *Dreissena polymorpha* par le plomb; Bioaccumulation, distribution tissulaire et élimination du métal; Incidence de paramètres biotiques et abiotiques. Th. Doct. Ecotoxicol., Univ. Metz, 220 p.
- Bias R., Karbe L., 1985. Bioaccumulation and partitioning of cadmium within the freshwater mussel *Dreissena polymorpha* (Pallas). *Int. Rev. gesamten Hydrobiol.*, 70:113-125.
- Bij de Vaate A., 1991. Distribution and aspects of population dynamics of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771), in the lake IJsselmeer area (The Netherlands). *Oecologia*, 86:40-50.
- Borcherding J., 1991. The annual reproductive cycle of the freshwater mussel *Dreissena polymorpha* Pallas in lakes. *Oecologia*, 87:208-218.
- Borcherding J., 1992. Morphometric changes in relation to the annual reproductive cycle in *Dreissena polymorpha* - a prerequisite for biomonitoring studies with zebra mussels. In : Neumann D., Jenner H.A. (eds) The zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Limnologie Aktuell*, 4, Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart, pp. 87-99.
- Boutron C., Patterson C.C., 1987. Relative levels of natural and anthropogenic lead in recent antarctic snow. *J. Geophys. Res.*, 92:8454-8464.
- Breuer K., Melzer A., 1990a. Heavy metal accumulation (lead and cadmium) and ion exchange in three species of *Sphagnaceae*. I. Main principles of heavy metal accumulation in *Sphagnaceae*. *Oecologia*, 82:461-467.
- Breuer K., Melzer A., 1990b. Heavy metal accumulation (lead and cadmium) and ion

- exchange in three species of Sphagnaceae. II. Chemical equilibrium of ion exchange and the selectivity of single ions. *Oecologia*, 82:468-473.
- Broman D., Lindqvist L., Lundbergh I., 1991. Cadmium and zinc in *Mytilus edulis* L. from the Bothnian Sea and the Northern Baltic proper. *Environ. Pollut.*, 74:227-244.
- Burton M.A.S., Peterson P.J., 1979. Metal accumulation by aquatic bryophytes from polluted mine stream. *Environ. Pollut.*, 19:39-46.
- Busch D., 1991. Entwicklung und Erprobung von Methoden für einen Einsatz der Süßwassermuschel *Dreissena polymorpha* (PALLAS) für ein Biomonitoring von Schwermetallen im Ökosystem Weser. Inaug.-Diss., Univ. Bremen, 218 p.
- Busch D., Lucker T., Schirmer M., Wosniok W., 1992. The application of the bivalve *Dreissena polymorpha* for biomonitoring routine of heavy metals in rivers. In : Neumann D., Jenner H.A. (eds) The zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Limnologie Aktuell*, 4, Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart, pp. 197-211.
- Cain D.J., Luoma S.N., 1990. Influence of seasonal growth, age, and environmental exposure on Cu and Ag in a bivalve indicator, *Macoma balthica*, in San Francisco Bay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 60:45-55.
- Campbell J., Evans R.D., 1991. Cadmium concentrations in the freshwater mussel (*Elliptio complanata*) and their relationship to water chemistry. *Arch Environ. Contam. Toxicol.*, 20:125-131.
- Castro O., Ferreira A.M., Vale C., 1990. Organochlorine compounds in the Portuguese oyster : importance of seasonal variations. *Mar. Pollut. Bull.*, 21:545-547.
- Chan H.M., 1988, Accumulation and tolerance to cadmium, copper, lead and zinc by the green mussel *Perna viridis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 48:295-303.
- Chan H.M., 1989. Temporal and spatial fluctuations in trace metal concentrations in transplanted mussels in Hong Kong. *Mar. Pollut. Bull.*, 20:82-86.
- Chou C.L., Uthe J.F., 1991. Effect of starvation on trace metal levels in blue mussels (*Mytilus edulis* ). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 46:473-478.
- CIPR, Commission Internationale pour la Protection du Rhin, 1989. Enrichissement de substances nuisibles dans *Dreissena polymorpha*. PF 309, D-5400 Koblenz, 21p.
- Clymo R.S., 1963. Ion exchange in *Sphagnum* and its relation to bog ecology. *Ann. Bot.*, 27:309-324.
- Coleman N., Mann T.F., Mobley M., Hickman N., 1986. *Mytilus edulis planulatus* : an "integrator" of cadmium pollution ? *Mar. Biol.*, 92:1-5.
- Cossa D., 1989. A review of the use of *Mytilus spp.* as quantitative indicators of cadmium and mercury contamination in coastal waters. *Oceanologica Acta*, 12:417-432.
- Dauce F., Hénard F., 1984. Etude de *Dreissena polymorpha*, bivalve d'eau douce, en vue de son utilisation comme bioindicateur : aspects biométriques et contamination métallique. Mém. D.A.A. Sci. Agron., INPL Nancy, 147 p.
- Davenport J., Manley A., 1978. The detection of heightened sea-water copper concentrations by *Mytilus edulis*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 58:843-850.
- Doherty F.G., 1990. The asiatic clam, *Corbicula spp.* , as a biological monitor in freshwater environments. *Environ. Monit. Assess.*, 15:143-181.
- Ebersveiller N., 1988. Etude quantitative du taux de filtration de la moule d'eau douce

- Dreissena polymorpha*; Influence des métaux zinc et cuivre. Mém. D.E.A. Ecotoxicol., Univ. Metz, 54 p.
- Elliott N.G., Swain R., Ritz D.A., 1985. The influence of cyclic exposure on the accumulation of heavy metals by *Mytilus edulis planulatus* (Lamarck). *Mar. Environ. Res.*, 15:17-30.
- Elliott N.G., Swain R., Ritz D.A., 1986. Metal interaction during accumulation by the mussel *Mytilus edulis planulatus*. *Mar. Biol.*, 93:395-399.
- Empain A., 1976. Estimation de la pollution par métaux lourds dans la Somme par l'analyse des bryophytes aquatiques. *Bull. fr. Piscic.*, 260:142-168.
- Fischer H., 1983. Shell weight as an independent variable in relation to cadmium content of molluscs. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 12:59-75.
- Fischer H., 1989. Cadmium in seawater recorded by mussels : regional decline established. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 55:159-169.
- Foe C., Knight A., 1987. Assessment of the biological impact of point source discharges employing asiatic clams. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 16:39-51.
- Förstner U., Wittmann G.T.W., 1981. Metal pollution in the aquatic environment. Springer Verlag, Berlin, 2nd ed., 486 p.
- Fourest E., Roux J.C., 1992. Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-products : mechanisms and influence of pH. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 37:399-403.
- Frost U., 1990. Transplantationsversuche mit Wassermoosen zur Indikation der Gewässergüte am Niederrhein. *Cryptogam. Bryol. Lichénol.*, 11:339-352.
- George S.G., Viarengo A., 1985. A model for heavy metal homeostasis and detoxication in mussels. In : Vernberg F.J., Thurberg F.P., Calabrese A., Vernberg W.B. (eds.) Marine pollution and physiology. Recent advances, Univ. of South Carolina Press, Columbia, pp. 125-143.
- Giamberini L., 1987. Bioaccumulation des microparticules métalliques par la moule d'eau douce *Dreissena polymorpha*. Mém. D.E.A. Ecotoxicol., Univ. Metz, 53 p.
- Giamberini L., en préparation. Etude des mécanismes de transport et de détoxication des métaux lourds chez *Dreissena polymorpha*; Rôle des hémocytes et des organes du système excréteur. Th. Doct. Ecotoxicol., Univ. Metz.
- Gillet A., Micha J.C., 1987. Biologie et radiocontamination de 3 espèces animales (*Dreissena polymorpha*, *Rutilus rutilus* (L.) et *Perca fluviatilis* (L.)) représentatives de différents maillons trophiques de l'écosystème Meuse. *Ann. Assoc. Belg. Radioprot.*, 12:139-155.
- Giraud A.S., Webster L.K., Fabris J.G., Collett L.C., Yeomans N.D., 1986. Absence of histopathological response to cadmium in gill and digestive diverticula of the mussel, *Mytilus edulis*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 36:146-149.
- Glasby G.P., 1988. Entropy, pollution and environmental degradation. *Ambio*, 17:330-335.
- Goldberg E.D., Bowen V.T., Farrington J.W., Harvey G., Martin J.H., Parker P.L., Risebrough R.W., Robertson W., Schneider E., Gamble E., 1978. The mussel watch. *Environ. Conserv.*, 5:101-125.
- Gonçalves E.P.R., Boaventura R.A.R., Mouvet C., 1992. Sediments and aquatic mosses as

- pollution indicators for heavy metals in the AVer river basin (Portugal). *Sci. Total Environ.*, 114:7-24.
- Hart B.T., Davies S.H.R., 1981. Trace metal speciation in the freshwater and estuarine regions of the Yarra River, Victoria. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 12:353-374.
- Harvey M., Vincent B., 1989. Spatial and temporal variations of the reproductive cycle and energy allocation of the bivalve *Macoma balthica* (L.) on a tidal flat. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 129:199-217.
- Hayton A., Hollinger D., Tashiro C., Reiner E., 1990. Biological monitoring of chlorinated dibenzo-dioxins in the Rainy River using introduced mussels (*Elliptio complanata*). *Chemosphere*, 20:1687-1693.
- Hebert P.D.N., Muncaster B.W., Mackie G.L., 1989. Ecological and genetic studies on *Dreissena polymorpha* (Pallas) : a new mollusc in the Great Lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 46:1587-1591.
- Hemelraad J., Holwerda D. A., Zandee D.I., 1986. Cadmium kinetics in freshwater clams. I. The pattern of cadmium accumulation in *Anodonta cygnea*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 15:1-7.
- Hemelraad J., Herwig H.J., 1988. Cadmium kinetics in freshwater clams. IV. Histochemical localization of cadmium in *Anodonta cygnea* and *Anodonta anatina*, exposed to cadmium chloride. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 17:333-343.
- Hemelraad J., Holwerda D.A., Herwig H.J., Zandee D.I., 1990. Effects of cadmium in freshwater clams. III. Interaction with energy metabolism in *Anodonta cygnea*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 19:699-703.
- Herwig H.J., Brands F., Kruitwagen E., Zandee D.I., 1989. Bioaccumulation and histochemical localization of cadmium in *Dreissena polymorpha* exposed to cadmium chloride. *Aquat. Toxicol.*, 15:269-286.
- Holwerda D.A., Hemelraad J., Veenhof P.R., Zandee D.I., 1988. Cadmium accumulation and depuration in *Anodonta anatina* exposed to cadmium chloride or cadmium-EDTA complex. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 40:373-380.
- Holwerda D.A., 1991. Cadmium kinetics in freshwater clams. V. Cadmium-copper interaction in metal accumulation by *Anodonta cygnea* and characterization of the metal-binding protein. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 21:432-437.
- Howell R. , Grant A.M., Maccoy N.E.J., 1984. Effect of treatment with reserpine on the change in filtration rate of *Mytilus edulis* subjected to dissolved copper. *Mar. Pollut. Bull.*, 15:436-439.
- Hummel H., Bogaards R.H., Nieuwenhuize J., de Wolf L., van Liere J.M., 1990. Spatial and seasonal differences in the PCB contents of the mussel *Mytilus edulis*. *Sci. Total Environ.*, 92:155-163.
- Hunter R.D., Bailey J.F., 1992. *Dreissena polymorpha* (zebra mussel) : colonization of soft substrata and some effects on unionid bivalves. *Nautilus*, 160:60-67.
- Institut Belge de Normalisation, 1984. Qualité biologique des cours d'eau; Détermination de l'indice biotique se basant sur les macro-invertébrés aquatiques (NBN T 92-402). Avenue de la Brabançonne 29, B-1040 Bruxelles.
- Jeanjean A., 1989. Evaluation de la capacité bioindicatrice de *Dreissena polymorpha* vis-à-



