AVERTISSEMENT

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

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

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

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

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE Paul Verlaine - METZ
S.C.D.
N° Inv 2004094S
Cote S/M3 04/32
LOC mag. 1er étage

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

Laboratoire Biodiversité
et Fonctionnement
des Ecosystèmes

Equipe Production des
Ecosystèmes

THESE de DOCTORAT

Ecole doctorale : Sciences et Ingénierie des Ressources Procédés Produits Environnement
Discipline: Sciences de la vie
Mention : Ecotoxicologie

EXCLU DU PRÊT

Présentée par

Ingrid VINOT

Impact des rejets de cuivre et zinc en milieu aquatique : Circulation, Spéciation, Biodisponibilité, Bioaccumulation, Transfert et Toxicité

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE DE METZ
031 536360 5

Soutenue le 6 Juin 2004 devant la commission d'examen :

Jean Claude PIHAN, Professeur à l'Université de Metz ..... **Directeur de thèse**
Jacqueline GARNIER-LAPLACE, HDR à l'Université de Aix-Marseille I ..... **Rapporteur**
Daniel THEVENOT, Professeur à Université Paris XII - VAL de Marne ..... **Rapporteur**
Jean Pierre VERNET, Professeur honoraire à l'Université de Genève ..... **Rapporteur**
Delphine ARAN, Maître de conférences à l'Université de Metz ..... **Examinateur**
Jean François FERARD, Professeur à l'Université de Metz ..... **Examinateur**
Michel KHALANSKI, Ingénieur d'étude EDF ..... **Examinateur**

UNIVERSITE Paul Verlaine - METZ
S.C.D.
N° Inv 2004 0945
Cote S/M3 04/32
Loc mag. 1° étage

PPN 098 99 2600

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

Laboratoire Biodiversité
et Fonctionnement
des Ecosystèmes

Equipe Production des
Ecosystèmes

THESE de DOCTORAT

Ecole doctorale : Sciences et Ingénierie des Ressources Procédés Produits Environnement
Discipline: Sciences de la vie
Mention : Ecotoxicologie

EXCLU DU PRÊT

Présentée par

Ingrid VINOT

Impact des rejets de cuivre et zinc en milieu aquatique : Circulation, Spéciation, Biodisponibilité, Bioaccumulation, Transfert et Toxicité

Soutenue le 6 Juin 2004 devant la commission d'examen :

Jean Claude PIHAN, Professeur à l'Université de Metz ..... **Directeur de thèse**
Jacqueline GARNIER-LAPLACE, HDR à l'Université de Aix-Marseille I ..... **Rapporteur**
Daniel THEVENOT, Professeur à Université Paris XII - VAL de Marne ..... **Rapporteur**
Jean Pierre VERNET, Professeur honoraire à l'Université de Genève ..... **Rapporteur**
Delphine ARAN, Maître de conférences à l'Université de Metz ..... **Examinateur**
Jean François FERARD, Professeur à l'Université de Metz ..... **Examinateur**
Michel KHALANSKI, Ingénieur d'étude EDF ..... **Examinateur**

Je dédie ce travail

A ma famille de toujours, mes parents, mon frère, ma p'tite soeur, sans oublier « graou »,

A ma nouvelle famille, Vincent pour son amour, son soutien de tous les jours et Titou.

A mes amis, Catherine alias louloute et Vincenze pour leur présence, leur patience et leur affection.

Remerciements

Au cours de ces quatre années de thèse, de nombreuses personnes ont contribué à l'aboutissement de ces travaux par leurs actions, leurs conseils ou leur soutien et je tiens à les en remercier.

En premier lieu, je tiens tout particulièrement à remercier Monsieur ***Jean Claude Pihan****, Professeur à l'université de Metz et directeur de thèse pour son accueil dans l'équipe « Production des écosystèmes», son encadrement, son humanité mais également pour la confiance qu'il m'a accordé en me laissant la liberté de l'orientation de mes travaux.*

Madame ***Delphine Aran****, maître de conférences à l'université de Metz et plus particulièrement co-encadrante des travaux sur la spéciation des métaux.*

Je tiens également à exprimer ma plus profonde reconnaissance à ***J. Garnier-Laplace*** *HDR à l'université de Provence - Aix Marseille I – Directeur du laboratoire de Radioécologie et Ecotoxicologie de l' Institut de radioprotection et sûreté nucléaire, à* ***D. Thevenot*** *Professeur à l'université Paris XII - VAL de Marne (UPVM) – Faculté des sciences et Technologie et* ***J.P. Vernet*** *Professeur honoraire de l'institut A. Forel – Dr Honoris causa des universités de Bucarest et Bordeaux, pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'être rapporteurs de ce travail.*

Conjointement, j'adresse mes plus vifs remerciements à ***Jean François Ferard*** *professeur de l'université de Metz et* ***Michel Khalanski*** *ingénieur EDF à la DER Chatou, d'avoir accepté de juger la qualité de cette recherche en tant que membres du jury. J'adresse toute ma gratitude à* ***Mr. Khalanski*** *pour sa disponibilité, ses conseils, son aide précieuse dans l'interprétation des données et sa bienveillance.*

Je tiens à exprimer ma gratitude à toute l'équipe du CNPE de Cattenom pour leur accueil et leur assistance dans la mise en place des dispositifs de Prélèvements. Plus particulièrement je remercie J.C. ***Moutenet*** *et X.* ***Pain*** *qui ont suivi l'ensemble de ce travail, Mr* ***Chabal*** *pour son accueil et Mr* ***Costella*** *pour sa disponibilité.*

Un grand merci également à l'équipe de la DER Chatou et plus particulièrement à ***D. Vazelle et V. Mataix.***

Je remercie également l'équipe du ***Conseil Supérieur de la Pêche*** *pour nous avoir permis de collecter du poisson en rivière Moselle.*

Merci à Monsieur ***J. Ghanbaja****, docteur, ingénieur de recherche à l'université de Nancy I, responsable du service commun de microscopie électronique et de microanalyse, qui s'est associé aux recherches sur la spéciation des métaux dans les sédiments. Merci pour l'intérêt que vous avez porté à ce sujet, votre disponibilité et votre aide dans l'interprétation des résultats.*

Merci à Monsieur ***Baubron****, directeur BRGM, service géologique régional de Lorraine de Vandoeuvre-Les-Nancy pour l'intérêt porté aux dosages de métaux traces dans les sédiments et pour avoir permis de valider nos résultats.*

J'adresse une mention spéciale à Mr le Garde pêche du Mirgenbach pour ses visites régulières sur le terrain et sa disponibilité. Merci d'avoir veiller sur nos dispositifs en Moselle !

Merci à toutes les personnes qui au sein du laboratoire, m'ont accompagnée et assistée au cours de ce travail :

A ***Philippe Wagner*** *alias Grand chef, pour sa rigueur, sa convivialité et son éternelle bonne humeur. Merci également pour tout ce que tu m'as appris sur le terrain.*

A ***J.F. Poinsaint*** *alias Mc giver, qui trouve toujours une astuce pour nous aider dans la fabrication de nos dispositifs.*

A ***N. Kleinen*** *et* ***C. Drui*** *pour leur assistance dans les démarches administratives, leur patience, leur bonne humeur et leur amitié.*

A ***M. Ollivier*** *pour sa disponibilité et son aide dans la recherche de documentation scientifique.*

Merci à mes deux compères de bureau :

M'zieur Rousselle *pour ses précieux conseils, sa disponibilité et son humour*

__Etienne Morhain__ alias __« Ne pas toucher »__ __Eti__ ou __speedy N°2__ pour m'avoir formé aux joies des dosages en SAA. Merci de m'avoir enseigné une telle rigueur dans le travail. Merci également pour ton amitié, ton écoute, tes conseils et tout ce que l'on a partagé.

A __Karine__ et __Edwige__, mes binômes de terrain pendant deux ans, avec qui j'ai partagé les fous rire et les déboires du terrain (les enlisements et autre baignade forcée…). A __Edwige__, ma grande amie et compagne de pause thé, merci pour ton amitié, ta joie de vivre et pour tous ces moments chaleureux passés en ta compagnie

A mes autres compagnons de pause thé et de repas, pour tous les moments de convivialité passés ensemble.

A __Virginie__, pour son amitié et sa générosité,

A __Béné__ avec qui je partage les joies et déboires des dissections, des minéralisations et des dosages,

A __Sam__ mon compère de dissection de poisson, je n'oublierai jamais l'odeur du poisson pourri et liquéfié,

A __Chafik__, pour son amitié,

A __Guillaume__, mon voisin de bureau et compagnon de week-end au laboratoire,

A __Manu, Damien, Sandrine, Simon, Arnaud, Fanny, François__ et tous les autres, merci d'avoir été là et d'avoir crée une ambiance de travail amicale et chaleureuse.

A __Alexandre Cappracci__, stagiaire de maîtrise, je tiens à adresser mes remerciements pour son aide précieuse, sa curiosité et son enthousiasme. Toutes mes excuses pour les manip dominicales !

Un grand merci à toutes les personnes qui m'ont épaulée ou conseillée pendant ces quatre années.

Ce travail a été financièrement soutenu par __La Direction Environnement et Recherche (DER) de Chatou__ & __Le CNPE de Cattenom__.

SOMMAIRE

Remerciements
Liste des Abréviation
Résumé
Liste des Figures
Listes des Tableaux

Avant propos **1**

Partie I : Synthèse bibliographique

I. Chapitre I. Propriétés des métaux cuivre et zinc. Principales sources, Cycles géochimiques, Spéciation et Biodisponibilité **9**
I.1. Présentation des métaux et de leurs alliages 10
I.1.1. Identité 10
I.1.1.1. Le cuivre 10
I.1.1.2. Le zinc 10
I.1.2. Propriétés et utilisation du cuivre et du zinc 11
I.1.2.1.Le cuivre 11
I.1.2.2. Le zinc 11
I.1.2.3. Le laiton 12
I.2. Les sources de cuivre et zinc dans l'environnement 12
I.2.1. Le cuivre 12
I.2.1.1. Les sources naturelles 12
I.2.1.2. Les sources anthropogéniques 13
II.2.2. Le zinc 13
I.2.2.1. Les sources naturelles 13
I.2.2.2. Les sources anthropogéniques 14
I.3. Cycles géochimiques des métaux dans l'écosystème 14
I.3.1. Réactivité chimique dans l'eau 14
I.3.1.1. La dissociation acido-basique 14
I.3.1.2. La complexation 15
I.3.1.3. Réaction REDOX 17
I.3.1.4. L'équilibre solubilité-précipitation 17
I.3.2. Adsorption au niveau des sédiments 18
I.3.3. Spéciation du cuivre et du zinc en phase dissoute 18

I.4. Biodisponibilité et Spéciation des métaux 20
I.4.1. Spéciation du cuivre et du zinc en milieu naturel 21
I.4.2. Biodisponibilité des métaux Cuivre et zinc dans la colonne d'eau 24
I.4.3. Biodisponibilité des métaux des particules sédimentaires et sédiments 26
I.4.4. Biodisponibilité des métaux dans les chaînes trophiques 28

II. Chapitre II. Toxicité et écotoxicité des métaux cuivre et zinc 29
II.1. Les voies d'exposition, entrée et transport du cuivre et du zinc chez les organismes.29
II.1.1. Les voies d'exposition 31
II.1.2. Facteurs interférant avec l'assimilation des métaux 31
II.1.2.1. Les facteurs abiotiques (Tableau I-4, I-5) 31
II.1.2.2. Les propriétés comportementales et physiologiques 34
II.1.2.3. Variabilité inter-individuelle 34
II.1.2.4. L'influence du cycle biologique 35
II.1.3.Bioaccumulation des métaux cuivre et zinc 35
II.1.3.1. Les voies d'entrée et transport des métaux dans les organismes 36
II.1.3.1.a. Chez les organismes végétaux 36
II.1.3.1.b. Les voies d'entrée des métaux chez les invertébrés : traversée des barrières biologiques 37
II.1.3.2. Détoxication et séquestration des métaux 40
II.1.3.2.a. Chez les végétaux 40
II.1.3.2.b. Chez les animaux 41
II.1.3.2.2.b1. Les Métallothinéines (MTs) 42
II.1.3.2.2.b2. Les granules 43
II.1.3.3. Excrétion des métaux 45
II.1.3.4. Niveaux de bioaccumulation observés dans les organismes 47
II.1.3.4.a. Les végétaux 47
II.1.3.4.b. Les invertébrés 47
II.2. Toxicité des métaux 52
II.2.1. Concept de métaux essentiels et non essentiels 52
II.2.1.1. Métaux non essentiels 52
II.2.1.2. Métaux essentiels 52
II.2.2. Les effets toxiques des polluants 53
II.2.2.1. Les événements écotoxicologiques 53
II.2.2.2. Toxicodynamique 54
II.2.3. Toxicité du cuivre sur les organismes aquatiques 57
II.2.3.1. La toxicité aiguë ou à court terme du cuivre 58
II.2.3.2. Les effets toxiques chroniques ou à long terme du cuivre sur les organismes et les communautés 65
II.2.3.2.a. Toxicité à long terme ou chronique du cuivre et effets sur les organismes 65
II.2.3.2.b. Toxicité à long terme ou chronique du cuivre sur les communautés 66

II.2.4. Toxicité du zinc sur les organismes aquatiques 67
II.2.4.1. La toxicité aiguë du zinc 67
II.2.4.2. La toxicité chronique du zinc 69
II.3. Tolérance des organismes au métaux cuivre et zinc 70
II.4. Influence du milieu sur la toxicité des métaux 72
II.4. 1. La toxicité du cuivre 72
II.4. 2. La toxicité du zinc 73
II.5. Evaluation du risque environnemental lié à la toxicité des métaux 74
II.5.1 Modélisation 74
II.5.2. Les seuils de qualité de l'eau pour le cuivre : SEQ-eau – Potentialité biologique 76
II.5.3. Les seuils de qualité de l'eau pour le zinc : SEQ-eau – Potentialité biologique. 78

Partie II : Matériels et méthodes

I. Chapitre I. Description du site d'étude 81
I.1. Localisation du site d'étude 82
I.2. Le circuit de l'eau de refroidissement 83
I.3. Origine de la contamination métallique dans les sites d'étude 85
I.4. les stations de prélèvement 87
I.4.1. Les stations situées en rivière Moselle 87
I.4.2. Les stations situées sur la retenue du Mirgenbach 90
I.4.3. Les stations situées dans les installations de la centrale de Cattenom 92

II. Chapitre II. Choix des matériels et Méthodologie d'échantillonnage 92
II.1. Les matériels abiotiques 93
II.1.1. Le choix des matériels 93
II.1.2. Echantillonnages 94
II.1.2.a. Prélèvement d'échantillons d'eau 94
II.1.2.b. Prélèvement des sédiments 95
II.2. Les matériels biotiques 96
II.2.1. Choix des organismes retenus en biosurveillance passive 98
II.2.1.1. Présentation de la chaîne trophique étudiée dans la retenue du Mirgenbach 98
II.2.1.2. Les organismes végétaux choisis pour leur qualité d'indicateur 99
a. Le phytoplancton 100
b. Les algues 101

b.1. Présentation des espèces d'algues vertes 101
b.1.1. *Cladophora* 101
b.1.2. *Oedogonium* 102
b.1.3. *Enteromorpha intestinalis* 102
b.2. Echantillonnage 103
c. Les macrophytes 103
c.1. Présentation des espèces 103
c.1.1. *Potamogeton pectinatux* 103
c.1.2. *Myriophyllum* sp. 103
c.2. Echantillonnage 103
II.2.1.3. Les organismes animaux choisis pour leur qualité d'indicateur 104
a. Les consommateurs primaires 104
a.1. Le zooplancton 104
a.2. Crustacés décapodes (*Atyaephyra desmaresti*) 104
a.3. Mollusques gastéropodes pulmonés (*Radix ovata*) 106
a.4. Mollusques gastéropodes prosobranches (*Viviparus viviparus*) . 107
a.5. Mollusques lamellibranches 107
a.5.1. Les mollusques lamellibranches fixés (*Dreissena polymorpha*) 107
a.5.2. Les mollusques lamellibranches fouisseurs (*Corbicula fluminea*) 109
b. Les consommateurs secondaires 111
b.1. Crustacés amphipodes (*Dikerogammarus villosus*) 111
b.2. Crustacés décapodes astacidés (*Orconectes limosus*) 112
b.3. Poissons cyprinidés (*Abramis brama et Rutilus rutilus*) 113
c. Les consommateurs tertiaires 116
d. Les détritivores (*Bithynia tentaculata*) 117
II.2.1.4. Synthèse des études des compartiments abiotiques et biotiques par station 118
II.2.2. Les organismes retenus en biosurveillance active 119

III. Chapitre III. Méthodes analytiques 122
III.1. Les compartiments abiotiques 122
III.1.1. Traitement des échantillons 122
III.1.1.1. L'eau brute et l'eau filtrée 122
III.1.1.2. Matières décantées 122
III.1.1.2.a. Les matières décantées du sédimentomètre 122
III.1.1.2.b. Les matières décantées du circuit de refroidissement 122
III.1.1.3. Les sédiments 123
III.1.2. Minéralisation 123
III.1.3. Extraction séquentielle : Etude de la spéciation des métaux associés à la phase particulaire dans le système CNPE de Cattenom – retenue du Mirgenbach – Moselle 124

III. 2. Les compartiments biotiques 128
III.2.1. Traitement des échantillons 128
III.2.1.1. le plancton 128
III.2.1.2. Les invertébrés 129
III.2.1.3. Les poissons 129
III.2.2. Minéralisation 129

III.3. Technique analytique: Spectrophotométrie d'absorption atomique 130
III.3.1. SAA en flamme 130
III.3.2. SAA Four 130
III.3.3. Contrôle de la procédure de dosage 131

IV. Chapitre IV. Micoanalyses : EDX 131

V. Chapitre V. Analyses des données : Méthodes statistiques 132

Partie III : Résultats - Discussions

Introduction 134

I. Chapitre I. Etude de la contamination métallique des compartiments abiotiques..... 135

I.1. Identification des métaux rejetés par la centrale de Cattenom et évaluation des niveaux de contamination de l'eau brute lors du suivi de l'année 2001 135
I.1.1. Résultats et discussion 135
I.1.1.1. Comparaison des concentrations métalliques en Cu, Zn, Pb, Ni et Cd dans l'eau brute entre les différentes stations en Moselle (Mos1 amont, Mos2 rejet et Mos3 aval) et dans le Mirgenbach (Mir M : station centrale) au cours de l'année 2001 135
I.1.1.1.a. Comparaison entre Mos 1 et Mir M 137
I.1.1.1.b. Comparaison entre Mir M et Mos 2 137
I.1.1.1.c. Comparaison entre Mos 1 et Mos 2 138
I.1.1.1.d. Comparaison entre Mos 1 et Mos 3 139
I.1.1.2. Première évaluation des niveaux de contamination des stations en Moselle (Mos1, Mos2 et Mos3) et Mirgenbach (Mir M) 139
I.1.1.3. Caractérisation du rejet de cuivre par le circuit de refroidissement de la centrale et mise en évidence du rejet de zinc. (Station C1 et C2) 140
I.1.1.3.a. Les concentrations métalliques dans l'eau d'appoint du circuit de refroidissement (C1) 140

I.1.1.3.b. Les concentrations métalliques en sortie des condenseurs en laiton - station C2 142
I.1.1.3.c. Etude de la relation cuivre - zinc dans l'eau brute de la station C2.144
I.1.1.3.d. Estimation des gammes de concentration en cuivre et en zinc attendues au niveau de la station Mir inj 145
I.1.2. Conclusion partielle 147

I.2. Etude des variations de la contamination en cuivre et en zinc dans l'eau brute, de janvier 2001 à mai 2003 149
I.2.1. Résultats et discussion 149
I.2.1.1. Variation spatio-temporelle des concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute. Suivi métallique de janvier 2001 à mai 2003 149
I.2.1.1.a. Variation saisonnière des concentrations en cuivre et en zinc 149
a. Les concentrations en cuivre dans l'eau brute 150
b. Les concentrations en zinc dans l'eau brute 151
I.2.1.1.b. Evolution spatiale des concentrations en cuivre et en zinc 152
I.2.1.1.c. Relation entre l'évolution des concentrations en cuivre et en zinc. 154
I.2.1.1.d. Variation interannuelle des concentrations en cuivre et en zinc 157
I.2.2. Conclusion partielle 159

I.3. Evolution de la répartition du cuivre et du zinc entre les phases soluble et particulaire au niveau des différentes stations 161
I.3.1. Résultats 162
I.3.2. Discussion et conclusion partielle 165

I.4. Transport et distribution du cuivre et du zinc dans les compartiments abiotiques de la retenue du Mirgenbach 168
I.4.1. Répartition et circulation du cuivre dans les compartiments abiotiques de la retenue du Mirgenbach 169
I.4.1.1. Abstract 169
I.4.1.2. Introduction 170
I.4.1.2. Materials and methods 171
I.4.1.2.a. Study area 171
I.4.1.2.b. Sampling points and sites 172
I.4.1.2.c. Sampling and sample preparation 173
I.4.1.2.d. Analytical technique 174
I.4.1.2.e. Statistical analysis 174
I.4.1.3. Results and discussion 175
I.4.1.3.a. Copper concentrations in water 175
a. Total copper concentrations in water from the Moselle river and from the tertiary cooling system 175
b. Spatial and temporal variations in total copper concentrations in the water from Mirgenbach lake 175
c. Dissolved and particulate copper in water from Mirgenbach lake 178

I.4.1.3.b. Copper concentrations in decanted matter (DM) and fluxes of copper towards the sediments 178
a. Copper concentrations in DM 178
b. Copper fluxes 180
I.4.1.3.c. Principal component analysis (PCA) and Pearson correlation matrix analysis 181
I.4.1.3.d. Bottom sediments 185
I.4.1.3.e. Estimation of copper fluxes (kg of Cu per day) in the entire lake .. 187
I.4.1.4. Conclusion 188
I.4.1.5. Bibliography 189
I.4.2. Répartition et circulation du zinc dans les compartiments abiotiques de la retenue du Mirgenbach 192
1.4.2.1. Résultats 192
I.4.2.1.a. Etude des concentrations en zinc dans les matières décantées et comparaison avec les concentrations en cuivre 192
I.4.2.1.b. Etude des facteurs influençant la décantation du zinc vers les sédiments 193
I.4.2.1.c. Etude des concentrations en zinc dans les sédiments et mise en relation avec l'évolution des concentrations en cuivre 196
I.4.2.1.d. Estimation des flux globaux de zinc dans la retenue du Mirgenbach 198
I.4.2.2. Discussion 199

I.5. Niveau de contamination en cuivre et en zinc dans les MES du circuit de refroidissement et dans des sédiments de la Moselle 203
I.5.1. Résultats 204
I.5.1.1. Etude de la contamination en cuivre et en zinc des sédiments en rivière Moselle 204
I.5.1.2. Etude de la contamination en Cu et Zn des MES dans le circuit de refroidissement (C1 et C2) 205
I.5.1.3. Synthèse des résultats relatifs aux teneurs en cuivre et zinc des sédiments et MES sur toutes les stations d'étude 206
1.5.2. Discussion et conclusion partielle 208

II. Chapitre II. Spéciation du cuivre en écosystème lacustre et modification de la spéciation de la prise d'eau au rejet (circuit de refroidissement tertiaire) 210

II.1. Résultats 210
II.1.1. Caractéristiques granulométriques et physico-chimiques des sédiments étudiés 210
II.1.1.1. Caractéristiques granulométriques 210
II.1.1.2. Caractérisation chimique des sédiments 212
II.1.2. Spéciation chimique du cuivre dans les sédiments : Résultats des procédures d'extractions séquentielles 216
II.1.3. Résultats des analyses aux rayons X 219

II.2. Discussion 221
II.2.1. Relation entre la physico-chimie des sédiments et la spéciation du cuivre 221
II.2.2. La spéciation du cuivre dans les particules sédimentaires 224
II.2.3. Relation entre la spéciation du cuivre et sa biodisponibilité 227

III. Chapitre III. Biodisponibilité du cuivre et du zinc 229

III.1. Biosurveillance passive 229
III.1.1. Les Mollusques benthiques bivalves 229
III.1.1.1. Les dreissènes (*Dreissena polymorpha*) 229
III.1.1.1.a. Variation stationnelle des niveaux de contamination en cuivre et en zinc dans les dreissènes autochtones (DA) 229
III.1.1.1.b. Relation entre le niveau de contamination du milieu et celui de l'organisme 230
III.1.1.1.c. Variation temporelle des niveaux de contamination en cuivre et en zinc dans les DA 234
III.1.1.1.d. Etude de la relation entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les DA dans un contexte de faible et de forte contamination en cuivre 236
III.1.1.1.e. Discussion 237
a. Les niveaux de bioaccumulation des métaux dans les organismes 237
b. Variations stationnelles des concentrations en cuivre et en zinc dans les DA 238
b.1. Le cas du cuivre 238
b.2. Le cas du zinc 240
c. Variations saisonnières des concentrations en cuivre et en zinc dans les DA 242
d. La relation entre les concentrations en cuivre et en zinc dans l'organisme 243
e. Le seuil de toxicité des métaux dans l'organisme 244
III.1.1.2. Les corbicules (*Corbicula fluminea*) 246
III.1.1.2.a. Variation stationnelle des niveaux de contamination en cuivre et en zinc dans les corbicules autochtones (CoA) 246
II.1.1.1.b. Variation temporelle des niveaux de bioaccumulation dans les corbicules autochtones (CoA) 247
III.1.1.2.c. Relation entre le niveau de contamination du milieu et celui de l'organisme 249
III.1.1.2.d.. Etude de la relation entre les teneurs en cuivre et en zinc dans les CoA en fonction de la station d'étude 249
III.1.1.2.e. Discussion partielle 251

a. Variation stationnelle des niveaux de bioaccumulation en cuivre et en zinc dans les corbicules autochtones (CoA) 251
b. Relation entre le niveau de bioaccumulation en cuivre et en zinc des

corbicules autochtones avec le niveau de contamination du site d'étude 251
c. Variations saisonnières des niveaux de bioaccumulations en cuivre et en zinc dans les corbicules autochtones 252
d. Relation entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les corbicules autochtones 252
e. Comparaison entre les réponses de bioaccumulation fournies par les dreissènes et les corbicules autochtones aux différentes stations 253
III.1.2. Etude de la bioaccumulation du cuivre et du zinc par les crustacés 254
III.1.2.1. Résultats 254
III.1.2.1.a. Profils de bioaccumulation du cuivre et du zinc par les gammares aux différentes stations d'étude 254
III.1.2.1.b. Comparaison des profils d'accumulation du cuivre et du zinc par les gammares 257
III.1.2.1.c. Influence de la taille des gammares sur les concentrations en cuivre et en zinc 257
III.1.2.1.d. Comparaison des profils de bioaccumulation du cuivre et du zinc chez deux espèces de crustacés, un amphipode (gammare, *Dikerogammarus villosus*) et un décapode (caridine, *Atyaephyra desmaresti*). Corrélations avec les concentrations dans l'eau 258
III.1.2.2. Discussion 259
III.1.3. Bioaccumulation du cuivre et du zinc par les gastéropodes aquatiques : *Viviparus viviparus* et *Radix ovata* 263
III.1.3.1. Résultats 263
III.1.3.1.a. Bioaccumulation du cuivre et du zinc chez *Viviparus viviparus* . 263
III.1.3.1.b. Bioaccumulation du cuivre et du zinc chez *Radix ovata* 265
III.1.3.2. Discussion 265
III.2. Biosurveillance active 267
III.2.1. *Dreissena Polymorpha* transférées (DT) 267
III.2.1.1. Résultats 267
III.2.1.1.a. Etude de la cinétique d'évolution des concentrations en cuivre et en zinc dans les dreissènes transférées (DT) 267
a. Etude des cinétiques de bioaccumulation du cuivre par *D. polymorpha* au cours des transferts 269
b. Etude des cinétiques de bioaccumulation du zinc par *D. polymorpha* au cours des transferts 272
III.2.1.1.b. Comparaison de la bioaccumulation du cuivre et du zinc par les dreissènes autochtones et les dreissènes transférées. Validation des techniques de biosurveillance active appliquées à *D. Polymorpha* 273
III.2.1.2. Conclusion partielle 278
III.2.2. Les corbicules transférées 280
III.2.1.1. Résultats 280
III.2.2.1.a. Etude de la cinétique d'évolution des concentrations en cuivre

et en zinc dans les Corbicules trasférées (CoT) 280
a. Etude des cinétiques de bioaccumulation du cuivre par *C. fluminea* au cours des transferts 281
b. Etude des cinétiques de bioaccumulation du zinc chez *C. fluminea* au cours des transferts 285
c. Relation entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les corbicules transférées et celles du milieu 288
d. Influence de la taille sur l'accumulation du cuivre par *C. fluminea* ... 288
e. Comparaison des résultats obtenus lors de l'étude de la bioaccumulation du cuivre et du zinc dans les corbicules autochtones et transférées 289
III.2.2.2. Conclusion partielle 289
III.2.2.2.a. Etude des cinétiques d'évolution des concentrations en cuivre et en zinc 289
III.2.2.2.b. Comparaison des profils d'accumulation des CoA avec celui des CoT 292

IV. Chapitre IV. Impact écotoxicologique et Transfert du cuivre et du zinc dans la retenue 294

IV.1. Abstract 294
IV.2. Introduction 295
IV.3. Materials and method 297
IV.3.1. Study area 297
IV.3.2. Biological materials: sampling and sampling sites 298
IV.3.3. Chemical and data analysis 299
IV.4. Results 300
IV.4.1. Copper distribution in the food chains in Mirgenbach lake 300
IV.4.1.1 Copper distribution in the food chains 304
IV.4.1.2. Factors of copper transfer in the food chain 305
IV.4.2. Ecotoxicity of the chronic release of copper in Mirgenbach lake: Study of plankton 306
IV.5. Discussion 307
IV.5.1. Distribution of copper in the food chain 307
IV.5.2. Factors of copper transfer in the food chain 309
IV.5.3. Comparison with other results and Pollution factors 309
IV.5.4. Ecotoxicity of copper 311
IV.6. Reference 314

Partie IV : Synthèse et perspectives

I. Mise en évidence du niveau de contamination métallique des sites d'étude 323
II. Caractérisation du rejet de cuivre et de zinc par le CRF de la centrale de Cattenom 323
III. Etude de la contamination en cuivre et en zinc dans l'eau brute de la retenue..... 325
IV. Etude de la répartition du cuivre et du zinc dans la retenue du Mirgenbach..... 326
V. Etude de la spéciation du cuivre dans les sédiments des sites d'étude 332
VI. Etude de la biodisponibilité du cuivre et du zinc 335
VII. Synthèse des résultats obtenus en biosurveillance active 346
VIII. Perspectives 347

Références bibliographiques citées 349
Liste des Annexes 393
Annexes 394

RESUME

L'objectif de la recherche est d'évaluer l'impact d'un apport en cuivre et en zinc (dont l'origine est la corrosion des échangeurs en laiton du circuit de refroidissement (CRF) d'une centrale nucléaire) sur deux systèmes aquatiques, une retenue de barrage et la rivière Moselle. Ces deux écosystèmes présentent des niveaux de contamination différents, la retenue recevant directement les eaux de purge du CRF avant leur rejet en Moselle.

Une étude complète de la distribution, de la circulation et des transferts (quantification des flux) des métaux cuivre et zinc est réalisée *in situ* dans les compartiments abiotiques (eau – matières décantées – sédiments) de la retenue du Mirgenbach. La spéciation du cuivre dans les sédiments du CRF, de la retenue et de la rivière est abordée via une technique d'extraction séquentielle ; complétée par une caractérisation des sédiments et une analyse des minéraux. Ces techniques ont démontré le rôle majeur des fractions oxydable, réductible et acido-soluble dans le piégeage du cuivre et du zinc dans les sédiments. Le rôle des sulfures dans la liaison et la mobilité du cuivre dans les sédiments et les matières décantées est discuté.

Conjointement, un suivi mensuel de la biodisponibilité du cuivre et du zinc pour les organismes autochtones est conduit durant deux ans, sur la rivière Moselle et sur la retenue, pour mieux comprendre l'impact des facteurs biotiques (taille des organismes, cycle biologique) et des facteurs abiotiques (saisons, contamination du milieu) sur les niveaux de bioaccumulation avec mise en évidence des profils d'accumulation (régulation, accumulation avec ou sans excrétion, variation interspécifiques des profils).

Globalement ces deux métaux sont accumulés dans les organismes jusqu'à des niveaux élevés pouvant atteindre dans le cas du cuivre et dans la retenue du Mirgenbach des valeurs de 952 mg Cu/kg de ms chez *Dreissena*. Tous les organismes étudiés présentent des niveaux de bioaccumulation caractéristiques du niveau de contamination des sites. Les taux d'accumulation les plus élevés sont mesurés en automne-hiver et ceci s'explique par le fonctionnement cyclique des organismes. Les différences interspécifiques de bioaccumulation sont expliquées, entre autres, par des différences d'habitat, de nutrition, de physiologie. L'absence de corrélation entre le niveau de bioaccumulation et la concentration métallique dans le milieu est surtout le fait, notamment en rivière, de la non représentativité des échantillons ponctuels d'eau brute et de la difficulté d'identifier les sources de contamination (eau, sédiments, alimentation).

Parallèlement à ces travaux, des mollusques bivalves non contaminés (*C. fluminea et D. polymorpha*) sont transférés (biosurveillance active) dans 4 stations, trois stations Moselle et une station Mirgenbach. Les mesures de la bioaccumulation des métaux par ces mollusques révèlent des cinétiques de contamination rapides, notamment dans le cas du cuivre, à partir du cuivre et du zinc présents dans le milieu. L'utilisation de la technique de biosurveillance active a permis de valider l'utilisation des transferts de corbicules et de dreissènes pour réaliser un suivi de l'état de contamination en lac et en rivière. La corbicule présente, par rapport à la dreissène, l'avantage de se trouver à l'interface eau-sédiments et, dans le cas du zinc, fournit une information plus spécifique du niveau de contamination que la dreissène.

Le zinc, aux concentrations mesurées aux différentes stations, ne semble pas générer de risques toxiques pour la biocœnose qui présente dans l'ensemble des systèmes de régulation efficaces. L'absorption du zinc est fortement dépendante des conditions du milieu et de la biologie des espèces.

Les risques pour la biocœnose liés à l'apport en cuivre sont abordés via une étude complète de la distribution, de la circulation et des transferts du cuivre *in situ* dans les différents compartiments biotiques autochtones de la retenue. La biodisponibilité du cuivre est démontrée pour tous les organismes étudiés, de même que l'existence de quelques voies de biomagnification dans la chaîne trophique.

Les effets toxiques du cuivre à long terme se traduisent par une diminution de la production planctonique et la disparition d'espèces sensibles (*Hydrodictyon, Aphanizomenon*), conformément aux prédictions de la grille du SEQ - eau pour de telles concentrations dans l'eau brute. Le niveau de contamination de la retenue augmente depuis sa mise en eau en 1985 et ceci est le fait d'une libération croissante de cuivre par corrosion des condenseurs en laiton. Il apparaît que les sédiments de la retenue fonctionnent comme un piège à cuivre et zinc en limitant l'impact sur la rivière Moselle.

Impact des rejets de cuivre et zinc en milieu aquatique : Circulation, Spéciation, Biodisponibilité, Bioaccumulation, Transfert et Toxicité.

Key words :

Liste des figures

Avant propos

Figure 1 : Synthèse des différents compartiments abiotiques et biotiques d'un écosystème dans lesquels les métaux vont pouvoir se répartir 3

Partie I : Synthèse bibliographique

Figure I-1 : Spéciation chimique du Cu(II) dans des systèmes aquatiques non pollués, sans matière organique et avec une concentration totale en cuivre inférieure à 10 ppm. 16

Figure I-2 : Spéciation du cuivre en phase dissoute et répartition entre les différentes espèces inorganiques dans le rejet de Cattenom 19

Figure I-3 : Répartition du zinc entre les différentes espèces inorganiques dans le rejet de la centrale de Cattenom et en aval de la centrale de Cattenom après mélange avec les eaux de la rivière réceptrice 20

Figure I-4 : Facteurs biologiques et géochimiques affectant la biodisponibilité des métaux pour les organismes aquatiques. (T : température, S : salinité, MES : charge en matière en suspension, DOC : carbone organique dissous) (Modifié d'après Wang & Fisher, 1997b) 21

Figure I-5 : Principales formes et espèces chimiques des métaux (Me) en fonction de la taille des ligands (d'après Andreae, 1986, modifié) 22

Figure I-6 : Principales voies d'exposition aux métaux des invertébrés. Réalisé à partir des informations issues des textes de Walker *et al.* (1996) et Wang & Fisher (1999b) 30

Figure I-7 : Schéma représentant les principaux facteurs influençant la bioaccumulation des métaux chez la moule *Mytilus edulis* (d'après Cossa, 1989) 32

Figure I-8 : Modèle général décrivant le devenir des polluants métalliques dans les organismes vivants (d'après Coeurdassier, 2001) 35

Figure I.9 : Représentation schématique des voies d'adsorption et d'absorption des métaux chez les algues : exemple du cuivre (d'après Arab-Joux, 1999) 37

Figure I-10 : Représentation des différentes voies d'entrée, de transfert et d'élimination des contaminants chez un organisme animal aquatique. Les métaux dissous sont absorbés préférentiellement par les branchies, les formes particulaires par le tube digestif (modifié d'après Roesijadi (1992)) 38

Figure I-11 : Mécanismes membranaires permettant d'expliquer les flux entrant des ions métalliques (M^+) dans la cellule (d'après Simkiss & Taylor, 1989b) 39

Figure I-12 : Représentation schématique des différents processus de détoxication chez les algues (d'après Arab-Joux, 1999) 40

Figure I-13 : Représentation schématique illustrant les interactions possibles des métaux avec les structures intracellulaires (d'après Viarengo, 1989). Les mécanismes les plus importants sont la fixation des métaux sur des métallothionéines et la compartimentation dans les lysosomes, les granules insolubles et les vésicules intracellulaires 42

Figure I-14 : Schéma simplifié de la circulation des métaux dans les compartiments biotiques 46

Figure I-15 : Réponses idéalisées des algues à une augmentation en métaux (a) essentiels et (b) non essentiels (d'après De Filippis & Pallaghy, 1994) 53

Figure I-16 : Représentation des méthodologies et des outils biologiques utilisés dans les approches écotoxicologiques et niveau d'observation des effets toxiques d'une substance dans les écosystèmes. (Coeurdassier, 2001 ; adapté d'après Lagadic *et al.* (1997) et Mora (1998)) 54

Figure I-17 : Progression des effets toxiques moléculaires, biochimiques, physiologiques et écophysiologiques des polluants en fonction du temps sur les individus des écosystèmes (d'après Sheehan *et al.*, 1984) 55

Figure I-18 : Synthèse schématique du modèle ligand biologique (BLM) (exemple du cuivre), lequel est basé sur une combinaison du concept GSIM (Pagenkopf, 1983) et du programme de spéciation géochimique WHAM (Tipping, 1994) (modifié d'après Janssen *et al.*, 2003) 75

Partie II : Matériels et méthodes

Figure II-1 : Localisation de la centrale électronucléaire de Cattenom. CLUB VOSGIEN, Carte N°8/8, METZ/THIONVILLE, LONGUYON, SIERCK-LES-BAINS, Echelle 1:50 000 82

Figure II-2 : Représentation schématique des circuits primaire, secondaire et tertiaire de refroidissement d'une centrale nucléaire 83

Figure II-3 : Les circuits de refroidissement (simplifié) de la centrale électronucléaire de Cattenom (BC : Bassin chaud ; BF : Bassin froid ; CRF : Circuit de refroidissement tertiaire de la centrale de Cattenom) 84

Figure II-4 : Localisation des stations de prélèvements le long du circuit de l'eau de refroidissement de la centrale nucléaire. Les points de prélèvements sont représentés en rouge sur la figure 87

Figure II-5 : Schémas représentant l'écoulement du panache de rejet de la centrale de Cattenom dans le cas « barrage ouvert et usine fermée » (Figure A) et dans le cas « barrage fermé et usine en fonctionnement » (Figure B)... 88

Figure II-6 : Illustrations photographiques et localisation des zones d'implantation des cages sur la Moselle. a : Mos1 ; b : Mos2 ; c : Mos3 89

Figure II-7 : Localisation des stations de collecte des organismes autochtones sur la retenue du Mirgenbach.... 90

Figure II-8 : Illustrations photographiques de la retenue du Mirgenbach en zone centrale (a) et littorale (b)..... 91

Figure II-9 : Localisation des stations C1 et C2 dans le CRF de la centrale de Cattenom 92

Figure II-10 : Les différents niveaux d'étude de la distribution, la circulation et du transfert des métaux dans un système aquatique (modifié d'après Marchandise & Robbe in Robbe, 1981) 93

Figure II.11 : Détail de la benne (A) et de la pelle (B) à sédiments 95

Figure II.12 : Détail du Sédimentomètre 96

Figure II-13 : Représentation schématique de la chaîne trophique étudiée dans la retenue du Mirgenbach et des relations alimentaires existant entre chaque niveau 98

Figure II-14 : Espèces dominantes du phytoplancton en période printanière et estivale dans la retenue du Mirgenbach 100

Figure II-15 : Détail du filet à plancton 101

Figure II-16 : *Cladophora* 101

Figure II-17 : *Cladophora* MO x 100 101

Figure II-18 : *Oedogonium* MO x 100 102

Figure II-19 : *Potamogeton pectinatus* 103

Figure II-20 : *Myriophyllum verticilatum* 103

Figure II-21 : *Atyaephyra desmaresti* 105

Figure II-22 : *Radix ovata* 106

Figure II-23 : *Viviparus viviparus* 107

Figure II-24 : *Dreissena polymorpha* 108

Figure II-25 : *Corbicula fluminea* 110

Figure II-26 : *Dikerogammarus villosus* 112

Figure II-27 : *Orconectes limosus* 113

Figure II-28 : *Abramis brama* 114

Figure II-29 : *Rutilus rutilus* 114

Figure II-30 : *Perca fluviatilis* 116

Figure II-31 : *Lucioperca lucioperca* 116

Figure II-32 : *Bithynia tentaculata* (avec opercule) 117

Figure II-33 : Détail des cages pour le transfert des Dreisènes (a) et des corbicules (b) 121

Figure II-34 : Principe de l'extraction séquentielle en cascade. Après chaque extraction, le résidu de sédiments est récupéré, puis séché à l'étuve à 60°C jusqu'à masse constante 125

Partie III : Résultats - Discussions

Figure III-1 : Comparaison interstation des concentrations moyennes en Ni (A), Cu (B), Pb (C), Cd (D), et Zn (E) au cours de l'année 2001. Les différences significatives sont symbolisées par des lettres différentes ($p<0.05$, Test t de Fisher) 136

Figure III-2 : Schéma simplifié de l'origine de la concentration en cuivre au rejet général situé en station Mos2-rejet 138

Figure III-3 : Variation journalière des concentrations en cuivre mesurées durant un mois en juin et décembre 2001 en station C1 (amont du CRF) 141

Figure III-4 : Variation journalière des concentrations en zinc mesurées durant un mois en juin et décembre 2001 en station C1 (amont du CRF) 142

Figure III-5 : Evolution journalière des concentrations moyennes (n=59) en cuivre et en zinc en µg/l dans l'eau brute de la station C2 en juin 2001 143

Figure III-6 : Relation linéaire entre les concentrations en cuivre et les concentrations en zinc mesurées dans l'eau brute de la station C2 au cours des mois de juin et décembre 2001 144

Figure III-7 : Comparaison interstations des profils d'évolution mensuelle des concentrations en cuivre exprimées en µg/l dans l'eau brute de janvier 2001 à mai 2003. Les stations sont classées dans la légende de l'amont vers l'aval du circuit de l'eau de refroidissement 149

Figure III-8 : Comparaison interstations des profils d'évolution mensuelle des concentrations en zinc exprimées en µg/l dans l'eau brute de janvier 2001 à mai 2003. Les stations sont classées dans la légende de l'amont vers l'aval du circuit de l'eau de refroidissement 150

Figure III-9 : Comparaison des profils d'évolution mensuelle des concentrations en zinc (µg/l) dans l'eau brute aux stations Mos1, Mos2 et Mos3, de janvier 2001 à mai 2003. Les stations sont classées dans la légende de l'amont vers l'aval du circuit de l'eau de refroidissement 152

Figure III-10 : Comparaison interstations des concentrations moyennes en cuivre (n=28) exprimées en µg/l. La significativité des différences (test t, $p<0.05$) est illustrée par des lettres arabes différentes 153

Figure III-11 : Comparaison interstations des concentrations moyennes en zinc (n=28) exprimées en µg/l. La significativité des différences (test t, $p<0.05$) est illustrée par des lettres arabes différentes 153

Figure III-12 : Comparaison de la relation linéaire (coefficient de corrélation r de Pearson) entre les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute (µg/l) aux stations Mirgenbach (Mir 1, Mir inj, Mir M et Mir rep) 155

Figure III-13 : Comparaison de la relation linéaire (coefficient de corrélation r de Pearson) des concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute (µg/l) aux stations Moselle (Mos1, Mos2 et Mos3) 156

Figure III-14 : Comparaison des concentrations moyennes annuelles (n=14) en cuivre (µg/l) entre l'année 2001 et 2002 pour chaque station (positionnées de l'amont vers l'aval le long du circuit de l'eau de refroidissement). Les lettres arabes illustrent la différence significative ou non entre l'année 2001 et l'année 2002 pour une même station 157

Figure III-15 : Comparaison des concentrations moyennes annuelles (n=14) en zinc (µg/l) entre l'année 2001 et 2002 pour chaque station (positionnées de l'amont vers l'aval le long du circuit de l'eau de refroidissement). Les lettres arabes illustrent la différence significative ou non entre l'année 2001 et l'année 2002 pour une même station 158

Figure III-16 : Comparaison de la relation linéaire (coefficient de corrélation r de Pearson) entre les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute (µg/l) de la station Mir inj en 2001 et 2002 159

Figure III-17 : Comparaison interstations de la répartition du cuivre entre la phase soluble (<0.45µm) et la phase particulaire (>0.45µm) dans la colonne d'eau. a, b : significativité de la différence interstation dans la répartition des phases soluble et particulaire ($p<0.05$). * : significativité de la différence entre phase soluble et particulaire pour une station donnée ($p<0.05$) 162

Figure III-18 : Comparaison interstations de la répartition du zinc entre la phase soluble (<0.45µm) et la phase particulaire (>0.45µm) dans la colonne d'eau. a, b : significativité de la différence interstation dans la répartition des phases soluble et particulaire ($p<0.05$). * : significativité de la différence entre phase soluble et particulaire pour une station donnée ($p<0.05$) 163

Figure III-19 : Comparaison interstations des concentrations en cuivre exprimées en µg/l mesurées dans les échantillons d'eau brute (Cu total) et d'eau filtrée (Cu soluble, <0.45µm) 164

Figure III-20 : Comparaison interstations des concentrations en Zn exprimées en µg/l mesurées dans les échantillons d'eau brute (Zn total) et d'eau filtrée (Zn soluble, <0.45µm) 165

Figure III-21 : A localisation map of sampling stations and points in the cooling water circuit of the powerplant of Cattenom (France). (a): Normal functioning – (b): Safety functioning 172

Figure III-22 : Means of total copper concentrations in water from stations Mir inj, Mir 1, Mir M and Mir rep in the Mirgenbach dam. ** Significantly difference ($p= 0.05$), ns: non significantly 176

Figure III-23 : Total copper concentrations in water (µg/l) for each station (Mir 1, Mir inj, Mi M and Mir rep) with a monthly frequency between November 2000 and July 2002. (Broken line) Concentrations mean of copper in water from Mir M in 1989 177

Figure III-24 : Variations of copper concentrations in decanted matters (Cu DM - mg/kg de MS) and in surface water (Cu_{water} - µg/l) from the station Mir M 179

Figure III-25 : Evolution of copper daily fluxes (Cu_{flux}) (mg Cu/day/m2) in function of periods and in comparison with the copper concentration in water (Cu_{water}). These entire samples have been collected at the station Mir M 181

Figure III-26 : Principal component loading of physicochemical parameters properties 182

Figure III-27 : Concentrations of copper into sediments (mg/kg Cu dry weight) collected from each station: Mir 1, Mir 3, Mir inj and Mir rep (n=4)..... 186

Figure III-28 : Concentrations of copper into sediments (mg Cu/kg d.w.) collected from 18 littoral stations, during October 2001. ⇓: Absence of sedimentary deposits 187

Figure III-29 : Evolution mensuelle des concentrations en cuivre et en zinc exprimés en mg/kg de ms dans les matières décantées (MD) prélevées à la station Mir M de la retenue du Mirgenbach. En février et mars 2002, le collecteur endommagé a été sorti de l'eau pour réparation..... 192

Figure III-30 : Evolution des flux de zinc (mg $Zn/m^2/jr$) en fonction du temps entre octobre 2000 et août 2002 en comparaison avec les concentrations en zinc dans l'eau (µg/l)..... 194

Figure III-31 : Représentation graphique de la relation linéaire entre les flux de cuivre et de zinc exprimés en $mg/m^2/jour$ 194

Figure III-32 : Evolution des concentrations en zinc (histogramme rouge) dans les sédiments anciens exprimées en mg Zn/kg de ms en fonction de la station d'étude (Mir 1, Mir inj, Mir M et Mir rep) et de la date de prélèvement. Comparaison avec l'évolution des concentrations en cuivre (histogramme noir) dans les mêmes échantillons..... 196

Figure III-33 : Evolution des concentrations en zinc (mg Zn/kg de ms) en comparaison avec les concentrations en cuivre (mg Cu/kg de ms) dans les sédiments des zones littorales du lac 197

Figure III-34 : Comparaison interstations des teneurs en cuivre (mg Cu/kg de ms) des sédiments prélevés aux stations Mos1, Mos2 et Mos3 204

Figure III-35 : Comparaison interstations des teneurs en zinc (mg Zn/kg de ms) des sédiments prélevés aux stations Mos1, Mos2 et Mos3 205

Figure III-36 : Comparaison des teneurs en cuivre et en zinc (mg/kg de ms) des MES du circuit de refroidissement en fonction de la station (C1 et C2) et de la période de prélèvement..... 206

Figure III-37 : Analyse en composante principale réalisée à partir des concentrations en cuivre et en zinc en mg/kg de ms dans les sédiments en fonction de la station et de la date de prélèvement..... 207

Figure III-38 : Composition granulométrique des différents échantillons de sédiments analysés.
Argiles (0 – 2 µm), limons fins (2 – 20 µm), limons grossiers (20 – 50 µm), sables fins (50 -200 µm), sables grossiers (200 – 2000µm) 211

Figure III-39 : Analyse en composante principale réalisée à partir des paramètres chimiques des échantillons de sédiments et de matières décantées en fonction de la station de prélèvement (Mos1, Mos2, Mos3, Mir inj, Mir 1, Mir M et Mir rep pour les sédiments et C1, C2, Mir M pour les MD). Le plan factoriel "1-2" résume 87 % de la variance..... 214

Figure III-40 : Comparaison de la somme des fractions de cuivre extraites par la procédure d'extraction séquentielle et de la concentration en métal total des sédiments (Attaque triacide) 216

Figure III-41 : Spéciation chimique du cuivre dans les sédiments et matières décantées prélevées aux stations Mos1, C1, Mos2 et Mos3 au cours de 3 campagnes a (juillet 2001), b (janvier 2002), c (octobre 2002)..... 217

Figure III-42 : Spéciation chimique du cuivre dans les sédiments et matières décantées prélevées aux stations C2, Mir inj, Mir 1, Mir M et Mir rep au cours de 3 campagnes a (juillet 2001), b (janvier 2002), c (octobre 2002)..... 217

Figure III-43 : Variation stationnelle des concentrations moyennes en cuivre et en zinc (mg/kg de ms) dans les DA 229

Figure III-44 A à F : Evolution des concentrations en cuivre (A, B, C) et en zinc (D, E, F) en mg/kg de ms dans les dreissènes autochtones de la rivière Moselle (DA) en fonction de la station (Mos1, Mos2 ou Mos3), de la date de prélèvement et en comparaison avec la concentration en cuivre et en zinc dans l'eau brute (µg/l)..... 231

Figure 44-G : Relation entre les concentrations en cuivre dans l'eau brute en µg/l et celles mesurées dans les DA en mg Cu/kg de ms à toutes les stations Moselle. Le seuil de régulation correspond au seuil de concentration (13 µg/l d'après kraak et al. (1992) à partir duquel la dreissène accumule le cuivre. La concentration en cuivre de

référence dans les DA est celle fournie, 15 mg Cu/kg de ms par Mersch et al. (1993) dans les dreissènes du lac de Madine. 232

Figure III-45 : Evolution des concentrations en **cuivre** (mg Cu/kg de ms) dans les DA de la retenue du Mirgenbach en fonction de la date de prélèvement et en comparaison avec les concentrations en cuivre dans l'eau brute (µg/l) de la station Mir rep. ⟶ Date de transfert des DA du barrages sur la station Mir M ..233

Figure III-46 : Evolution des concentrations en **zinc** (mg Zn/kg de ms) dans les DA de la retenue du Mirgenbach en fonction de la date de prélèvement et en comparaison avec les concentrations en zinc dans l'eau brute (µg/l) de la station Mir rep. ⟶ Date de transfert des DA du barrages sur la station Mir M 233

Figure III-47 : Comparaison interstations de l'évolution temporelle des concentrations en **cuivre** (mg/kg de ms) dans les dreissènes autochtones (DA) prélevées mensuellement de novembre 2000 à décembre 2002 234

Figure III-48 : Comparaison interstations de l'évolution temporelle des concentrations en **zinc** (mg/kg de ms) dans les dreissènes autochtones (DA) prélevées mensuellement de novembre 2000 à décembre 2002 235

Figure III-49 : Variation saisonnière des concentrations en cuivre et en zinc dans les DA prélevées aux stations Mos1, Mos2 et Mos3 entre novembre 2000 et décembre 2002. Les barres verticales représentent les intervalles de confiance à 0,95 235

Figure III-50 : Relation entre les concentrations en cuivre et en zinc (mg/kg de ms) dans les DA en fonction de la station d'étude (Mos1, Mos2, Mos3 et Mir). La linéarité des relations est testée par une matrice de corrélation de Pearson, dont les coefficients sont considérés comme significatif à $p<0.05$. *** : Résultat significatif ($p<0.05$), ns : Résultat non significatif..... 236

Figure III-51 : Comparaison interstations de l'évolution temporelle des concentrations en cuivre (mg/kg de ms) dans les corbicules autochtones (CoA) prélevées mensuellement de janvier 2001 à décembre 2002 247

Figure III-52 : Comparaison interstations de l'évolution temporelle des concentrations en zinc (mg/kg de ms) dans les corbicules autochtones (CoA) prélevées mensuellement de janvier 2001 à décembre 2002 248

Figure III-53 A et B : Evolution saisonnière des concentrations (mg/kg de ms) en cuivre et en zinc dans les CoA en fonction de la station d'étude. p : printemps ; e : été ; a : automne ; h : hiver..... 249

Figure III-54 : Relation entre les concentrations en cuivre et en zinc (mg/kg de ms) dans les corbicules autochtones en fonction de la station d'étude (Mos1, Mos2, Mos3). La linéarité des relations est testée par une matrice de corrélation de Pearson, dont les coefficients sont considérés comme significatif à $p<0.05$. *** : Résultat significatif ($p<0.05$), ns : Résultat non significatif. 250

Figure III-55 : Evolution des concentrations en cuivre (a) et en zinc (b) (en mg/kg de ms) dans les gammares en fonction des stations en Moselle et de la date de collecte d'octobre 2000 à décembre 2002..... 254

Figure III-56 : Evolution des concentrations en cuivre et en zinc (mg/kg de ms) dans les gammares de la retenue du Mirgenbach en fonction de la date de collecte de novembre 2000 à novembre 2002..... 254

Figure III-57 : Variation interstation des concentrations en cuivre (a) et en zinc (b) (en mg/kg de ms) dans *Dikerogammarus villosus*. 256

Figure III-58 : Evolution des concentrations en cuivre (a) et en zinc (b) (en mg//kg de ms) dans les gammares en fonction de leur taille et de la période de collecte. Classes de taille 10-15, 15-20, 20-25 et 25-35 mm 257

Figure III-59 : Comparaison des profils de bioaccumulation du cuivre (mg/kg de ms) par le gammare (*D. villosus*) et la caridine (*A. desmaresti*) au cours de la période d'étude dans la retenue du Mirgenbach. RM : référence métabolique de 82.8 mg Cu/kg de ms selon Depledge (1989)..... 258

Figure III-60 : Comparaison des profils de bioaccumulation du zinc (mg/kg de ms) par le gammare (*D. villosus*) et la caridine (*A. desmaresti*) au cours de la période d'étude dans la retenue du Mirgenbach. RM : référence métabolique de 33.3 mg Zn/kg de ms selon Rainbow (1993)..... 258

Figure III-61 : Comparaison interstations des concentrations moyennes en cuivre (a) et en zinc (b) chez *Viviparus viviparus* (n=39 pour la station Mos1, n=35 pour Mos2 et n=40 pour Mos3)..... 263

Figure III-62 : Variations des concentrations en cuivre (a) et en zinc (b) chez *Viviparus viviparus* en fonction de la date de collecte..... 264

Figure III-63 : Comparaison interstations des concentrations moyennes en cuivre (a) et en zinc (b) (en mg/kg de ms) dans les limnées (n=41 pour Mos1, n=38 pour Mos2 et n= 43 pour Mos3). 265

Figure III-64 : Cinétique d'accumulation du cuivre (mg/kg de ms) dans les dreissènes transférées pour les 5 transferts successifs en fonction de la station en Moselle (Mos1, Mos2 et Mos3). Chaque point représente une analyse. Les courbes de tendance représentent les cinétiques d'accumulation significatives 270

Figure III-65 : Cinétique d'accumulation du cuivre et du zinc (mg/kg de ms) dans les dreissènes transférées dans la retenue du Mirgenbach pour les 5 transferts successifs. Les courbes de tendance représentent les cinétiques d'accumulation significatives 271

Figure III-66 : Cinétique d'accumulation du zinc (mg/kg de ms) dans les dreissènes transférées pour les 5 transferts successifs en fonction de la station en Moselle (Mos1 (a), Mos2(b) et Mos3 (c)) 274

Figure III-67 : Comparaison pour la retenue du Mirgenbach de l'évolution des concentrations en cuivre (a) et en zinc (b) (mg/kg de ms) dans les dreissènes autochtones (DA) et dans les dreissènes transférées (DT) en fonction de la date de prélèvement entre novembre 2000 et octobre 2002. Les flèches rouges indiquent les dates t_0 de transfert de nouveaux organismes 275

Figure III-68 : Evolution des concentrations en cuivre (A, B, C) et en zinc (D, E, F) (mg/kg de ms) dans les dreissènes transférées (DT) et comparaison avec les dreissènes autochtones (DA) en fonction de la station Moselle et de la date de prélèvement 276

Figure III-69 : Cinétique d'accumulation du cuivre (mg/kg de ms) dans les corbicules transférées pour les 5 transferts successifs en fonction de la station en Moselle (Mos1, Mos2 et Mos3) 282

Figure III-70 : Cinétique d'accumulation du cuivre et du zinc (mg/kg de ms) dans les corbicules transférées dans la retenue du Mirgenbach pour les 4 transferts successifs 285

Figure III-71 : Cinétique d'accumulation du zinc (mg/kg de ms) dans les corbicules transférées pour les 5 transferts successifs en fonction de la station (Mos1, Mos2 et Mos3). 287

Figure III-72 : Evolution de la cinétique d'accumulation du cuivre (A) et du zinc (B) en fonction de la classe de taille des corbicules transférées. Les flèches rouges représentent les dates de transfert des organismes sur la station Mir M 288

Figure III-73 : Map of sampling sites. 297

Figure III-74 : Trophic levels of organisms collected from Mirgenbach lake in two food chains: autotrophic chain and detritivorous chain. (P) Primary producers; (C1) First consumers; (C2) Secondary consumer; (C3) Tertiary consumers; 298

Figure III-75 : Mean copper concentrations in organisms in Mirgenbach lake corresponding to their trophic level. (For fish, the copper concentration considered is in the liver). 303

Figure III-76 : Copper concentrations in four organs of Bream. Cu is expressed in mg/kg d.w. 305

Figure III-77 : Seasonal variations in concentrations of chlorophyll a (µg/l) and silica (µg/l) in the water from Mirgenbach lake between January 1998 and December 2001 306

Figure III-78 : Seasonal variations in concentrations of phaeopigments (µg/l) and total chlorophyll (µg/l) in the water from Mirgenbach lake between January 1998 and December 2001 307

Figure III-79 : Comparison of copper concentrations in water from Mirgenbach reservoir with the various thresholds of contamination given in the SEQ-eau classification (French water board) 312

Partie IV : Synthèse et perspectives

Figure IV-1 : Synthèse des concentrations en cuivre et en zinc mesurées dans le circuit de refroidissement aux stations C1 et C2 324

Figure IV-2 : Synthèse des niveaux de contamination en cuivre en mg/kg de ms dans les sédiments ou les matières décantées prélevés aux différentes stations de l'étude de 2001 à 2003 327

Figure IV-3 : Synthèse des flux globaux de cuivre dans la retenue du Mirgenbach. Les valeurs en rouge sont celles obtenues lors de la présente étude. Les valeurs en vert sont celles fournies par Mersch *et al.* (1993) 329

Figure IV-4 : Synthèse des niveaux de contamination en zinc en mg/kg de ms dans les sédiments ou les matières décantées prélevés aux différentes stations de l'étude de 2001 à 2003 330

Figure IV-5 : Illustration des marrées vertes à *Hydrodictyon,* qui ont causé de sérieux problèmes de gestion du lac et de l'installation nucléaire. La faucardeuse (Figure XX D) a été élaborée spécialement pour lutter contre la prolifération de cette algue verte 343

Figure IV-6 : Illustration d'un bloom à cyanobactéries, dont les espèces dominantes étaient *Aphanizomenom* et *Microcystis*) 344

Figure IV-7 : Image de *Ceratium hirundinella*, espèce dominante des fleurs d'eau estivale et automnale 344

Figure IV-8 : Evaluation pour les organismes du risque toxique lié à l'augmentation de la concentration en cuivre dans l'eau brute entre 1991 et 2001 dans la retenue du Mirgenbach. Les seuils 0, 1, 2, 3 et 4, correspondent à des classes de concentrations dont les limites supérieures sont indiquées à droite de la figure (2.7 µg/l, 27 µg/l, 40 µg/l et 110 µg/l pour une dureté > 200 mg $CaCO_3$/l)). Les valeurs sans unité correspondent aux concentrations en cuivre (minimums, **moyennes** et maximums) mesurées dans l'eau brute en 2001 et à la concentration moyenne en cuivre rapportée par Mersh *et al.* (1993) en 1991 345

Liste des tableaux

Partie I : Synthèse bibliographique

Tableau I-1 : Concentrations en cuivre et en zinc dans les principaux compartiments de l'écosphère et activité anthropique globale (d'après Andres, 1997 modifié pour les valeurs de zinc) 13

Tableau I-2 : Classes de taille des différentes formes physico-chimiques du cuivre dans le milieu naturel (d'après Apte et Batley, 1995) 22

Tableau I-3 : Efficacité de l'assimilation (EA) en % du zinc à partir de différents types de particules par la palourde *Ruditapes philippinarium* (d'après Fan & Wang, 2001) 27

Tableau I-4 : Effets de quelques paramètres physico-chimiques sur la prise et la toxicité des métaux vis à vis des algues (d'après De Filippis & Pallaghy, 1994) 33

Tableau I-5 : Effets de différents facteurs sur l'efficacité de l'assimilation (EA) des métaux par la moule marine (*Mytilus edulis*) (mesure quantitative d'après Wang & Fisher (1997b) 33

Tableau I-6 : Concentrations en cuivre et en zinc de crustacés et de gastéropodes d'eau douce. Concernant l'étude réalisée par Gundacker (2000), les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau sur les différents sites varient respectivement de 41 à 51 µg Cu/l (sauf Grob Enzersdorfer Arm avec 24 µg Cu/l), et de 187 à 225 µg Zn/l (sauf GEA avec 103 µg Zn/l) 47

Tableau I-7 : Sélection de concentrations en cuivre et en zinc exprimées en mg/kg de poids sec chez des crustacés classés selon leur position systématique et provenant de sites propres ou contaminés (d'après Rainbow, 1998, 2002) 48

Tableau I-8 : Concentrations en cuivre et en zinc rapportées par différents auteurs chez les moules zébrées (*Dreissena polymorpha*) collectées sur des sites contaminés ou non 50

Tableau I-9A : Concentrations (mg/kg de ms) en cuivre et en zinc chez les gastéropodes aquatiques d'après Timmermans (1993) 50

Tableau I-9B : Concentrations maximales et minimales chez cinq espèces de gastéropodes dulçaquicoles (en mg/kg de ms) d'après Pihan (2001) 50

Tableau I-9C : Seuils de concentrations, en Cu et Zn, proposés par Pihan (2001) d'après les données de la littérature chez des gastéropodes aquatiques provenant de milieux non pollués et pollués (mg/kg de ms) 51

Tableau I-10 : Concentrations en cuivre inhibitrices de la croissance et de la photosynthèse pour différentes espèces de microalgues 59

Tableau I-11 : Quelques exemples de toxicité aiguë du cuivre pour les invertébrés d'eau douce (Cl50-24h à 96h) 60

Tableau I-12 : Quelques exemples de toxicité aiguë du cuivre pour les poissons d'eau douce (Cl50 -96h) 63