- vis des PCB et des pesticides organochlorés. Mém. D.E.A. Ecotoxicol., Univ. Metz, 64 p.
- Jenner H.A., Hemelraad J., Marquenie J.M., Noppert F., 1991. Cadmium kinetics in freshwater clams (unionidae) under field and laboratory conditions. *Sci. Total Environ.*, 108:205-214.
- Jenner H.A., van Aerssen G.H.F.M., Terwoert J., 1992. Valve movement behaviour of the mussel *Dreissena polymorpha* and the clam *Unio pictorum* for use in an early warning system. In : Neumann D., Jenner H.A. (eds) The zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Limnologie Aktuell*, 4, Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart, pp. 115-126.
- Kaiser M., Irmer U., Weiler K., 1989. Monitoring of water quality : seasonal variations of heavy metals in sediment, suspended particulate matter and tubificids of the Elbe River. *Environ. Technol. Lett.*, 10:845-854.
- Kaitala S., 1988. Multiple toxicity and accumulation of heavy metals in two bivalve mollusc species. *Water Sci. Technol.*, 20:23-32.
- Karbe L., Antonacopoulos N., Schnier C., 1975. The influence of water quality on the accumulation of heavy metals in aquatic organisms. *Verh. int. Ver. Limnol.*, 19:2094-2101.
- Kelly M.G., Girton C., Whitton B.A., 1987. Use of moss-bags for monitoring heavy metals in rivers. *Water Res.*, 21:1429-1435.
- Kinzelbach R., 1992. The main feature of the phylogeny and dispersal of the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. In : Neumann D., Jenner H.A. (eds.) The zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Limnologie Aktuell*, 4, Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart, pp. 5-17.
- Klein B., Meier P.F., Aubort J.D., 1991. A comparison of aquatic mosses, sediments and water as indicators of metallic pollution : the case of the Venoge River, Switzerland. *J. Trace Microprobe Tech.*, 9:107-125.
- Knight A.H., Crooke W.M., Inkson R.H.E., 1961. Cation exchange capacities of tissues of higher and lower plants and their related uronic acid contents. *Nature*, 192:142-143.
- Koenig B.G., Metcalfe C.D., 1990. The distribution of PCB congeners in bivalves, *Elliptio complanata*, introduced in the Ontonabee River Peterborough, Ontario. *Chemosphere*, 21:1441-1449.
- Kraak M.H.S., Scholten M.C.T., Peeters W.H.M., de Kock W.C., 1991. Biomonitoring of heavy metals in the western European rivers Rhine and Meuse using the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. *Environ. Pollut.*, 74:101-114.
- Kraak M.H.S., Lavy D., Peeters W.H.M., Davids C., 1992. Chronic ecotoxicity of copper and cadmium to the zebra mussels *Dreissena polymorpha*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 23:363-369.
- Léglize L., Ollivier M., 1981. Mise au point bibliographique sur la biologie et l'écologie de *Dreissena polymorpha* Pallas. Rapport de contrat Lab. Ecol., Univ. Metz / EDF, 56 p.
- Léglize L., Crochard C., 1987. Vérification expérimentale du choix de *Dreissena polymorpha* Pallas (lamellibranche) comme bioindicateur de contamination métallique. *Nat. can. (Rev. Ecol. Syst.)*, 114:315-323.
- Leland H.V., Scudder B.C., 1990. Trace elements in *Corbicula fluminea* from the San

- Joaquin River, California. *Sci. Total Environ.*, 97/98:641-672.
- Lithner G., 1989. Some fundamental relationships between metal toxicity in freshwater, physico-chemical properties and background levels. *Sci. Total Environ.*, 87/88:365-380.
- Lobel P.B., Wright D.A., 1982. Relationship between body zinc concentration and allometric growth measurements in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, 66:145-150.
- Lobel P.B., Belkhole S.P., Jackson S.E., Longerich H.P., 1989. A universal method for quantifying and comparing the residual variability of element concentrations in biological tissues using 25 elements in the mussel *Mytilus edulis* as a model. *Mar. Biol.*, 102:513-518.
- Lobel P.B., Bajdik C.D., Belkhole S.P., Jackson S.E., Longerich H.P., 1991. Improved protocol for collecting mussel watch specimens taking into account sex, size, condition, shell shape, and chronological age. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 21:409-414.
- Maarouf A., 1988. Etude expérimentale de la bioaccumulation et du relargage du zinc chez *Dreissena polymorpha* (bivalve d'eau douce) : cinétique et mécanisme de contamination et de décontamination. Th. Doct. Ecotoxicol., Univ. Metz, 214 p.
- MacIsaac H.J., Sprules W.G., Johannsson O.E., Leach J.H., 1992. Filtering impacts of larval and sessile zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) in western Lake Erie. *Oecologia*, 92:30-39.
- Mackie G.L., 1991. Biology of the exotic zebra mussel, *Dreissena polymorpha*, in relation to native bivalves and its potential impact in Lake St. Clair. *Hydrobiologia*, 219:251-268.
- Margalef R., 1968. Perspectives in ecological theory. Univ. of Chicago Press, Chicago, 111 p.
- Marshall A.T., Talbot V., 1979. Accumulation of cadmium and lead in the gills of *Mytilus edulis* : X-ray microanalysis and chemical analysis. *Chem. Biol. Interact.*, 27:111-123.
- Martincic D., Kwokal Z., Peharec Z., Margus D., Branica M., 1992. Distribution of Zn, Pb, Cd and Cu between seawater and transplanted mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Sci. Total Environ.*, 119:211-230.
- Mersch J., 1989. Utilisation de la moule d'eau douce *Dreissena polymorpha* comme bioindicateur de pollution métallique; Etude *in situ*. Mém. D.E.A. Ecotoxicol., Univ. Metz, 56 p.
- Mersch J., 1992. Evaluation de la qualité des eaux rejetées par les installations sidérurgiques du Luxembourg; Qualité physico-chimique et biologique, micropolluants métalliques. Rapport d'étude à l'Administration Luxembourgeoise de l'Environnement, 22 p.
- Mersch J., 1993a. Evaluation des rejets métalliques des principales installations sidérurgiques et métallurgiques du Luxembourg; Application de la technique des indicateurs biologiques transférés. Rapport d'étude à l'Administration Luxembourgeoise de l'Environnement, 17 p.
- Mersch J., 1993b. Etude de la contamination métallique de l'Orne par la technique des indicateurs biologiques transférés. Rapport de contrat Lab. Ecotoxicol., Univ. Metz / Agence de l'Eau Rhin-Meuse, 22 p.
- Mersch J., Dubost N., Pihan J.C., 1993. Comparaison de plusieurs supports analytiques inertes et biologiques pour apprécier la contamination métallique de la retenue du site électronucléaire de Cattenom, France. *Ann. Limnol.*, 29 (3-4):325-337.

- Moore J.W., Ramamoorthy S., 1984. Heavy metals in natural waters; Applied monitoring and impact assessment. Springer-Verlag, New-York, 261 p.
- Mouabad A., 1991. Toxicité comportementale et physiologique (filtration, respiration) des métaux lourds (Cu, Zn, Hg, Cd et Pb) chez la moule d'eau douce *Dreissena polymorpha* Pallas. Th. Doct. Ecotoxicol., Univ. Metz, 255 p.
- Mouabad A., Mersch J., 1991. Bioaccumulation et toxicité physiologique du Cu et du Cd chez la moule d'eau douce *Dreissena polymorpha*; implications sur l'utilisation en biomonitoring. In : Vernet J.P. (ed.) Troisième Conférence Internationale des Limnologues d'Expression Française, Morges (CH), 1991, pp. 290-293.
- Mouabad A., Pihan J.C., 1992. The pumping behaviour response of *Dreissena polymorpha* to pollutants; A method for toxicity screening. In : Neumann D., Jenner H.A. (eds) The zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Limnologie Aktuell*, 4, Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart, pp. 147-154.
- Mouvet C., 1984. Accumulation of chromium and copper by the aquatic moss *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. transplanted in a metal-contaminated river. *Environ. Technol. Lett.*, 5:541-548.
- Mouvet C., 1985. The use of aquatic bryophytes to monitor heavy metals pollution of freshwaters as illustrated by case studies. *Verh. int. Verein. Limnol.*, 22:2420-2425.
- Mouvet C., 1986. Métaux lourds et mousses aquatiques; Synthèse méthodologique. Rapport de contrat Lab. Ecol., Univ. Metz / Agence de l'Eau Rhin-Meuse / Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse, 104 p.
- Mouvet C., 1987. Accumulation et relargage de plomb, zinc, cadmium, chrome et cuivre par des mousses aquatiques en milieu naturel et au laboratoire. Rapport de contrat Lab. Ecol., Univ. Metz / Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse, 122 p.
- Mouvet C., André B., Lascombe C., 1987. Aquatic mosses for the monitoring of heavy metals in running freshwaters; Comparison with sediments. In : Lindberg S.E., Hutchinson T.C. (eds.) Proc. Int. Conf. Heavy Metals in the Environment, New Orleans, 1987, vol. 2, pp. 424-429.
- Mouvet C., Morhain E., Sutter C., Couturieux N., 1993. Aquatic mosses for the detection and follow-up of accidental discharges in surface waters. *Water Air Soil Pollut.*, 66:333-348.
- Neary B.P., Leach J.H., 1992. Mapping the potential spread of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in Ontario. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49:406-415.
- Nourisson M., Pihan J.C., Crochard C., Léglize L., 1985. Essai d'utilisation d'un mollusque bivalve (*Dreissena polymorpha*) pour estimer le degré de pollution d'une rivière; Modalités et dynamique d'intoxication et de désintoxication *in situ*, 87 p. In : Répartition et passage de polluants métalliques dans les divers compartiments inertes et vivants d'un cours d'eau. Rapport de contrat Lab. Ecol., Univ. Metz / Ministère de l'Environnement (Convention N° 81370), 511 p.
- Nriagu J.O., 1988. A silent epidemic of environmental metal poisoning? *Environ. Pollut.*, 50:139-161.
- Nriagu J.O., 1990. Global metal pollution poisoning the biosphere? *Environ.*, 32:7-11 & 28-33.

- Odebrecht W., 1957. Ausbreitung der Wander- oder Zebramuschel in Europa. *Urania*, 20:24-27.
- Pardo R., Barrado E., Arranz A., Perez J. M., Vega M., 1989. Levels and speciation of heavy metals in waters of Valladolid. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 37:117-123.
- Pedroli J.C., 1978. Note préliminaire sur la croissance de la moule zébrée *Dreissena polymorpha* PALLAS dans le Lac de Neuchâtel. *Bull. Soc. Neuchâtel Sci. Nat.*, 101:45-52.
- Phillips D.J.H., 1977. The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environments : a review. *Environ. Pollut.*, 13:281-317.
- Phillips D.J.H., Rainbow P.S., 1988. Barnacles and mussels as biomonitors of trace elements : a comparative study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 49:83-93.
- Pickering D.C. & Puia I.L., 1969. Mechanism for the uptake of zinc by *Fontinalis antipyretica*. *Physiol. Plant*, 22:653-661.
- Poulsen E., Riisgård H.U., Møhlenberg F., 1982. Accumulation of cadmium and bioenergetics in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, 68:25-29.
- Rai D., Eary L.E., Zachara J.M., 1989. Environmental chemistry of chromium. *Sci. Total Environ.*, 86:15-23.
- Rainbow P.S., Phillips D.J.H., Depledge M.H., 1990. The significance of trace metal concentrations in marine invertebrates; A need for laboratory investigation of accumulation strategies (viewpoint). *Mar. Pollut. Bull.*, 21:321-324.
- Ramade F., 1992. Précis d'écotoxicologie. Ed. Masson, Paris, 300 p.
- Reeders H.H., Bij de Vaate A., Slim F.J., 1989. The filtration rate of *Dreissena polymorpha* (Bivalvia) in three Dutch lakes with reference to biological water quality management. *Freshw. Biol.*, 22:133-141.
- Reeders H.H., Bij de Vaate A., 1992. Bioprocessing of polluted suspended matter from the water column by the zebra mussel (*Dreissena polymorpha* Pallas). *Hydrobiologia*, 239:53-63.
- Roper D.S., Pridmore R.D., Cummings V.J., Hewitt J.E., 1991. Pollution related differences in the condition cycles of pacific oysters *Crassostrea gigas* from Manukau Harbour, New Zealand. *Mar. Environ. Res.*, 31:197-214.
- Saleh F.Y., Parkerton T.F., Lewis R.V., Huang J.H., Dickson K.L., 1989. Kinetics of chromium transformation in the environment. *Sci. Total Environ.*, 86:25-41.
- Siegel S.M., Galun M., Siegel B.Z., 1990. Filamentous fungi as metal biosorbents : a review. *Water Air Soil Pollut.*, 53:335-344.
- Simkiss K., Taylor M., Mason A.Z., 1982. Metal Detoxification and bioaccumulation in molluscs. *Mar. Biol. Lett.*, 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. *Mar. Pollut. Bull.*, 10:74-78.
- Smit H., Bij de Vaate A. & Fioule A., 1992. Shell growth of zebra mussel (*Dreissena polymorpha* (Pallas)) in relation to selected physico-chemical parameters in the Lower Rhine and some associated lakes. *Arch. Hydrobiol.*, 124:257-280.
- Spor H., 1989. Etude des modalités de la contamination du mollusque *Dreissena polymorpha* par le cobalt 60. Mém. D.E.A. Ecotoxicol., Univ. Metz, 48 p.

- Sprung M., 1987. Ecological requirements of developing *Dreissena polymorpha* eggs. *Arch. Hydrobiol./ Suppl.* 79, 1:69-86.
- Sprung M., Rose U., 1988. Influence of food size and food quantity on the feeding of the mussel *Dreissena polymorpha*. *Oecologia*, 77:526-532.
- Sprung M., 1989. Field and laboratory observations of *Dreissena polymorpha* larvae: abundance, growth, mortality and food demand. *Arch. Hydrobiol.*, 115:537-561.
- Sprung M., Borchering J., 1991. Physiological and morphometric changes in *Dreissena polymorpha* (Mollusca; Bivalvia) during a starvation period. *Malacologia*, 33:179-191.
- Sprung M., 1992. Observations on shell growth and mortality of *Dreissena polymorpha* in lakes. In : Neumann D., Jenner H.A. (eds) The zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Limnologie Aktuell*, 4, Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart, pp 19-28.
- Stanczykowska A., 1977. Ecology of *Dreissena polymorpha* (Pall.) (Bivalvia) in lakes. *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 24:461-530.
- Talbot V., 1985. Relationship between cadmium concentrations in seawater and those in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, 85:51-54.
- Talbot V., 1986. Seasonal variation of copper and zinc concentrations in the oyster *Saccostrea cucullata* from the Dampier Archipelago, Western Australia: implications for pollution monitoring. *Sci. Total Environ.*, 57:217-230.
- Ten Winkel E.H., Davids C., 1982. Food selection by *Dreissena polymorpha* Pallas. *Freshw. Biol.*, 12:553-558.
- Testard P., 1991. Eléments d'écologie du lamellibranche invasif *Dreissena polymorpha* Pallas; Etude de la dispersion des larves en région parisienne et de leur fixation; Réponses à la désoxygénation de l'eau. Th. Etat, Univ. Paris 6, 358 p.
- Théobald O., 1988. Etude *in situ* de la contamination métallique d'une chaîne trophique dulçaquicole: cas du zinc et du plomb. Mém. D.E.A. Ecotoxicol., Univ. Metz, 61 p.
- Tourari A., 1988. 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. Th. doct. Ecotoxicol., Univ. Metz, 230 p.
- Tourari A.L., Crochard C., Pihan J.C., 1988. Action de la température sur le cycle de *Dreissena polymorpha* (Pallas); Etude *in situ* et au laboratoire. *Haliotis*, 18:85-98.
- Vazquez F., Aguilera G., Delgado D., Marquez A., 1990. Trace and heavy metals in the oyster *Crassostrea virginica*, San Andres Lagoon, Tamaulipas, Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 45:907-914.
- Veldhuizen-Tsoerkan M.B., Holwerda D.A., de Bont A.M.T. Smaal A.C., Zandee D.I., 1991. A field study on stress indices in the sea mussel, *Mytilus edulis*: application of the "stress approach" in biomonitoring. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 21:497-504.
- Vray F., Baudin J.P., Svadlenková M., 1992. Effects of some factors on uptake and release of <sup>106</sup>Ru by a freshwater moss, *Platyhypnidium riparioides*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 23:190-197.
- Walz N., 1978. Die Produktion der *Dreissena*-Population und deren Bedeutung im Stoffkreislauf des Bodensees. *Arch. Hydrobiol.*, 82:482-499.

- Wehr J.D., Whitton B.A., 1983. Accumulation of heavy metals by aquatic mosses. 2: *Rhynchostegium riparioides*. *Hydrobiologia*, 100:261-284.
- Wehr J.D., Empain A., Mouvet C., Say P.J., Whitton B.A., 1983. Methods for processing aquatic mosses used as monitors of heavy metals. *Water Res.*, 17:985-992.
- Wehr J.D., Kelly M.G., Whitton B.A., 1987. Factors affecting accumulation and loss of zinc by the aquatic moss *Rhynchostegium riparioides*. *Aquat. Bot.*, 29:261-274.
- White S.L., Rainbow P.S., 1985. On the metabolic requirements for copper and zinc in molluscs and crustaceans. *Mar. Environ. Res.* 16:215-229.
- Widdows J., 1978. Physiological indices of stress in *Mytilus edulis*. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 58:125-142.
- Wieder R.K., 1990. Metal cation bindings to *Sphagnum* peat and sawdust: relation to wetland treatment of metal-polluted waters. *Water Air Soil Pollut.*, 53:391-400.
- Wiktor J., 1963. Research on the ecology of *Dreissena polymorpha* Pall. in the Szczecin Lagoon (Zalew Szczecinski). *Ekol. Pol. A*, 11:275-280.
- Xue H.B., Stumm W., Sigg L., 1988. The binding of heavy metals to algal surfaces. *Water Res.*, 22:917-926.
- Yevtushenko N.Y., Bren N.V., Sytnik Y.M., 1990. Heavy metal contents in invertebrates of the Danube River. *Water Sci. Technol.*, 22:119-125.
- Zatta P., Gobbo S., Rocco P., Perazzolo M., Favarato, 1992. Evaluation of heavy metal pollution in the Venetian lagoon by using *Mytilus galloprovincialis* as biological indicator. *Sci Total Environ.*, 119:29-41.
- Zuolian C., Jensen A., 1989. Accumulation of organic and inorganic tin in blue mussel, *Mytilus edulis*, under natural conditions. *Mar. Pollut. Bull.*, 20:281-286.

## **ANNEXES**

## Annexe 1

### Résumés des publications présentées dans le texte

- Mersch J., Jeanjean A., Spor H., Pihan J.C., 1992. The freshwater mussel *Dreissena polymorpha* as a bioindicator for trace metals, organochlorines and radionuclides. In : Neumann D., Jenner H.A. (eds) The zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Limnologie Aktuell*, 4, Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart, pp. 227-244.
- Mersch J., Morhain E., Mouvet E., 1993. Laboratory accumulation and depuration of copper and cadmium in the freshwater mussel *Dreissena polymorpha* and the aquatic moss *Rhynchostegium riparioides*. *Chemosphere*, 27 (8):1475-1485.
- Mersch J., Pihan J.C., 1993. Simultaneous assessment of environmental impact on condition and trace metal availability in zebra mussels *Dreissena polymorpha* transplanted into the Wiltz River, Luxembourg. Comparison with the aquatic moss *Fontinalis antipyretica*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 25 (3):353-364.
- Mersch J., Johansson L., 1993. Transplanted aquatic mosses and freshwater mussels to investigate the trace metal contamination in the rivers Meurthe and Plaine, France. *Environ. Technol.*, 14:1027-1036.
- Mersch J., Dubost N., Pihan J.C., 1993. Comparaison de plusieurs supports analytiques inertes et biologiques pour apprécier la contamination métallique de la retenue du site électronucléaire de Cattenom, France. *Annl. Limnol.*, 29 (3-4):325-337.



# The Freshwater Mussel *Dreissena polymorpha* as a Bioindicator for Trace Metals, Organochlorines and Radionuclides

JACQUES MERSCH, ALAIN JEANJEAN, HERVÉ SPOR & JEAN-CLAUDE PIHAN

Université de Metz, Laboratoire d'Ecologie, P.B. 4116, F-57000 Metz, France

## Key words

Accumulation, radionuclides, organochlorines, trace metals

## Abstract

Native bivalve molluscs *Dreissena polymorpha* were collected at 20 sites along the Mosel River. The soft parts were analyzed for trace metals and organochlorine contaminants. A second investigation was carried out on mussels from the Mosel River and the water reservoir near the nuclear power plant at Cattenom. Besides trace metals and organochlorines, natural and artificial radionuclides accumulated by the mussels were measured twice. Water samples were analyzed with regard to trace metals only. The mussels concentrate the bio-available fraction of trace pollutants within their tissues at levels much above the ambient environment.

The trace metal loads in the mussels provide a clearer and more differentiated pattern of the contamination state of a water body than single water samples; the latter do not necessarily reflect the mean pollution situation of their origin sites. The high levels of some of the trace metals (e.g. Cu, Pb), organochlorine residues (e.g. lindane, PCBs) and radionuclides (e.g.  $^{58}\text{Co}$ ) found in the mussels shows the scope of accumulation capacity. The concentration levels determined amongst the various sampling sites makes possible an accurate assessment of the real pollution situation.

The zebra mussel *Dreissena polymorpha* may be looked upon as a valid sentinel organism suitable for biomonitoring purposes in freshwater ecosystems, similar to the blue mussel *Mytilus edulis* in marine and estuarine environments.

## Kurzfassung

Freilebende Dreikantmuscheln *Dreissena polymorpha* (Mollusca, Lamellibranchiata) wurden an 20 Probenahmestellen entlang der Mosel gesammelt. Die Weichkörper der Muscheln wurden auf Metalle und Chlorkohlenwasserstoffe (CKW) hin untersucht. Eine zweite Studie befaßte sich mit Muscheln aus der Mosel und dem Kühlsee nahe des Atomkraftwerkes in Cattenom, wo neben

LABORATORY ACCUMULATION AND DEPURATION OF COPPER AND CADMIUM  
IN THE FRESHWATER MUSSEL *DREISSENA POLYMORPHA* AND  
THE AQUATIC MOSS *RHYNCHOSTEGIUM RIPARIOIDES*

Jacques MERSCH <sup>1\*</sup>, Etienne MORHAIN <sup>1</sup> and Christophe MOUVET <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Ecology, University of Metz, B.P. 4116, 57040 Metz Cedex 01, France

<sup>2</sup> BRGM, National Geological Survey, Geochemistry Department, B.P. 6009, 45060 Orléans Cedex 2, France

(Received in Germany 5 January 1993; accepted 21 June 1993)

ABSTRACT

This work assessed the potentialities of the zebra mussel *Dreissena polymorpha* and the aquatic moss *Rhynchostegium riparioides* as indicators of freshwater heavy metal contamination. Simultaneous exposure of the two species was performed in the same experimental system developed to fulfill the food requirements of the mussels. The exposure to Cu (4.5, 9, 21 and 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) and Cd (0.3, 6, 15 and 44  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) over a 27-day period was followed by a 14-day post-exposure phase. Accumulation of both metals was rapid in the mosses and reached a plateau after 18 days for Cu and 6 days for Cd; it was slower for the mussels and no steady state was observed, except for the lowest Cu treatment (9  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). The filtration rate of the bivalves and consequently bioaccumulation was reduced at the highest Cu concentration and in the absence of food. At the end of the depuration phase, the mosses had lost  $50 \pm 4\%$  of Cu and  $88 \pm 1\%$  of Cd, while the mussels had eliminated  $18 \pm 11\%$  of Cu and  $5 \pm 7\%$  of Cd. Highly significant linear relationships were observed at the end of both the accumulation and depuration phases (i) between the average aqueous Cu and Cd concentrations and the metal levels in the two organisms, and (ii) between the metal concentrations in the mussels and those in the mosses.

INTRODUCTION

The monitoring of trace pollutants in freshwaters is of major interest for both freshwater and marine ecosystems since contaminants in rivers constitute an important source of marine pollution. The concept of bio-indication, using organisms to detect chemical pollution, has however mainly been developed for metals in the marine and estuarine environment (1-3). Possible freshwater organisms to be used as trace metal indicators include aquatic bryophytes (4-6) and various bivalves species, e.g., the Asiatic clam *Corbicula fluminea* (7, 8) and the zebra mussel *Dreissena polymorpha* (9-11). The latter may be considered as a freshwater counterpart of the marine mussel *Mytilus sp.*, employed in international "Mussel Watch" programs (2).

Before undertaking field studies, sufficient knowledge of trace metal accumulation capacity and kinetics is required in order to interpret biomonitoring results. This basic knowledge can only be gained through laboratory experiments where the exposure conditions can be well monitored (12). The single most important premise underlying the use of bioindicators is that their tissue metal contents reflect the spatial and temporal mean contaminant level in the ambient environment (1). However, this prerequisite has seldom been verified.