Tableau I-13 : Quelques exemples de la toxicité à long terme du cuivre sur les végétaux, les invertébrés et les vertébrés (signe égal : pas de modification, diminution ↘, augmentation ↗) 65

Tableau I-14 : Quelques exemples d'effets délétères observés au niveau des communautés biologiques suite à une contamination à long terme ou chronique par le cuivre dans leur milieu ou en mésocosme 66

Tableau I-15a : Toxicité aiguë du zinc sur quelques végétaux d'eau douce et quelques exemples de contamination à long terme (modifié d'après EHC 221, 2001) 67

Tableau I-15b : Concentrations en zinc testées sur quelques végétaux d'eau douce et n'ayant pas d'effets observables (modifié d'après EHC 221, 2001) 67

Tableau I-16 : Toxicité aiguë du zinc sur les Invertébrés d'eau douce (modifié d'après EHC 221, 2001) 68

Tableau I-17 : Toxicité aiguë du zinc sur quelques Invertébrés marins (modifié d'après EHC 221, 2001)..... 68

Tableau I-18 : Toxicité aiguë du zinc sur quelques poissons d'eau douce (modifié d'après EHC 221, 2001) 69

Tableau I-19 : Quelques exemples d'effets délétères observés au niveau des organismes d'eau douce, marins et les communautés biologiques suite à une contamination long terme ou chronique par le zinc 70

Tableau I-20 : Grille de qualité du SEQ-eau pour les polluants minéraux sur eau brute et la fonction « potentialités biologiques » (Agence de l'eau, 1999) 79

Partie II : Matériels et méthodes

Tableau II-1 : Concentration en cuivre et en zinc dans les sédiments de la rivière Moselle à Uckange, en amont du pompage d'eau de la centrale nucléaire (Données fournies par l'agence de l'eau Rhin-Meuse) 85

Tableau II-2 : Evolution des facteurs de concentration des éléments constitutifs de l'eau, ici des chlorures, entre la rivière Moselle et l'entrée dans la retenue du Mirgenbach 86

Tableau II-3 : Quantité de sel rejetée par l'industrie saline dans le bassin Rhin-Meuse (Données fournies par l'agence de l'eau Rhin-Meuse). * Site rejetant dans la rivière Meurthe affluent de la rivière Moselle 86

Tableau II-4 : Synthèse des données écologiques concernant les espèces étudiées (Tachet *et al.* (1996) et observations personnelles correspondant à l'habitat et l'alimentation des organismes sur les sites d'étude 105

Tableau II-5 : Caractéristiques biologiques de *Corbicula fluminea* 110

Tableau II-6 : Récapitulatif des compartiments abiotiques suivis au cours de l'étude en fonction des stations 118

Tableau II-7 : Récapitulatif des compartiments biotiques autochtones suivis au cours de l'étude en fonction des stations 118

Tableau II-8 : Présentation des niveaux de contamination en cuivre et en zinc en µg/l mesurés dans l'eau brute des stations Commercy, Saulcy et Madine 119

Tableau II-9 : Composition chimique de l'eau de source utilisée dans les bacs de purge des organismes 120

Tableau II-10 : Protocole de minéralisation 123

Partie III : Résultats - Discussions

Tableau III-1 : Comparaison des concentrations moyennes en Ni, Pb, Cd, Zn et Cu dans l'eau brute en µg/l et Cl- en mg/l entre les stations Moselle (Mos1, Mos2, Mos3) et Mirgenbach (Mir M) au cours de l'année 2001. F.C. : Facteur de Concentration 135

Tableau III-2 : Détermination des classes de qualité de l'eau brute pour les métaux selon la grille fixée par le SEQ-eau pour la fonction « potentialité biologique » 140

Tableau III-3 : Concentrations moyennes en cuivre et en zinc mesurées dans l'eau brute de la conduite d'eau d'appoint du circuit de refroidissement de la centrale (station C1) au cours des mois de juin et décembre 2001 141

Tableau III-4 : Concentrations moyennes en cuivre et en zinc mesurées dans l'eau brute de la station C2 (sortie des condenseurs) du circuit de refroidissement de la centrale au cours des mois de juin et décembre 2001 141

Tableau III-5 : Paramètres de la régression. Ordonnée à l'origine et pentes identiques au seuil 5% 144

Tableau III-6 : Tableau synthétisant les résultats du calcul des proportions relatives du cuivre et du zinc dans l'eau brute de la station C2 145

Tableau III-7 : Estimation des concentrations en cuivre attendues dans l'eau brute au niveau de la station Mir inj selon le nombre de tranches nucléaires en fonctionnement 146

Tableau III-8 : Estimation des concentrations en zinc attendues dans l'eau brute au niveau de la station Mir inj selon le nombre de tranches nucléaires en fonctionnement 146

Tableau III-9 : Concentrations métalliques mesurées sur toutes les stations "Mirgenbach" et "Moselle" (moyenne, écart-type, minimum, maximum) entre janvier 2001 et mai 2003 (N=28). Les stations sont classées de l'amont vers l'aval du CRF de la centrale de Cattenom 151

Tableau III-10 : Récapitulatif des valeurs des coefficients de corrélation r de Pearson entre les concentrations en cuivre et en zinc (n=28) pour chaque station (ns : non significatif à p>0.05 ; *** : significatif à p<0.01)..... 155

Table III-11 : The main physicochemical parameters in the Mirgenbach Lake 173

Table III-12 : Copper concentrations in water (µg Cu/l) from the tertiary cooling circuit of the power plant (C2), in comparison with the copper rate in water before entry into the cooling circuit (C1). Values no integrated in the means determination are also indicated. (Sd: Standard deviation) 175

Tableau III-13 : Means of copper concentrations (n = 15) in water for each station of the Mirgenbach Lake. (Sd: Standard deviation) 176

Tableau III-14 : Pearson correlation's matrix for copper concentrations in surface water and each station (Mir 1, Mir inj, Mir 3, and Mir rep). All correlation is significant at p < 0.05 (N=15)..... 177

Table III-15 : Percentage of soluble (<0.45µm) and particulate copper measured in water from Mir M station 178

Tableau III-16 : Evolution of the means copper flux at the station Mir M (mg Cu/day/m^2) in function of the season (N: number of sample) and comparison with the means copper concentrations in water from Mir M. (Sd: Standard deviation) 179

Table III-17 : Evolution of the means copper flux at the station Mir M (mg Cu/day/m^2) in function of the season (N: number of sample) and comparison with the means copper concentrations in water from Mir M. (Sd: Standard deviation) 180

Table III-18 : Principal component (PC) loading of physicochemical parameters, copper concentrations in water, in decanted matter and flux of copper properties 183

Table III-19 : Pearson's correlation matrix for copper concentrations in Water, in SD, in sediments and for physico-chemical and nutrient parameters 183

Table III-20 : Means copper rates (N=2) in bottom sediments (mg Cu/kg of dry weight) for each station (Mir 1, Mir inj, Mir M, Mir rep, Mir L27) in function of sampling years 186

Tableau III-21 : Matrice de corrélation de Pearson comparant l'évolution des paramètres physico-chimiques et biologiques de la retenue du Mirgenbach avec celle des concentrations en zinc dans les matières décantées (mg Zn/kg de ms) et des flux de zinc vers les sédiments (mg Zn/m^2/jr). ** : corrélation significative à p<0.05 195

Tableau III-22 : Caractéristiques chimiques des sédiments en fonction des stations de prélèvement..... 213

Tableau III-23 : Synthèse des résultats des analyses aux rayons X appliquées aux échantillons de sédiments des différentes stations d'étude et identification des composants des sédiments jouant un rôle dans le piégeage du cuivre. 220

Tableau III-24 : Evolution des concentrations moyennes en cuivre et en zinc et leur amplitude de variation entre novembre 2002 et décembre 2002 dans les dreissènes autochtones en fonction de la station de prélèvement. La significativité des différences (p<0.05) entre les moyennes est illustrée dans la colonne « test t » par des lettres arabes différentes 230

Tableau III-25 : Moyennes et amplitudes de variation des concentrations (mg/kg de ms) en cuivre et en zinc entre janvier 2001 et décembre 2002 dans les corbicules autochtones (CoA) de la rivière Moselle en fonction de la station de collecte.....247

Tableau III-26 : Comparaison interstations des concentrations moyennes (2000, 2001, 2002) en cuivre et en zinc dans les gammares des stations Moselle et Mirgenbach 256

Tableau III-27 : Synthèse des informations concernant les dates et la durée des transferts.....257

Tableau III-28 : Caractéristiques des concentrations en cuivre et en zinc dans les dreissènes transférées sur le site du lac de la Madine de décembre 2000 à décembre 2002 268

Tableau III-29 : Concentrations moyennes, minimum et maximum (Cu, Zn) mesurées dans les DA et les DT en fonction de la station d'étude en Moselle et dans la retenue du Mirgenbach.....277

Tableau III-30 : Synthèse des informations concernant les dates et la durée des transferts en Moselle (Mos1, Mos2, Mos3).....281

Table III-31 : The main physicochemical parameters in Mirgenbach Lake. Copper concentrations in water and in decanted matter measured at a site located in the middle of the lake 296

Table III-32 : Mean copper concentrations in organisms (mg/kg d.w.) collected from Mirgenbach lake between October 2000 and December 2001 301

Table III-33 : Copper concentrations in organisms (mg/kg d.w.) and in water (µg/l) collected from the Moselle upstream of Mirgenbach lake; copper concentrations in an unpolluted area chosen in the literature.....302

Table III-34 : Copper concentrations in three fish species collected from Mirgenbach lake (Roach, Pike perch and Perch) and four organs (Liver, Kidney, Spleen and Muscle) expressed in mg/kg d.w. 303

III-34A : Copper concentrations measured in the preliminary study (August 1999) (Copper level in water: 25µg/l) 303

III-34B : Copper concentrations related by Mersch & al (1993) in two fish species collected from Mirgenbach lake (Copper level in water: 20.5µg/l). 303

III-34C : Copper concentration given by Mersch & al. (1993) in two fish species collected from an unpolluted site: Lindres pond (copper level in water: 3.6µg/l). 304

Partie IV : Synthèse et perspectives

Tableau IV-1 : Synthèse des concentrations moyennes en cuivre et en zinc (mg/kg de ms) mesurées à chaque station au cours de la période d'étude et dans chaque espèce étudiée.....335

Tableau IV-2 : Mise en relation du niveau de contamination en cuivre des sites d'étude estimé à partir d'un compartiment abiotique et d'un compartiment biotique avec le niveau moyen de bioaccumulation mesuré dans les organismes.....341

Tableau IV-3 : Mise en relation du niveau de contamination en zinc des sites d'étude estimé à partir d'un compartiment abiotique et d'un compartiment biotique avec le niveau moyen de bioaccumulation mesuré dans les organismes.....341

AVANT PROPOS

La directive européenne 2000/60/CE a été adoptée le 23 octobre 2000 et publiée au journal officiel des communautés européennes le 22 décembre 2000 (date d'entrée en vigueur). Elle établit un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. Cette directive, qui vise à établir un cadre pour la gestion et la protection des eaux par district hydrographique tant du point qualitatif que quantitatif, est appelée à jouer un rôle fondateur en matière de politique de l'eau. Elle fixe, en effet, des objectifs ambitieux pour la préservation et la restauration de l'état des eaux superficielles et souterraines, et ceci dans un délai de 15 ans.

Ce texte promeut la préservation de la ressource en établissant un mode de gestion de l'eau globale par bassin-versant inspiré du système français (planification, application du principe pollueur-payeur, participation des usagers...). Les états membres doivent élaborer un plan de gestion pour chaque district hydrographique. Les mesures hydrographiques prévues dans ces plans auront pour but de :

- Prévenir la détérioration, améliorer et restaurer l'état des masses d'eau de surface, atteindre un bon état chimique et écologique de celles-ci, ainsi que de réduire la pollution due aux rejets et émissions de substances dangereuses.
- Protéger, améliorer et restaurer les eaux souterraines, prévenir leur pollution et assurer un équilibre entre prélèvement et renouvellement.
- Préserver les zones protégées.

Dans l'article 1er du code de l'environnement, l'eau est classée comme étant un patrimoine commun de la nation qui doit être protégé et préservé, qu'il s'agisse des eaux superficielles ou souterraines ou des écosystèmes aquatiques.
Ainsi lors de l'instruction des demandes d'autorisation d'exploiter des installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE) de nombreux facteurs doivent être réglementés. La réduction des rejets aqueux résulte d'une analyse globale des procédés visant à :

- réduire au maximum les émissions de polluants par la mise en place de procédés de fabrication alternatifs permettant de réduire la consommation d'eau, de la recycler, d'utiliser des circuits fermés.
- intégrer les effets induits.
- éviter les transferts.

Les seuils de rejets imposés sont définis par une approche intégrée puis sont fixés au travers de l'arrêté préfectoral d'autorisation.

La logique de réduction des rejets doit donc intégrer l'ensemble de l'activité des installations et l'ensemble des impacts sur l'environnement afin de trouver la solution optimale. Dans cette même logique, pour que le rejet d'une ICPE puisse être autorisé dans le milieu naturel, il est nécessaire :

- que les installations respectent les prescriptions techniques nationales pour son secteur d'activités.
- qu'il soit fait usage des meilleures technologies disponibles.
- que le rejet soit cohérent avec les objectifs de qualité du milieu et sa capacité d'acceptation des polluants.

Par conséquent, cette démarche implique que l'étude d'impact sur l'environnement local intègre aussi bien les pollutions chroniques que les conséquences possibles de pollution accidentelles, comme les impacts éventuels sur la santé.

Dans ce cadre réglementaire, il est aisé de comprendre l'intérêt d'approfondir nos connaissances sur le devenir exact d'un contaminant dans un milieu donné et sur l'évaluation de son impact potentiel sur les populations et les écosystèmes. Ceci est vrai pour les institutions réglementaires qui établissent les seuils de rejets en fonction des informations disponibles et pour les industriels, parce qu'il est nécessaire, pour eux, de maîtriser l'impact réel de leurs installations pour mieux intégrer les objectifs qui leur sont fixés à terme et pour faire le choix de la meilleure technologie disponible en le justifiant auprès des institutions.

Il apparaît également que le respect des objectifs fixés par la directive cadre sur l'eau, nécessite une collaboration entre les institutions réglementaires et la communauté scientifique, mais également et surtout une collaboration avec les industriels qui doivent finalement intégrer les exigences européennes en terme économique dans la gestion de leur installation. Les informations fournies par la communauté scientifique seront intégrées à terme pour affiner les procédures d'évaluation du risque environnemental et leur pertinence, et pour mieux intégrer la composante environnementale, sans la sous-estimer, dans les procédures de prise de décision.

L'écotoxicologie a pour objectif d'étudier le devenir des polluants dans l'environnement et leurs conséquences écologiques (Calow, 1998). Du point de vue de l'écotoxicologie, Moriarty (1999) définit les polluants comme des substances naturelles ou artificielles présentes dans l'environnement, en partie à cause des activités humaines, et qui ont des effets délétères sur les organismes vivants et les systèmes écologiques.

Dans l'approche écotoxicologique, on peut dégager deux aspects complémentaires. Le premier concerne la description, l'analyse et la compréhension des phénomènes fondamentaux qui régissent les interactions entre les substances polluantes et les composantes

abiotiques et biotiques des écosystèmes. Il implique une approche multidisciplinaire intégrant tous les niveaux d'organisation (Figure 1).

Le second aspect concerne les applications de ces connaissances fondamentales pour protéger l'environnement. En effet une des questions essentielle en écotoxicologie est de pouvoir prédire les potentialités de contamination des biocœnoses par un composé donné et également ses conséquences écologiques.

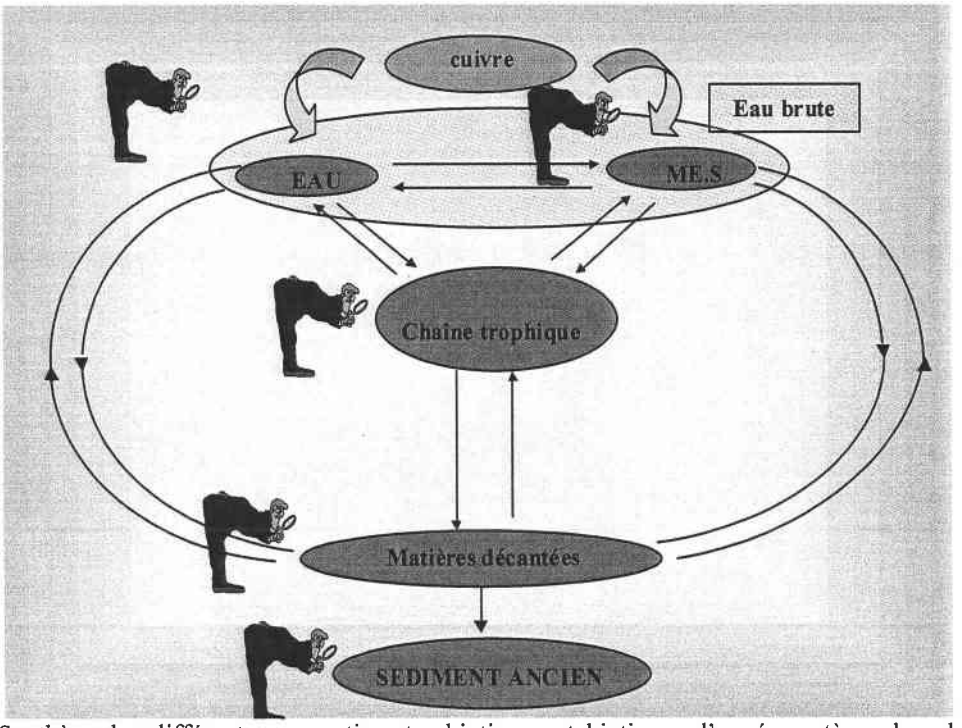


Figure 1 : Synthèse des différents compartiments abiotiques et biotiques d'un écosystème dans lesquels les métaux vont pouvoir se répartir.

A l'heure actuelle, malgré les efforts concertés de la communauté scientifique et des pouvoirs publics et les avancées notables qui en résultent, un certain nombre de points restent à améliorer et de nombreuses questions restent en suspens. La protection des milieux aquatiques, reste parmi les enjeux actuels les plus importants.

Dans le milieu, l'action d'un polluant sur une population va être conditionnée par son interaction avec les facteurs abiotiques (monitoring[1]) et biotiques (biomonitoring[2]), de sorte que le cadre de référence pour évaluer les effets d'un polluant sur les populations qui lui sont exposées sera « l 'écosystème tout entier ». Outre que l'écosystème modifiera la forme et la distribution d'un composé chimique, le réseau complexe des interactions à l'intérieur de celui-

[1] Monitoring : Evaluation de la concentration des polluants dans les biotopes, en particulier dans l'eau, le sol ou l'air, c'est à dire la composante abiotique des écosystèmes

[2] Biomonitoring ou biosurveillance: Utilisation d'organismes vivants dans les procédures de monitoring ou surveillance. Depuis la mesure des concentrations en polluant dans les tissus d'un organismes jusqu'à la quantification d'une réponse biochimique, physiologique,..., écologique comme la diversité, l'abondance)

ci fera qu'un effet direct d'un polluant en un endroit donné agira de façon indirecte en de multiples autres lieux et sur bien d'autres espèces peu ou pas sensibles au polluant considéré.

En définitif, il est difficile, voir impossible, de distinguer les effets d'un polluant sur les individus et les populations, de ceux concernant l'écosystème tout entier.

La préservation des plus hauts niveaux d'organisation (communautés et écosystèmes) est un des objectifs majeurs de l'écotoxicologie. Les approches actuelles tendent, par conséquent, à étudier les interactions entre les contaminants et une grande diversité d'organismes animaux afin d'évaluer précisément l'impact des contaminants sur l'ensemble de la communauté animale. Cet objectif nécessite l 'élargissement de l'éventail taxinomique et écologique (niveau trophique) classiquement étudié et la prise en compte dans les études d'écotoxicologie d'autres groupes d'invertébrés, même s'ils ne présentent pas les caractéristiques des bioindicateurs.

Il existe plusieurs échelles d'investigation en toxicologie de l'environnement, celles étant spécifiquement du domaine de l'écotoxicologie concernent les recherches effectuées *in situ* sur des communautés exposées à l'action des facteurs écologiques en vraie grandeur

Les deux types d'approche généralement proposés *in situ* sont la surveillance passive (utilisation d'individus ou de communautés naturellement présentes dans la zone d'étude) ou active (introduction d'espèces accumulatrices et/ou sentinelles dans le milieu étudié).

La difficulté d'évaluer les effets potentiels de toute perturbation sur un écosystème provient de ce que son action se manifeste simultanément à de nombreux niveaux d'organisation, ainsi qu'à une multitude d'échelles spatiales et temporelles, même si les effets initiaux peuvent être circonscrits à un petit nombre d'espèces polluo-sensibles dans la communauté affectée. Les biocœnoses naturelles sont des assemblages dynamiques hypercomplexes qui interagissent non seulement entre elles mais avec le biotope, c'est à dire avec la composante physico-chimique de l'écosystème.

L'écotoxicologie expérimentale, réalisée en laboratoire ou en mésocosme est complémentaire aux études *in situ*. En raison de la complexité des interactions entre les différents compartiments des écosystèmes, un grand nombre d'étude, dont la détermination des CL50, LOEC et NOEC sont réalisées en milieu contrôlé en laboratoire.

Outre les biais, l'étude en laboratoire de la toxicité d'une substance, permet d'isoler un compartiment d'étude, c'est à dire un mécanisme, un organe ou un cas spécifique d'interaction par exemple entre deux substances.... Par conséquent ces études permettent de mieux appréhender les cas d'étude *in situ* en apportant des éléments explicatifs et des informations indispensables à l'intégration des effets des polluants sur une échelle globale. Cependant il apparaît que les performances des individus testés dans le milieu par rapport au condition de laboratoire ne soient pas les mêmes (Giesy *et al.*, 1997; Diamond *et al.*, 1997).

Ainsi, les espèces observées comme étant les plus tolérantes face aux pollutions dans le milieu naturel, ne sont pas nécessairement les plus tolérantes face aux différents composés chimique testés sous des conditions standardisées de laboratoire (Nalepa & Landrum, 1988; Hickey & Vickers, 1994; Stuijfzand *et al.*, 1999).

Actuellement, l'esprit de **la réglementation** consiste à déterminer un risque acceptable pour l'environnement en comparant les concentrations prévues après dilution du produit dans le milieu récepteur avec la CL50 de ce dernier pour l'espèce aquatique la plus sensible en laboratoire, en prenant en compte un facteur de sécurité de 100 à 1000 fois par exemple. C'est sur cette base qu'a été conçu la grille d'évaluation de la qualité des eaux de surface du SEQ-eau par l'agence de l'eau en collaboration avec le ministère de l'environnement, a savoir que les limites de classe du SEQ-eau sont fixées sur la base théorique des concentrations n'ayant pas d'effet observable sur un organisme ou NOEC et des CL50 (concentration létale pour 50% des individus de l'espèce testée) définies en laboratoire et pondérées par un seuil de sécurité et ceci en considérant deux ou trois espèces représentatives de deux ou trois niveaux trophiques (producteurs et consommateurs). La grille du SEQ-eau a cependant l'avantage de tenter de prendre en considération l'effet de paramètres physico-chimiques tel que la dureté calcique sur la toxicité des métaux.

De même, la plupart des réglementations concernant la prévision des effets environnementaux des polluants repose souvent sur des tests monospécifiques et au mieux sur des expérimentations en mésocosmes. Cependant, le choix des espèces tests est souvent arbitraire, il est plus souvent fondé plus sur la commodité d'élevage en laboratoire que sur la signification écologique de l'espèce dans les écosystèmes considérés (Ramade, 1992).

De plus ces études monospécifiques en laboratoire dans des microcosmes extrêmement artificialisés, ne s'extrapolent pas de façon aisée à des cas réels pour estimer les effets potentiels susceptibles d'être provoqués par une concentration donnée d'un polluant sur les populations naturelles (Cairns, 1988). Ceci parce que, d'une part, les tests portent bien souvent sur une seule substance polluante, et que d'autre part la contamination des matrices d'exposition juste avant les tests ne permet pas une spéciation et/ou une métabolisation représentative des contaminants.

La biodisponibilité des polluants dans ces matrices n'est pas représentative de situations naturelles (Alexander, 2001 ; Pederson & Van Gestel, 2001), de même que la réponse des organismes.

A ces limites liées à une approche trop éloignée de la complexité écologique, on peut ajouter celles relatives à la procédure d 'évaluation des risques. Elles incluent, l'imprécision des prédictions, lesquelles sont basées sur des modèles statistiques et le choix arbitraire des facteurs de sécurité utilisés pour extrapoler les résultats expérimentaux à des effets *in situ.*

Cadre de l'étude :

Les condenseurs en laiton facilement corrodés, subissent une usure prématurée entraînant un problème de sûreté pour les centrales et un problème de pollution de l'eau par les métaux lourds (cuivre et zinc). EDF a donc décidé d'installer des condenseurs en acier inoxydable, plus résistant à la corrosion. L'emploi d'inox évite également tout rejet métallique dans le milieu naturel. Cependant, avec l'apparition des condenseurs en inox est survenue le problème du développement de micro-organismes. Le cuivre des condenseurs en laiton avait l'intérêt de modérer le développement de ces micro-organismes thermophiles et pathogènes pour l'homme (*Acanthamoeba* et *Naegleria fowleri*) dans les circuits semi fermés de refroidissement des centrales. Ces micro-organismes sont des protozoaires extrêmement dangereux, certain (*Naegleria fowleri*) provoquent une méningite mortelle et d'autres (*Acanthamoeba)* des Méningo-encéphalites Amibienne et des atteintes variées. La colonisation des circuits par ces pathogènes a crée une situation d'urgence sanitaire à laquelle les exploitants ont répondus par des traitements biocides ayant eux-mêmes un impact non négligeable sur l'environnement. La seconde étape fut la recherche d'un traitement ayant le moins d'effet possible sur l'environnement, cependant le problème à résoudre reste complexe.

Dans l'attente de solutions curatives durables, des solutions alternatives doivent être trouvées pour atteindre un bon équilibre entre, l'efficacité nécessaire à la prise en compte de la contrainte sanitaire ; l'impact environnemental et sanitaire des rejets ; et la faisabilité industrielle.

Etant donné que les problèmes rencontrés proviennent de l'utilisation de condenseurs en laiton, certaines réactions, dans un but préventif, tendent à opter pour un retour au laiton. EDF est actuellement en train d'envisager un compromis qui exploiterait des condenseurs conçus pour une moitié en titane ou en inox et pour l'autre en laiton. Il aurait pour vertu de garantir un effet bactériostatique tout en diminuant les rejets en métaux.

Cependant, comme dans toutes prises de décision, la pertinence du choix repose sur une bonne connaissance des impacts respectifs de chaque technologie (laiton, inox). L'impact étant fortement dépendant des caractéristiques du milieu récepteur, il est nécessaire de réaliser des études au cas par cas pour améliorer les connaissances acquises sur les effets des rejets métalliques. La centrale de Cattenom est encore équipée de condenseurs en laiton et la décision du remplacement des condenseurs pour une technologie des échangeurs de chaleur ayant le moins d'effet sur le milieu récepteur nécessitait une meilleure connaissance de l'impact réel des installations sur l'environnement.

OBJECTIF GENERAL de l'étude

Les modalités d'action d'un polluant sur un écosystème peuvent être illustrées par une cascade d'événements depuis sa source, sa circulation entre les différents compartiments, le transit et l'impact global sur les écosystèmes. Un polluant qui entre dans un écosystème va se distribuer et s'accumuler préférentiellement dans un compartiment.

Le polluant va ensuite pouvoir être en contact et être éventuellement disponible pour les organismes de ce compartiment et être bioaccumulé. A partir de cette exposition, un enchaînement de réponses sera observable à tous les niveaux de l'organisation biologique.

Notre travail de recherche a pour objectif d'étudier la distribution, la circulation (transfert), la biodisponibilité de deux polluants métalliques, le cuivre et le zinc dans les compartiments abiotiques et biotiques de deux milieux aquatiques récepteurs, la retenue artificielle du Mirgenbach principalement et la rivière Moselle, de même que la toxicité à long terme de ces polluants pour la biocœnose. Pour cela une approche globale et multidisciplinaire, réalisée *in situ* est proposée sur un site de production d'électricité d'origine nucléaire du fait de la présence de condenseurs en laiton. Cette problématique s'intègre dans la thématique développée par l'équipe de production des écosystèmes du laboratoire LBFE de l'université de Metz qui concerne en outre l'impact des polluants sur les écosystèmes à différentes échelles d'organisation.

Dans la première partie, une synthèse bibliographique est consacrée, tout d'abord, aux caractéristiques écotoxicologiques des métaux cuivre et zinc, incluant une présentation des métaux étudiés, leurs cycles géochimiques, spéciation et biodisponibilité dans le milieu et les voies d'exposition pour les différents organismes. Un deuxième chapitre concerne les propriétés toxicologiques des métaux cuivre et zinc englobant les mécanismes de bioaccumulation par les organismes du milieu et leurs impacts sur les différents niveaux d'organisations biologique de l'écosystème (Toxicité).

La seconde partie du mémoire est relative aux résultats et comporte trois chapitres. Le premier chapitre traite de la distribution (niveau de contamination), de la circulation (transfert) des métaux cuivre et zinc dans les compartiments abiotiques de l'écosystème. Le deuxième chapitre étudie la spéciation du cuivre principalement et du zinc dans les sédiments des sites d'étude. Le troisième chapitre est consacré à la biosurveillance active et passive en retenue et en rivière Moselle, avec l'estimation de la biodisponibilité des métaux pour les organismes (chaîne trophique), ainsi que l'étude des variations spatio-temporelles des niveaux de bioaccumulation. Le dernier chapitre concerne l'évaluation de l'impact global du cuivre sur la biocœnose (transferts des métaux au sein d'une chaîne trophique et toxicité à long terme du cuivre).

Chaque chapitre comporte une discussion partielle et la globalité de l'étude fait l'objet d'une synthèse générale ouvrant sur les perspectives.

PARTIE I :

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I. Propriétés des métaux cuivre et zinc. Principales sources, Cycles géochimiques, Spéciation et Biodisponibilité

I.1. Présentation des métaux et de leurs alliages

I.1.1. Identité

I.1.1.1. Le cuivre

Depuis la haute antiquité les hommes ont utilisé le cuivre. La dénomination du cuivre vient étymologiquement du latin *cyprium* signifiant île de Chypre, réputée pour ses mines de cuivre.

Le cuivre, le 29ème élément et le premier du groupe IB du tableau périodique (M=63.546), possède 4 niveaux d'oxydation : Cu^0 (cuivre métallique), Cu^+ (ion cuivreux), Cu^{2+} (ion cuivrique) et Cu^{3+} (cuivre trivalent).

Le cuivre est un métal de transition, rouge-brun, malléable et ductile, excellent conducteur électrique et thermique. Relativement résistant à la corrosion, il réagit à chaud avec les acides oxydants, le chlore, le soufre et le phosphore. Il est oxydé à froid par l'air humide contenant du gaz carbonique ce qui donne le vert-de-gris. Il fournit des composés toxiques sous l'action des acides faibles, en particulier de l'acide acétique (vinaigre). Il ne réagit, ni avec l'oxygène de l'air, ni avec l'eau.

I.1.1.2. Le zinc

Le zinc a été découvert par Andreas Marggraf (Allemagne) en 1746. La dénomination du zinc vient étymologiquement de l'allemand zink.

Le zinc est un élément métallique de numéro atomique Z = 30, de masse atomique M = 65,37 et de symbole Zn ; il appartient au groupe IIb de la classification périodique des éléments. Le zinc représente environ 0,02 % de la lithosphère ; il est donc relativement abondant.

Le zinc est un métal bleu-gris qui se travaille bien aux températures normales, est ductile et malléable entre 100 et 150 °C et devient cassant au-dessus de 200 °C ainsi qu'au-dessous de 5 °C. Le zinc est un métal très réducteur qui réagit avec les bases et les acides. Il ternit au contact de l'air. Le zinc est attaqué par les acides non oxydants avec dégagement d'hydrogène et formation d'ions Zn^{2+}. À chaud, les bases concentrées réagissent sur le zinc avec dégagement d'hydrogène et formation d'ions zincate $ZnO^{2-}{}_2$. Dans ses composés on le trouve au degré d'oxydation II.

I.1.2. Propriétés et utilisation du cuivre et du zinc

I.1.2.1. Le cuivre

Le cuivre est un matériau de base de l'industrie électrique (en concurrence avec l'aluminium) et de la construction (conduites d'eau). Ses qualités mécaniques rendent possibles de nombreux procédés d'usinage (emboutissage, forgeage, laminage, matriçage, tréfilage). Le cuivre étant le métal usuel conduisant le mieux la chaleur, cette propriété est mise à profit pour chauffer ou refroidir rapidement un liquide ou un gaz : chauffe-eau ou chaudières murales, radiateurs de véhicules, condenseurs et réchauffeurs des centrales électriques, thermiques, nucléaires. Ce dernier exemple représente environ 200 tonnes d'alliages de cuivre pour 1000 mégawatts installés.