Laboratory exposure of fed *Mytilus edulis* to Cd showed linear accumulation kinetics (13, 14). This was also verified for unfed green mussels *Perna viridis* exposed to Cd and Cu (15). When several metal concentrations were

## Simultaneous Assessment of Environmental Impact on Condition and Trace Metal Availability in Zebra Mussels *Dreissena polymorpha* Transplanted into the Wiltz River, Luxembourg. Comparison with the Aquatic Moss *Fontinalis antipyretica*<sup>LC</sup>

Jacques Mersch and Jean-Claude Pihan

Laboratory of Ecology, University of Metz, B.P. 4116, 57040 Metz Cedex 01, France

**Abstract.** Caged freshwater mussels *Dreissena polymorpha* were transplanted for three months at ten sites along the Wiltz River in the North of the Grand-Duchy of Luxembourg. Three different biological parameters were employed to assess the physiological condition of the molluscs after 27, 51, 75, and 90 days of exposure: mortality, reattachment success, and dry weight. Besides the introduced zebra mussels, translocated aquatic mosses, *Fontinalis antipyretica*, were employed as a second trace metal indicator, though with a different experimental design. The moss tufts were replaced *in toto* every time the mussels were sampled in order to separately monitor temporal changes in the water metal levels. The biological responses of the mussels and trace metal accumulation in their tissues reflected the successive major anthropogenic impacts on the river. The differences observed in the biological significance of the examined condition parameters suggest the use of several descriptors in combination for an accurate *in situ* assessment of the biological impact of water pollution. The precise localization of metal input sources (*i.e.*, natural Cd, Pb and industrial Cd, Cr, Cu, Sn) and the assessment of their spatial impact were particularly successful with *Dreissena polymorpha*. The major factor influencing metal concentrations in the molluscs was the change in dry weight. This source of variability could be eliminated by the calculation of metal body burdens. The comparison of the contamination profiles in mussels and in mosses revealed specific accumulation properties for both indicators. In particular, Cr and Sn were hardly detected in the bryophytes. The coherent data obtained for Cd, Cu, and Pb suggest that the monitoring results in translocated zebra mussels remained reliable even when severe changes in the condition of the molluscs occurred.

chosen independently of the natural distribution of a possible autochthonous indicator population, (2) a time-limited study permits the assessment of the recent contamination situation, and (3) organisms with the same life history can be used when several sites are to be investigated. Among freshwater bivalve species, translocated *Dreissena polymorpha* mussels have been employed to assess trace metal pollution (Karbe *et al.* 1975; Léglize and Crochard 1987; Kraak *et al.* 1991) and *Elliptio complanata* mussels to monitor environmental contamination by organochlorine compounds (Hayton *et al.* 1990; Koenig and Metcalfe 1990).

In transferred mussels, a specific impact of the new environmental characteristics can be expected. This demands an evaluation of the physiological fitness, since possible changes in the condition may affect the indication capacity of the sentinel organism. Mortality is the most obvious parameter to use in assessing if introduced organisms adapt to their new environment, and to determine how they cope with it over time. Besides the death rate, two types of sublethal descriptors are commonly used for studying the physiological state of marine and freshwater bivalves: allometric condition indices and metabolic stress indices. Although biochemical methods, *e.g.*, the scope for growth (SFG, Widdows 1978) or the adenylate energy charge (Hemelraad *et al.* 1990) are very sensitive, they may be considered to be too sophisticated to be used in routine monitoring programs (Foe and Knight 1987). Moreover, these authors, studying the biological impact of thermal discharge on transplanted *Corbicula fluminea* clams, considered metabolic descriptors, in particular the SFG, as biased, since they are based on indirect laboratory measurements. They recommended direct methods rather than metabolic parameters when both *in situ* sublethal impact (mussel fitness) and toxin bioavailability (accumulation of pollutants) are to be assessed simultaneously. Several condition indices based on biometric measurements such as size and weight have been defined. In particular, the dry weight of the soft tissues, often combined with other allometric parameters, has been considered as a suitable criterion for mussel condition (Bayne and Widdows 1978; Lobel and Wright 1982; Roper *et al.* 1991). Changes in body weight reflect both intrinsic biological events and external effects. Natural seasonal variations in bivalve body mass during the yearly cycle are well documented (Fischer 1983; Talbot 1986;

The Mussel Watch concept consists of analyzing trace contaminants in the tissues of native bivalves (Phillips 1977; Goldberg *et al.* 1978). The feasibility of passive biological monitoring programs is consequently conditioned by the availability of autochthonous mollusc populations with a sufficient number of individuals. This difficulty can be overcome by using translocated organisms. Active biomonitoring provides three main advantages: (1) the particular local station to be studied can be

# TRANSPLANTED AQUATIC MOSSES AND FRESHWATER MUSSELS TO INVESTIGATE THE TRACE METAL CONTAMINATION IN THE RIVERS MEURTHE AND PLAINE, FRANCE

JACQUES MERSCH<sup>1\*</sup> AND LENA JOHANSSON<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Ecology, University of Metz, B.P. 4116, 57040 Metz Cedex 01, France

<sup>2</sup>Department of Land and Water Resources, Royal Institute of Technology, 100 44 Stockholm, Sweden

(Received 31 April 1993; Accepted 28 May 1993)

## ABSTRACT

Aquatic mosses *Cinclidotus nigricans* and freshwater mussels *Dreissena polymorpha* were transferred at eight monitoring sites along the rivers Meurthe and Plaine (northeastern France) for a biological assessment of the trace metal contamination. Autochthonous *Fontinalis antipyretica* mosses were collected at the end of the experiment. The major contaminants detected in the organisms were Cr, Ni, Pb and Zn. A comparison between the native and the introduced bryophytes showed that the transfer technique was preferable to assess the recent pollution situation. In the case of the transplanted mosses, high initial levels of strongly bound Pb and Zn prevented an accurate assessment of the contamination with these two metals, since only little depuration occurred at unpolluted sites. A good qualitative agreement was observed between the indications obtained from the mosses and those obtained from the mussels, suggesting that both are suitable indicators for monitoring purposes. The observed quantitative disparities were attributed to inherent differences in the accumulation strategies of each sentinel organism. Due to specific uptake and depuration kinetics, mosses and mussels appeared to be complementary in the detection of various types of pollution.

Keywords: Trace metal, bioaccumulation, indicator organism, aquatic bryophyte, *Dreissena polymorpha*

## INTRODUCTION

Biological methods for quantifying trace metal contamination have become widely used in freshwater ecosystems (1-3). Compared to instantaneous water samples, indicator organisms provide a time-integrated picture of a contamination. Moreover, accumulation in biota assesses the biological availability of trace pollutants, i.e. their potentially hazardous effects on aquatic life (4).

Among tested freshwater organisms, two very different indicators have gained particular interest: aquatic bryophytes and filter-feeding bivalve molluscs. Mosses as trace metal indicators have been employed in various European countries, e.g. Belgium (5), Great-Britain (6), France (7), Germany (8) and Sweden (9). The zebra mussel *Dreissena polymorpha*, as

a freshwater counterpart of the marine blue mussel *Mytilus edulis*, has been used in monitoring programs in France (10), in the former USSR (11), in the Netherlands (12) and in Germany (13).

The mechanisms controlling the accumulation of trace metals are fundamentally different in mosses and in mussels. Uptake and depuration of metals in bryophytes are predominantly based on cationic exchange on the cell walls (14-16). Due to a rapid surface mechanism, only short exposure times are required, i.e. at least 24 h (17), 3 (7) or 9 days (18). In molluscs, the accumulation process of trace metals consists of an uptake into the cells in contact with the ambient environment, followed by a distribution to various organs (19, 20). Laboratory studies with *Dreissena polymorpha* showed that accumulation kinetics

## Comparaison de plusieurs supports analytiques inertes et biologiques pour apprécier la contamination métallique de la retenue du site électronucléaire de Cattenom, France

J. Mersch<sup>1</sup>  
N. Dubost<sup>1</sup>  
J.C. Pihan<sup>1</sup>

Mots clés : Métaux lourds, accumulation, indicateur, sédiment, mousse aquatique, moule zébrée, gardon, perche.

Les micropolluants métalliques Cd, Cu, Pb et Zn ont été analysés dans plusieurs compartiments inertes et biologiques de l'écosystème de la retenue du Mirgenbach : l'eau, les matières en suspension, le seston décanté, une mousse, un mollusque et trois organes de deux espèces dominantes de poissons. Ce lac artificiel reçoit les eaux échauffées de la centrale nucléaire de Cattenom (Nord-est de la France). L'étang de Lindre et la Meuse amont ont été choisis comme sites de référence.

L'ensemble des supports analytiques montre que la retenue est fortement contaminée par le cuivre et à un degré moindre par le plomb et le zinc. Des teneurs importantes de cadmium ont seulement été détectées dans le seston décanté. Les métaux entrant dans la retenue se partagent entre deux phases : la colonne d'eau et les sédiments. Les concentrations élevées observées dans le seston décanté indiquent qu'une fraction importante de chaque métal disparaît de la phase circulante et stagne dans la retenue. Dans le cas du cuivre, une estimation des flux révèle que les deux tiers de ce métal se retrouvent dans les matières décantées. L'homogénéité dans la détection des différents micropolluants dans la moule *Dreissena polymorpha* Pallas et la mousse *Fontinalis antipyretica* Hedw. confirme l'intérêt de ces deux organismes comme indicateurs biologiques de la pollution circulante. Les deux poissons, le gardon *Rutilus rutilus* L. et la perche *Perca fluviatilis* L., se distinguent par de faibles concentrations métalliques dans le muscle. Bien que certains métaux aient été accumulés dans les organes cibles comme le foie pour le cuivre et le rein pour le plomb, ils peuvent difficilement être considérés comme des organismes sentinelles.

### Comparison of several inert and biological substrata to assess the trace metal contamination in the reservoir of the nuclear power plant in Cattenom, France

Keywords : Heavy metals, accumulation, indicator, sediment, aquatic bryophyte, zebra mussel, roach, perch.

The trace metals Cd, Cu, Pb and Zn were analyzed in the following inert and biological compartments of the ecosystem of the Mirgenbach reservoir : the water, the suspended solids, the settling particulate matter, a bryophyte, a mollusc and three organs of two dominant fish species. This man-made lake receives the warmed waters from the nuclear power plant in Cattenom (Northeastern France). The Lindre pond and an upper section of the Meuse River were chosen as reference sites.

All the analyzed substrata showed that the Mirgenbach reservoir is strongly contaminated with copper and moderately with lead and zinc. High burdens of cadmium were only detected in the sediment samples. The trace metals entering the reservoir partition between two different phases : the water column and the sediments. The elevated concentrations observed in the settling particulate matter indicate that a large amount of each metal is eliminated from the water. In the particular case of copper, estimations of fluxes showed that two thirds of the discharged metal were trapped in the sediments. The good agreement of metal detection in the mussel *Dreissena polymorpha* Pallas and in the moss *Fontinalis antipyretica* Hedw. emphasizes the suitability of both organisms to be used as biological indicators for water pollution. The two fish species, the roach *Rutilus rutilus* L. and the perch *Perca fluviatilis* L., exhibited low metal concentrations in their muscle flesh. Although accumulation occurred in the target tissues, e.g. copper in the liver and lead in the kidney, fish cannot be considered as adequate sentinel organisms.

1. Centre de Recherches Ecologiques de l'Université de Metz, Laboratoire d'Ecotoxicologie, B.P. 4116, 57040 Metz Cedex 01, France.  
Texte d'une communication effectuée dans le cadre du Colloque - *Limnologie appliquée et application de la Limnologie* - Besançon, Franche-Comté, 16-19 novembre 1992.

## **Annexe 2**

### **Données ecotoxicologiques brutes**

**Tableaux A et B : Expérience 2,**

**Tableaux C et D : Expérience 3,**

**Tableaux E et F : Expérience 4,**

**Tableaux G à J : Expérience 5,**

**Tableaux K à N : Expérience 6,**

**Tableaux O et P : Expérience 7,**

**Tableaux Q à S : Expérience 8.**

Unité expérimentale	Phase expérimentale	Prélèvement (jours)	Moules		Mousses	
			$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart
Cu 8 $\mu\text{g/L}$ algues	exposition	0 (témoin)	17	<1	31	7
		1	17	<1	109	4
		3	26	3	260	3
		6	26	3	446	7
		11	31	2	606	37
		18	32	<1	912	59
		27	31	2	920	3
	post- exposition	6	31	4	678	83
		14	31	5	474	3
	Cu 20 $\mu\text{g/L}$ algues réplicat 1	exposition	0 (témoin)	17	<1	31
1			23	<1	225	22
3			28	2	606	33
6			26	<1	947	5
11			40	2	1301	6
18			49	5	1627	79
27			73	4	1554	130
post- exposition		6	70	3	1297	167
		14	57	8	837	137
Cu 20 $\mu\text{g/L}$ algues réplicat 2		exposition	0 (témoin)	17	<1	31
	1		20	<1	267	17
	3		26	1	586	20
	6		24	3	928	67
	11		36	1	1208	105
	18		60	8	1708	69
	27		74	4	1616	103
	post- exposition	6	67	4	1267	140
		14	56	8	895	8
	Cu 20 $\mu\text{g/L}$ sans algues	exposition	0 (témoin)	17	<1	31
1			23	2	232	13
3			24	4	642	31
6			23	1	898	0
11			42	5	1394	148
18			52	6	1980	6
27			61	1	1920	82
post- exposition		6	65	6	1354	11
		14	52	4	841	30

Cu 50 µg/L algues	exposition	0 (témoin)	17	<1	31	7
		1	29	4	552	42
		3	54	4	1089	42
		6	55	7	1855	17
		11	67	3	2477	258
		18	89	10	2726	234
		27	101	8	3506	122
	post- exposition	6	89	<1	2039	63
		14	72	7	1515	95

**Tableau A : Concentrations en cuivre (µg/g de poids sec ± écart entre deux sous-échantillons) dans les moules zébrées (*Dreissena polymorpha*) et les mousses aquatiques (*Rhynchostegium riparioides*) exposées à différents traitements (cf. tableau 9 page 78 et figure 14 page 82; Exp. 2).**



Unité expérimentale	Phase expérimentale	Prélèvement (jours)	Moules		Mousses	
			$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart
Cd 5 $\mu\text{g/L}$ algues	exposition	0 (témoin)	<1		<1	
		1	1	<1	38	5
		3	4	<1	111	5
		6	5	<1	167	9
		11	9	<1	147	6
		18	14	<1	185	10
		27	21	3	133	5
	post- exposition	6	21	<1	47	8
		14	20	2	21	3
	Cd 15 $\mu\text{g/L}$ algues réplicat 1	exposition	0 (témoin)	<1		<1
1			3	<1	138	8
3			10	<1	242	8
6			13	<1	456	29
11			24	2	319	10
18			47	6	413	12
27			70	8	276	25
post- exposition		6	73	2	89	8
		14	64	7	38	5
Cd 15 $\mu\text{g/L}$ algues réplicat 2		exposition	0 (témoin)	<1		<1
	1		3	<1	118	12
	3		8	<1	259	31
	6		13	<1	301	15
	11		21	<1	318	11
	18		33	8	344	64
	27		50	4	263	1
	post- exposition	6	56	1	92	5
		14	53	10	43	2
	Cd 45 $\mu\text{g/L}$ algues	exposition	0 (témoin)	<1		<1
1			8	<1	303	98
3			24	1	569	40
6			35	4	727	95
11			68	9	609	71
18			103	7	791	83
27			143	7	535	67
post- exposition		6	156	9	127	1
		14	129	15	78	8

Tableau B : Concentrations en cadmium ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons dans les moules zébrées (*Dreissena polymorpha*) et les mousses aquatiques (*Rhynchostegium riparioides*) exposées à différents traitements (cf. tableau 9 page 78 et figure 15 page 83; Exp. 2).

Station	Distance à la source	Cr ( $\mu\text{g/L}$ )	Cu ( $\mu\text{g/L}$ )	Pb ( $\mu\text{g/L}$ )	Zn ( $\mu\text{g/L}$ )
1	155	<1,0	2,5	<1,0	11
2	167	<1,0	2,5	1,7	10
3	180	<1,0	2,2	<1,0	6
4	195,5	<1,0	2,2	<1,0	3
5	202	1,0	4,3	1,0	5
6	211,5	1,3	4,9	<1,0	7
7	219	1,6	4,9	<1,0	6
8	231	1,6	4,3	1,6	7
9	236	1,4	4,5	<1,0	5
10	248	1,9	5,1	1,5	19
11	253,5	2,0	4,4	<1,0	5
12	262	1,9	4,2	<1,0	6
13	268	2,9	6,0	14,8	49
14	280,5	12,3	10,5	3,5	33
15	301	2,4	5,0	3,0	32
16	309	3,3	5,2	2,6	34
17	319	3,0	4,9	2,1	74
18	329	2,6	4,0	1,3	31
19	337,5	1,7	3,2	2,7	12
20	342,5	1,4	2,6	1,6	15

Tableau C : Concentrations métalliques dans les échantillons d'eau brute collectés dans la Moselle (cf. figure 18 page 92; Exp. 3).

Station	Distance à la source	Cr ( $\mu\text{g/g}$ )		Cu ( $\mu\text{g/g}$ )		Pb ( $\mu\text{g/g}$ )		Zn ( $\mu\text{g/g}$ )	
		$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart
1	155	2,5	0,4	28	2	4,8	0,2	192	14
2	167	1,6	0,3	28	1	4,1	0,6	168	17
3	180	1,9	0,1	31	1	3,9	0,5	208	15
4	195,5	1,6	0,1	22	2	3,6	0,4	176	18
5	202	1,3	0,2	21	2	5,0	0,6	126	8
6	211,5	1,7	0,3	22	2	5,1	0,6	123	6
7	219	1,5	0,1	26	5	9,2	0,9	138	2
8	231	1,4	<0,1	33	3	5,9	0,3	150	5
9	236	1,8	0,2	33	2	15,1	0,8	144	2
10	248	1,0	0,1	23	<1	10,0	1,0	152	8
11	253,5	3,8	0,7	51	4	12,7	1,8	168	16
12	262	1,5	0,1	26	1	11,4	1,4	159	11
13	268	1,4	<0,1	28	2	19,8	0,8	163	18
14	280,5	2,1	0,2	48	1	9,1	0,3	232	5
15	301	3,0	<0,1	33	2	8,5	0,5	223	9
16	309	2,1	0,2	29	<1	5,2	0,3	164	11
17	319	2,0	0,1	34	4	6,3	0,5	177	21
18	329	3,0	0,1	33	4	9,5	1,0	192	6
19	337,5	3,0	0,2	37	1	6,4	0,4	179	13
20	342,5	2,2	<0,1	32	2	4,8	0,5	181	18

Tableau D : Concentrations métalliques ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons) dans les dreissènes autochtones de la Moselle (cf. figure 18 page 92; Exp. 3).

Date	Cu ( $\mu\text{g/L}$ )		Zn ( $\mu\text{g/L}$ )		Cd ( $\mu\text{g/L}$ )		Pb ( $\mu\text{g/L}$ )		Fe (mg/L)	
	st 2	st 4	st 2	st 4	st 2	st 4	st 2	st 4	st 2	st 4
19. 12. 89	15,3	14,3	36	32	0,21	0,10	3,5	3,0	0,45	0,24
19. 02. 90	18,6	17,1	36	28	0,14	0,07	3,1	2,8	0,54	0,45
18. 04. 90	26,7	24,4	29	27	0,19	0,29	3,2	2,1	0,21	0,15
20. 06. 90	19,0	17,9	24	21	0,24	0,24	2,2	1,7	0,18	0,13
27. 07. 90	17,8	15,8	17	17	0,24	0,20	2,0	1,3	0,19	0,11
27. 08. 90	7,4	8,2	9	13	0,17	0,18	2,7	1,7	0,09	0,12
26. 09. 90	14,1	11,5	12	17	0,16	0,18	1,4	1,1	0,15	0,09
31. 10. 90	16,1	14,2	34	24	0,19	0,18	3,5	1,6	0,37	0,17
22. 11. 90	16,5	17,6	27	26	0,28	0,25	2,2	2,2	0,25	0,18
10. 12. 90	22,5	22,9	25	27	0,18	0,15	2,1	1,7	0,13	0,21
24. 01. 91	21,4	19,3	21	19	0,19	0,22	1,7	1,6	0,21	0,19
15. 02. 91	36,8	29,1	123	112	0,41	0,33	3,7	1,6	0,31	0,14
13. 03. 91	13,5	12,2	30	26	0,19	0,08	1,2	1,5	0,09	0,11
18. 04. 91	12,4	12,5	25	26	0,59	0,14	1,2	0,9	0,13	0,12
22. 05. 91	17,4	13,6	36	21	0,31	0,32	2,4	1,2	0,14	0,06
19. 06. 91	21,0	16,0	30	20	0,12	0,08	1,8	1,0	0,21	0,06
17. 07. 91	24,0	13,6	35	18	0,30	0,07	2,6	1,1	0,30	0,10
14. 08. 91	13,2	13,9	17	17	0,03	0,05	0,8	0,7	0,07	0,12
24. 09. 91	19,6	15,3	31	24	0,21	0,08	2,0	1,2	0,24	0,17
26. 10. 91	14,6	13,1	34	30	0,17	0,18	1,2	1,4	0,19	0,15
05. 11. 92	18,6	26,4	34	32	0,13	0,11	1,8	1,5	0,21	0,46
19. 11. 91	17,8	21,1	34	35	0,33	0,86	1,7	2,3	0,25	0,29
05. 12. 91	21,7	22,7	34	36	0,45	0,23	1,5	1,8	0,15	0,19
19. 12. 91	34,0	28,6	56	50	0,51	0,35	2,9	2,2	0,25	0,20
03. 01. 92	29,4	25,7	33	27	0,49	0,28	2,1	1,4	0,26	0,19
20. 01. 92	37,3	33,1	40	35	0,33	0,16	2,4	1,8	0,34	0,23
18. 02. 92	31,1	26,4	35	30	0,34	0,22	2,5	2,1	0,35	0,26
17. 03. 92	33,0	23,6	38	27	0,27	0,27	3,2	1,6	0,47	0,23
16. 04. 92	22,1	19,6	20	18	0,15	0,37	1,5	0,9	0,17	0,14
14. 05. 92	14,9	16,0	16	17	0,21	0,12	1,0	0,8	0,09	0,12
16. 06. 92	11,4	10,8	11	14	0,01	0,01	0,8	0,8	0,12	0,11
15. 07. 92	22,8	16,8	31	26	0,02	0,02	2,6	2,2	0,35	0,27
19. 08. 92	11,7	13,2	15	15	0,02	0,02	1,2	1,1	0,14	0,14

Tableau E : Concentrations métalliques dans les échantillons d'eau brute collectés aux stations 2 et 4 de la retenue du Mirgenbach (cf. figures 22, 26-29 pages 99-108; Exp. 4).

Date	Cu ( $\mu\text{g/g}$ )				Zn ( $\mu\text{g/g}$ )				Cd ( $\mu\text{g/g}$ )			
	station 2		station 4		station 2		station 4		station 2		station 4	
	x ± écart	x ± écart	x ± écart	x ± écart	x ± écart	x ± écart	x ± écart	x ± écart	x ± écart	x ± écart	x ± écart	x ± écart
19. 12. 89	86	4	65	2	319	14	222	17	0,90	0,05	0,68	0,07
19. 02. 90	173	1	134	16	385	42	322	7	1,44	0,01	0,95	0,06
18. 04. 90	230	16	192	9	295	6	246	30	1,47	0,01	1,42	0,13
20. 06. 90	134	15	145	16	158	11	172	21	1,23	0,02	1,81	0,05
27. 07. 90	155	2	120	7	209	33	174	27	1,21	0,10	1,57	0,02
27. 08. 90	129	10	88	11	149	15	145	20	1,19	0,10	1,43	0,10
26. 09. 90	106	1	78	<1	161	5	173	16	1,09	0,10	1,06	0,08
31. 10. 90	179	30	136	4	204	31	200	10	1,19	0,09	1,10	0,05
22. 11. 90	148	4	133	11	246	27	192	<1	1,00	0,08	0,75	0,03
10. 12. 90	126	15	118	23	152	3	175	17	0,90	0,02	0,97	0,04
24. 01. 91	155	10	171	6	224	13	294	18	1,24	<0,01	1,77	0,14
15. 02. 91	139	19	139	17	160	20	232	25	1,24	0,06	1,46	0,03
13. 03. 91	149	7	128	2	310	17	368	41	2,79	0,04	2,11	0,01
18. 04. 91	85	2	71	6	207	28	218	6	1,27	0,10	1,41	0,05
22. 05. 91	50	12	31	4	185	14	135	22	1,04	0,01	0,93	0,07
19. 06. 91	95	8	78	13	179	6	128	15	1,20	0,02	1,37	0,16
17. 07. 91	76	9	56	<1	140	10	140	<1	1,13	0,04	1,69	0,02
14. 08. 91	42	6	32	7	132	5	160	2	0,89	0,04	1,22	0,15
24. 09. 91	37	8	25	4	176	25	154	3	1,27	0,04	0,73	0,09
26. 10. 91	47	7	31	3	130	<1	134	2	0,47	0,04	0,40	0,01
05. 11. 92	47	4	41	3	116	19	137	14	0,41	0,02	0,40	<0,01
19. 11. 91	68	9	69	<1	120	3	160	4	0,46	0,02	0,47	0,02
05. 12. 91	111	6	94	6	185	7	164	3	0,55	0,02	0,44	0,01
19. 12. 91	119	4	121	4	169	5	148	9	0,75	<0,01	0,66	0,01
03. 01. 92	119	6	112	9	182	5	143	11	0,64	0,03	0,59	0,08
20. 01. 92	130	4	95	<1	129	13	142	9	0,73	0,03	0,69	0,03
18. 02. 92	114	4	91	9	143	7	156	11	0,82	0,02	0,78	0,05
17. 03. 92	179	5	161	5	255	15	201	20	1,65	0,06	1,42	0,01
16. 04. 92	238	21	172	1	184	14	169	2	1,21	0,12	1,33	0,06
14. 05. 92	107	<1	122	18	207	40	217	10	1,13	0,07	1,26	0,15
16. 06. 92	41	2	31	3	140	11	139	1	1,45	0,03	1,39	0,10
15. 07. 92	38	6	27	1	125	8	119	3	1,21	0,11	0,97	0,12
19. 08. 92	32	<1	27	4	115	<1	113	9	1,30	0,09	1,00	0,07

Tableau F : Concentrations en cuivre, zinc et cadmium ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons) dans les dreissènes autochtones prélevées aux stations 2 et 4 de la retenue du Mirgenbach (cf. figures 22, 26 et 27 pages 99, 104 et 105; Exp. 4).