Le cuivre a autrefois été considéré comme un poison dangereux, en particulier sous forme de vert-de-gris, qui est un des nombreux oxydes de cuivre. On sait maintenant que le cuivre est nécessaire à la vie : l'homme et les animaux ont besoin d'absorber quotidiennement quelques milligrammes de cuivre pour assurer la formation de l'hémoglobine du sang. Il n'existe pas de maladie professionnelle dans l'industrie du cuivre. Le cuivre a des propriétés bactéricides reconnues. Il détruit les micro-organismes et les bactéries et assainit les canalisations qui sont utilisées dans le monde entier pour la distribution de l'eau, la fabrication de la bière, des confitures et la distillation des alcools. Ces caractéristiques confèrent au cuivre et à certains de ses alliages, comme le cupro-nickel, des propriétés anti-salissures, qui consistent à empêcher la fixation d'algues et d'organismes marins. Cette propriété, qui s'ajoute à la résistance à la corrosion, est largement utilisée pour toutes les applications marines. Les sels de cuivre, comme le sulfate ou l'oxychlorure, présentent des propriétés fongicides mises à profit pour la viticulture et l'agriculture.

I.1.2.2. Le zinc

Le zinc est le quatrième métal le plus utilisé dans le monde après le fer, l'aluminium et le cuivre.

Le zinc s'oxyde à l'air humide et se recouvre d'une couche d'hydrocarbonate de zinc qui le protège. C'est ce qui explique sa résistance à la corrosion et son emploi pour la confection de toitures. Malheureusement, les eaux chargées de dioxyde de carbone et de composés sulfurés l'attaquent de manière continue.

Le monoxyde de zinc ZnO, floconneux et blanc, est habituellement préparé à partir du zinc usagé ; c'est un oxyde indifférent auquel correspond l'hydroxyde amphotère $Zn(OH)_2$ blanc. Cet oxyde, appelé blanc de zinc ou blanc de Chine, est utilisé comme pigment blanc de base dans la fabrication des peintures, dans l'industrie des pneumatiques (il améliore la résistance à l'usure du caoutchouc), dans les industries chimiques, pharmaceutiques (pommades) et des parfums.

Le sulfate de zinc $ZnSO_4$ est employé dans la fabrication des textiles comme coagulant des bains, dans la préparation du lithopone, autre pigment blanc destiné aux peintures, dans l'industrie pharmaceutique et comme électrolyte de la pile Daniell. Le sulfure de zinc ZnS est blanc et phosphorescent ; il entre dans la composition d'enduit d'écrans de télévision et

d'oscillographes cathodiques.

Le chlorure de zinc $ZnCl_2$ est utilisé en galvanisation et dans l'industrie du bois où il protège contre les attaques des insectes. Le chromate de zinc $ZnCrO_2$ trouve son emploi dans la fabrication des peintures ; il couvre bien le fer et remplace le minium. Le cyanure de zinc $Zn(CN)_2$ et le fluoborate de zinc sont employés dans les bains électrolytiques.

L'organisme renferme presque autant de zinc que de fer, localisé dans les cellules. Les yeux, en particulier, en contiennent une très grande quantité. Il intervient dans le métabolisme protidique et joue un rôle dans le fonctionnement de certaines enzymes. Il forme facilement des complexes, par exemple avec l'insuline

I.1.2.3. Le laiton

La plupart des éléments sont solubles dans le cuivre, et peuvent constituer avec lui des alliages. On peut introduire dans le cuivre jusqu'à 10% de nickel, 40% de zinc, 25 % d'étain et 15 % d'aluminium. Le domaine d'application des alliages de cuivre et en particulier du laiton est immense. Les laitons sont des alliages à base de cuivre et de zinc, contenant entre 5 et 45 % de ce dernier. On peut trouver d'autres éléments d'addition qui visent à lui conférer certaines propriétés particulières. Les laitons simples ne renferment que du cuivre et du zinc.

Au fur et à mesure que la teneur en zinc augmente, la température de fusion et la conductibilité électrique du métal diminuent, tandis que ses qualités de résistance mécanique et de dureté s'améliorent. Les laitons spéciaux sont obtenus par l'incorporation d'un ou plusieurs éléments d'addition comme l'étain, l'aluminium, le manganèse, le nickel, le fer, le silicium ou même l'arsenic, en vue d'améliorer certaines propriétés, en particulier leurs caractéristiques mécaniques. Ils contribuent en même temps, dans la plupart des cas, à l'augmentation de leur résistance à la corrosion.

I.2. Les sources de cuivre et zinc dans l'environnement

Le **tableau I-1** présente quelques concentrations en cuivre et en zinc mesurées dans différents compartiments des écosystèmes.

I.2.1. Le cuivre

I.2.1.1. Les sources naturelles

Relativement peu abondant (0,007 % de la lithosphère), le cuivre se rencontre principalement sous forme de minerais sulfurés (chalcosine Cu_2S, chalcopyrite $CuFeS_2$, etc.) ou oxydés (cuprite Cu_2O, malachite $Cu_2(OH)_2CO_3$, etc.). Le cuivre se trouve naturellement sous sa forme métallique (Encyclopédie, 2001). Le cuivre a une teneur naturelle d'environ 60 mg/kg dans la croûte terrestre et de 2.5.10-4 mg/l dans la mer (Lide & Frederikse, 1993 in EHC 200, 1998)

Tableau I-1 : Concentrations en cuivre et en zinc dans les principaux compartiments de l'écosphère, et activité anthropique globale (d'après Andres, 1997 modifié pour les valeurs de zinc).

	Zinc	Cuivre
Concentration moyenne dans la croûte terrestre (mg/kg)	27.5	60 (EHC 200, 1998)
Lithosphère (surface – mg/kg)	125	-
Atmosphère (site non urbain - µg/m^3)	0.01 – 0.2	5 - 50 (EHC 200, 1998)
Atmosphère (site urbain - µg/m^3)	0.01 – 0.84	-
Sédiments contaminés (mg/kg)	440-2920 1900	800-5000 (Forstner & Witmann, 1979)
Sédiments de rivière (mg/kg)	> 100	16 – 5000 (Forstner & Wittmann, 1981)
Sédiments marins (mg/kg)	-	2 – 740 (Nriagu, 1979b)
Sédiments estuarien (mg/kg) in UK	-	10 - >2000 (Bryan & Langstom, 1992)
Sol non pollué (mg/kg)	10-300	2 - 250 (Bowen, 1985)
Eau de mer non polluée (µg/l)	0.002 – 0.1 (EHC 221, 2001)	0.15 (Nriagu, 1979b)
Eau douce non polluée (µg/l)	5-177	1.0 – 20 (Nriagu, 1979b)

I.2.1.2. Les sources anthropogéniques

Parmi, les sources d'émission anthropogéniques, on compte les fours de fusion, les fonderies de fonte, les centrales thermiques ainsi que les sources de combustion telles que les installations municipales d'incinération. Les rejets de cuivre dans le sol proviennent essentiellement des résidus et terres de recouvrement des exploitations minières et des boues d'égouts. Les produits agricoles à base de cuivre représentent 2 % des rejets de cuivre dans le sol (EHC 200, 1998).

II.2.2. Le zinc

I.2.2.1. Les sources naturelles

Le zinc ne se rencontre pas à l'état libre dans la nature, mais sous forme d'oxyde de zinc (ZnO) dans la zincite, sous forme de silicate de zinc ($2ZnO.SiO_2H_2O$) dans l'hémimorphite, de carbonate de zinc (ZnCo3) dans la smithsonite, d'oxyde mixte de zinc et de fer ($Zn(FeO_2)O_2$) dans la franklinite, et de sulfure de zinc dans la blende (ZnS) (Andres, 1997). Le zinc principalement sous forme de sulfure (blende) est assez uniformément distribué dans les roches magmatiques (40 à 120 mg/kg). Sa concentration est un peu plus élevée dans les sédiments argileux (80 à 120 mg/kg) et les schistes alors qu'elle est plus faible dans les roches mères sableuses (INERIS, 2000).

I.2.2.2. Les sources anthropogéniques

Les apports anthropogéniques résultent de trois groupes d'activités : les sources minières et industrielles (traitement du minerai, galvanisation, matières plastiques…), les épandages agricoles (ajout dans les aliments pour animaux, surtout des porcs) et les autres activités telles que le trafic routier, l'érosion des toitures zinguées, l'usure des pneumatiques et les poussières d'incinération (INERIS, 2000).

I.3. Cycles géochimiques des métaux dans l'écosystème

Depuis quelques années, une attention soutenue a été portée à la spéciation des métaux dans l'environnement aquatique. Cette recherche est motivée par le fait que les formes ioniques Cu^{2+} et Zn^{2+} du cuivre et du zinc et non leur concentration totale détermine leur biodisponiblité et de fait leur toxicité envers les organismes du milieu (Mansilla- Rivera & Nriagu, 1999). Les complexes metal-ligand sont très variés et doivent être pris en compte du fait de la capacité plus ou moins forte de dissociation.

Dans les eaux naturelles, la spéciation du cuivre et du zinc peut-être modifiée par différents cycles de transformation se produisant dans le système. Les cycles biogéochimiques sont définis comme le mouvement des éléments entre les différentes phases dans un milieu naturel et ce du fait de leur intervention dans des réactions biologiques et chimiques (Sholkovitz, 1985).

Le cuivre et le zinc sont intégrés aussi bien dans des processus de réduction/oxydation, que d'adsorption/désorption et dissolution qui causent en définitif des modifications de leur spéciation (Mansilla-Rivera & Nriagu, 1999).

Note : *Le terme de ligand est défini comme les anions, les molécules, les groupements, les polymères et les petites particules qui sont capables de lier un métal cationique. La nature de la liaison peut aller de principalement électrostatique à exclusivement covalente. Le complexe métal-ligand peut être du type simple espèce inorganique tel que* $CuOH^+$ *ou* $CuCO_3^0$ *jusqu'à des macromolécules compliquées possédant un groupe fonctionnel qui lie le métal comme les groupements carboxyle (M-OOCR), amino ([M-*NH_2*R]+, M-NHR), phénolique (M-OAr), sulfures métallique (M-SM'), et les thiol-sulfures (M-SR) qui sont constitutifs des matières organiques naturelles et des ligands enzymatiques* (Smith *et al.*, 2002).

1.3.1. Réactivité chimique dans l'eau

1.3.1.1. La dissociation acido-basique

Une espèce importante de Cu (II) présente dans les systèmes aquatiques est $Cu_2(OH)_2^{2+}$ qui est formé par dimérisation de $CuOH^+$. $Cu_2(OH)_2^{2+}$, n'est pas stable thermodynamiquement dans les conditions normales de l'environnement. Il est formé quand il y a de forte concentration de $Cu(OH)_2^0$ en solution. Mais une fois formé, il existe pendant des années comme une espèce métastable.

1.3.1.2. La complexation

Les formes de cuivre présentes dans l'eau sont dépendantes du pH. En milieu acide, l'espèce prédominante est le cuivre Cu^{2+} alors qu'à des pH correspondant aux pH des milieux naturels, les espèces principales en l'absence de matières organiques sont Cu^{2+}, $CuHCO_3$, $CuCO_3$ et $CuOH^+$ (**Figure I-1**).

Le cuivre (II) se lie préférentiellement via l'oxygène à des ligands inorganiques tels que H_2O, OH^-, CO_3^{2-}, SO_4^{2-} et à des ligands organiques via les groupes phénolique et carboxylique (Cotton & Wilkinson, 1989).

Le cuivre forme des complexes aussi bien avec des ligands organiques, qu'inorganiques en milieu aquatique. Les complexes avec OH^- et CO_3^{2-} sont forts alors que ceux avec Cl^- et SO_4^{2-} sont plus faibles.

Dans des milieux pollués par des réactifs chimiques ou des ligands organiques, la spéciation du cuivre est modifiée par la formation de complexes avec ces ligands.

En raison de la grande stabilité des complexes cuivre/ligands organiques, la présence du cuivre peut modifier la complexation d'autres métaux. Le calcium et le magnésium forment des complexes plus stables que ceux du cuivre. La présence de ces cations à des concentrations supérieures à celles du cuivre réduit la disponibilité des ligands organiques pour le cuivre.

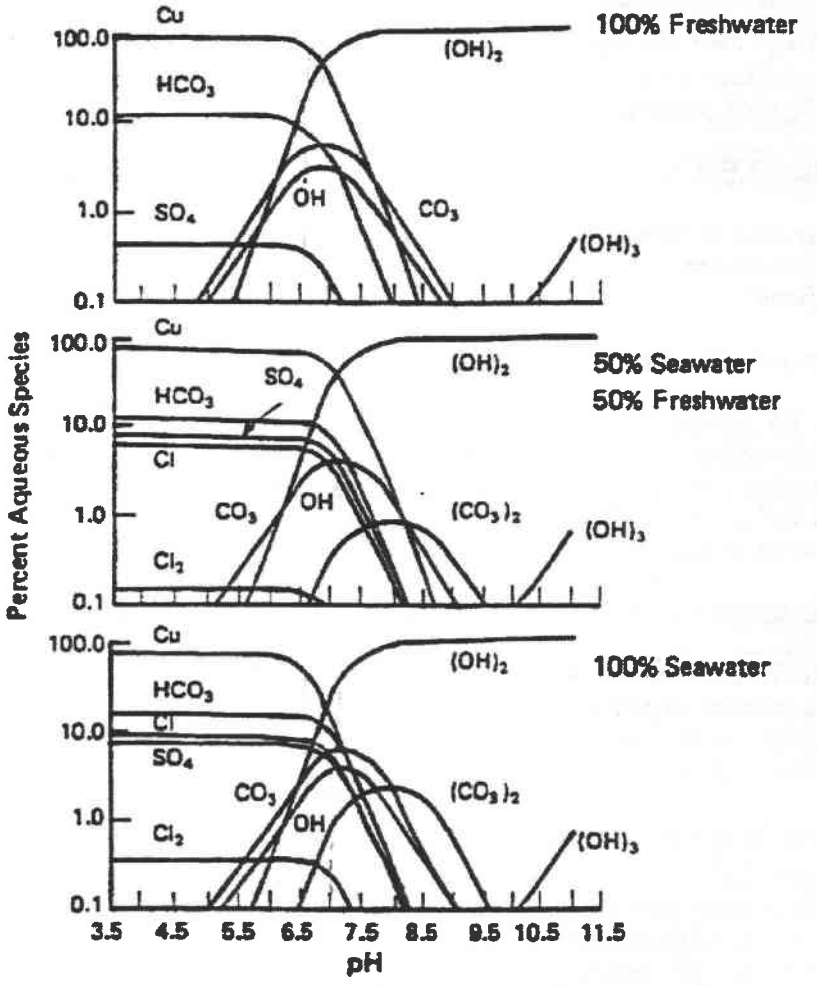
Dans les eaux de surface et dans les eaux de mer en absence de substances organiques et d'autres éléments traces et pour des pH variant de 4 à 7, les espèces prédominantes sont Zn^{2+} dans les eaux douces. Pour des pH supérieurs à 7.5, $Zn(OH)^0_2$ est l'espèce prédominante dans les deux cas.

La spéciation du zinc n'est pas affectée par les ligands organiques aux concentrations auxquelles ils existent dans le milieu naturel. Par contre, ils peuvent jouer un rôle dans les zones polluées. En eau de mer, la spéciation est dominée par les chloro-complexes (Bryan & Langston, 1992), mais les espèces cationiques (par exemple Zn^{2+} et $Zn\ Cl^+$) ne sont pas négligeables.

Le pH de la plupart des eaux naturelles est dans une gamme critique pour l'adsorption des métaux sur les particules. Un changement de pH de +/- 0.5 peut faire la différence entre une majorité de zinc sous forme adsorbé et une majorité de zinc sous forme désorbée. Florence (1977) a rapporté que le zinc dans plusieurs eaux douces à pH 6.0-6.1 est distribué entre les espèces ioniques labiles et les formes inorganiques stables ; la quantité de zinc lié aux colloïdes étant moindre.

Le matériel organique a un rôle important dans la liaison du zinc dans les eaux douces, particulièrement dans le cas de valeur de pH élevé (> à 6.5). Les variations spatiales ou temporelles des concentrations en zinc sont relatées comme étant faibles.

Dans les eaux, le zinc forme des complexes avec une grande variété de ligands organiques et inorganiques (Callahan *et al.*, 1979 ; US EPA, 1984).



Composition of Systems (Molal Concentrations)

Species	Freshwater	Seawater
Ca	0.000375	0.0104
Mg	0.000168	0.054
Na	0.000274	0.4752
K	0.000059	0.01
Cl	0.00022	0.554
SO_4	0.000955	0.0284
Total Alkalinity	0.000955	0.00234
Ionic Strength	0.0021	0.661

Source: Long and Angino [6]. *(Copyright 1977, Pergamon Press, Inc. Reprinted with permission.)*

Figure I-1 : Spéciation chimique du Cu(II) dans des systèmes aquatiques non pollués, sans matière organique et avec une concentration totale en cuivre inférieure à 10 ppm.

Plus de 50% du zinc total dans les eaux acides est sous une forme inorganique non colloïdale, tel que le carbonate de zinc, les hydroxycarbonates de zinc et le silicate de zinc. Dans les eaux alcalines, la plus grande partie du zinc est liée et adsorbée aux particules colloïdales organiques et inorganiques.

Le zinc est également connu pour être adsorbé sur les sulfures (Hem, 1972), les silicates (Huang *et al.*, 1977), les alumines (Huang *et al.*, 1977), les dioxydes de manganèse (Doshi *et al.*, 1973) et les acides humiques (Guy & Chakrabarti, 1976).

1.3.1.3. Réaction REDOX

Le cuivre est présent sous la forme Cu (II) dans des conditions aérobies et sous la forme Cu (I) dans des conditions anaérobies. Dans la phase soluble, Cu^{2+} est suggéré comme étant l'espèce prédominante dans la plupart des eaux naturelles.

Dans cet état d'oxydation le cuivre forme des complexes très stables avec des ligands organiques et inorganiques. A l'opposé, le cuivre Cu (I) est instable en solution et tend à être rapidement transformé en Cu (II). Toutefois il a été démontré que des complexes avec Cu(I) pouvaient se former dans un environnement aquatique naturel par des processus photochimiques et pouvaient persister quelques heures (Moffett & Zika, 1987a, Xue *et al.*, 1991, Glazewski & Morrison, 1996). Le Cu (I) peut être produit sous des conditions anoxiques. La majorité des composés formés est insoluble, les exemples incluent Cu_2S, CuCN, CuCl et CuF (Cotton & Wilkinson, 1989)

Le zinc dans l'environnement est sous la forme Zn(II). Les formes possibles du zinc sont les carbonates et les hydroxydes dans les eaux oxygénées. La précipitation du zinc sous forme ZnS permet de contrôler la mobilité du zinc en milieu réducteur.

I.3.1.4. L'équilibre solubilité-précipitation

Les oxydes, les sulfures et les hydroxydes de cuivre sont peu solubles, alors que les sulfates, les oxysulfates et les phosphates de cuivre sont très solubles.
Dans les systèmes aérobies, les espèces solides que l'on trouve sont les oxydes et les hydroxydes. Dans les systèmes anaérobies contenant du sulfure, on trouve du sulfure de cuivre, des oxydes de cuivre et du cuivre métallique.

La solubilité du zinc est fortement affectée par le pH, le potentiel REDOX, la température et la présence de ligands. Le zinc est un des métaux traces les plus soluble dans les eaux naturelles car la plupart des complexes qu'il forme avec les ligands présents dans les eaux de surface sont solubles en milieu neutre et acide. Dans un environnement réducteur, le sulfure de zinc précipite, alors que dans un milieu oxydant et pour de fortes concentrations en zinc, ce sont $Zn(OH)_2$, $ZnCO_3$ et $Zn_4(OH)_6SO_4$ qui précipitent.

I.3.2. Adsorption au niveau des sédiments

Le cuivre est fortement adsorbé sur les hydroxydes de fer, les oxydes de manganèse, les argiles et la matière organique. Sa tendance à s'adsorber est plus forte que celle du Zinc, du plomb et du cadmium. L'adsorption est probablement le mécanisme le plus important pour le contrôle de la mobilité du cuivre dans l'environnement.
Le processus d'adsorption est fortement dépendant du pH. La présence d'anions augmente l'adsorption pour des pH > à 6 mais n'a aucun effet en dessous de pH 6.

L'adsorption du zinc sur les sédiments a un impact important sur la mobilité du zinc, c'est pourquoi une pollution par le zinc tend à rester localisée près de sa source. L'adsorption du zinc se fait essentiellement dans la gamme de pH 5 à 7.

Le zinc est fortement adsorbé par les hydroxydes de fer dans les eaux alcalines (Gadde & Laitinen, 1974). Les hydroxydes et les ions hydratés de fer et de manganèse sont des composants de la fraction argileuse des sédiments et ils existent également à la surface d'autres minéraux (US National Academy of Sciences, 1977). Quand ces oxydes hydratés sont oxydés, ils pourraient co-précipiter avec le zinc.

Farrah & Pickering (EHC 221, 2001) déterminent l'adsorption du zinc sur 3 types d'argiles, kaolinite, illite et montmorillonite. La capacité d'adsorption des argiles augmente entre pH 3.5 et pH 6.5. Sous des conditions alcalines, le zinc précipite sous des espèces hydroxydes, lesquelles s'adsorbent aux argiles. A pH>10.5, le zinc se trouve en solution sous forme de zincate. La liaison à des hydroxydes est rapportée comme étant le processus contrôlant la fixation du zinc dans la kaolinite et l'illite. Les mécanismes contrôlant la fixation du zinc dans la montmorillonite sont les échanges ioniques sur les sites négatifs des feuillets.

Dans les sédiments anoxiques, le sulfure de zinc est la forme prédominante (Casa & Crecelius, 1994). Seule la couche superficielle des sédiments est oxygénée et à ce niveau le zinc serait principalement associé aux oxydes de fer et de Mn hydratés, comme composants de la fraction argileuse ou adsorbé à la surface d'autres minéraux (EHC 221, 2001).

I.3.3. Spéciation du cuivre et du zinc en phase dissoute

Les programmes d'équilibre chimique sont utilisés pour visionner la distribution des espèces dans un échantillon contenant des concentrations totales définies de métal et de ligands, si les constantes de stabilité appropriées sont disponibles (Janssen *et al.*, 2003). Les programmes les plus couramment utilisés inclus MINTEQA2 (Allison *et al.*, 1991) et MINEQL+ (Schecher & McAvoy, 1992). Il est important de souligner que l'application de ces calculs est très délicate. Ils reposent en effets sur l'hypothèse d'un équilibre thermodynamique (égalité des vitesses de formation et de dissociation des complexes), ce qui implique que les conditions physico-chimiques du milieu soient stables. C'est rarement le cas en milieu naturel, où les paramètres abiotiques varient en permanence, ne serait ce que par la présence d'organismes vivants qui entretiennent des échanges avec le milieu (Andres, 1997) avec, par exemple, d'importantes variations du pH entre la phase nocturne et la phase diurne du fait de la photosynthèse (Nycthémère). D'autre part, ces calculs sont établis pour un milieu homogène, et leur extrapolation aux systèmes naturels se heurte à la complexité des biotopes

et à la présence de nombreux ligands minéraux et/ou organiques à l'égard desquels les affinités chimiques des métaux sont mal connues.

Mansilla-Rivera & Nriagu (1999) ont utilisé un modèle d'équilibre chimique, MINEQL+, pour estimer la distribution du cuivre dans un système aquatique non contaminé avec une faible concentration en carbone organique dissous. En général l'espèce prédominante, en considérant la gamme de pH des eaux naturelles, serait $Cu(OH)_2$ cependant pour les pH élevés (>10), $Cu(CO_3)_2^{-2}$ deviendrait l'espèce prédominante. Le pH semble être le facteur qui contrôlerait le mieux la spéciation des métaux.

Le logiciel MINTEQA2 a été utilisé par Ciffroy & Charlatchka (1998) pour estimer la spéciation du cuivre et du zinc en phase dissoute dans l'eau de rejet de la centrale nucléaire de Cattenom. Ces eaux se caractérisent par un pH basique (>à 8) et une minéralisation importante puisque les concentrations en chlorure, sulfate, sodium et calcium sont respectivement de 430, 130, 148, 201 mg/l. Les calculs réalisés supposent l'absence de matière organique et que la totalité des métaux se trouve sous forme inorganique. Les résultats de ces modélisations sont présentés par la **Figure I-2** et **I-3**.

La fraction de cuivre libre Cu^{2+} apparaît être négligeable et les hydroxydes $Cu(OH)_2$ dominent la spéciation du cuivre dans les conditions de pH et de minéralisation considérées. Concernant le zinc, la fraction de l'espèce ionique libre Zn^{2+} est non négligeable. Ciffroy & Charlatchka (1998) en comparant ces résultats à ceux obtenus dans les eaux de rejet d'autres centrales ont constaté que la spéciation du zinc inorganique était fortement dépendante de la qualité d'eau du rejet, la principale différence entre les sites étant le pH qui varie entre 7.75 et 9.03 selon les sites. Le pH pourrait également avoir un rôle non négligeable dans les différences de spéciation du zinc inorganique observée en aval du rejet (**Figure I-3**) puisqu'il diminue entre le rejet et l'aval de 8.06 à 7.75.

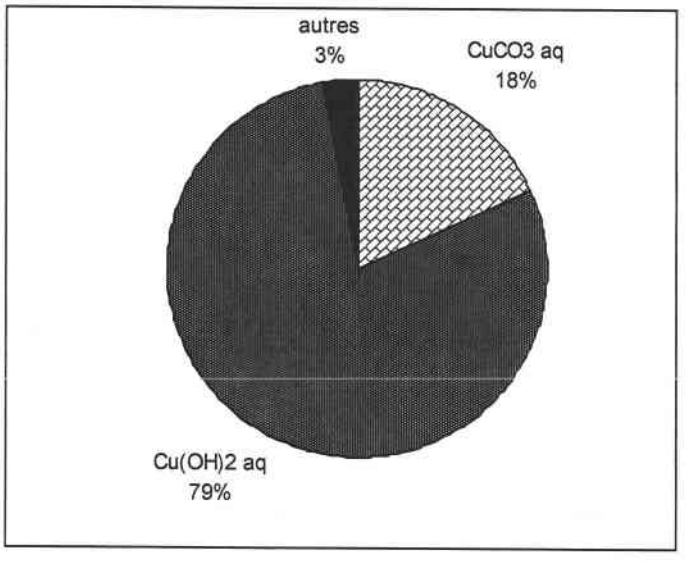


Figure I-2 : Spéciation du cuivre en phase dissoute et répartition entre les différentes espèces inorganiques dans le rejet de Cattenom (d'après Ciffroy & Charlatchka - 1998).

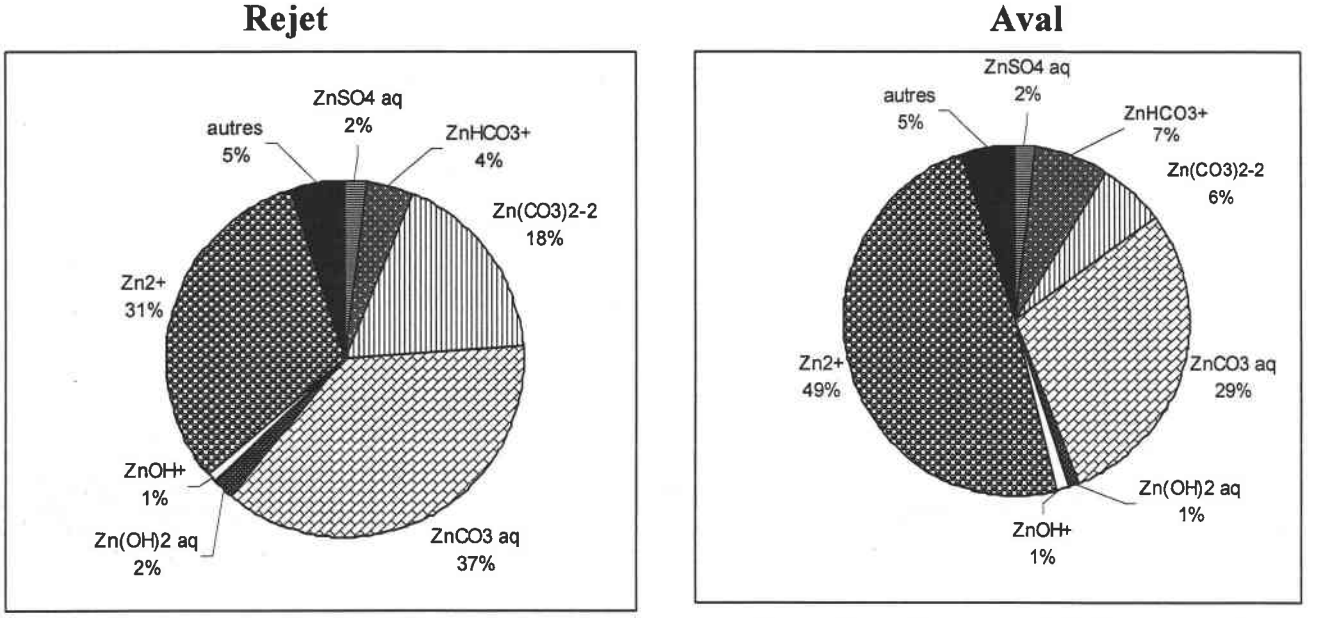


Figure I-3 : Répartition du zinc entre les différentes espèces inorganiques dans le rejet de la centrale de Cattenom et en aval de la centrale Cattenom après mélange avec les eaux de la rivière réceptrice (d'après Ciffroy & Charlatchka - 1998).

I.4. Biodisponibilité et Spéciation des métaux

La fraction disponible d'une substance est généralement décrite comme la proportion qui est disponible pour l'absorption par les organismes vivants (Forbes & Kure, 1996 ; Hamelink *et al.*, 1994). Si cette définition est consensuelle parmi les écotoxicologues, les modèles conceptuels et les méthodes de mesure des fractions biodisponibles sont controversés (Coeurdassier, 2001). Pour certains auteurs, la biodisponibilité est uniquement une propriété physico-chimique du polluant qui s'évalue par la quantité de polluant extraite par un solvant donné (Mayer *et al.*, 1994 ; Newman & Jagoe, 1994). Ces mesures ont été utilisées pour prédire la biodisponibilité des métaux pour des espèces aquatique (Brezonick *et al.*, 1991) et terrestres (Janssen *et al.*, 1997).

Toutefois, le comportement géochimique des phases dissoutes et particulaires ne détermine qu'en partie la biodisponibilité des métaux, car les interactions avec les animaux sont définies par des facteurs biologiques (Wang *et al.*, 1996) **(Figure I-4).**

Par conséquent, en milieu aquatique, la biodisponibilité recouvre deux phénomènes distincts (Hamelink *et al.*, 1994 ; Peijnenburg *et al.*, 1997 ; Coeurdassier, 2001).

- La disponibilité environnementale qui est due à des processus purement physico-chimiques de désorption et/ou de mise en solution des métaux dans l'eau interstitielle des sédiments ou dans le milieu liquide ambiant
- La biodisponibilité environnementale qui correspond aux processus physiologiques d'absorption des métaux.

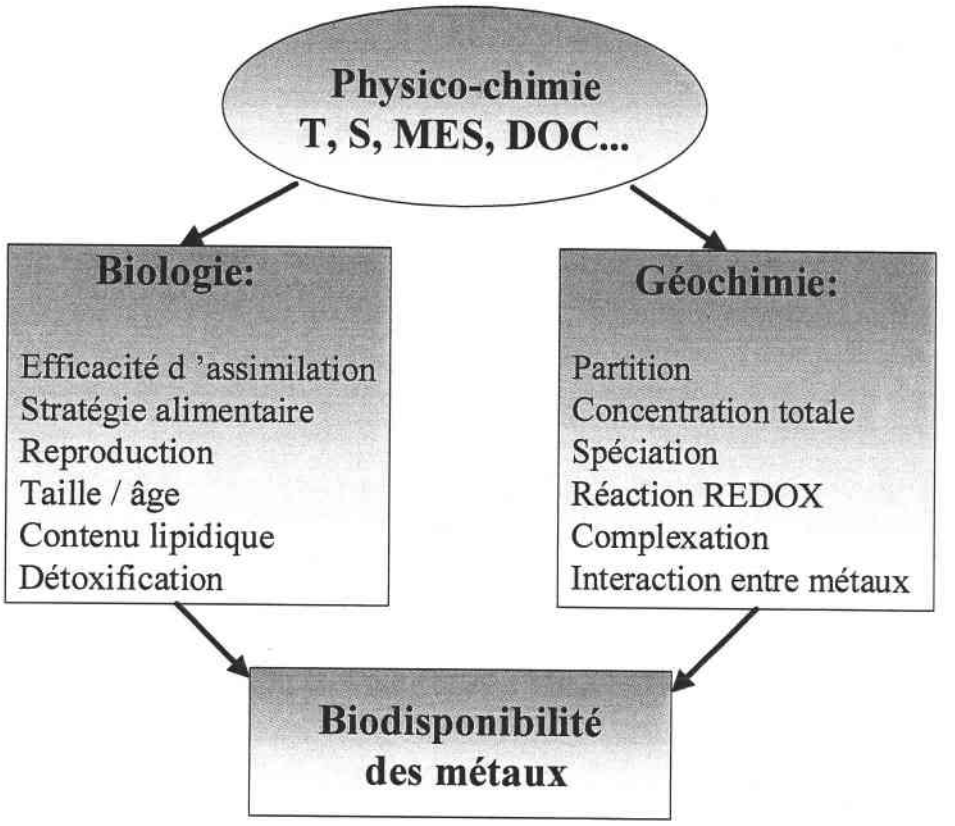


Figure I-4 : Facteurs biologiques et géochimiques affectant la biodisponibilité des métaux pour les organismes aquatiques. (T : température, S : salinité, MES : charge en matière en suspension, DOC : carbone organique dissous) (Modifié d'après Wang & Fisher, 1997b).