Date	Pb ( $\mu\text{g/g}$ )		Fe (mg/g)		Ni ( $\mu\text{g/g}$ )			
	station 2		station 4		station 2		station 4	
	$\bar{x} \pm \text{écart}$	$\bar{x} \pm \text{écart}$	$\bar{x} \pm \text{écart}$	$\bar{x} \pm \text{écart}$	$\bar{x} \pm \text{écart}$	$\bar{x} \pm \text{écart}$	$\bar{x} \pm \text{écart}$	
19. 12. 89	3,5 <0,1	2,8 <0,1	0,34 <0,01	0,26 <0,01	33 <1	31 <1		
19. 02. 90	4,4 0,2	3,5 <0,1	0,62 0,05	0,46 0,04	34 <1	38 <1		
18. 04. 90	3,1 <0,1	3,4 0,3	0,51 <0,01	0,48 0,06	21 2	19 <1		
20. 06. 90	2,7 0,4	3,8 0,3	0,36 <0,01	0,45 0,03	13 2	18 1		
27. 07. 90	5,7 0,2	2,6 0,2	0,47 0,02	0,33 0,02	11 <1	16 3		
27. 08. 90	4,2 0,3	3,7 0,1	0,36 0,02	0,36 <0,01	13 1	14 <1		
26. 09. 90	4,2 0,2	3,8 0,4	0,33 0,01	0,31 0,04	22 2	26 <1		
31. 10. 90	5,0 0,2	4,5 0,5	0,39 <0,01	0,34 0,03	28 <1	33 <1		
22. 11. 90	4,9 0,5	4,2 0,2	0,39 0,01	0,35 0,04	24 <1	24 3		
10. 12. 90	1,3 0,2	1,2 <0,1	0,24 0,04	0,28 0,04	19 3	19 2		
24. 01. 91	1,7 0,1	1,8 0,2	0,48 0,09	0,47 0,12	16 2	13 2		
15. 02. 91	1,1 <0,1	0,8 <0,1	0,31 0,03	0,30 0,04	9 2	6 <1		
13. 03. 91	1,6 0,4	1,8 0,2	0,28 0,04	0,34 0,07	9 <1	9 2		
18. 04. 91	1,9 0,1	1,7 <0,1	0,32 0,05	0,26 0,02	10 1	8 <1		
22. 05. 91	1,6 0,1	1,2 0,1	0,27 0,03	0,16 <0,01	12 <1	10 <1		
19. 06. 91	1,4 0,1	1,4 <0,1	0,27 0,01	0,24 0,04	23 2	13 <1		
17. 07. 91	0,9 <0,1	0,9 0,2	0,36 0,04	0,24 0,02	16 2	15 3		
14. 08. 91	1,0 0,1	1,5 0,2	0,16 0,01	0,18 0,03	11 <1	13 3		
24. 09. 91	2,5 0,3	1,3 0,1	0,18 0,01	0,17 0,02	13 1	15 <1		
26. 10. 91	1,6 <0,1	1,1 0,2	0,17 <0,01	0,15 <0,01	18 <1	22 2		
05. 11. 92	1,0 <0,1	0,9 <0,1	0,16 0,02	0,15 0,01	20 2	27 2		
19. 11. 91	1,6 0,3	1,3 0,2	0,18 0,02	0,17 <0,01	26 4	25 2		
05. 12. 91	1,1 0,1	1,8 0,2	0,17 <0,01	0,25 0,04	21 4	29 3		
19. 12. 91	1,6 0,2	1,6 0,2	0,19 0,03	0,23 0,03	19 2	24 3		
03. 01. 92	1,5 <0,1	1,3 0,2	0,27 0,01	0,20 0,03	14 <1	21 <1		
20. 01. 92	1,4 <0,1	1,4 0,2	0,20 <0,01	0,21 0,02	20 1	20 1		
18. 02. 92	1,5 0,2	1,1 0,1	0,19 <0,01	0,18 <0,01	13 2	14 1		
17. 03. 92	1,8 0,2	2,2 0,2	0,20 0,05	0,35 0,03	18 1	15 1		
16. 04. 92	1,5 <0,1	1,8 <0,1	0,14 <0,01	0,13 <0,01	10 <1	10 <1		
14. 05. 92	1,1 0,1	1,5 0,3	0,10 <0,01	0,12 <0,01	11 1	13 <1		
16. 06. 92	1,1 0,2	0,9 0,1	0,14 <0,01	0,14 0,02	11 <1	14 <1		
15. 07. 92	1,2 0,1	1,1 0,1	0,13 <0,01	0,12 <0,01	14 <1	15 2		
19. 08. 92	1,2 <0,1	1,1 0,2	0,14 0,01	0,13 0,02	13 <1	11 <1		

Tableau F : Concentrations en plomb, fer et nickel ( $\mu\text{g Pb}$ , Ni/g et mg Fe/g de poids sec  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons) dans les dreissènes autochtones prélevées aux stations 2 et 4 de la retenue du Mirgenbach (cf. figures 28-30 pages 106-109; Exp. 4).

Date	Station 2				Station 4									
	Mirgenbach		Millery		Pont-à-M.		Apach		Mirgenbach		Millery		Pont-à-M.	
	x ±	écart	x ±	écart	x ±	écart	x ±	écart	x ±	écart	x ±	écart	x ±	écart
26. 10. 91 (témoin)	47	7	10	<1	12	<1	19	2	31	3	10	<1	12	<1
05. 11. 92	47	4	28	2	49	4	57	<1	41	3	26	<1	39	3
19. 11. 91	68	9	39	<1	59	2	104	4	69	<1	36	2	54	<1
05. 12. 91	111	6	59	1	82	<1	135	15	94	6	61	2	99	2
19. 12. 91	119	4	65	1	111	<1	190	9	121	4	68	8	111	12
03. 01. 92	119	6	72	10	123	2	180	11	112	9	77	9	125	11
20. 01. 92	130	4	75	1	125	9	216	29	95	<1	100	2	130	13

Tableau G : Concentrations en cuivre ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons) dans les dreissènes autochtones et dans trois populations transférées aux stations 2 et 4 de la retenue du Mirgenbach (cf. figures 32 et 33 pages 114 et 116; Exp. 5).

Date	Station 2				Station 4									
	Mirgenbach		Millery		Pont-à-M.		Apach		Mirgenbach		Millery		Pont-à-M.	
	x ±	écart	x ±	écart	x ±	écart	x ±	écart	x ±	écart	x ±	écart	x ±	écart
26. 10. 91 (témoin)	14	2	4	<1	3	<1	4	<1	11	2	4	<1	3	<1
05. 11. 92	16	1	11	<1	15	3	11	<1	15	2	11	1	11	1
19. 11. 91	23	3	14	<1	13	<1	16	<1	26	<1	14	1	15	<1
05. 12. 91	38	2	22	1	21	1	21	4	31	1	23	<1	24	3
19. 12. 91	34	2	24	3	30	<1	33	3	38	2	26	4	25	1
03. 01. 92	34	2	21	3	26	2	24	2	34	2	28	5	29	3
20. 01. 92	34	1	24	<1	24	2	26	4	26	1	26	<1	28	5

Tableau H : Contenus en cuivre ( $\mu\text{g}/12$  individus  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons) dans les dreissènes autochtones et dans trois populations transférées aux stations 2 et 4 de la retenue du Mirgenbach (cf. figures 32 et 33 pages 114 et 116; Exp. 5).

Date	Mirgenbach		Millery		Pont-à-M.		Apach	
	x ±	écart	x ±	écart	x ±	écart	x ±	écart
26. 10. 91 (témoin)	131	<1	87	<1	92	2	118	4
05. 11. 92	116	19	126	11	143	14	209	24
19. 11. 91	121	3	134	8	192	11	213	12
05. 12. 91	185	7	140	10	206	22	254	5
19. 12. 91	169	5	203	6	193	15	340	52
03. 01. 92	182	5	157	19	287	23	397	17
20. 01. 92	129	13	150	14	220	10	328	54

**Tableau I : Concentrations en zinc ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons) dans les dreissènes autochtones et dans trois populations transférées à la station 2 de la retenue du Mirgenbach (cf. figure 34 page 118; Exp. 5).**

Date	Mirgenbach		Millery		Pont-à-M.		Apach	
	x ±	écart	x ±	écart	x ±	écart	x ±	écart
26. 10. 91 (témoin)	39	<1	33	<1	26	<1	23	<1
05. 11. 92	38	6	52	3	44	9	42	4
19. 11. 91	41	2	48	2	43	<1	34	3
05. 12. 91	63	2	52	5	54	10	39	5
19. 12. 91	48	3	75	9	52	5	58	6
03. 01. 92	51	<1	46	5	62	2	54	3
20. 01. 92	33	1	48	3	43	3	40	7

**Tableau J : Contenus en zinc ( $\mu\text{g}/12$  individus  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons) dans les dreissènes autochtones et dans trois populations transférées à la station 2 de la retenue du Mirgenbach (cf. figure 34 page 118; Exp. 5).**



Station	Echantillon	Cd ( $\mu\text{g/L}$ )	Cr ( $\mu\text{g/L}$ )	Cu ( $\mu\text{g/L}$ )	Pb ( $\mu\text{g/L}$ )
1	1	0,49	7,7	9,3	6,0
	2	0,41	2,2	4,1	1,7
	3	0,46	3,0	5,5	2,4
	4	0,52	5,0	6,3	3,8
2	1	0,65	5,1	3,9	7,9
	2	0,62	3,3	3,8	5,4
	3	0,70	3,8	3,5	7,4
	4	0,57	3,7	2,6	3,2
3	1	0,62	5,9	6,9	4,5
	2	0,46	2,5	4,9	2,0
	3	0,62	4,9	5,9	3,3
	4	0,56	3,5	4,3	1,4
4	1	0,59	4,2	12,6	2,9
	2	0,76	9,1	11,4	3,1
	3	0,71	8,5	12,3	2,8
	4	0,90	8,6	13,6	2,1
5	1	0,80	7,2	16,6	3,5
	2	1,03	14,5	19,9	3,5
	3	0,85	9,4	16,5	2,7
	4	1,02	11,5	58,3	2,0
6	1	1,04	9,4	19,5	6,1
	2	1,00	12,0	16,7	2,5
	3	0,96	9,4	17,6	3,2
	4	1,11	10,9	19,7	2,1
7	1	0,90	7,7	20,1	5,0
	2	0,89	14,7	18,1	3,2
	3	0,68	7,8	13,8	2,6
	4	1,03	8,5	17,8	3,2
8	1	0,96	7,8	19,9	4,8
	2	0,84	10,7	24,0	2,8
	3	0,73	5,1	12,5	2,2
	4	0,65	6,9	11,9	1,9
9	1	0,62	5,4	10,1	1,7
	2	0,62	5,9	10,6	1,6
	3	0,68	5,2	9,6	1,8
	4	0,63	5,6	8,7	1,3
10	1	0,61	2,7	6,2	1,4
	2	0,59	4,1	9,6	1,3
	3	0,54	5,2	6,5	2,2
	4	0,65	5,4	5,6	1,0

Tableau K : Concentrations métalliques dans les échantillons d'eau brute collectés dans la Wiltz (cf. figures 36-39 pages 128-132; Exp. 6).