Selon Phillips & Rainbow (1994), le métal qui se trouve dans les organismes est, par définition, « biodisponible ». Ils affirment que la biodisponibilité ne peut être évaluée qu'à partir d'une mesure de la concentration de la substance dans les tissus des organismes étudiés. Les phénomènes de transfert d'un compartiment biotique à un autre (Laskowski & Hopkins, 1996 ; Wallace & Lopez, 1995 ; Xue & Wang, 2002) (Accumulation des polluants par les végétaux pour les herbivores, ingestion de proies contaminées par les prédateurs) doivent être intégrés pour estimer et comprendre la biodisponibilité des contaminants dans le milieu.

La biodisponibilité d'un contaminant dépend également de son temps de séjour dans le compartiment étudié (Alexander, 2001).

I.4.1. Spéciation du cuivre et du zinc en milieu naturel

Dans les eaux naturelles, le cuivre et le zinc peuvent être présents sous trois formes : particulaire, colloïdale et soluble (Stiff, 1971) (**Figure I-5 et Tableau I-2).**

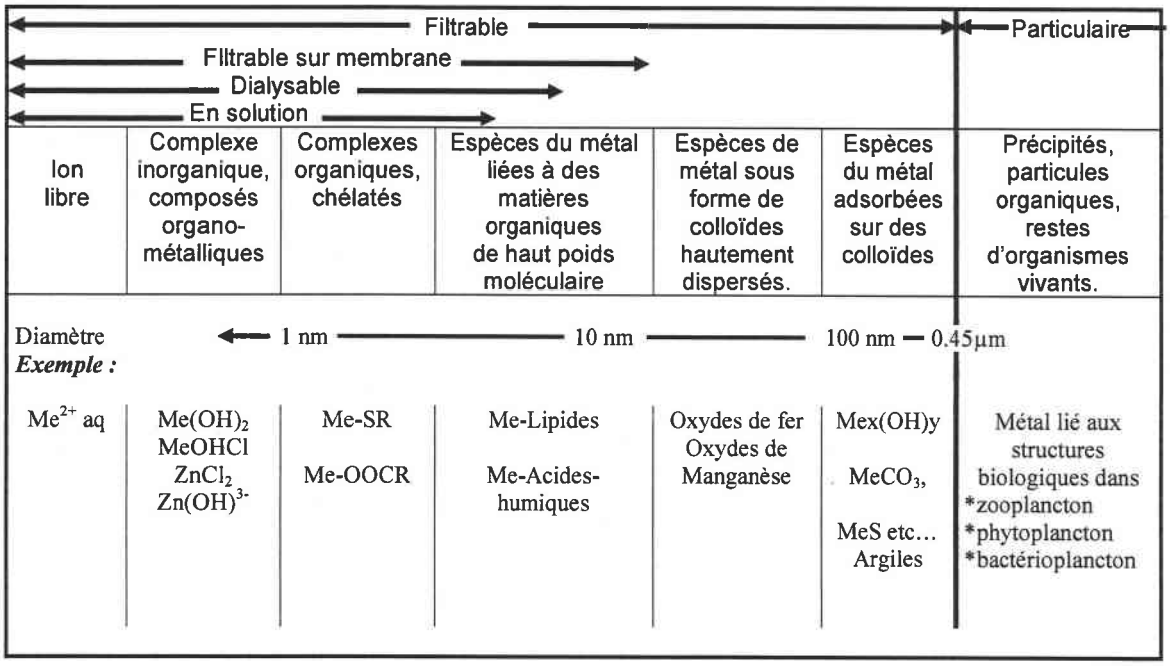


Figure I-5 : Principales formes et espèces chimiques des métaux (Me) en fonction de la taille des ligands (d'après Andreae, 1986, modifié)

Tableau I-2 : Classe de tailles des différentes formes physico-chimiques du cuivre dans le milieu naturel (d'après Apte et Batley, 1995)

Formes physico-chimiques	Exemples	Diamètre approximatif (nm)
Dissoutes		
Ion métallique hydraté	$Cu(H_2O)_6^{2+}$	1
Complexe inorganique	$Cu(H_2O)_4Cl_2$	1
Complexe organique	Cu-fulvate	2 – 5
Colloïdales		
Colloïde inorganique	Cu_{2+} - Fe_2O_3	10 – 200
Colloïde organique	Cu_{2+} - acide humique	10 – 200
Particulaires	Adsorbés ou inclus dans les argiles	> 450

Les formes particulaires peuvent inclure des oxydes tels que la malachite ($Cu_2(OH)_2CO_3$) dans le cas du cuivre, des précipités de sulfure, des complexes organiques insolubles, et du cuivre et du zinc adsorbé sur des argiles ou des solides minéraux. La fraction métallique soluble est définie comme la fraction qui traverse un filtre de très faible porosité (0.4-0.45µm), et la matière colloïdale inclue des précipités d'hydroxyde métallique et

du matériel polypeptidique. (Mansilla-Rivera & Nriagu, 1999).

Les processus qui contrôlent la répartition des métaux entre la phase aqueuse et la phase solide ont été synthétisés par O'Connor (1988), Mc Bride (1989) & Evans (1989) ; Mansilla-Rivera & Nriagu (1999) pour le cuivre et par Vazelle & Gaber, 1994 et dans l'EHC 221 (2001) pour le zinc. Les processus d'adsorption/désorption, aussi bien que ceux de précipitation des composés du cuivre et du zinc affectent les niveaux de métaux dissous dans les environnements naturels (Vazelle & Gaber, 1994 ; Temminghoff *et al.*, 1994 ; Stumm & Morgan, 1996).

L'adsorption des métaux tel que le cuivre et le zinc sur des constituants organiques et inorganiques peut être décrite par deux mécanismes: une adsorption non spécifique ou le cation métallique se comporte comme contre cation dans la couche diffuse, et une adsorption spécifique, laquelle résulte d'une complexation en surface (Rose & Bianchi-Mosquera, 1993) Les processus d'adsorption des métaux peuvent être affectés par plusieurs facteurs comme la concentration en élément adsorbant, le pH de la solution (Stumm & Morgan, 1996; Ramos *et al.,* 2002 ; Gundersen & Steinnes, 2003), la concentration en métal, la présence d'ions en solution dans le système (Na^+, Cl^-, Ca^{2+}...), les propriétés de la surface des adsorbants (Rose & Bianchi-Mosquera, 1993).

Dans les eaux naturelles, la liaison des métaux Cu et Zn avec les acides humiques et fulviques et autres composés organiques peut être très forte, si bien qu'une large part du métal dissous est souvent organiquement complexée. (Neubecker & Allen, 1983; Bell *et al.*, 2002; Nor, 1987; Coale & Bruland, 1988; Allen & Hansen, 1996; Muller, 1996 ; Owens *et al.*, 1997).

Une fraction importante (>90%) de cuivre dans les eaux douces (Xue & Sigg, 1993; Achterberg *et al.*, 1997) et marines (Mofett, 1995) est complexée par des ligands organiques. Windom *et al.* (1991) rapportent que, en moyenne 62, 40, 90 et 80%, respectivement de Cd, Cu, Pb and Zn, sont portés par des solides en suspension dans les rivières de la côte Est des Etats-Unis (US East Coast river). Dans différentes rivières européennes, une distribution de 30% de zinc libre et de 70% de zinc complexé a été rapportée par Jansen *et al.* (1998). Un pH faible est nécessaire pour maintenir le zinc en solution (INERIS, 2001) parce qu'en l'absence de MO, le zinc est principalement lié aux carbonates.

Les sites de liaison des matières organiques jouent donc un rôle clé dans le contrôle de la répartition du cuivre entre la phase aqueuse et la phase solide. (Gerringa *et al.*, 1996; Lu & Hallen, 2001; Achterberg *et al.*, 2002). L'adsorption sur différentes particules et colloïdes peut être variable en fonction des valeurs du pH (Stumm & Morgan, 1996; Gundersen & Steinnes, 2003).

Les particules dans les eaux naturelles sont caractérisées par une grande diversité de composition ; généralement elles incluent des minéraux, des argiles, des particules organiques dont des organismes, des débris biologiques, des humus et des particules inorganiques

enduites avec des matières organiques (Stumm & Morgan, 1996).

Il est admis que la présence des matières organiques naturelles (NOM) puisse affecter la spéciation des métaux (acides humiques et fulviques). Les NOMs sont une mixture complexe d'un très grand nombre de composés aux propriétés variables, parmi lesquelles leur aptitude à lier les métaux (Janssen *et al.*, 2003). Plusieurs approches ont été proposées pour modéliser la complexation des métaux par les NOMs et les substances humiques dont récemment un modèle multi-sites : WHAM V (Tipping, 1994, Tipping *et al.*, 1998).

La spéciation des métaux associés avec des ligands dans les matières organiques naturelles est peu connue (Smith *et al.*, 2002) , de même que la part relative de chacun des ligands organiques dans la capture du cuivre et du zinc et présents dans les milieux naturels.

Muller *et al.* (2001) ont conclu que, dans les eaux de surface, la forte capacité des ligands organiques à lier le cuivre semble être produite en réponse à une concentration en cuivre dans le milieu.. La capacité à lier le cuivre est connue pour certaines espèces phytoplanctoniques (Mackey & Higgins, 1988), parmi lesquelles les cyanobactéries (Kretschmer *et al.*, 2002) et les algues (Tien, 2002). Cependant Helland (2001) a mentionné que le cuivre semblait préférer s'adsorber sur les matières organiques d'origine terrestre.

En fait la réactivité du cuivre dépendra des caractéristiques physiques et chimiques de l'environnement dans lequel il est introduit (Helland & Bakke, 2002).

Une grande partie du cuivre et du zinc rejetée dans l'eau est, comme montré précédemment, sous une forme particulaire et tend de fait à se déposer, à précipiter ou à être adsorbé par la matière organique, le fer hydraté, les oxydes de manganèse et les argiles dans les sédiments (EHC 200, 1998, EHC 221, 2001).

Les sédiments sont une trappe à métaux dans les écosystèmes d'eau douce et les environnements marins (Luoma, 1989 ; An & Kampbell, (2003). Les concentrations totales de la plupart des métaux dans les sédiments sont plusieurs fois supérieures à celles mesurées dans l'eau (Luoma, 1989).

I.4.2. Biodisponibilité des métaux Cuivre et zinc dans la colonne d'eau

La biodisponibilité des polluants dépend de l'état physico-chimique sous lequel les métaux sont présents dans les différents compartiments de l'environnement (Hardy *et al.*, 1988 ; Florence & Morrison, 1992 ; Ettajani, 1994 ; Eriksen & Mackey, 2001). Les complexes métalliques lipo-solubles et les formes ioniques ou faiblement complexées sont considérées, en général, comme les plus biodisponibles. Les processus de transfert pour chaque forme métallique seront toutefois complètement différents (Morrison, 1989).

Une large part de la littérature démontre que la disponibilité des métaux est généralement peu reliée à la concentration en métal total dans l'eau et que c'est l'ion libre Cu^{2+} et non la concentration en cuivre totale qui est toxique pour les organismes végétaux (Moffett & Brand, 1996, Romeo & Gnassia-Barelli, 1995) et pour les organismes animaux

(Rainbow & Dallinger, 1993). Pour le zinc, la forme Zn^{2+} est également considérée comme étant la plus biodisponible (Fraysse, 2001).

Parmi les espèces du cuivre, Cu^{2+} et peut être $Cu(OH)^{+}$ sont considérées comme étant plus facilement absorbées par les organismes que $Cu(CO3)_{(aq)}$ et $Cu(OH)^{2}_{(aq)}$ apparemment moins biodisponibles. Cependant, selon Allen & Hansen (1996), des complexes inorganiques du cuivre tel que $Cu_2(OH)_2^{2+}$ pourraient également être toxiques dans certains cas.

Luoma (1983) a montré que les complexes organiques du cuivre étaient également biodisponibles mais dans une moindre mesure par rapport aux espèces inorganiques plus toxiques. En effet, plusieurs études ont indiqué que les formes adsorbées ou complexées sont moins toxiques que les composés solubles des métaux Cu et Zn (Allen *et al.*, 1980), ceci étant du à la réduction de leur biodisponibilité (Nugegoda & Rainbow, 1988; McGeer *et al.*, 2002).

Les principaux facteurs connus pour limiter la biodisponibilité des métaux tels que le Cu et le Zn sont l'adsorption sur des particules en suspension, la complexation sur des matières organiques et la complexation par des ligands inorganiques tels que les carbonates (Sunda & Guillard, 1976 ; Brungs *et al.*, 1976 ; Allen & Brisbin, 1980 ; Giesy *et al.*, 1983 ; Borgmann & Ralph, 1983, 1984 ; Borgmann & Charlton, 1984 ; Meador, 1991 ; Verweij, 1992 ; Erickson *et al.*, 1996). Toutefois la présence de matière organique dissoute pourrait, selon Klein *et al.* (1995) et Kukkonen (1995), soit augmenter, soit diminuer la toxicité des métaux.

Dans un environnement aquatique, la concentration en cuivre et sa biodisponibilité dépendront alors de facteurs tels que la dureté de l'eau (Jayarad *et al.*, 1992 ; Gensemer *et al.*, 2002), l'alcalinité (Pagenkopf *et al.*,1974), la force ionique et le pH (Sharma & Millero, 1988 Franklin *et al.*, 2000), le potentiel redox, les ligands susceptibles de complexer le métal (Gardner & Ravenscroft, 1991), les matières particulaires en suspension (Stiff,1971), la concentration en carbone (Giesy *et al.*, 1986) , les interactions entre les sédiments et l'eau (EHC 200, 1998).

La spéciation donc la biodisponibilité des métaux Cu et Zn est dépendante des caractéristiques physico-chimique du milieu (Heijerick *et al.*, 2002c) ; de fait, toute modification brutale de ces caractéristiques peut engendrer une modification de la biodisponibilité des métaux (Achterberg *et al.*, 2002). C'est le cas par exemple lors des blooms planctoniques, lors de la mise en suspension de sédiments ou de phase anoxique...

Les cellules planctoniques peuvent répondre à un stress métallique par l'excrétion de matière organique tels que des polysaccharides et des polypeptides, présentant la capacité de complexer les métaux et donc de réduire leur biodisponibilité dans le milieu (Arab-Joux, 1999).

Chez de nombreux végétaux, l'augmentation de la concentration en métaux se traduit par la production de polypeptides de faibles masses moléculaires riches en cystéine, complexant les métaux. Ces composés appelés phytochélatines, ont été largement étudiés chez les plantes terrestres (Reese & Wagner, 1987 ; Walker & Welch, 1987 ; Gekeler *et al.*,

1989, Arab-Joux, 1999). Des phytochélatines ont également été identifiées chez différentes espèces du phytoplancton marin en présence de concentrations faibles en métaux et jusqu'à des concentrations inhibant la croissance (Gekeler *et al.*, 1988 ; Maïta *et al.* , 1988 ; Ahner & Morel, 1995 ; Ahner *et al.*, 1995 ; Morelli & Pratesi, 1997).

L'excrétion de composés complexant les métaux (Cu, Zn) n'est pas une spécificité du phytoplancton ou des macroalgues, car elle a aussi été observée chez certaines bactéries marines (Schreiber *et al.*, 1990 ; Gordon *et al.*, 1994) et champignons marins (Sunda & Gessner, 1989).

La biodisponibilité des métaux pour les organismes dépendra également des caractéristiques biologiques propres à chaque espèce (mode et quantité de nourriture, taille de l'organisme (Landrum & Robbins, 1990), écologie, physiologie...). Par exemple les poissons peuvent modifier la biodisponibilité des polluants au niveau des branchies par la sécrétion de mucus à forte capacité chélatante (Coello & Khan, 1996 ; Tao *et al.*, 2000).

I.4.3. Biodisponibilité des métaux des particules sédimentaires et sédiments

Certains auteurs considèrent que la biodisponibilité et la toxicité d'une substance sont liées à sa concentration dans le milieu ambiant sous forme dissoute dans la colonne d'eau, dans l'eau interstitielle des sédiments (Dickson *et al.*, 1987) ou du sol (Peijnenburg *et al.*, 1999a, b). Toutefois cela s'est avéré inexact chez des invertébrés aquatiques filtreurs et détritivores pour lesquels la biodisponibilité de contaminants métalliques dépend principalement de l'absorption par ingestion de sédiment (Amiard *et al.*, 1995 ; Forbes & Kure, 1996 ; Wang & Fisher, 1999c), ainsi que pour le ver de terre *Lumbricus rubellus* (Oste *et al.*, 2001) ou encore l'escargot *Helix aspersa* exposés à des sols contaminés par du cadmium (Scheifler *et al.*, 2003) . Les métaux fixés sur les particules en suspension sont considérés comme étant non disponibles pour le phytoplancton et les bactéries (Muller, 1996).

Les sédiments représentent le principal compartiment de stockage des métaux dans les systèmes aquatiques.

En milieu aquatique continental, les phases sédimentaires et particulaires présentent une forte affinité pour les métaux. Divers processus régissent la fixation du cuivre et du zinc sur les particules : réaction d'adsorption, précipitation avec différents composés, etc. La composition du sédiment peut varier considérablement d'un site à l'autre, notamment la proportion des particules minérales (argiles, oxydes et hydroxydes de Fe et Mn, silice...) et des particules organiques.

Les bivalves marins peuvent assimiler des éléments traces à partir des particules sédimentaires ingérées, comme cela a été démontré pour des métaux tels que Cr (Decho & Luoma, 1996), Hg (Gagnon & Fisher, 1997a), Cd, Co et Ag (Gagnon & Fisher, 1997b), enfin Zn (Chong et Wang, 2000 ; Fan & Wang, 2001) ; mais l'efficacité de l'assimilation des éléments traces sera dépendante de la composition chimique des sédiments organiques et inorganiques (Luoma & Fisher, 1997) **(Tableau I-3).**

Tableau I-3. : Efficacité de l'assimilation (EA) en % du zinc à partir de différents types de particules par la palourde *Ruditapes philippinarium* (d'après Fan & Wang, 2001) .

Type de particules	Zinc
Granulométrie	
3-20µm	24.7 ± 4.2
20-40µm	30.7 ±3.0
40-60µm	34.4 ± 4.4
Sédiments artificiels	
Contrôle	26.3 ± 3.8
Contrôle – Oxyde de fer	53.5 ± 5.6
Contrôle – Acide humique	33.3 ± 4.2
Contrôle – CaCO3	34.8 ± 5.1
Particules pures	
CaCO3	43.3 ± 2.4
CaCO3 + Acide humique	72.5 ± 12.3
Kaolinite	63.4 ± 11.6
Kaolinite + acide humique	60.4 ± 10.0
Oxyde de fer	25.7 ± 6.7
Oxyde de fer + acide humique	32.8 ± 6.0
AVS	
AVS	7.7 ± 3.0
AVS + sédiments naturels	7.4 ± 5.3

Plusieurs études ont montré que les oxydes de fer hydratés diminuent la biodisponibilité du Cu et du Zn associés aux sédiments (Luoma & Jenne, 1977 ; Luoma & Bryan, 1978 ; Langston, 1980 ; Tessier *et al.*, 1994).

La biodisponibilité des métaux portés par les sédiments est également dépendante, chez la palourde mangeant des dépôts de sédiment, du type de particules (Bryan, 1980). Quand les particules ingérées sont des sédiments et que ces derniers sont couverts de polymères extracellulaires bactériens et/ou d'acide fulvique, la biodisponibilité et l'assimilation du zinc dans les bivalves sont considérablement intensifiées (Gagnon & Fisher, 1997a ; Harvey & Luoma, 1985).

Lee & Luoma (1998) montrent que l'enrichissement en algues d'un assemblage naturel de particules sédimentaires ou en suspension (comme à l'occasion d'un bloom planctonique) peut doubler l'efficacité d'assimilation du zinc par le détritivore *Macoma balthica* et surtout pour le filtreur *Potamocorbicula amurensis*.

Pour que les éléments traces soient assimilés par les animaux, il faut qu'ils soient désorbés des particules ingérées dans le tractus digestif (Reinfelder *et al.*, 1998).

De nombreux facteurs pourraient alors affecter le taux de désorption des métaux mais le plus important serait probablement le pH du système digestif (Fisher & Teyssié, 1986; Wang *et al.*, 1995) et la concentration en ligands liant le cuivre (Mayer *et al.*, 1996) ou le zinc.

Par exemple, des fluides digestifs riches en aminoacides provenant de deux invertébrés marins détritivores pourraient extraire des quantités significatives de cuivre lié aux sédiments, augmentant ainsi significativement leur potentiel d'assimilation vis à vis de ce métal (Mayer *et al.*, 1996).

En raison de la complexité et de la variabilité des sédiments, il est difficile d'établir une méthode commune permettant d'appréhender la biodisponibilité des métaux liés à ce compartiment. Il est possible que les particules fines ou oxydées représentent la source principale des métaux biodisponibles (Luoma & Davis, 1983). Les conditions REDOX et le pH peuvent considérablement faire varier la remobilisation des métaux à partir du sédiment (Calmano *et al.*, 1993).

Les méthodes utilisées pour étudier les métaux présents dans la couche oxique des sédiments (extraction séquentielle) conduisent à distinguer 5 fractions principales, ayant des potentialités différentes à l'égard de la distribution des métaux (Förstner, 1987 ; Tessier & Campbell, 1987 ; Tessier *et al.*, 1993) :

- La fraction échangeable, qui serait la plus biodisponible ;
- La fraction liée aux carbonates, susceptible d'être remobilisée par des variations de pH ;
- La fraction liée aux oxydes de fer et de manganèse, qui représente la part la plus importante des métaux dans les sédiments. Tessier *et al.*, 1984 accordent à cette fraction un déterminisme majeur pour la bioaccumulation des métaux ;
- La fraction liée aux composés organiques, libérée lorsque ceux-ci sont dégradés ;
- La fraction liée à la structure cristalline ou fraction résiduelle, très peu disponible.

Le développement des techniques d'extractions séquentielles a permis d'obtenir des informations quant à une éventuelle remobilisation des métaux lors d'une modification brutale des caractéristiques physico-chimiques du milieu, mais également de mieux comprendre quelle fraction conditionnait l'accumulation des métaux par les organismes. Cependant en raison de la faible sélectivité des extractants et des phénomènes éventuels de réadsorption des métaux sur les phases particulaires restantes, ces techniques font l'objet de nombreuses controverses. Il existe actuellement plus de 10 méthodes d'extraction et les essais d'intercalibration par le BCR (Bruxelles) ont souligné l'hétérogénéité des résultats et la difficulté d'établir un protocole commun et standardisé, d'où la difficulté de comparer les résultats obtenus dans les différentes études publiées.

I.4.4. Biodisponibilité des métaux dans les chaînes trophiques

Une relation notable a été observée entre l'efficacité de l'assimilation des éléments ingérés (incluant les métaux) et la distribution cytoplasmique des métaux dans la nourriture. Plus particulièrement, il a été mis en évidence que l'efficacité de l'assimilation (AE) des herbivores était directement proportionnelle au contenu cytoplasmique en métaux dans les cellules algales servant de nourriture aux copépodes (Reinfelder & Fisher, 1991 ; Hutchins *et*

al., 1995) et aux larves de bivalves (Reinfelder & Fisher, 1994a). Généralement, il apparaît que les métaux traces liées aux parois et membranes cellulaires sont moins assimilés, donc moins disponibles et sont rejetés dans les fèces. Ceci est particulièrement évident pour les herbivores ayant un court temps de transit digestif (Reinfelder *et al.*, 1998).

Dans le cas de la contamination par voie alimentaire, la biodisponibilité d'un contaminant, ici le cuivre ou le zinc, peut être modifiée au cours de la digestion.

Plusieurs études récentes ont mesuré l'efficacité de l'assimilation (AE) des métaux traces ingérés par les bivalves marins (Decho & Luoma, 1991, 1994 ; Absil *et al.*, 1994 ; Wang *et al.*, 1995 ; Wang & Fisher, 1996). Alors que la distribution cytoplasmique d'un élément trace dans les cellules phytoplanctoniques ingérées apparaît être l'unique déterminant de l'AE élémentaire dans le plancton brouteur qui possède une structure digestive simple et un temps de séjour digestif court (Reinfelder & Fisher, 1991 ; Hutchins *et al.*, 1995), cette relation est plus compliquée chez les adultes bivalves en raison de la présence de diverticules digestifs.

Dans les bivalves marins, le temps de transit intestinal et le volume de l'intestin sont deux critères importants affectant l'assimilation (Bayne *et al.*, 1987, 1989).

L'efficacité de l'assimilation des éléments traces par les carnivores aquatiques pourrait être affectée par la transformation, dans un but de détoxication, des éléments traces par les organismes proies. Différentes espèces solubles, qui sont incorporées dans des concrétions minérales de certains tissus des invertébrés (proies) sont non assimilables pour les organismes prédateurs (Nott & Nicolaidou, 1990 ; Wallace & Lopez, 1996 ; Reinfelder *et al.*, 1998). Toutefois peu d'études ont examiné l'assimilation des métaux ingérés par les espèces carnivores (Reinfelder & Fisher, 1994b ; Hutchins *et al.*, 1996 ; Anastasia *et al.*, 1998).

Chapitre II : Toxicité et écotoxicité des métaux cuivre et zinc

II.1. Les voies d'exposition, entrée et transport du cuivre et du zinc chez les organismes

II.1.1. Les voies d'exposition (**Figure I-6**)

Comme nous l'avons mentionné précédemment, les métaux existent dans l'environnement aquatique sous deux formes, dissoute et particulaire. Les organismes peuvent donc être contaminés par les éléments traces principalement par deux voies : directement par l'eau ou par l'intermédiaire de la nourriture (chaîne trophique). Cette dernière est constituée

de particules inertes (sédiments) et vivantes (organismes végétaux et animaux). La proportion relative de chaque voie varie avec le type d'organisme et la biodisponibilité relative des métaux dans l'eau et la nourriture (Wang & Fisher, 1999b ; Rainbow & Wang, 2001) **(Figure I-6).**

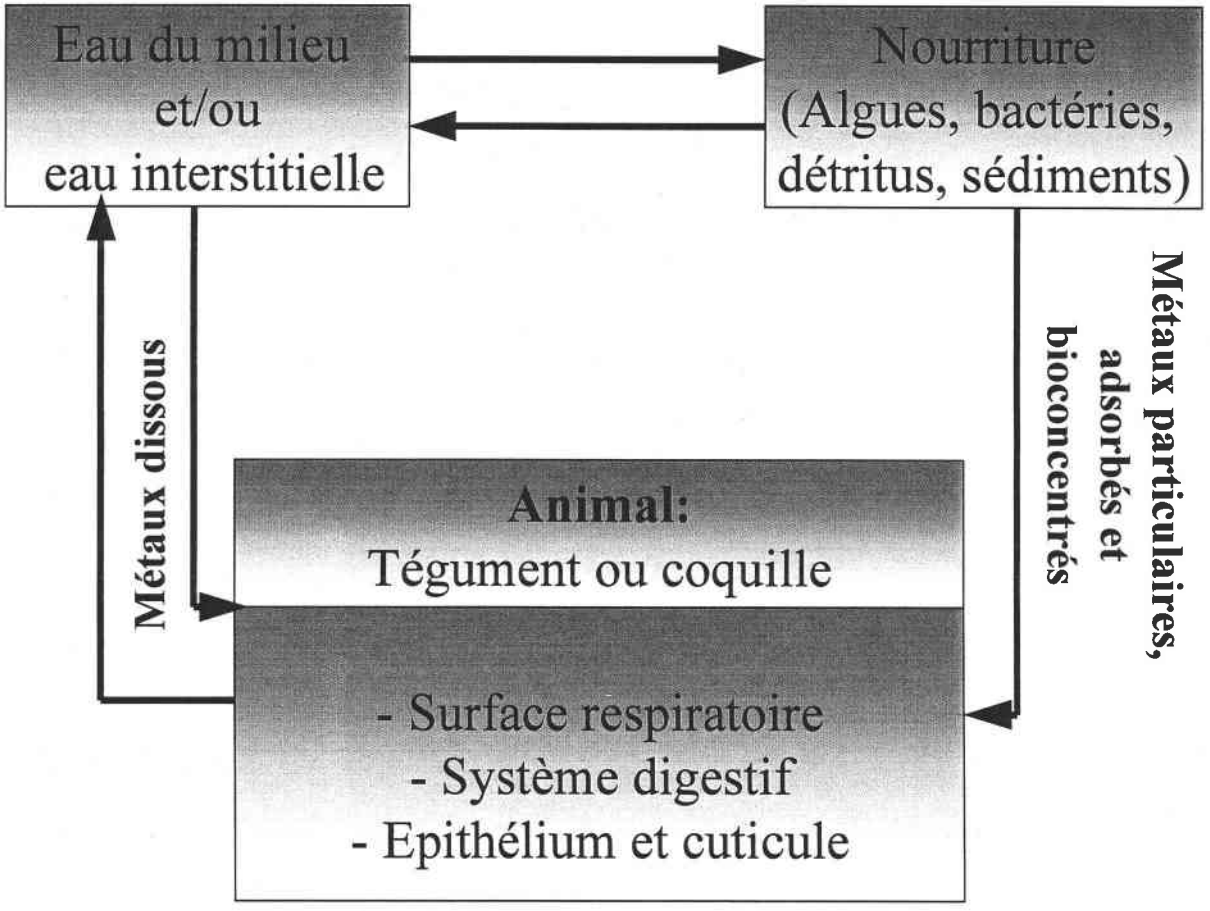


Figure I-6 : Principales voies d'exposition aux métaux des invertébrés. Réalisé à partir des informations issues des textes de Walker *et al.* (1996) et Wang & Fisher (1999b).

L'exposition est généralement définie comme le contact avec un agent chimique ou physique (EPA 51, 1996). En terme plus dynamique, Suter (1993) précise qu'elle correspond « au processus par lequel un organisme acquiert une concentration », c'est à dire par lequel il absorbe le polluant et se contamine. L'exposition conditionne l'absorption qui résulte de la combinaison des concentrations biodisponibles, des caractéristiques des différentes voies d'exposition et d'absorption, de la fréquence et de la durée du contact (Coeurdassier, 2001).

L'une des caractéristiques des cellules vivantes est leur capacité à prélever les éléments d'une solution. Ceci est particulièrement évident pour les organismes aquatiques, et spécialement les algues autotrophes, qui obtiennent tous leurs nutriments à partir de l'eau du milieu (Arab-Joux, 1999). La voie d'exposition aux métaux sera, de fait, la surface d'échange entre la cellule ou l'organisme, et le milieu.

Pour les macrophytes, les voies possibles d'exposition sont la surface d'échange avec le milieu aquatique et la surface d'échange avec les sédiments. Cependant Campbell (1995) a montré que les concentrations en zinc dans les organismes semblaient uniquement liées à la fraction dissoute dans la colonne d'eau.

Les voies d'exposition sont étroitement liées à la biologie des organismes animaux. Chaque voie évoquée dans la **figure I-6** (digestive, épithéliale et respiratoire) intervient en fonction des caractéristiques écologiques, biologiques et physiologiques de l'espèce (Coeurdassier, 2001). Les invertébrés strictement inféodés aux sédiments (benthos) peuvent être exposés de façon continue (Landrum & Robbins, 1990) par la voie épithéliale et par l'ingestion de particules organiques qui complexent les contaminants et favorisent le contact. La mobilité ou encore la morphologie des animaux influencent le contact épithélial avec le polluant. Les consommateurs primaires peuvent consommer des végétaux contaminés et les espèces prédatrices peuvent ingérer des proies fortement contaminées et par ailleurs du fait de leur activité, elles augmentent la fréquence, voire la durée, du contact.

Pour de nombreux invertébrés aquatiques, le transfert trophique compte pour une grande proportion dans l 'accumulation totale en métaux traces (Luoma *et al.*, 1992 ; Fisher & Reinfelder, 1995 ; Wang *et al.*, 1996a ; Munger & Hare, 1997 ; Xue & Wang, 2002).

II.1.2. Facteurs interférant avec l'assimilation des métaux

Il existe plusieurs facteurs susceptibles d'influencer le processus d'accumulation et la concentration des métaux dans les tissus des organismes. Quatre types de facteurs sont à distinguer : les facteurs abiotiques, les propriétés comportementales et physiologiques de l'organisme et enfin les effets du cycle biologique de l'animal (**Figure I-7**).

II.1.2.1. Les facteurs abiotiques (Tableau I-4, I-5)

Les caractéristiques physico-chimiques d'une eau déterminent directement la spéciation chimique des métaux dont dépend leur biodisponibilité biologique (Campbell, 1995) (cf : Chap I.4.). Hiejerick *et al.* (2002a) ont étudié l'effet individuel du Ca, Mg, K et Na et du pH sur la toxicité du zinc sur une algue verte *P. subcapitata.* Les éléments Ca, Mg et Na diminuent tous la toxicité du zinc. Le potassium est le seul cation testé qui n'a pas altéré significativement la toxicité du zinc. Les tests réalisés à différents pH (5.5-8.0) ont indiqué la possibilité d'une compétition de protons entre H^+ et Zn^{2+} à la surface des algues.

La disponibilité varie en fonction des conditions abiotiques, et selon Phillips & Rainbow (1988), elle est propre à chaque espèce animale vivante, en relation avec son écologie (biotope et mode d'alimentation) et sa physiologie (métabolisme) (voir Blackmore & Morton, 2001).

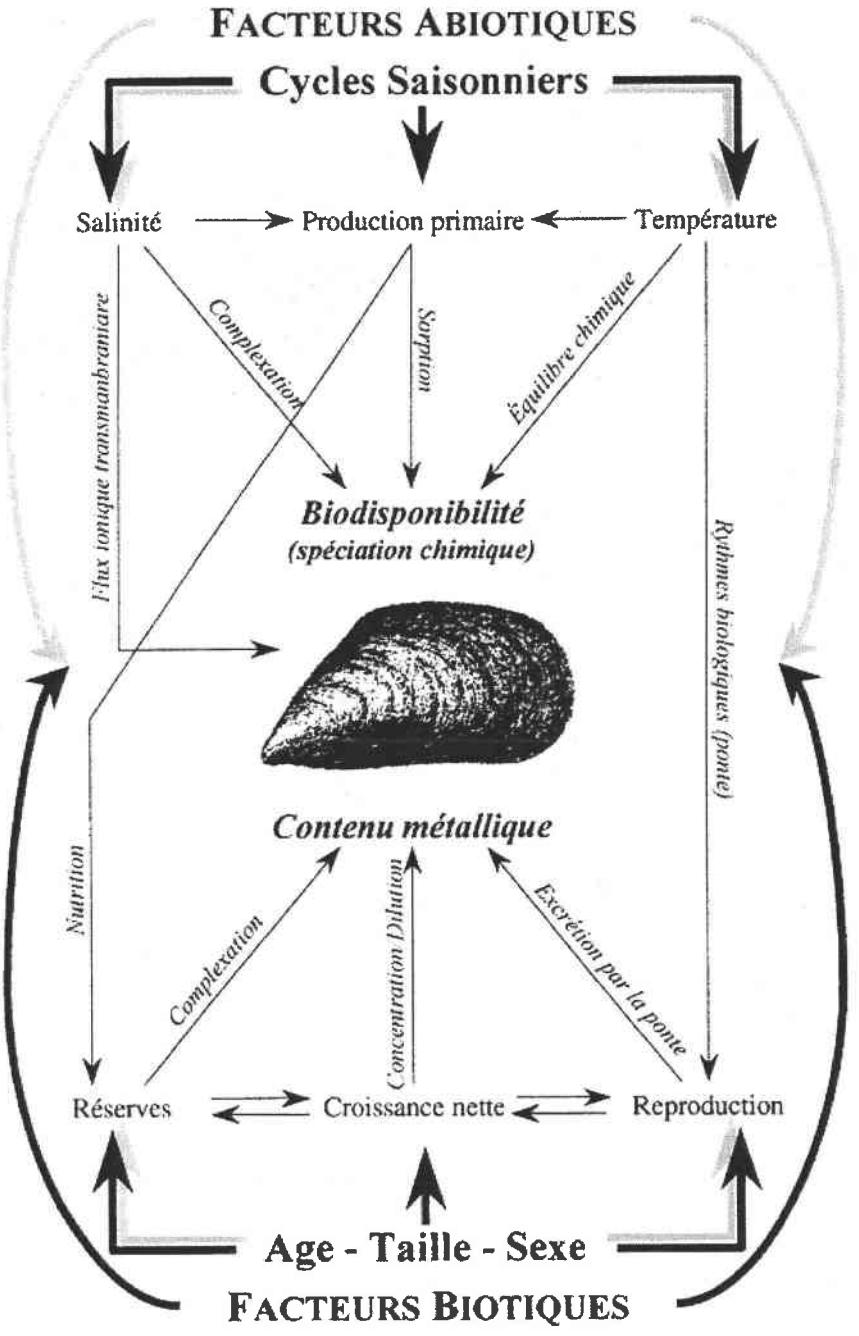


Figure I-7 : Schéma représentant les principaux facteurs influençant la bioaccumulation des métaux chez la moule *Mytilus edulis* (d'après Cossa, 1989).

Ainsi deux organismes vivant dans le même habitat pourraient avoir des concentrations métalliques corporelles très différentes (Hare, 1992 ; Phillips & Rainbow, 1994 ; Blackmore, 2001 ; Blackmore & Wang, 2003), même si ces deux organismes appartiennent à la même espèce et au même genre (Moore & Rainbow, 1987 ; Rainbow, 1998, 2002).

Tableau I-4 : Effets de quelques paramètres physico-chimiques sur la prise et la toxicité des métaux vis à vis des algues (d'après De Filippis & Pallaghy, 1994).

Paramètres	Effets
Température	Augmentation de la prise/Toxicité à forte température
pH	Augmentation de la prise/Toxicité à pH faibles
Salinité	Augmentation de la toxicité à faible salinité
Cations monovalents (K, Na)	Réduction de la toxicité à forte concentration
Cations divalents (Ca, Mg, Mn, Fe)	Réduction de la toxicité à forte concentration
Anions	
Acétates	Réduction de la toxicité
Phosphates	Réduction de la prise / toxicité
Nitrates	Insignifiant mais réduit la prise
Sulfates	Réduction de la toxicité
Acides aminés sulfurés	Réduction de la toxicité par complexation

Tableau I-5 : Effets de différents facteurs sur l'efficacité de l'assimilation (EA) des métaux par la moule marine (*Mytilus edulis*) (mesure quantitative d'après Wang & Fisher (1997b).

Facteurs (variation)	Influence sur l'EA	Référence
Quantité de nourriture	L'EA varie inversement avec l'abondance de nourriture	Wang *et al.* (1995)
Contenu protéique de la nourriture	Pas d'effet sur l'EA des Métaux	Wang & Fisher (1996b)
Contenu métallique de la nourriture :		
Cd	Effet positif	Wang & Fisher (1996b)
Zn	Effet négatif	
Se	Pas d'effet	
Température	Pas d'effet sur l'EA des métaux sauf pour l'Ag	Wang & Fisher (1997b)
Qualité de la nourriture	Variations de l'EA en fonction du régime alimentaire (type d'algue ingérée)	Wang & Fisher (1996a)

II.1.2.2. Les propriétés comportementales et physiologiques

Premièrement, quel que soit le niveau d'accumulation, élevé ou faible, il ne peut pas être évalué sur une échelle absolue car la signification d'une concentration accumulée dépend du tissu et de l'invertébré considéré (Rainbow, 1987, 1988, 1990a, 1996, 2002). Par conséquent, un niveau d'accumulation métallique qui est typiquement élevé pour une espèce pourrait être considéré comme faible pour une autre (Rainbow, 2002). Au sein d'un taxon la concentration en métal dans un tissus ou dans le corps peut beaucoup varier, même en l'absence d'une contamination anthropogénique (Rainbow, 1998).

En second lieu, lorsqu'un composé toxique dépasse une concentration seuil, propre à chaque élément et à chaque espèce, une réaction de protection peut se déclencher, telle que la fermeture de la coquille, avec réduction du taux de filtration chez les bivalves (Mouabad & Pihan, 1992 ; Kraak *et al.*, 1994b, 1999). Il a été montré que certaines espèces de bivalves résistent à une émersion prolongée (un mois pour les unionidés –White, 1979) en palliant les effets d'un dysfonctionnement aérobie, ou comme chez *Mytilus edulis* en adoptant une respiration anaérobie (Velhuizen-Tsoerkan *et al.*, 1991 cité par Fraysse, 2001).

Les conséquences de ces mécanismes sont doubles, en premier lieu la diminution de l'activité de filtration réduit, de fait, le contact entre l'organisme et son milieu environnant et conduit à une perte de poids de l'organisme ; en second lieu, le stress généré par la présence du polluant se traduit par un affaiblissement général de l'organisme (Aldrich, 1991) et une réduction de la capacité d'élimination des polluants accumulés. L'exposition à des concentrations subléthales de polluants pourrait provoquer une réponse de stress d'abord évidente au plus faible niveau biologique (Marigõmez *et al.*, 1989 ; Vega *et al.*, 1989 ; Carajaville *et al.*, 1991, 1992b, 1993 ; Etxeberria *et al.*, 1994) et postérieurement à des niveaux plus élevés (Carajaville *et al.*, 1992a, 1993).

II.1.2.3. Variabilité inter-individuelle

L'étude de la biodisponibilité des métaux implique la prise en compte de la variation biologique spécifique à chaque individu. Des différences très importantes de concentration métallique bioaccumulée peuvent être observées entre deux individus d'une même population soumis aux même conditions environnementales parce qu'il existe une variabilité génétique au sein d'une même population d'organismes.

Parmi les facteurs pouvant influencer la concentration en métaux dans les organismes, les auteurs citent le taux de croissance (Lobel & Wright, 1982a,b ; Strömgren, 1982, 1986 ; Sunila & Linström, 1985, Marigómez *et al.*, 1990 ; Marigómez & Ireland, 1990 ; Carjaville *et al.*, 1992a ; Soto *et al.*, 2000 ; Martel *et al.*, 2003) , la teneur en eau et lipides dans les tissus, le sexe (Cossa, 1989 in Fraysse, 2001), les données biométriques (Soto *et al.*, 2000).

II.1.2.4. L'influence du cycle biologique

Les mollusques par exemple se caractérisent par des variations de masse corporelle très importantes au cours de leur cycle biologique (Fisher, 1983, 1984, 1986 ; Mersh *et al.*, 1996a ; Wang & Fisher, 1997a ; Soto *et al.*, 2000).

Nalepa *et al.* (1993, 1995) ont observé un déclin saisonnier du poids sec et du contenu lipidique des moules zébrées à partir de l'été jusqu'à l'automne (dans les lacs St. Clair et Huron) résultant de la combinaison de trois influences : l'émission des gamètes, des températures plus élevées et une réduction de la disponibilité en nourriture.

Au cours de l'expulsion des gamètes, *M. edulis* peut perdre jusqu'à 50% de son poids (Fisher, 1983). Cette modification pondérale doit être prise en compte quand la concentration métallique exprimée en mg de métal par kg de poids sec est utilisée pour estimer la biodisponibilité des métaux (Soto *et al.*, 2000). Dans le but de résoudre ce biais, certains auteurs ont proposé d'autres paramètres que le poids sec pour exprimer les concentrations métalliques, comme par exemple la longueur ou le poids de la coquille (Fisher, 1983, 1984, 1986 ; Marigómez & Ireland, 1990 ; Soto *et al.*, 1997a,b, Soto *et al.*, 2000). D'autres alternatives ont été proposées par Carbonell & Tarazona, 1993 et Soto *et al.*, 2000, comme le calcul du rapport ou ratio entre les métaux essentiels Cu et Zn.

II.1.3. Bioaccumulation des métaux cuivre et zinc

L'accumulation traduit un équilibre dynamique entre les processus d'absorption, de stockage, et d'excrétion (Rainbow & Dallinger, 1993 ; Landrum *et al.*, 1996), sachant que l'état d'équilibre ne représente que le niveau d'accumulation atteint dans un organisme pour des conditions données.

Afin d'évaluer l'accumulation d'un polluant dans un organisme à l'état d'équilibre, on utilise généralement les facteurs de bioconcentration (BCFs) et de Bioaccumulation (BAFs). La bioconcentration, c'est à dire l'absorption des polluants depuis le milieu ambiant est distinguée de la bioaccumulation qui correspond à l'absorption des polluants contenus dans la nourriture (Walker *et al.*, 1996) (**Figure I-8**).

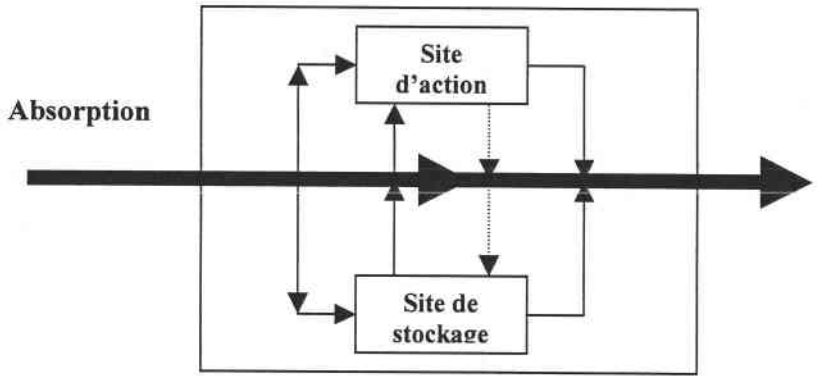


Figure I-8 : Modèle général décrivant le devenir des polluants métalliques dans les organismes vivants (d'après Coeurdassier, 2001).

Il apparaît cependant qu'une troisième voie de transfert doit être considérée. En effet, des organismes benthiques pourraient être contaminés par contact avec les sédiments.

$$\text{Facteur de bioconcentration (BCF)} = \frac{\text{Concentration en métal dans l'organisme}}{\text{Concentration en métal dans le milieu ambiant}}$$

$$\text{Facteur de bioaccumulation (BAF)} = \frac{\text{Concentration en métal dans l'organisme}}{\text{Concentration en métal dans la nourriture}}$$

La notion de transfert d'un polluant est également utilisée pour comparer les niveaux de bioaccumulation observés entre un niveau trophique n et un niveau trophique n+1. Le facteur de transfert est calculé de la façon suivante :

$$\mathbf{Ft} = \frac{\text{Concentration en métal mesuré dans le maillon n+1}}{\text{Concentration en métal mesuré dans le maillon n}}$$

Lorsque le Ft calculé est > ou = à 1, alors on considère qu'il y a transfert du contaminant du niveau trophique n vers le niveau n+1.

II.1.3.1. Les voies d'entrée et transport des métaux dans les organismes

II.1.3.1.a. Chez les organismes végétaux

Plusieurs auteurs ont montré, par l'utilisation d'un ligand synthétique tel que l'EDTA ayant la propriété de chélater les métaux traces, que la prise d'un métal trace par les cellules phytoplanctoniques dépend de l'importance de la fraction ionique libre plutôt que de la concentration totale en ce métal (Sunda & Guillard, 1976 ; Anderson *et al.*, 1978 ; Arab-Joux, 1999).

Les membranes biologiques sont virtuellement imperméables aux espèces chimiques chargées ou polaires. Les ions libres métalliques sont donc habituellement acheminés à l'intérieur de la cellule par des ligands de transport spécifiques associés à la paroi de la cellule. Ce transport est une cinétique de type Michaelis-Menten caractéristique des transports facilités ou actifs (Knauer *et al.*, 1997b).

La **figure I-9** schématise les voies d'absorption et d'adsorption des métaux par les algues. La pénétration des formes de cuivre à l'intérieur des cellules phytoplanctoniques peut être divisée en deux phases (Gonzales-Davila *et al.*, 1995) :

- Une phase rapide d'adsorption des formes ioniques du cuivre sur la paroi cellulaire au niveau de groupes fonctionnels. Ces derniers présentent une forte affinité pour ces ions métalliques et portent une charge négative en raison de la présence de groupes carboxyliques, phosphatés ou thiols. Ces groupes comprennent des sites

physiologiquement actifs, conduisant au transport à travers la membrane cellulaire et des sites d'adsorption inertes.

- Une phase plus lente de transport du cuivre à travers la membrane cellulaire (résorption ou absorption). Une fois arrivé dans le cytosol, le cuivre se dissocie du ligand de transport et se retrouve sous une forme ionique ou associée à des ligands internes sous une forme soluble ou insoluble.

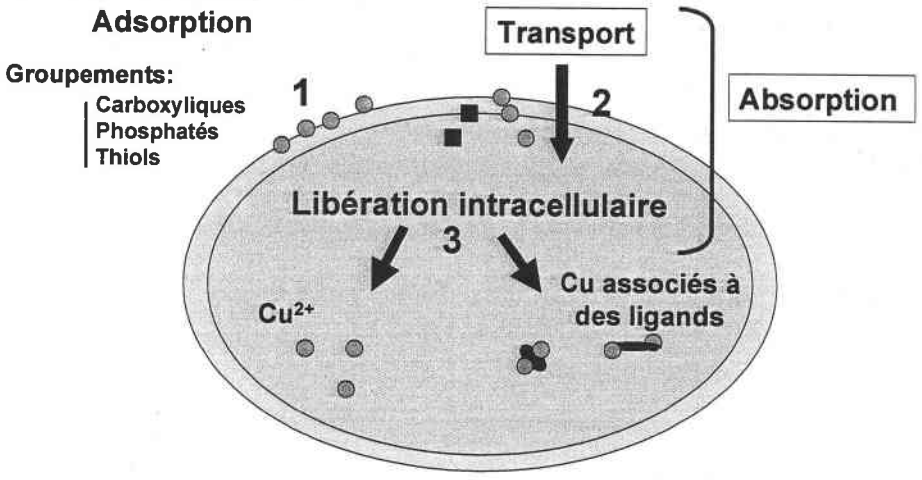


Figure I-9 : Représentation schématique des voies d'adsorption et d'absorption des métaux chez les algues : exemple du Cuivre. (D'après Arab-Joux, 1999).

Le cuivre peut aussi être transporté à l'intérieur de la cellule sous forme de complexes organométalliques lipophiles et de complexes acides aminés-cuivre (Simkiss & Taylor, 1995). Florence & Stauber (1986) donnent une liste de ligands qui forment avec le cuivre des complexes liposolubles. Ces complexes sont hautement toxiques en raison de leur pénétration facilitée à travers les membranes lipidiques. De plus, le transfert du cuivre dans le cytosol par ces complexes liposolubles s'accompagne de la libération du ligand qui peut présenter une toxicité propre (Florence & Stauber, 1986).

Cependant, selon Mackey & O'Sullivan (1990), il n'existe pas d'évidence montrant que ces ligands formant des complexes liposolubles avec le cuivre existent en quantité appréciable dans les milieux.

II.1.3.1.b. Les voies d'entrée des métaux chez les invertébrés : traversée des barrières biologiques

Les mécanismes d'absorption des contaminants par les organismes invertébrés sont étroitement liés aux propriétés intrinsèques de la substance considérée et de l'environnement des organismes.

La bioaccumulation des métaux dépend étroitement des relations pouvant exister entre les formes et les espèces chimiques du métal et les barrières biologiques.

Les principales zones d'interface entre l'organisme et son milieu environnant sont l'épithélium branchial, la paroi du tube digestif et, pour les organismes à corps mou, le tégument et la coquille. La **figure I-10** indique les principaux modes de contamination des organismes en fonction de la voie d'entrée des métaux.

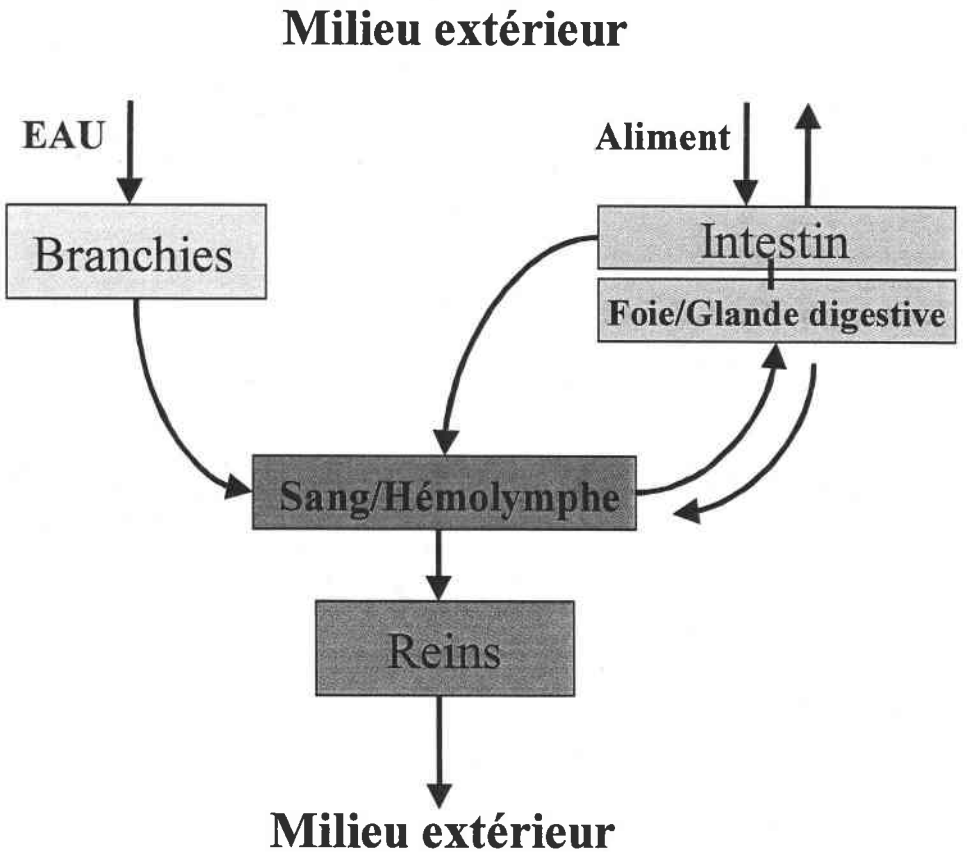


Figure I-10 : Représentation des différentes voies d'entrée, de transfert et d'élimination des contaminants chez un organisme animal aquatique. Les métaux dissous sont absorbés préférentiellement par les branchies, les formes particulaires par le tube digestif (modifié d'après Roesijadi (1992)).

Ces trois organes constituent des barrières qui contrôlent les échanges entre l'organisme et le milieu extérieur, à des fins respiratoires et nutritionnelles. Pour les métaux, la sécrétion de mucus peut freiner, voire interdire, l'accessibilité aux zones d'interface. De nombreuses études soulignent chez les poissons ou les mollusques le rôle protecteur joué par la couche de mucus.

En effet, le mucus est riche en molécules porteuses de charges négatives (acide sialique par exemple), susceptibles de fournir de nombreux sites de fixation aux espèces chimiques cationiques (Graney *et al.*, 1984).

Ce mécanisme a été démontré chez *Corbicula fluminea* (Graney *et al.*, 1984). La coquille, la carapace ou le tégument kératinisé des invertébrés semblent relativement

imperméables aux métaux et constituent essentiellement un site d'adsorption (Présing *et al.*, 1993) ou de stockage.

Comme nous l'avons vu précédemment, les métaux existent dans l'environnement sous formes dissoutes ou particulaires. Les mécanismes d'entrée dans l'organisme seront différents selon la forme considérée : ainsi les formes dissoutes traverseront la membrane de façon passive (diffusion), éventuellement avec l'aide d'un transporteur, alors que les formes particulaires seront internalisées par endocytose (**Figure I-11**).

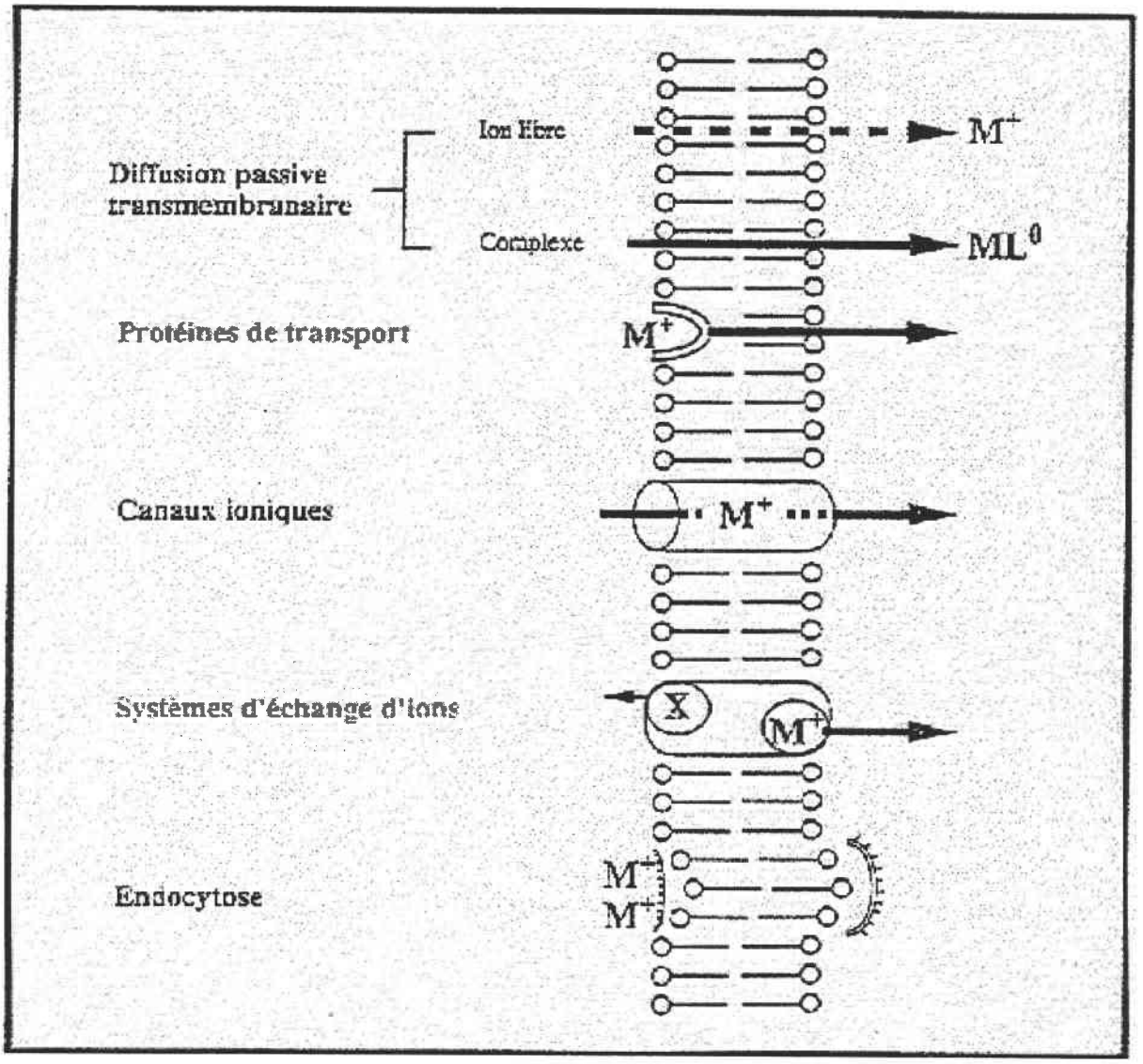


Figure I-11 : Mécanismes membranaires permettant d'expliquer les flux entrant des ions métalliques (M^+) dans la cellule (d'après Simkiss & Taylor, 1989b).

La diffusion simple concerne les espèces chimiques non chargées ; la diffusion facilitée concerne les espèces cationiques des métaux de classe a. Les éléments minéraux essentiels tels que Na^+, K^+, Mg^{2+} et Ca^{2+} traversent ainsi la membrane. Dans certains cas Zn^{2+} suit la même voie (Dallinger, 1995). D'autres métaux traversent la paroi par diffusion active

nécessitant de l'ATP, c'est le cas des Na^+-K^+ ATPases avec flux sortant surtout de Na^+ et flux entrant de K^+. D'autres ATPases spécifiques transportent les protons ou Ca^{2+}. Généralement les transporteurs ATPases sont hautement spécifiques d'ions déterminés mais il a été démontré le passage d'éléments traces.

Par exemple, les branchies des poissons ont trois fonctions physiologiques importantes ; le transport des gaz (oxygène, dioxyde de carbone, azote), la prise active d'ions (sodium et calcium) et l'excrétion (Wood, 1992 ; EHC 200, 1998). Dans un environnement contaminé, les métaux exercent leurs effets toxiques en se liant à des ligands associés à des pompes à calcium et sodium et par conséquent en inhibant l'entrée des ions essentiels nutritifs.

Dans le cas du cuivre, il existe une forte relation entre la concentration en métal dans les branchies et la mortalité des poissons (MacRae *et al.*, 1999). Il existe une compétition au niveau des branchies du poisson entre le cuivre et le calcium parce que les ligands récepteurs spécifiques présents sur les branchies du poisson sont analogues aux ligands anionique du cuivre observés dans la colonne d'eau (chlorures, carbonate d'hydrogène et carbone organique dissous) (Playle *et al.*, 1993a, b).

II.1.3.2. Détoxication et séquestration des métaux

II.1.3.2.a. Chez les végétaux

En présence de métaux, les algues développent naturellement des mécanismes de résistance (Sunda et Guillard, 1976). Ces mécanismes sont résumés sur la **figure I-12**.

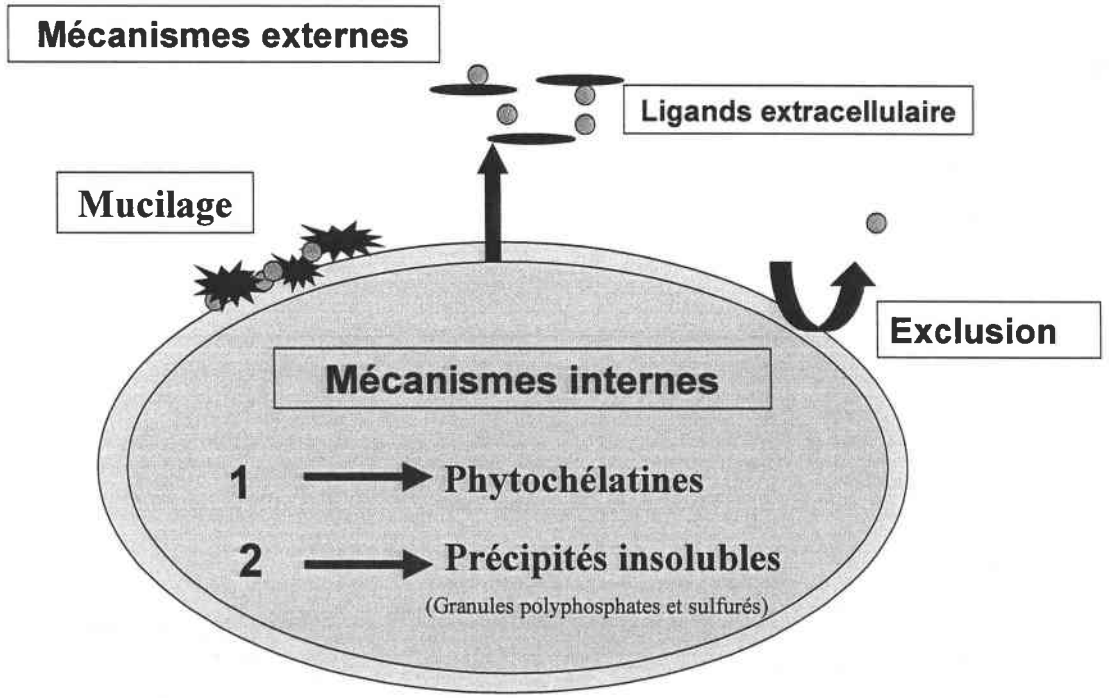


Figure I-12 : Représentation schématique des différents processus de détoxication chez les algues (d'après Arab-Joux, 1999)

- ***Fixation sur des ligands extracellulaire :*** Ce mécanisme externe a été observé comme étant induit par un stress en présence de cuivre chez plusieurs espèces phytoplanctonique appartenant aux groupes des diatomées, des cyanobactéries, des chlorophycées et des dinoflagellés (Gledhill *et al.*, 1997). Ce mécanisme modifie la biodisponibilité des métaux dans le milieu.

- ***Imperméabilité membranaire et exclusion*** : Foster (1977) et Butler *et al.*, (1980) ont montré que la différence de résistance au cuivre entre des populations tolérantes et non tolérantes pouvait s'expliquer par une accumulation moindre de ce métal pour la population tolérante. Ce processus s'expliquerait par un phénomène physique d'exclusion du cuivre dû à une réduction de la perméabilité membranaire.