Station	Echantillon	Cd ( $\mu\text{g/g}$ )		Cr ( $\mu\text{g/g}$ )		Cu ( $\mu\text{g/g}$ )		Pb ( $\mu\text{g/g}$ )		Sn ( $\mu\text{g/g}$ )	
		$x \pm$	écart	$x \pm$	écart	$x \pm$	écart	$x \pm$	écart	$x \pm$	écart
1	1	1,0	<0,1	2,2	0,2	14	<1	1,3	<0,1	5,1	0,3
	2	0,9	<0,1	2,9	0,4	13	2	1,3	0,1	3,5	0,3
	3	1,0	<0,1	2,7	0,5	14	<1	1,5	<0,1	2,9	0,1
	4	0,9	0,1	2,4	0,3	15	<1	1,4	0,2	3,0	0,2
2	1	2,8	0,1	1,8	0,2	13	<1	1,8	0,2	4,2	0,1
	2	3,5	0,2	2,4	0,2	14	<1	2,0	0,2	4,0	<0,1
	3	3,1	0,2	2,6	0,2	16	2	2,7	0,3	3,7	0,1
	4	3,3	<0,1	2,8	0,1	14	<1	2,7	0,1	3,6	0,4
3	1	1,7	<0,1	2,1	0,1	14	1	1,4	<0,1	3,1	0,2
	2	1,6	<0,1	2,1	<0,1	13	1	1,3	<0,1	3,1	0,2
	3	1,5	<0,1	2,4	<0,1	17	2	1,5	<0,1	4,0	0,4
	4	1,3	<0,1	2,5	0,3	18	3	1,4	<0,1	4,8	0,3
4	1	5,9	<0,1	5,8	0,1	52	3	1,4	<0,1	14,8	0,2
	2	7,6	0,3	9,7	0,4	48	7	1,8	0,2	14,2	<0,1
	3	11,1	0,6	17,5	0,9	65	8	1,7	<0,1	14,5	0,4
	4	13,9	0,6	19,0	<0,1	100	4	1,4	<0,1	11,4	1,3
5	1	6,6	0,5	5,9	0,6	32	2	1,4	<0,1	13,6	0,5
	2	9,9	0,4	8,7	0,5	29	1	1,5	<0,1	16,2	0,7
	3	13,1	1,6	15,0	1,8	40	4	2,0	0,4	14,7	1,4
	4	n.d.		n.d.		n.d.		n.d.		n.d.	
6	1	6,0	0,1	6,1	0,8	28	<1	1,2	0,1	11,6	0,9
	2	10,7	<0,1	9,3	1,0	27	<1	1,7	0,3	21,5	1,8
	3	12,6	0,7	12,5	0,5	26	<1	1,4	0,2	14,3	1,1
	4	n.d.		n.d.		n.d.		n.d.		n.d.	
7	1	5,5	<0,1	4,2	0,5	21	3	1,0	<0,1	11,5	0,2
	2	7,0	0,6	4,9	<0,1	18	<1	1,3	<0,1	14,1	1,0
	3	8,1	1,2	9,4	1,6	27	2	1,8	0,4	12,5	0,6
	4	9,4	0,7	9,3	0,3	26	2	1,5	<0,1	7,6	0,4
8	1	5,6	0,2	4,1	0,3	19	<1	0,9	<0,1	11,1	1,2
	2	6,5	<0,1	6,8	0,5	21	4	1,1	<0,1	15,8	1,4
	3	9,0	0,2	8,0	1,0	20	2	1,0	<0,1	10,5	0,4
	4	8,3	0,5	9,7	1,7	27	4	1,4	0,3	8,5	0,4
9	1	3,8	0,4	4,1	<0,1	18	<1	0,7	<0,1	7,2	1,0
	2	4,2	<0,1	5,4	0,2	19	<1	0,7	<0,1	9,3	0,4
	3	4,0	0,6	8,4	1,1	18	2	0,7	<0,1	7,9	1,0
	4	6,0	<0,1	9,8	0,1	20	<1	0,8	<0,1	7,4	0,8
10	1	3,2	<0,1	2,6	0,2	13	<1	0,5	<0,1	4,9	0,2
	2	3,2	<0,1	3,4	0,6	15	<1	0,5	<0,1	5,3	0,3
	3	3,6	0,2	4,3	0,2	14	<1	0,5	<0,1	6,4	0,4
	4	4,4	0,3	6,9	0,6	15	<1	0,4	<0,1	5,5	0,1
Témoin		0,9	<0,1	2,9	0,7	17	2	1,3	<0,1	3,6	0,3

Tableau L : Concentrations métalliques ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons) dans les dreissènes transférées dans la Wiltz (cf. figures 36-40 pages 128-134; Exp. 6).  
n.d.: non déterminé

Station	Echantillon	Cd ( $\mu\text{g}$ )		Cr ( $\mu\text{g}$ )		Cu ( $\mu\text{g}$ )		Pb ( $\mu\text{g}$ )		Sn ( $\mu\text{g}$ )	
		x $\pm$	écart	x $\pm$	écart	x $\pm$	écart	x $\pm$	écart	x $\pm$	écart
1	1	0,4	<0,1	0,8	<0,1	5	<1	0,5	<0,1	1,9	0,2
	2	0,4	<0,1	1,2	0,1	5	<1	0,5	<0,1	1,4	<0,1
	3	0,4	<0,1	1,0	0,2	5	<1	0,5	<0,1	1,0	<0,1
	4	0,3	<0,1	0,7	<0,1	5	<1	0,4	<0,1	0,9	<0,1
2	1	1,3	0,2	0,9	<0,1	6	<1	0,9	<0,1	2,0	<0,1
	2	1,8	<0,1	1,2	0,1	7	<1	1,0	<0,1	2,1	<0,1
	3	1,3	0,1	1,0	<0,1	6	<1	1,1	0,1	1,5	<0,1
	4	1,2	<0,1	1,0	<0,1	5	<1	1,0	<0,1	1,4	0,2
3	1	0,7	<0,1	0,9	0,1	6	<1	0,6	<0,1	1,3	<0,1
	2	0,6	0,1	0,8	0,1	5	<1	0,5	<0,1	1,2	0,1
	3	0,5	<0,1	0,9	<0,1	6	<1	0,5	<0,1	1,4	0,2
	4	0,5	<0,1	0,9	<0,1	6	<1	0,5	<0,1	1,7	<0,1
4	1	2,1	<0,1	2,1	<0,1	19	1	0,5	<0,1	5,2	<0,1
	2	2,2	<0,1	2,7	0,1	14	2	0,5	<0,1	4,0	<0,1
	3	2,2	<0,1	3,6	<0,1	13	1	0,3	<0,1	2,9	<0,1
	4	2,9	<0,1	3,9	0,1	21	1	0,3	<0,1	2,3	0,2
5	1	2,2	0,2	2,0	0,1	11	1	0,5	<0,1	4,6	0,6
	2	3,3	0,2	2,9	<0,1	10	1	0,5	<0,1	5,4	0,2
	3	2,9	<0,1	3,3	0,1	9	<1	0,4	<0,1	3,3	<0,1
	4	n.d.		n.d.		n.d.		n.d.		n.d.	
6	1	1,9	0,2	1,8	<0,1	9	<1	0,4	<0,1	3,5	<0,1
	2	2,9	<0,1	2,5	0,3	7	<1	0,4	<0,1	5,8	0,4
	3	3,0	<0,1	3,0	0,2	6	<1	0,3	<0,1	3,4	0,2
	4	n.d.		n.d.		n.d.		n.d.		n.d.	
7	1	2,4	0,2	1,8	0,1	9	<1	0,4	<0,1	5,1	0,4
	2	2,8	0,2	1,9	<0,1	7	<1	0,5	<0,1	5,6	0,3
	3	2,4	<0,1	2,8	0,1	8	<1	0,5	<0,1	3,8	0,4
	4	2,5	<0,1	2,5	<0,1	7	<1	0,4	<0,1	2,0	0,2
8	1	2,4	<0,1	1,7	0,1	8	<1	0,4	<0,1	4,6	0,5
	2	2,0	<0,1	2,1	<0,1	6	<1	0,3	<0,1	4,9	0,2
	3	2,4	<0,1	2,2	0,3	5	<1	0,3	<0,1	2,8	0,1
	4	2,1	0,1	2,5	0,5	7	1	0,3	<0,1	2,2	0,1
9	1	1,7	0,2	1,8	<0,1	8	<1	0,3	<0,1	3,2	0,4
	2	1,9	0,1	2,4	<0,1	8	<1	0,3	<0,1	4,1	<0,1
	3	1,5	<0,1	3,1	0,1	7	<1	0,3	<0,1	2,9	<0,1
	4	1,7	<0,1	2,7	<0,1	6	<1	0,2	<0,1	2,1	0,2
10	1	1,7	0,1	1,4	0,2	7	<1	0,3	<0,1	2,6	<0,1
	2	1,6	<0,1	1,7	0,2	8	<1	0,2	<0,1	2,7	0,4
	3	1,5	0,2	1,8	<0,1	6	<1	0,2	<0,1	2,7	<0,1
	4	1,2	<0,1	1,9	0,1	4	<1	0,1	<0,1	1,6	<0,1
Témoïn		0,3	<0,1	1,1	0,2	7	<1	0,5	<0,1	1,3	<0,1

Tableau M : Contenus métalliques ( $\mu\text{g}/12$  individus  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons) dans les dreissènes transférées dans la Wiltz (cf. figures 36-40 pages 128-134; Exp. 6).

n.d.: non déterminé

Station	Echantillon	Cd ( $\mu\text{g/g}$ )		Cr ( $\mu\text{g/g}$ )		Cu ( $\mu\text{g/g}$ )		Pb ( $\mu\text{g/g}$ )		Sn ( $\mu\text{g/g}$ )	
		$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart
1	1	0,6	<0,1	11	<1	21	<1	12	<1	22	2
	2	0,4	<0,1	13	<1	16	<1	13	<1	23	1
	3	0,5	<0,1	12	<1	17	<1	13	<1	29	3
	4	0,7	<0,1	7	<1	20	2	8	<1	43	1
2	1	2,2	0,2	9	<1	14	<1	22	2	15	<1
	2	2,8	0,3	11	<1	13	<1	28	2	21	2
	3	4,0	0,2	10	<1	16	<1	35	2	34	2
	4	3,1	<0,1	9	<1	17	<1	25	<1	47	3
3	1	0,5	<0,1	9	<1	20	<1	9	<1	20	<1
	2	0,9	0,1	10	<1	18	<1	7	1	20	<1
	3	0,5	<0,1	9	<1	20	<1	11	<1	28	<1
	4	1,0	0,1	12	<1	27	<1	11	<1	47	2
4	1	1,6	<0,1	12	<1	60	4	4	<1	12	<1
	2	5,0	0,3	15	<1	90	2	5	<1	16	<1
	3	5,4	<0,1	10	<1	81	<1	6	<1	18	1
	4	12,3	1,6	12	<1	114	10	9	<1	48	5
5	1	5,1	0,1	13	<1	73	1	9	<1	16	2
	2	10,6	0,7	17	<1	113	2	9	2	18	<1
	3	7,2	0,4	20	<1	107	4	13	<1	24	<1
	4	13,7	<0,1	15	<1	166	9	11	<1	46	4
6	1	9,6	2,6	14	2	100	2	11	2	18	<1
	2	6,0	1,1	15	<1	93	5	7	<1	17	1
	3	7,5	0,3	13	<1	104	<1	9	1	20	1
	4	13,9	0,3	15	<1	169	<1	9	<1	42	1
7	1	13,2	0,3	18	1	107	4	12	<1	23	1
	2	2,2	0,2	14	<1	47	3	11	<1	17	1
	3	3,3	0,3	11	<1	52	3	10	<1	24	<1
	4	2,3	0,2	10	<1	48	<1	7	<1	49	2
8	1	11,8	1,6	15	<1	84	3	7	<1	22	1
	2	6,9	1,5	15	<1	66	<1	9	<1	21	2
	3	5,6	<0,1	10	<1	59	<1	8	<1	28	<1
	4	2,0	0,4	10	2	36	3	7	<1	37	6
9	1	11,3	1,1	13	<1	94	2	9	<1	24	<1
	2	7,2	0,4	18	<1	73	2	11	<1	25	1
	3	4,5	0,8	9	<1	49	5	8	<1	27	3
	4	2,6	0,4	8	<1	39	3	5	<1	39	1
10	1	1,1	0,2	8	<1	29	2	5	1	16	<1
	2	0,9	0,1	7	<1	24	1	4	<1	14	<1
	3	0,9	0,3	5	<1	23	2	5	<1	17	1
	4	2,3	0,4	8	<1	33	<1	7	<1	40	3
Témoïn	1	0,5	<0,1	13	1	12	<1	6	<1	23	1
	2	0,5	0,1	2	<1	10	<1	3	<1	11	<1
	3	0,6	<0,1	3	<1	15	<1	2	<1	26	3
	4	0,6	<0,1	3	<1	15	<1	4	<1	36	4

Tableau N : Concentrations métalliques ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons) dans les mousses aquatiques (*Fontinalis antipyretica*) transférées dans la Wiltz (cf. figures 36-40 pages 128-134; Exp. 6).