- ***Détoxication interne*** : les cellules phytoplanctoniques peuvent lier le cuivre à différents composés, avec des liaisons plus ou moins fortes et réduire ainsi sa toxicité par réduction de la concentration ionique intracellulaire.

Il est à noter que chez de nombreux végétaux, l'augmentation de la concentration en métaux se traduit par la production de polypeptides de faibles masses moléculaires riches en cystéine, complexant les métaux. Ces composés appelés phytochélatines, ont été largement étudiés chez les plantes terrestres (Reese & Wagner, 1987 ; Walker & Welch, 1987 ; Gekeler *et al.,* 1989, Arab-Joux, 1999). Des phytochélatines ont également été identifiées chez différentes espèces du phytoplancton marin en présence de concentrations faibles en métaux et jusqu'à des concentrations inhibant la croissance (Gekeler *et al.*, 1988 ; Maïta *et al.* , 1988 ; Ahner & Morel, 1995 ; Ahner *et al.*, 1995 ; Morelli & Pratesi, 1997).

En outre les métaux peuvent également se trouver associés à des concrétions de polyphosphates ou à des concrétions soufrées (Daniel & Chamberlain, 1981 ; Hashemi *et al.*, 1994). Les premiers sont localisés à l'intérieur des vésicules osmiophiles, alors que les seconds seraient plutôt associés aux membranes et plus particulièrement aux thyllakoïdes des chloroplastes (Daniel & Chamberlain, 1981 ; Ballan-Dufrançais *et al.*, 2001).

II.1.3.2.b. Chez les animaux

Après son entrée dans la cellule, un métal trace est métaboliquement disponible, au moins jusqu'à ce que la physiologie des invertébrés intervienne pour l'excréter ou le lier à une molécule particulière de forte affinité à laquelle le métal a peu de chance d'être soustrait (Rainbow, 2002).

Les métaux absorbés peuvent être orientés vers deux systèmes principaux qui assurent soit un transport vers la membrane baso-latérale, suivi d'une libération dans le système circulatoire ou les cellules adjacentes, soit une séquestration intracellulaire. La **figure I-13** schématise les interactions apparaissant lors de l'accès d'un métal Me^{2+} au milieu intracellulaire, avec des composés structuraux des membranes des organites, et avec des

composés cytosoliques. Les métaux se lient préférentiellement avec des ligands portant des groupements thiols tel que les acides aminés (cystéine par exemple), les peptides, les protéines, parmi lesquelles les métallothionéines (Viarengo, 1989 ; Roesijadi, 1992 ; Roesijadi & Robinson, 1994 ; Mason & Jenkins, 1995 ; Langston *et al.*, 1998).

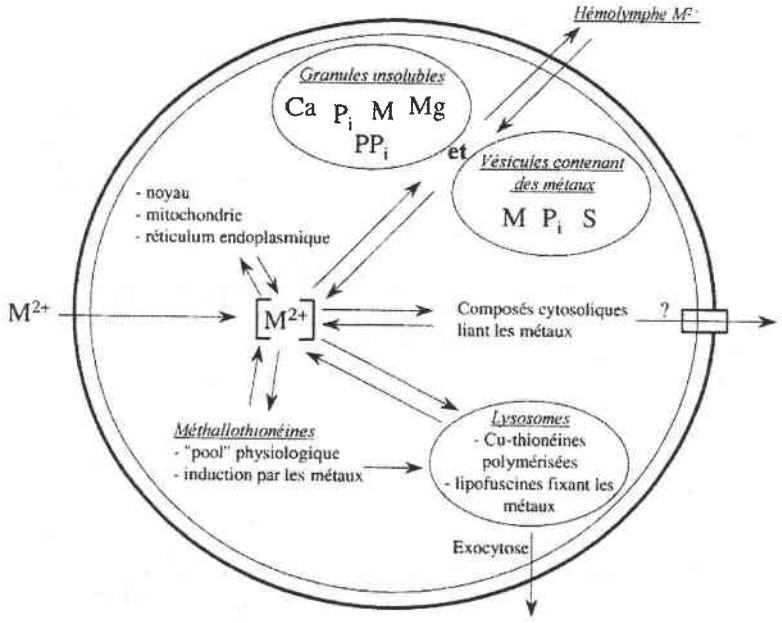


Figure I-13 : Représentation schématique illustrant les interactions possibles des métaux avec les structures intracellulaires (d'après Viarengo, 1989). Les mécanismes les plus importants sont la fixation des métaux sur des métallothionéines et la compartimentation dans les lysosomes, les granules insolubles et les vésicules intracellulaires.

Une partie du métal absorbé peut être isolé dans le système lysosomal ou précipité sous forme de granules insolubles. A ce moment le métal est détoxifié (Mason & Jenkins, 1995).

II.1.3.2.b1. Les Métallothionéines (MTs)

L'étude des mécanismes de détoxication des éléments métalliques chez les organismes aquatiques a été focalisée sur les perturbations qu'entraîne la pénétration d'excès d'ions, essentiels (cuivre, zinc) ou toxiques, au niveau de la synthèse d'une famille de métalloprotéines (les métallothionéines, MTs) impliqués dans la régulation intracellulaire des flux de cuivre et zinc. Les métalloprotéines, sont des protéines cytosoliques de faible poids moléculaire (6-7 Kd), thermostables, riche en cystéines (1/3 des acides aminés constitutifs) et caractérisées par l'absence d'acides aminés aromatiques. Leur rôle principal est d'établir la régulation de métaux essentiels, comme le cuivre et le zinc, et de contribuer à la détoxification de certains métaux toxiques, comme le cadmium ou le mercure. La séquestration et la détoxication des métaux non essentiels ne serait qu'une de leur nombreuses fonction (Dallinger, 1993). Initialement, leur rôle est probablement de contrôler la disponibilité du

zinc et du cuivre à l'égard d'autres métalloprotéines, comme l'anhydrase carbonique ou l'hémocyanine.

Les métallothionéines fournissent par exemple le zinc nécessaire aux chaînes de réactions et aux processus qui accompagnent le métabolisme, la division cellulaire, la différenciation et la transmission des informations génétiques. Lorsqu'un organisme est soumis à un important flux entrant de cations susceptibles de se substituer au zinc constitutif des métallothionéines, celles-ci sont dénaturées. Les conséquences de cette dénaturation sont modulées en fonction de l'identité du métal substitué au zinc, et de son taux de substitution sur les MTs natives. Lorsqu'il s'agit du cuivre, ces conséquences sont moindres car cet élément, lorsqu'il sera libéré au moment du catabolisme de la protéine, pourra être recyclé via le métabolisme cellulaire. Lorsqu'il s'agit d'ions plus toxiques, ils seront insérés dans les MTs nouvellement synthétisées (Ettajani, 1994).

La séquestration des métaux par ces protéines est assez bien connue, ainsi que leur induction sous l'action de la concentration intracellulaire du zinc. La séquestration des cations étrangers par les MTs évite (au moins temporairement) la dénaturation d'autres métalloprotéines plus vitales (à court terme) que les MTs assurant ainsi une détoxication partielle des métaux.

Les métaux présentent une affinité variable pour les MTs selon l'ordre Hg>>Cu, Ag, Bi>>Cd>Pb>Zn>Co>Fe.

Cosson & Amiard (1998) soulignent que l'association avec un ligand protéique n'est pas indéfiniment stable dans le cytosol. Le métal reste échangeable en fonction de l'affinité du ligand pour d'autres espèces métalliques ou de son catabolisme ; la détoxication par séquestration prenant alors un caractère temporaire. De plus, l'apparition d'effets toxiques n'est pas nécessairement liée à la saturation des MTs natives ou induites (Amiard & Cosson, 1997).

II.1.3.2.b2. Les granules : système lysosomale et réticulum endoplasmique

La seconde voie de détoxification observée chez les organismes aquatiques correspond aux dépôts intracellulaires, en relation avec les lysosomes. Ils se rencontrent principalement dans les cellules des organes intervenant dans l'excrétion (reins) ou le système digestif (glande digestive, foie). La formation des granules est une biominéralisation.

De nombreux types de concrétions existent, mais ce sont les granules composés de carbonates de calcium qui vraisemblablement, jouent le rôle le plus important dans le régulation des métaux selon George (1982) et Roesijadi & Robinson (1994). Selon Masala *et al.*, 2001, les granules contiennent fréquemment le pyrrophosphate comme principal anion et le calcium comme cation majeur. De plus, d'autres métaux, tel que l'aluminium, le fer, le manganèse et le zinc sont accumulés dans ces matériaux. Ces dépôts sont normalement amorphes avec une forme sphérique et un diamètre variant entre 1 et 10µm (Masala *et al.*,

2001). Il a été proposé que ces dépôts de pyrophosphate de calcium ($Ca_2P_2O_3$) agissent comme des pièges pour les ions métalliques étrangers qui pourraient être échangé avec le calcium et ainsi être incorporés dans les granules. Ces échanges d'ions apparaissent être facilités par la structure amorphe des dépôts.

En fait, il existe des granules de type A, pouvant contenir des métaux de classe A et des métaux intermédiaires comme le manganèse, le zinc ou le plomb. Les granules de types B contiennent toujours d'importantes quantités de soufre associé avec des métaux de classe B ou intermédiaire (Cd, Cu, Hg, Zn, Pb, Fe), ce qui suggère qu'ils sont largement composés de résidus de MTs (Dallinger, 1993 ; Coeurdassier, 2001).

Les mécanismes commandant la formation de ces granules sont assez mal connus, notamment en raison de la diversité des types rencontrés. Le système lysosomal semble impliqué dans la plupart des cas : il est particulièrement développé dans les cellules rénales et la glande digestive des mollusques. Dans les reins de la moule, la dissociation du complexe MT-métal conduit à l'incorporation du cuivre et du zinc dans les granules lysosomaux. (Ledy, 2002). Carpenè (1993) propose que chez *Mytilus edulis* les MTs soient captées par les lysosomes primaires, dégradées dans les lysosomes secondaires, et finalement liées aux autres ligands dans les lysosomes tertiaires. Les granules insolubles peuvent être excrétés par exocytose. Les lysosomes et granules ou sphérocristaux dans lesquels les métaux sont piégés constituent un lieu de stockage et de détoxification car les métaux y sont isolés du cytoplasme et rendus chimiquement inertes par rapport au fonctionnement de la cellule (Rainbow, 2002).

Certains auteurs mettent en évidence l'intervention du réticulum endoplasmique dans la formation des concrétions de carbonates de calcium ou de pyrophosphates de calcium.

Lorsqu'ils sont séquestrés dans des granules, les métaux peuvent être stockés dans les tissus durant de longues périodes (Dallinger, 1993) ou être excrétés dans la lumière du tube digestif (Simkiss & Taylor, 1989a ; Nassiri *et al.*, 2000 ; Rainbow, 2002). Ces granules ont été observés chez des annélides, mollusques (bivalves et gastéropodes), arthropodes (insectes, crustacés, arachnides et myriapodes) aquatique et terrestres (Dallinger, 1993, Coeurdassier, 2001, Pihan, 2001). Des granules ont également été observés au niveau du rein des gastéropodes terrestres (Pihan, 2001), mais leur nature chimique est différente puisqu'ils sont en majorité constitués de silice amorphe coprécipité avec des produits de dégradation des bases azotées et certains métaux.

D'autres mécanismes de détoxification existent, mais à un niveau externe comme la sécrétion de mucus épidermique chez les poissons (Coello & Khan, 1996).

Remarque : Tous les métaux ne peuvent pas être immédiatement excrétés ou détoxiqués, parce qu'ils sont requis pour jouer un rôle essentiel dans la cellule ; c'est le cas du cuivre et du zinc. Il n'y a pas de limite théorique de la quantité de métal qui peut être intégrée dans les granules, car étant détoxiquée, cette forme du métal ne représente aucun danger pour

l'organisme. Par contre, une quantité définie de métal pouvant être associée aux MTs existe ; lorsque cette limite est atteinte, l'organisme subit les effets toxiques (Rainbow, 2002).

II.1.3.3. Excrétion des métaux

Hassall (1962) (Cité par Yan & Pan, 2002) rapporte que des cellules planctoniques mortes sont capables de capter plus de métaux que les cellules vivantes, indiquant une possible capacité de désorption des métaux par les cellules vivantes.

Les éléments assimilés pourraient être stockés sous la forme de granules puis éliminés au travers du tractus alimentaire sous forme de fèces, ou stockés dans les reins puis évacués par excrétion (George, 1982) **(Figure I-14)**. Chez les bivalves, les reins constituent l'organe principal de l'excrétion. Les métaux contenus dans les lysosomes ou les sphérocristaux sont évacués par exocytose de la vacuole au niveau des reins (Cossa, 1989).

La seconde voie d'élimination des métaux correspond à la production de fèces. Chez les mollusques, on observe l'exocytose de granules provenant des lysosomes de digestion intracellulaire résiduels ou nouvellement formés. Ils sont rejetés par la glande digestive et éliminés par le tractus digestif.

Les moules marines tendent à éliminer les éléments traces par excrétion via les reins (Wang *et al.*, 1996a) alors que les copépodes marins rejettent les métaux en trace assimilés par excrétion via les fèces (Wang & Fisher, 1998b).

Chez le décapode *Palaemon elegans*, la régulation du zinc semble être un processus actif, car une augmentation de l'entrée de zinc conduit à une augmentation de l'excrétion (Rainbow & White, 1989).

Dans les organismes, les mécanismes d'excrétion des métaux absorbés se font surtout par simple diffusion à travers l'épithélium tégumentaire et/ou respiratoire. Une partie seulement peut être excrétée dans les fèces ou l'urine après avoir été métabolisée ou stockée dans les cellules.

La **figure I-14** illustre de façon synthétique le devenir des métaux dans l'organisme en fonction des voies d'entrée et de la spéciation des métaux (dissous ou particulaires).

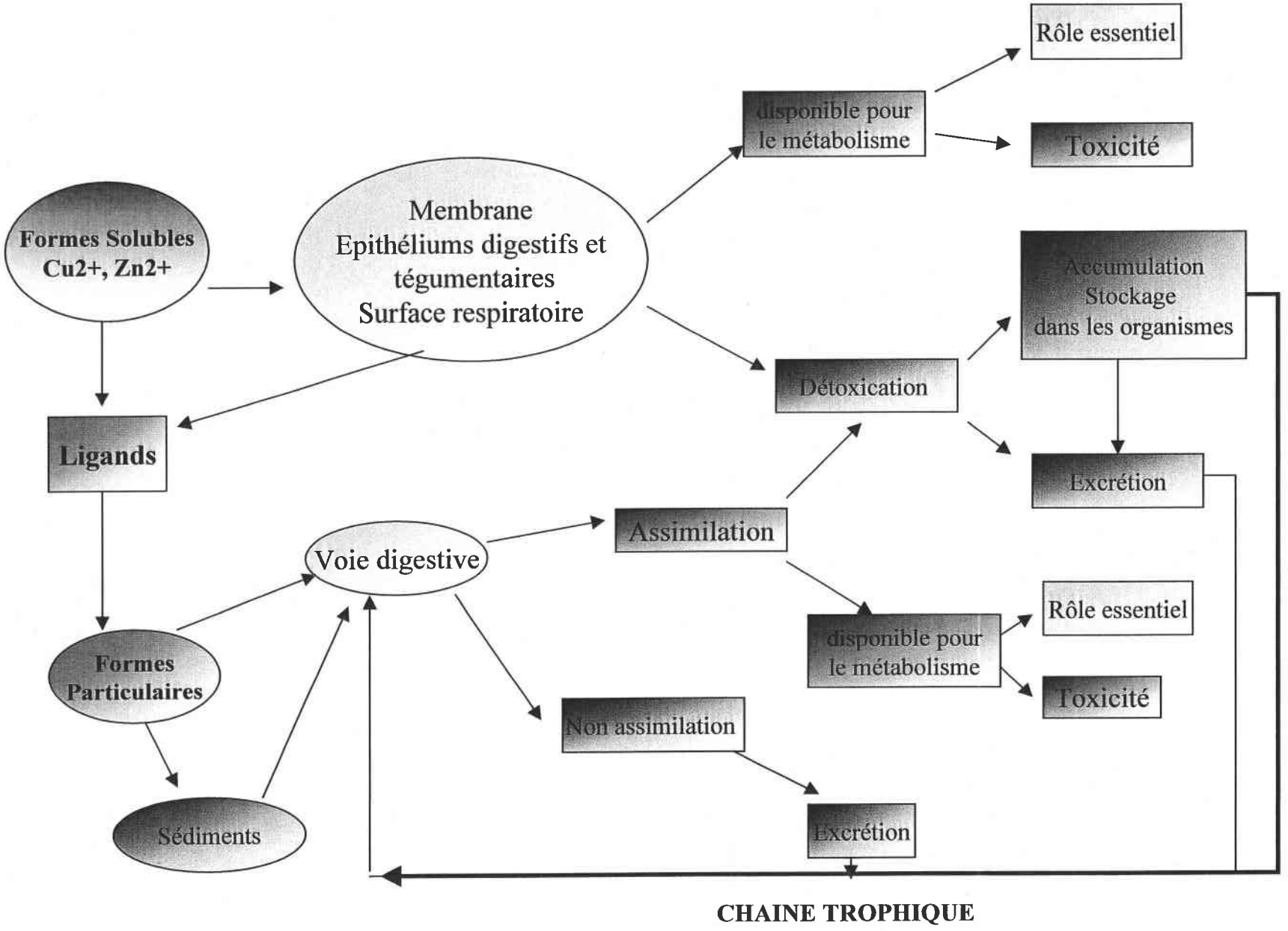


Figure I-14 : Schéma simplifié de la circulation des métaux dans les compartiments biotiques.

II.1.3.4. Niveaux de bioaccumulation observés dans les organismes

II.1.3.4.a. Les végétaux

Chez les plantes aquatiques et les algues, les concentrations en zinc sont généralement comprises entre 20 et 120 mg Zn/kg de ms. Des concentrations de 38 et 90 mg Zn/kg de ms sont respectivement rapportées pour le phytoplancton marin et les algues de mer (EHC 221, 2001). Toutefois des algues sont capables dans des environnements très contaminés, d'accumuler le zinc jusqu'à des valeurs > 1000 mg Zn/kg de ms (Eisler, 1993). Dans les mousses aquatiques (*Fontinalis squamosa*), la concentration en zinc en milieu contaminé peut atteindre 2810 mg Zn/kg de ms en comparaison avec le niveau de base qui est < 400 mg Zn/kg de ms. Sawidis *et al.* (1995) dans l'EHC 221 (2001) ont analysé le niveau de zinc dans des macrophytes aquatiques (GRECE). Des concentrations entre 10.2 et 145 mg Zn/kg de ms sont trouvées dans *Ceratophyllum demersum*, *Cladophora glomerata*, *Myriophyllum spicatum* et *Potamogeton nodosus*.

II.1.3.4.b. Les invertébrés

Les métaux traces sont connus pour être accumulés par les invertébrés, en particulier par une variété d'espèces de mollusques (Dallinger, 1993). Les mollusques aquatiques semblent refléter le niveau ambiant de contamination et sont de fait, largement utilisé comme organismes bioindicateurs, spécifiquement la moule marine *Mytilus edulis (*Davenport & Manley, 1978 ; Gagnon & Fisher, 1997b ; Jansen *et al.*, 2002*)* ou son équivalent d'eau douce *Dreissena polymorpha (*Newmann & Jenner, 1992 *)*, mais également les unionidés (Jenner *et al.*, 1991 ; Hickey *et al.*, 1996) et les gastéropodes d'eau douce (Van-Balogh *et al.*, 1988 ; Timmermans *et al.*, 1989 ; Lau *et al.*, 1998 ; Reed-Judkins, 1998).

Les niveaux de contaminations en cuivre et en zinc dans quelques crustacés et gastéropodes d'eau douce sont présentés dans le **tableau I-6.**

Tableau I-6 : Concentrations en cuivre et en zinc de crustacés et de gastéropodes d'eau douce. Concernant l'étude réalisée par Gundacker (2000), les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau sur les différents sites varient respectivement de 41 à 51 µg Cu/l (sauf Grob Enzersdorfer Arm avec 24 µg Cu/l), et de 187 à 225 µg Zn/l (sauf GEA avec 103 µg Zn/l).

	Sites	Cuivre	Zinc	Référence
Dikerogammarus villosus	Danube river	93,6		Barkacs et al. (2002)
G. pulex	Several area of Great Britain		125-150	Oertel (1995) in Barkacs et al. (2002)
Radix ovata	Donaukanal (Vienne)	185 +/- 12	100 +/- 8	Gundacker (2000)
	Olhafen (Vienne)	91 +/- 0	107 +/- 66	Gundacker (2000)
	Kuchelauer Hafen (Vienne)	150 +/- 87	85 +/- 42	Gundacker (2000)
	Neue Donau Süd (Vienne)	163 +/- 55	186 +/- 77	Gundacker (2000)
	Neue Donau Nord (Vienne)	119 +/- 54	86 +/- 20	Gundacker (2000)
	Grob Enzersdorfer Arm (Vienne)	32 +/- 3	93 +/- 21	Gundacker (2000)
Viviparus	Olhafen (Vienne)	134 +/- 16	220 +/- 66	Gundacker (2000)
	Kuchelauer Hafen (Vienne)	168 +/- 34	191 +/- 48	Gundacker (2000)
	Neue Donau Süd (Vienne)	225 +/- 64	176 +/- 48	Gundacker (2000)
	Neue Donau Nord (Vienne)	225 +/- 23	189 +/- 20	Gundacker (2000)
	Grob Enzersdorfer Arm (Vienne)	93 +/- 0	221+/- 0	Gundacker (2000)

Les invertébrés accumulent les métaux traces dans leurs tissus qu'ils soient ou non essentiels à leur métabolisme. Les concentrations en métaux cuivre et zinc peuvent considérablement varier entre espèces, y compris entre espèces voisines. Il en est ainsi du zinc chez les crustacés (Rainbow, 1992) ; du zinc, du cuivre et du cadmium beaucoup plus accumulés par les huîtres que les moules (Berthet, 1986 ; Rainbow, 1992) ; de l'argent par les bivalves filtreurs (Berthet *et al.*, 1992). Cette variabilité est illustrée par le **tableau I-7** qui présente les concentrations en cuivre et en zinc mesurées dans différentes espèces de crustacés marins provenant de site contaminés ou non.

Tableau I-7 : Sélection de concentrations en cuivre et en zinc exprimées en mg/kg de poids sec chez des crustacés classés selon leur position systématique et provenant de sites propres ou contaminés (d'après Rainbow, 1998, 2002).

Espèces	Site d'étude	Zn	Cu	Références
Copepoda				
Anomalocera partesoni	Au large de Monaco	-	41.9	Polikarpov *et al.*, 1979
Calanus finmarchicus	Ocean N. Atlantique	97	5.9	Zauke *et al.*, 1996
Cirripedia				
Capitulum mitella	Hung Hom [a], Hong Kong	19 890	545	Phillips & Rainbow, 1988
	Cape d'Aguilar,	2 852	29.2	Phillips & Rainbow, 1988
Tetraclita squamosa	Hung Hom [a], Hong Kong	6 963	94.9	Phillips & Rainbow, 1988
	Tung Chung, Hong Kong	2 245	14.9	Phillips & Rainbow, 1988
Balanus amphitrite	Chai Wang Kok [a], Hong Kong	9 353	3 472	Phillips & Rainbow, 1988
	Lai Chi Chong, Hong Kong	2 726	59.3	Phillips & Rainbow, 1988
Semibalanus balanoïdes	Dules Bay [a], Wales	50 280	3 750	Walker, 1977
	Southend, England	27 837	232	Rainbow *et al.*, 1980
Malacostraca				
Peracarida				
Amphipoda				
Orchestia gammarellus	Restronguet Creek [a], England	392	139	Rainbow *et al.*, 1989
	Millport, Scotland	188	77.5	Rainbow *et al.*, 1989
Talorchestia quoyana	St Kilda, Dunedin, New zealand	481	31.9	Rainbow *et al.*, 1993b
	Sandfly Bay, Dunedin	133	15.6	Rainbow *et al.*, 1993b
Themisto gaudichaudii	Océan atlantique	65.7	31.1	Rainbow *et al.*, 1993b
Mysidacea				
Eucopia unguiculata	Océan atlantique, N.E.	44.2	20.7	Ridout *et al.*, 1989
Eucarida				
Euphausiasea				
Euphausia superba	Océan antarctique	67.5	54.4	Rainbow, 1989
Decapoda				
Gennadas valens	Océan atlantique, N.E.	47.2	40.2	Ridout *et al.*, 1989
Sergia robustus	Océan atlantique, N.E.	53.7	25.2	Ridout *et al.*, 1989
Metapenaeopsis palmensis	Long Harbour, Hong Kong	63.4	52.2	Rainbow, 1990b
Systellaspis debilis	Océan atlantique, N.E.	46.9	49.0	Ridout *et al.*, 1989
Acanthephyra purpurea	Océan atlantique, N.E.	43.6	29.3	Ridout *et al.*, 1989
Palaemon elegans	Millport, Scotland	80.6	110	White & Rainbow, 1986a
Pandalus montagui	Scotland	57.5	57.4	Nugegoda & Rainbow, 1988a
Carcinus maenas	Scotland	96.6	30.2	Rainbow, 1985

[a] et caractères bleus : sites contaminés par les métaux.

Le niveau de bioaccumulation des métaux dans les organismes dépendra également des caractéristiques biologiques propres à chaque espèce (mode et quantité de nourriture, taille de l'organisme (Landrum & Robbins, 1990), écologie, physiologie…).

La clef pour apprécier la signification des différentes concentrations métalliques dans les invertébrés est de comprendre les stratégies d'accumulation adoptées. Rainbow 2002 propose de les rapporter à trois cas :

- Accumulation nette élevée correspondant à une accumulation sans excrétion c'est à dire à la capacité des organismes à stocker le métal en surcharge sous une forme non toxique.
- Accumulation nette faible (régulation partielle) qui correspond à une accumulation avec excrétion sachant qu'il existe deux voies d'excrétion :
  - Excrétion à partir d'un pool métaboliquement disponible.
  - Excrétion à partir d'un stockage de métaux détoxiqués.
- Régulation

D'après Spear (1981), le niveau de base en zinc chez les invertébrés serait compris entre 50 et 300 mg Zn/kg de ms. Chez les mollusques qui sont connus pour être de bons accumulateurs de métaux traces, les concentrations pourraient être élevées. Chez *Mytilus edulis,* le niveau de zinc peut être de 28 mg Zn/kg de ms dans la masse viscérale et jusqu'à 3410 mg Zn/kg de ms dans le rein. De même chez *Pecten sp.*, une teneur en zinc de 200 mg Zn/kg de ms peut être mesuré dans les parties molles, mais les concentrations peuvent atteindre plus de 32 000 mg Zn/kg de ms dans le reins et jusqu'à 120 000 mg Zn/kg de ms dans les granules du rein (Eisler, 1993). Les concentrations en zinc mesurées chez des moules provenant de la mer du Nord et fournies par Luten *et al.* (1986) sont comprises entre 87 et 234 mg Zn/kg de ms. Chez le bivalve marin *Macoma balthica* dans l'estuaire de Westerschelde (Hollande), les niveaux de bioaccumulation varient de 377 à 692 mg Zn/kg de ms (Bordin et al., 1992). Chez *Dreissena polymorpha* les concentrations en cuivre et en zinc peuvent varier respectivement de 4.6 à 81.9 µg Cu/kg de ms et de 53 à 372 mg Zn/kg de ms (**Tableau I-8).**

Le **tableau I-9 A à C**, montre les concentrations en cuivre et zinc mesurées chez les gastéropodes aquatiques. Ces concentrations sont très variables en fonction du niveau de contamination du site. Pihan (2001) propose, d'après les données fournies dans la littérature, un niveau de base (site propre) en cuivre et en zinc chez les gastéropodes aquatiques et un niveau d'accumulation correspondant à un site contaminé.

Tableau I-8 : Concentrations en cuivre et en zinc rapportées par différents auteurs chez les moules zébrées (*Dreissena polymorpha*) collectées sur des sites contaminés ou non.

	Cuivre	Zinc	Référence
Sites non contaminés			
Lake Markermeer, Neth.	14,3	158	de Kock & Bowmer (1993)
Oneida Lake, NY, USA	4,6	99,4	Secor et al. (1993)
Lake of Netherland	12	110	Kraak et al. (1991)
Sites contaminés			
Rhin River, Lobith, Neth	18,6 - 25,6	-	de Kock & Bowmer (1993)
Rhin River, Mulheim, GR	31	500	Kraak et al. (1991)
Onondaga Lake, NY, USA	10,2	94,4	Secor et al. (1993)
Genessee River, NY, USA	7,7 & 16,6	296 & 191	Secor et al. (1993)
Niagara River, NY, USA	9,54 & 11	160 & 166	Secor et al. (1993)
Hudson River, NY, USA	5,80	129	Secor et al. (1993)
Lake Ontario, USA	4,66 - 25,8	-	Mills et al. (1993b)
Lake Ontario Outflow, USA	13,0 - 81,9	53 - 177	Johns & Timmerman (1998)
Lake Iseo (Italy)	16,0	214	Camusso et al. (1994)
Lake Como (Italy)	10,9 - 18,3	244 - 252	Camusso et al. (2001)
Lake Garda (Italty)	13,6 - 20,6	127 - 178	Camusso et al. (2001)
Lake Maggiore (Italy)	24,3 - 25,7	317 - 372	Camusso et al. (2001)
Lake Iseo (Italy)	13,3 - 16,9	152 - 170	Camusso et al. (2001)
Lake Lugano (Italy)	17,5 - 36,1	153 , 172	Camusso et al. (2001)
River Po (delta) (Italy<)	17,5 - 20,6	127 - 159	Camusso et al. (1994)
Rivière Moselle (France)	22 - 50	120 - 240	Bush & Schuchardt (1991)

Tableau I-9A : Concentrations (mg/kg de ms) en cuivre et en zinc chez les gastéropodes aquatiques d'après Timmermans (1993).

		Cuivre	**Zinc**
Fox river (US)	*Physa sp.*	22,77	49,06
Point source	*Physa sp.*	17,79	174,3
Rivière Dommel	*Lymnaea ovata*	14	78
Rivière Hollande (Site pollué)	*Physa fontinalis*	79-108	70-89
Maarsseveen (Hollande)	*Potamopyrgus jenkensi*	96-107	75-86
- Lac I (non pollué)	*Potamopyrgus jenkensi*	108-111	87-101
- Lac II (non pollué)	*Lymnaea ovata*	24	78

Tableau I-9B : Concentrations maximales et minimales chez cinq espèces de gastéropodes dulçaquicoles (en mg/kg de ms) d'après Pihan (2001).

	Cuivre	**Zinc**	Référence
Melanopsis praemorsa (Prosobranche)	23-343	172-840	Mazlani et al.. (1994)
Melanopsis marocana (Prosobranche)	23-25	122-161	Rada (1985)
Radix peregra (pulmoné)	116-161	131-167	Forstner et al.. (1981)
Physa sp.(pulmoné)	10-58	29-93	Cosson (1987)
Lymnaea stagnalis (pulmoné)	7		Pip (1992)

Tableau I-9C : Seuils de concentrations, en Cu et Zn, proposés par Pihan (2001) d'après les données de la littérature chez des gastéropodes aquatiques provenant de milieux non pollués et pollués (mg/kg de ms).

Milieux	Cuivre	zinc
Non pollués	24	75-86
Pollués	14-108	78-174

Il existe d'importantes variations des niveaux de bioaccumulation chez les poissons, liées d'une part au type de micropolluant et d'autre part au type de poisson (espèce, taille, régime alimentaire). La pénétration d'une substance chimique dans le poisson peut s'effectuer par deux voies :

- **La voie respiratoire** (branchiale et secondairement cutanée), il s'agit alors d'un phénomène de contamination directe à partir du milieu contaminé;
- **La voie digestive** : Le poisson absorbe le polluant par ingestion de proies elles même contaminées, ce qui peut donner lieu au phénomène de bioconcentration dans certains organes (Organotropisme des polluants).

Il est à noter que la bioaccumulation varie en fonction des organes étudiés. En effet, les fonctions physiologiques d'un organe interviennent, ainsi les organes de métabolisation et d'excrétion (foie, rein) présentent des propriétés accumulatrices de micropolluant (Mersch *et al.,* 1993, Andres, 1997, Vinot *et al.*, 2000). Par contre dans le muscle les concentrations en cuivre et en zinc restent toujours faibles.

Par rapport à d'autres compartiments d'un écosystème, les niveaux métalliques restent globalement faibles dans les organes cibles des poissons (Villarreal-Trevino *et al.*, 1986 ; Radwan *et al.*, 1990; Miller *et al.*, 1992 ; Vinot *et al.*, 2000 ; Farkas *et al.*, 2003). Ceci s'explique par des capacités de régulation et d'adaptation des poissons à des situations de contamination (Hodson, 1988; Sprenger *et al.*, 1988; Carpenè *et al.*, 1990 ; Tao *et al.*, 2000).