Station	Echantillon	Cr ( $\mu\text{g/g}$ )		Ni ( $\mu\text{g/g}$ )		Pb ( $\mu\text{g/g}$ )		Zn ( $\mu\text{g/g}$ )	
		$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart
1	1	7,5	0,4	17	2	1,9	<0,1	170	1
	2	7,9	0,6	17	<1	3,9	0,4	168	20
2	1	4,3	0,3	18	1	1,4	<0,1	134	3
	2	4,8	0,5	19	2	2,1	<0,1	142	11
3	1	4,2	<0,1	18	1	1,5	0,2	132	14
	2	3,9	0,9	21	1	2,1	0,2	129	4
4	1	15,9	1,3	21	3	1,3	0,1	117	3
	2	3,2	0,4	17	2	2,4	0,1	102	9
5	1	4,7	0,8	28	3	1,0	0,2	101	5
	2	1,3	0,2	40	1	1,2	<0,1	108	2
6	1	4,0	0,7	15	<1	1,2	0,2	112	5
	2	3,7	0,2	21	<1	2,2	0,3	124	4
7	1	3,4	0,1	17	<1	10,0	1,3	108	2
	2	3,2	0,4	22	2	8,3	1,2	124	10
8	1	1,4	0,1	17	2	2,6	0,5	97	4
	2	1,2	<0,1	18	<1	2,2	0,1	104	<1
Témoin		1,3	0,2	12	2	0,9	0,1	86	4

Tableau O : Concentrations métalliques ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons) dans les dreissènes transférées dans la Meurthe et dans la Plaine (cf. figures 41-44 pages 144-147; Exp. 7).

Station	Echantillon	Cr ( $\mu\text{g/g}$ )		Ni ( $\mu\text{g/g}$ )		Pb ( $\mu\text{g/g}$ )		Zn ( $\mu\text{g/g}$ )	
		$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart
1	tr. 1	37	1	24	3	136	11	1250	75
	tr. 2	19	<1	20	<1	126	5	520	13
	au.	73	1	24	3	101	10	840	45
2	tr. 1	18	<1	25	1	128	3	770	10
	tr. 2	15	<1	22	<1	127	3	530	24
	au.	n.d.		n.d.		n.d.		n.d.	
3	tr. 1	17	<1	30	2	120	<1	570	5
	tr. 2	15	<1	31	<1	124	4	500	12
	au.	57	12	50	5	55	2	760	75
4	tr. 1	14	<1	27	<1	119	2	410	8
	tr. 2	12	<1	27	2	125	13	400	44
	au.	13	<1	5	1	6	<1	110	4
5	tr. 1	13	<1	210	3	116	11	380	35
	tr. 2	10	<1	153	4	103	4	360	8
	au.	11	<1	295	7	11	1	260	15
6	tr. 1	13	<1	20	1	110	6	400	15
	tr. 2	9	<1	28	<1	110	2	410	22
	au.	17	2	94	7	49	4	1200	104
7	tr. 1	15	<1	27	<1	184	10	430	5
	tr. 2	11	<1	32	<1	169	2	450	5
	au.	29	1	63	3	288	10	790	34
8	tr. 1	10	<1	13	<1	107	5	310	13
	tr. 2	9	<1	18	<1	121	<1	380	8
	au.	n.d.		n.d.		n.d.		n.d.	
Témoïn	tr. 1	12	<1	15	<1	131	7	380	34
	tr. 2	10	<1	11	2	108	3	350	8

**Tableau P : Concentrations métalliques ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons) dans les mousses transférées (*Cinclidotus nigricans*, tr.) et dans les mousses autochtones (*Fontinalis antipyretica*, au.) collectées dans la Meurthe et dans la Plaine (cf. figures 41-44 pages 144-147; Exp. 7).  
n.d.: non déterminé**

Station	Echantillon	Cd ( $\mu\text{g/g}$ )		Cr ( $\mu\text{g/g}$ )		Cu ( $\mu\text{g/g}$ )		Pb ( $\mu\text{g/g}$ )		Zn ( $\mu\text{g/g}$ )	
		$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart	$\bar{x} \pm$	écart
1	1 C	3,5	0,2	2,6	0,4	18	<1	1,0	0,2	158	12
	P	4,0	0,2	1,7	0,4	17	<1	1,0	<0,1	134	5
	2 C	3,2	<0,1	3,1	<0,1	16	1	0,9	<0,1	222	3
	P	4,1	<0,1	2,7	0,2	16	<1	1,2	<0,1	161	10
2	1 C	5,2	0,1	5,5	0,3	30	3	1,3	0,1	291	43
	P	5,2	0,1	4,2	0,4	28	1	1,3	0,2	189	26
	2 C	6,3	0,2	11,0	1,0	119	<1	1,4	0,2	317	2
	P	10,5	1,5	11,0	1,9	76	8	2,1	0,1	171	18
3	1 C	3,5	0,4	4,3	0,2	20	1	1,2	<0,1	261	18
	P	4,4	0,2	4,1	0,5	19	<1	1,2	<0,1	130	11
	2 C	6,1	0,7	10,1	0,5	36	2	1,3	0,3	340	17
	P	8,1	0,8	10,9	1,1	36	5	1,1	0,2	232	26
4	1 C	1,9	0,2	1,5	<0,1	15	2	0,4	<0,1	136	17
	P	2,9	<0,1	1,1	<0,1	15	<1	0,5	<0,1	104	<1
	2 C	2,4	<0,1	1,9	0,2	16	2	0,5	<0,1	217	29
	P	3,4	0,3	2,0	<0,1	15	<1	0,5	<0,1	141	7
Témoïn	C	0,7	<0,1	0,7	<0,1	9	<1	0,2	<0,1	128	4
	P	0,9	<0,1	0,3	<0,1	14	<1	0,3	<0,1	107	<1

Tableau Q : Concentrations métalliques ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons) dans des dreissènes de deux populations différentes transférées dans la Wiltz (cf. figures 46-50 pages 152-155; Exp. 8).  
C : Commercy, P : Pont-à-Mousson

Station	Echantillon	Cd ( $\mu\text{g}$ )		Cr ( $\mu\text{g}$ )		Cu ( $\mu\text{g}$ )		Pb ( $\mu\text{g}$ )		Zn ( $\mu\text{g}$ )	
		x $\pm$ écart		x $\pm$ écart		x $\pm$ écart		x $\pm$ écart		x $\pm$ écart	
1	1 C	1,2	<0,1	0,9	<0,1	6	<1	0,3	<0,1	55	2
	P	1,3	0,1	0,6	0,1	6	<1	0,3	<0,1	44	<1
	2 C	1,0	<0,1	1,0	<0,1	5	<1	0,3	<0,1	69	4
	P	1,2	<0,1	0,8	<0,1	5	<1	0,3	<0,1	47	4
2	1 C	1,6	<0,1	1,7	0,1	9	1	0,4	<0,1	90	14
	P	1,6	0,1	1,2	<0,1	8	<1	0,4	<0,1	57	11
	2 C	1,5	<0,1	2,5	0,2	27	<1	0,3	<0,1	73	2
	P	2,4	0,3	2,5	0,4	17	2	0,5	<0,1	39	4
3	1 C	1,2	<0,1	1,4	<0,1	7	<1	0,4	<0,1	88	<1
	P	1,3	0,1	1,1	<0,1	5	<1	0,3	<0,1	37	6
	2 C	1,6	0,2	2,6	<0,1	9	<1	0,3	<0,1	88	<1
	P	1,9	<0,1	2,6	0,4	9	2	0,3	<0,1	54	3
4	1 C	0,8	<0,1	0,6	<0,1	6	<1	0,2	<0,1	57	7
	P	1,1	0,1	0,4	<0,1	6	<1	0,1	0,1	39	6
	2 C	1,0	<0,1	0,8	<0,1	7	<1	0,1	<0,1	90	10
	P	1,4	<0,1	0,8	<0,1	6	<1	0,2	<0,1	57	2
Témoïn	C	0,3	<0,1	0,2	<0,1	3	<1	<0,1		45	<1
	P	0,3	<0,1	<0,1		5	<1	0,1	<0,1	36	<1

Tableau R : Contenus métalliques ( $\mu\text{g}/12$  individus  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons) dans des dreissènes de deux populations différentes transférées dans la Wiltz (cf. figures 46-50 pages 152-155; Exp. 8).

C : Commercy, P : Pont-à-Mousson



Station	Echantillon	Cd ( $\mu\text{g/g}$ )	Cr ( $\mu\text{g/g}$ )	Cu ( $\mu\text{g/g}$ )	Pb ( $\mu\text{g/g}$ )	Zn ( $\mu\text{g/g}$ )
1	1 R	5,5	8	52	39	568
	F	5,3	8	54	38	551
	2 R	2,4	4	34	13	242
	F	3,5	4	48	13	313
2	1 R	8,3	19	67	27	591
	F	12,2	17	76	27	744
	2 R	9,4	48	214	17	381
	F	12,6	40	349	20	407
3	1 R	13,7	17	89	29	825
	F	14,3	16	93	30	894
	2 R	6,4	16	85	13	341
	F	4,9	16	92	10	246
4	1 R	1,8	7	34	9	168
	F	2,3	9	42	9	200
	2 R	1,5	5	25	7	121
	F	1,8	7	35	5	134
Témoïn	1 R	0,3	7	14	17	206
	F	0,6	4	11	7	178
	2 R	0,2	3	13	9	87
	F	0,1	3	10	5	72

**Tableau S : Concentrations métalliques ( $\mu\text{g/g}$  de poids sec  $\pm$  écart entre deux sous-échantillons) dans deux espèces différentes de mousses aquatiques transférées dans la Wiltz (cf. figure 51 page 156; Exp. 8).**

R : *Rhynchostegium riparioides*, F : *Fontinalis antipyretica*

## **Annexe 3**

### **Résumé anglais**

**Methods for processing the zebra mussel *Dreissena polymorpha* used as a bioindicator for trace metal contamination in freshwater ecosystems.**

**Comparison with another type of sentinel organisms, the aquatic mosses.**

#### **Abstract**

The zebra mussel *Dreissena polymorpha* provides a time-integrated biological assessment of the trace metal pollution in its ambient environment. The indication depends on the characteristics (intensity and duration) of the successive pollution events and on the own protection capacities of the animal. Different biomonitoring strategies are discussed. Active biomonitoring using translocated organisms appears to be particularly interesting, since it provides the possibility to apply the indication method to rivers which are not naturally colonized by the species. In that special case, a double impact can be monitored simultaneously : (i) the general water quality on the physiological condition of mussels and (ii) the bioavailability of trace metals in the water column. The assessment can be refined by using simultaneously a second sentinel organism, the aquatic mosses. From several points of view, both indicators can be considered as complementary to each other, especially regarding their integration capacity of water contamination. Thus, mosses may be used for monitoring short pollution events whereas mussels appear better suited for assessing a cumulative biological impact of trace metals. Precise experimental designs for a simultaneous use of both indicator organisms are suggested. Quality grids are defined for a pragmatic interpretation of the biomonitoring results obtained with the mussels and the mosses.

**Keywords :** biological indicator, trace metals, accumulation, biomonitoring,

*Dreissena polymorpha*, aquatic bryophytes.

# THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE METZ

---

**Auteur : Jacques MERSCH**

**Année : 1993**

---

## **Titre :**

**Modalités d'utilisation de la moule zébrée *Dreissena polymorpha* en tant qu'indicateur biologique de la contamination des écosystèmes d'eau douce par les métaux lourds. Comparaison avec un autre type d'organismes sentinelles, les mousses aquatiques. Etude dans le bassin de la Moselle.**

---

## **Résumé**

La moule zébrée *Dreissena polymorpha* fournit un bilan biologique intégré de l'état de pollution de son milieu environnant par les micropolluants métalliques. L'indication est modulée par les caractéristiques (intensité et durée) des épisodes successifs de contamination et par les moyens de lutte dont dispose l'animal. Différentes stratégies de surveillance biologique sont discutées. La technique de transfert de moules (surveillance active) est particulièrement intéressante, car elle permet d'étendre la méthode à des sites dépourvus de populations naturelles de l'espèce. Dans ce cas, il y a possibilité de mesurer un impact double : celui de la qualité générale de l'eau sur l'état physiologique des animaux et celui de la biodisponibilité des micropolluants métalliques circulants. La surveillance biologique est affinée par l'utilisation simultanée d'un second organisme sentinelle, les mousses aquatiques. Les deux indicateurs présentent en effet une certaine complémentarité, notamment en ce qui concerne la capacité d'intégration d'une pollution dans le temps. Ainsi, les mousses peuvent être avantageusement utilisées pour détecter des événements de courte durée tandis que les moules sont plus appropriées pour mesurer un impact biologique à moyen terme. Des modalités précises pour une utilisation simultanée des deux organismes sont proposées. Les données recueillies sur le terrain sont hiérarchisées à l'aide de grilles de qualité.

---

**Mots-clés :** indicateur biologique, métaux lourds, accumulation, surveillance biologique, *Dreissena polymorpha*, bryophytes aquatiques.