Mersch *et al.* (1993) établissent des concentrations en cuivre et en zinc dans un site de référence (étang du Lindre) chez deux espèces de poissons, gardon et perche et dans trois organes. Chez le gardon, les concentrations en cuivre et en zinc dans le muscle, le rein et le foie sont respectivement de 2.5, 14.5 et 10.4 mg Cu /kg de ms et 6.4, 610 et 150mg Zn/kg de ms. Dans la perche les concentrations en cuivre et en zinc dans le muscle, le rein et le foie sont respectivement de 2.1, 10.6 et 8.0 mg Cu /kg de ms et 24, 383 et 77mg Zn/kg de ms.

Dans la littérature, les dosages de métaux dans les poissons sont fréquemment rapportés en mg/kg du corps total en poids frais ou poids sec. Ainsi Schmitt & Brumbaugh en 1990 (EHC 221, 2001) ont rapporté les résultats d'un programme de biosurveillance national dans lequel les concentrations en zinc ont été mesurées dans les poissons d'eau douce. Les plus hautes concentrations ont été trouvées dans la carpe commune (*Cyprinus carpio*) avec des valeurs atteignant 168.1 µg/g de poids frais. Chez les autres espèces de poissons les

concentrations en zinc étaient comprises entre 12.78 et 32.66 mg Zn/kg de pf. Ces mesures ont été réalisées sur le poisson entier.

II.2. Toxicité des métaux

II.2.1. Concept de métaux essentiels et non essentiels

Les métaux peuvent être classés comme essentiels et non essentiels pour les organismes selon qu'ils assument ou non une fonction biologique.

II.2.1.1. Métaux non essentiels

Les métaux non essentiels n'ont pas de fonction biologique connue. Ils sont présents en faible quantité dans la croûte terrestre, et comprennent le chrome, l'arsenic, l'argent, le cadmium, le mercure, l'étain et le plomb. En ce qui concerne le cadmium, Price & Morel (1990) ont montré que dans les milieux pauvres en zinc, il est susceptible de remplacer cet élément essentiel dans les macromolécules biologiques et de ce fait, de favoriser la croissance chez des diatomées marines.

II.2.1.2. Métaux essentiels

Les métaux essentiels comprennent le cuivre, le vanadium, le manganèse, le fer, le cobalt, le zinc et le molybdène (Förstner & Wittmann, 1981). Parmi les éléments auxquels nous nous intéressons au cours de ce travail, la fonction d'élément essentiel a été reconnue dés le début du XX^{ieme} siècle ; en tant que constituants de nombreuses enzymes et comme catalyseurs, le cuivre et le zinc intervenant dans de nombreux processus métaboliques.

Pour les plantes le cuivre est une composante structurale et fonctionnelle de nombreuses enzymes impliquées dans la catalyse de réactions d'oxydoréduction. Le cytochrome oxydase, la plastocyanine, la superoxydismutase (Cu - Zn) et la phénol oxydase sont autant d'exemples de ce type d'enzymes (Marschner, 1995). Bien qu'essentiel à la nutrition des végétaux en tant qu'oligo-élément, le cuivre se révèle très toxique pour ces derniers à partir d'un seuil relativement bas : 20-30µg.g^{-1} de matière sèche ou 50 µg/l dans le milieu (Marschner, 1995). Les besoins en métaux essentiels sont assez variables, mais on peut distinguer pour chaque métal et pour chaque espèce, une concentration optimale comprise dans un intervalle quelquefois étroit, qui permet le développement et la croissance (**Figure I-15**).

Au-dessous de ce seuil optimal, la raréfaction d'un métal essentiel peut entraîner des phénomènes de carence et devenir un facteur limitant (Behrenfeld *et al.*, 1996). Au-dessus de ce seuil optimal, des phénomènes de toxicité peuvent apparaître, perturbant la croissance ou l'activité métabolique, allant jusqu'à entraîner la mort des cellules. La concentration en cuivre dans l'eau peut contrôler par exemple les successions des populations phytoplanctoniques dans les milieux marins et dulçaquicoles (Brand *et al.*, 1986 ; Gustavson & Wangberg, 1995).

Les fonctions biochimiques du cuivre et du zinc sont relativement bien connues chez les organismes animaux (Frausto da Silva & Williams, 1993). En particulier, le cuivre intervient comme constituant du pigment respiratoire (hémocyanine) chez de nombreux invertébrés (Crustacés, mollusques gastéropodes) et le zinc comme constituant d'une métalloprotéine particulière, la métallothionéine.

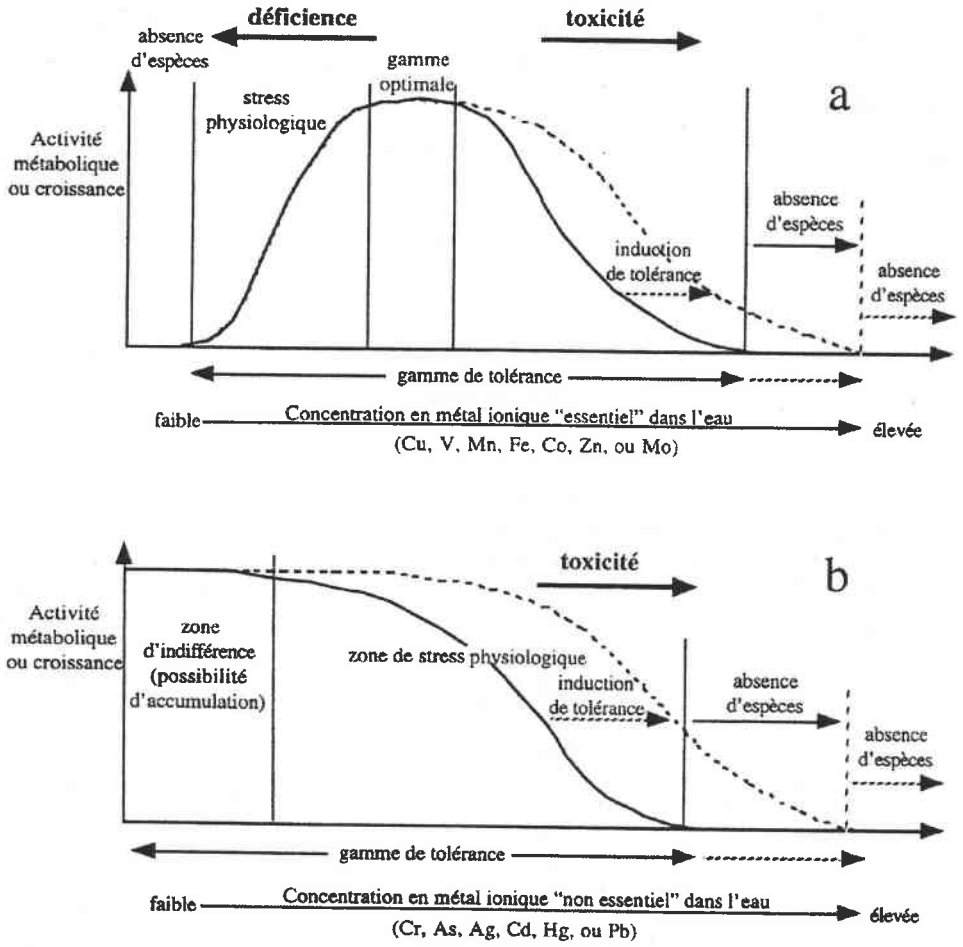


Figure I-15: Réponses idéalisées des algues à une augmentation en métaux (a) essentiels et (b) non essentiels (d'après De Filippis & Pallaghy, 1994).

II.2.2. Les effets toxiques des polluants

II.2.2.1. Les événements écotoxicologiques

Les interactions entre les contaminants et les organismes présents dans le milieu font appel à des processus nombreux et interdépendants qu'il faut analyser pour évaluer, comprendre et finalement tenter de prédire les risques écotoxicologiques dans les systèmes naturels.

L'effet des contaminants sur les organismes peut être observé à différents niveaux dans l'organisme et dans les systèmes aquatiques. Par conséquent, l'étude des processus allant de l'intoxication des organismes dans leur milieu naturel aux effets observés aux différents

niveaux d'organisation biologique nécessite une approche multidisciplinaire mettant en œuvre différentes méthodes d'évaluation (**Figure I-16**).

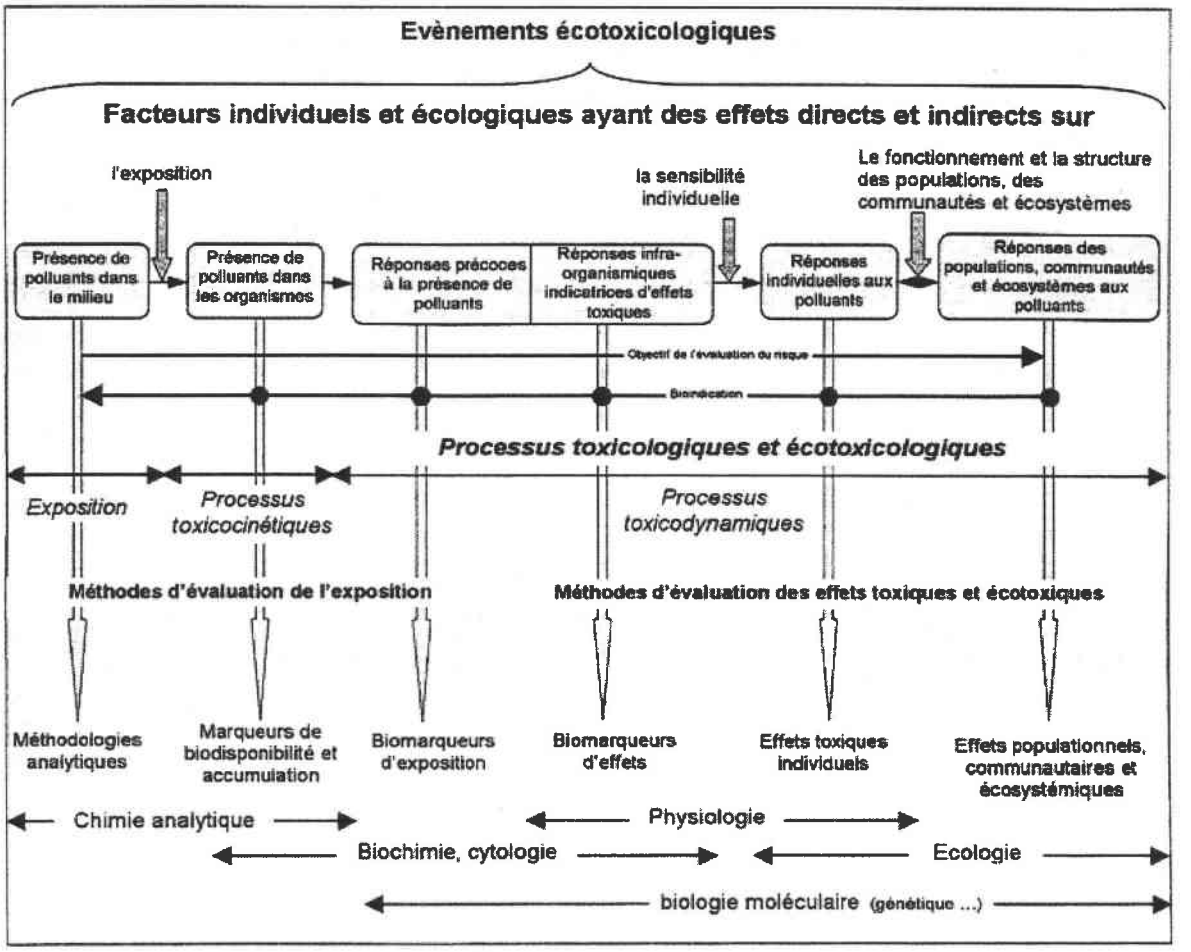


Figure I-16 : Représentation des méthodologies et des outils biologiques utilisés dans les approches écotoxicologiques et niveau d'observation des effets toxiques d'une substance dans les écosystèmes. (Coeurdassier, 2001 ; adapté d'après Lagadic *et al.* (1997) et Mora (1998)).

II.2.2.2. Toxicodynamique

Un métal, lorsqu'il est biodisponible, va être accumulé et/ou interagir sur l'activité biologique des organismes exposés.

Toutefois, la simple présence du polluant à l'intérieur de l'organisme n'implique pas obligatoirement d'effet toxique (Rainbow, 2002); la concentration de la forme toxique doit atteindre un seuil au niveau des cibles moléculaires à partir duquel il y a toxicité. On parle alors de biodisponibilité toxicologique (Lanno *et al.*, 1998). Landrum *et al.* (1996) précisent que l'accumulation est un lien direct entre les concentrations en contaminants dans l'environnement et leurs effets potentiels aux différents niveaux biologiques (**Figure I-16 et I-17**).

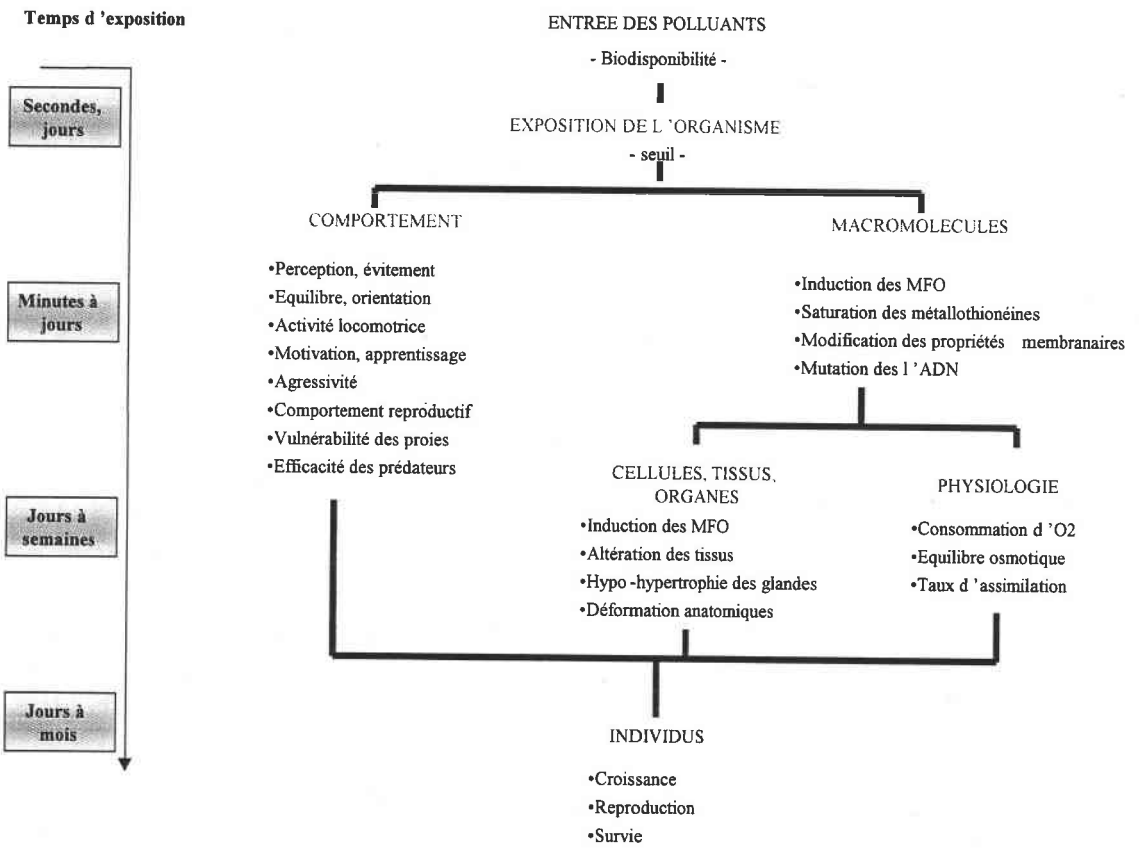


Figure I-17 : Progression des effets toxiques moléculaires, biochimiques, physiologiques et écophysiologiques des polluants en fonction du temps sur les individus des écosystèmes (d'après Sheehan *et al.*, 1984).

La recherche de corrélation entre les concentrations internes et les effets toxiques est alors apparue comme un moyen de prédire ces effets en mesurant la quantité de polluant accumulé par un organisme (Hopkins, 1990 ; Mc Carty & Mackay, 1993 ; Bell *et al.*, 2002). Depledge & Rainbow (1990) considèrent cependant que la charge corporelle totale dans un organisme n'est pas une approche suffisante pour localiser et prédire les effets toxiques car la toxicité peut être influencée par la distribution du contaminant dans les différents tissus.

L'action toxique qui découle de l'exposition à un polluant dépend également du seuil de toxicité et du temps d'exposition (Jansen *et al.*, 2002).

A court terme, les atteintes pourront être observées au niveau comportemental et moléculaire ; dans un second temps, les structures tissulaires et l'activité physiologique pourront être perturbées (Sheenan *et al.*, 1984) (**Figure I-17**).

Cependant, des atteintes structurales et fonctionnelles peuvent déclencher des mécanismes de protection, permettant de réduire les effets toxiques par activation de systèmes de stockage et d'inactivation, de réparation au niveau moléculaire, cellulaire, et tissulaire ou encore d'excrétion (Pain, 2003 ; Ledy, 2002 ; Rainbow, 2002). Toutefois, ces mécanismes de régulation ou de défense (Ledy, 2002) sont consommateurs d'énergie et/ou provoquent une diminution de la prise alimentaire (fermeture des valves chez *Dreissena polymorpha :*

Mouabad & Pihan, 1992 ; Czembor, 2001), et par conséquent cette énergie ne peut plus être disponible pour d'autres fonctions biologiques (compétition inter et intraspécifique, reproduction, défense...). Dans ce cas, les contaminants atteignent les performances individuelles des organismes.

Dans ces conditions, l'état de stress peut conduire, indirectement et sans causer la mort de l'animal, à sa disparition à long terme. Au niveau d'une population, cela peut se traduire par une sélection des individus les plus résistants et au niveau de l'écosystème, par la disparition des espèces les plus sensibles, avec baisse de la biodiversité.

En effet, les conséquences écotoxicologiques populationnelles découlent en partie d'une altération des performances individuelles d'une fraction au moins des individus qui la composent (Munkittrich & Mc Carty, 1995). Les processus vitaux impliqués concernent la croissance, les performances reproductrices et la survie **(Figure I-17).**

Cependant, d'autres caractéristiques doivent être considérées pour évaluer l'impact à long terme (chronique) d'une contamination sur une population ; celles-ci incluent le degré de polymorphisme génétique qui conditionne les capacités d'adaptation aux contaminants (Amichot *et al.*, 1998) et les changements dans la structure génétique des populations impliquant la disparition des phénotypes (et génotypes) les plus sensibles (Guttman, 1994).

Les altérations observées au niveau populationnel résultent également d'effets indirects non toxiques comme la baisse de la disponibilité en proies ou la modification des interactions de compétition (Koeman, 1982).

Par conséquent, si les effets toxiques individuels peuvent se répercuter directement au niveau de la biocénose toute entière en réduisant ou en éliminant les espèces les plus sensibles, d'autres effets propres aux structures et aux fonctionnements des communautés et des écosystèmes agissent également dans les modifications des systèmes écologiques par les contaminants.

L'établissement de la relation entre les effets toxiques aux différents niveaux d'organisation biologique est un des défis majeurs de l'écotoxicologie. D'une part, les effets aux niveaux communautaire et écosystèmique impliquent des causes individuelles directes et indirectes difficilement mesurables. D'autre part, la complexité des systèmes et l'existence de lois propres à chaque niveau d'organisation limitent la compréhension de l'ensemble des mécanismes qui permettent une extrapolation précise des effets toxiques d'un niveau à un autre à travers une démarche ascendante. D'où la nécessité d'évaluer les effets écotoxicologiques des contaminants sur l'écosystème dans sa globalité pour comprendre l'ensemble des contraintes qui s'exercent sur les organismes dans les systèmes naturels.

Dans le cas d'une exposition à un mélange de métaux, comme c'est souvent le cas dans les systèmes aquatiques continentaux soumis à des rejets anthropogèniques, il y a continuité dans le passage entre les actions protectrices et toxiques (Roesijadi & Fellingham, 1987). Ces

auteurs ont établi un modèle reliant les modifications de la tolérance à un métal pour un organisme cible, en fonction d'une exposition à un mélange de métaux. Les phénomènes relèvent de quatre cas : (1) le mélange de métaux n'est pas en concentration suffisante pour avoir une action toxique sur les organismes, ces derniers expriment alors une tolérance de base ; (2) l'exposition entraîne une bioaccumulation qui déclenche des mécanismes de protection contre les effets toxiques ; (3) les mécanismes de protection sont activés de manière optimale ; (4) la concentration en métaux induit une toxicité aiguë dont les effets biologiques ne peuvent pas être compensés par les mécanismes de détoxication, la tolérance au métal devenant, de fait, minimale.

Toutefois, il faut signaler que la tolérance d'un organisme face à un polluant, ne doit pas être interprétée comme une absence d'impact de ce polluant sur l'organisme. En effet, l'hypothèse est souvent émise que les espèces adaptées à des modifications importantes des conditions physico-chimiques dans leur milieu de vie sont probablement plus aptes à supporter tout stress supplémentaire.

Cependant, il peut être argumenté que les populations vivant sous des conditions de stress écologique ou écotoxicologique sévère, ayant atteint leur limite d'acclimatation, seraient plus sensibles a un stress additionnel (Mouneyrac *et al.*, 2002). Pour l'instant, les recherches de Hummel *et al.* (1995, 1996) renforcent cette hypothèse.

II.2.3. Toxicité du cuivre sur les organismes aquatiques

La toxicité des métaux cuivre et zinc sur les organismes est définie par les CL_{50} ou CE_{50}. Les CL_{50} (concentration létale d'une substance pour 50% des individus testés et en un temps donné) et les CE_{50} (concentrations d'une substance ayant un effet sur 50% des individus testés et en un temps donné) sont des valeurs définies en laboratoire et les conditions expérimentales utilisées sont précisées au maximum. Il faut toutefois noter que les conditions d'étude en laboratoire sont très éloignées de celles observées dans les milieux naturels et de fait, les CL_{50} sont faiblement représentatives des effets observés dans les écosystèmes.

La toxicité des métaux peut également être exprimée par des NOEC (Concentration ne provoquant pas d'effet observé) ou par des LOEC (concentration provoquant les plus faibles effets observés).

L'ion libre Cu^{2+} serait la forme du cuivre la plus toxique pour les organismes (Pagenkopf *et al.*, 1974 ; Wood, 1983 ; Borgmann, 1983 ; Borgmann & Ralph, 1983, 1984; Borgmann & Charlton, 1984 ; Xue & Sigg, 1990) et il en est de même pour le zinc (EHC 221, 2001).

Plusieurs études ont montré une corrélation entre la toxicité du cuivre et l'activité de l'ion Cu^{2+} (Borgmann, 1983; Meador, 1991). Toutefois des cas ou la concentration en ions

libres n'est pas corrélée avec la toxicité sont signalés dans la littérature (Campbell, 1995 ; Errecalde & Campbell, 2000 ; Fortin & Campbell, 2001 ; Guo *et al.*, 2001).

Un grand nombre d'auteurs ont relaté les effets toxiques du cuivre sur les organismes.(Nor 1987 ; Reed-Judkins, 1998 ; Sherba *et al.*, 2000 ; Brix *et al.*, 2001; LaBreche *et al.*, 2002 ; Ma *et al.*, 2002, 2003).

Le cuivre est susceptible d'exercer des effets délétères sur la reproduction (Ingersoll & Winner, 1982 ; Ringwood, 1992, Phipps *et al.*, 1995), les processus biogéochimiques (Giamberini, 1993 ; Ledy, 2002), la physiologie (Viarengo, 1989, Ferrando & Andreu, 1993 ; Kraak *et al.*, 1992), et le comportement (Phelps *et al.*, 1983, Mouabad, 1991, Czembor, 2001) des organismes et pour les écosystèmes, au niveau des communautés. De tels effets ont pu être observé sur de nombreux organismes aquatiques. Il a été montré qu'une concentration de 1-2µg Cu/l en laboratoire pouvait déjà avoir un effet néfaste sur certains organismes aquatiques (CL50-21jours pour l'immobilisation des daphnies égale à 1.4µg Cu/l (Dave, 1984)). Cependant il existe une telle variabilité au sein des espèces que les paramètres sensibilité de l'organisme considéré et biodisponibilité du métal doivent être pris en compte dans l'interprétation et l'application de ces informations (EHC 200, 1998).

II.2.3.1. La toxicité aiguë ou à court terme du cuivre

Le **tableau I-10** présente quelques concentrations en cuivre dans l'eau inhibitrices de la croissance et de la photosynthèse pour différentes espèces de microalgues. Les CL_{50} sont comprises dans une gamme très large de valeurs allant pour la croissance de 0.027 µg Cu/l à 378 µg Cu/l en fonction du genre et de l'espèce et pour la photosynthèse de 0.005 µg Cu/l à 500 µg/l.

Le **tableau I-11** synthétise une partie des données disponibles dans la littérature sur la toxicité aiguë du cuivre vis à vis des organismes aquatiques.

Pour le zooplancton d'eau douce les $C(E)L_{50}$-48h sont comprises entre 9.5µg Cu/l pour les différentes espèces de daphnie et 2500 µg Cu/l pour un copépode. Pour les invertébrés marins les CL_{50}-96h se répartissent entre 29µg Cu/l pour le mollusque *Argopecten irradians* et 6400 µg Cu/l pour le crustacé *Uca annulipes* (Filder crab).

La toxicité aiguë du cuivre pour les poissons marins et d'eau douce est également très variable.

Pour les poissons d'eau douce, les CL_{50}-96h sont comprises entre 3 µg Cu/l pour *Thymallus arcticus* (Arctic grayling) et 7340 µg Cu/l pour *Lepomis macrochirus* (Bluegill). Cependant pour des poissons comme *Carassius auratus*, la CL50-96h pour le cuivre peut atteindre 13 800 µg Cu/l (dureté : 272 mg $CaCO_3$/l)). Chez *Cyprinus carpio* la CL_{50} 48h est respectivement de 118, 289 et 751 µg/l pour des duretés de 50, 100 et 300 mg/l $CaCO_3$ (Peres & Pihan, 1991a). Le **tableau I-12** montre l'influence de la dureté sur la toxicité du cuivre sur les poissons.

Selon les informations fournies par EHC 200, il semblerait que les poissons du cours supérieur soient plus sensibles au cuivre avec des CL50-96h comprises entre 13.8 à 243 µg Cu/l.

Concernant les poissons marins les CL_{50}-96h couvrent une gamme allant de 60µg Cu/l pour *Oncorhynchus tshawytscha* (chinook salmon) à 1400 µg Cu/l pour *Chelon labrosus* (grey mullet) (EHC 200, 1998)).

La référence utilisée par la grille de qualité éditée par l'agence de l'eau : SEQ-eau, comme donnée de toxicité critique pour les poissons est la CL50-96h pour *Oncorhynchus mykiss* dont la valeur est 80 µg Cu/l (Stein *et al.*, 1984 cité dans le SEQ-eau) pour une dureté comprise entre 50 et 200 mg CaCO3/l.

Tableau I-10 : Concentrations en cuivre inhibitrices de la croissance et de la photosynthèse pour différentes espèces de microalgues.

Espèce	CL_{50} (µg Cu.l-1)	Référence
Croissance		
Scenedesmus quadricauda (chlo)[b] (ED)[c]	2,7. 10-2	Guanzon *et al.* (1994)
Aulacoseira granulata (diat) (ED)	0,15	Guanzon *et al.* (1994)
Microcystis aeruginosa (cya) (ED)	0,34	Guanzon *et al.* (1994)
Chlorella pyrenoidosa (chlo) (ED)	6	Stauber & Florence (1987)
Thalassiosira profunda (diat) (EM)	6,35	Brown *et al.* (1988)
Nitzschia closterium (diat) (EM)	20	Florence & Stauber (1986)
Chlamydomonas reinhardii (chlo) (EM)	47	Schäfer *et al.* (1993)
***Chlamydomonas vulgaris* (chlo) ***	**62**	**Touang *et al.* (1983)**
Chlamydomonas bullosa (chlo) (EM)	49,5	Visiki & Rachlin (1994a)
Phaeodactylum tricornutum (diat) (EM)	100	Cid et al. (1995)
Dunaliella salina (chlo) (EM)	378	Visiki & Rachlin (1994a)
Dunaliella minuta (chlo) (EM)	481	Visiki & Rachlin (1991)
Photosynthèse		
Scenedesmus quadricauda (chlo) (ED)	5.10-4	Guanzon *et al.* (1994)
Aulacoseira granulata (diat) (ED)	1,2.10-3	Guanzon *et al.* (1994)
Microcystis aeruginosa (cya) (ED)	3,3.10-2	Guanzon *et al.* (1994)
Ditylum brightwellii (diat) (EM)	5	Rijstenbil *et al.* (1994)
Brachiomonas submarina (chlo) (EM)	13 – 32	Overnell (1976)
Skeletonema costatum (diat) (EM)	32	Overnell (1976)
Attheya decora (diat) (EM)	44,5	Overnell (1976)
Dunaliella tertiolecta (chlo) (EM)	44,5	Overnell (1976)
Phaeodactylum tricornutum (diat) (EM)	500	Cid *et al.* (1995)

[b] chlo : chlorophycée, diat : diatomées, cya : cyanobactéries.
[c] ED : eau douce, EM : eau de mer.
* : Référence retenue parmi les données de toxicité critique pour la détermination de seuil de qualité dans la grille du SEQ-eau (Agence de l'eau), CL_{50} 96h.

Tableau I-11 : Quelques exemples de toxicité aiguë du cuivre pour les invertébrés d'eau douce (Cl50-24h à 96h).

Organismes	Taille/age	T(°c)	Dureté	pH	Composé	Paramètre	Concentration	Référence
Gastéropodes								
Lymnaea luteola						CL50 - 24h	80	Khangarot & Ray (1988)
						CL50 - 96h	30	Khangarot & Ray (1988)
Physa heterostropha			eau dure			CL50 - 96h	50	Wurtz (1962)
			eau douce			CL50 - 96h	30	Wurtz (1962)
Lithoglyphus virens		15	22	7,2	Chlorure	CL50 - 96h	8	Nebeker *et al.* (1986)
Juga plecifora		15	22	7,2	Chlorure	CL50 - 96h	15	Nebeker *et al.* (1986)
Physa integra		15	45	7,7	Sulfate	CL50 - 96h	39	Arthur & Leonard (1970)
Potamopyrgus jenkensi	juvénile	15	298	8	Sulfate	CL50 - 48h	58	Watton & Hawkes (1984)
	juvénile	15	298	8	Sulfate	CL50 - 96h	54	Watton & Hawkes (1984)
	Jeune adulte	15	298	8	Sulfate	CL50 - 48h	112	Watton & Hawkes (1984)
	Jeune adulte	15	298	8	Sulfate	CL50 - 96h	77	Watton & Hawkes (1984)
	Adulte âgé	15	298	8	Sulfate	CL50 - 48h	87	Watton & Hawkes (1984)
	Adulte âgé	15	298	8	Sulfate	CL50 - 96h	79	Watton & Hawkes (1984)
Cladocères								
Daphnia magna	< 24h	ND	45	7,2-7,4		CL50 - 48h	54	Mount & Norberg (1984)
	< 24h	ND	45	7,2-7,4		CL50 - 48h	63	Mount & Norberg (1984)
*			50-200			CL50 - 96h	130	Blaylock *et al.* (1985)
*			50-200			CE50-48h	15	Maedor (1991)
*			50-200			NOEC 14 j	10	Blaylock et al. (1985)
Daphnia pulex	< 24h	20	130-160	8,2-9,5	Sulfate	CL50 - 72h	86,5	Winner & Farrell (1976)
	< 24h	20	130-160	8,2-9,5	Sulfate	CL50 - 72h	86	Winner & Farrell (1976)
Ceriodaphnia dubia	< 12h	25	57	8,2	Sulfate	CL50 - 48h	13,4	Oris *et al.* (1991)
	< 12h	25	45	7,7	ND	CL50 - 48h	17-32	Belanger *et al.* (1989)
	< 12h	25	179	8,3	ND	CL50 - 48h	67	Belanger *et al.* (1989)
	< 12h	25	94	8,15	ND	CL50 - 48h	34-37	Belanger *et al.* (1989)
	< 12h	25	179	8,3	ND	CL50 - 48h	78-81	Belanger *et al.* (1989)
	ND	25	290	6,2	Nitrate	CL50 - 48h	9,5	Schbauer-Berigan *et al.* (1993)
	ND	25	290	7,1	Nitrate	CL50 - 48h	28	Schbauer-Berigan *et al.* (1993)
	ND	25	290	8,6	Nitrate	CL50 - 48h	200	Schbauer-Berigan *et al.* (1993)

(Suite tableau I-11)

Organismes	Taille/age	T(°c)	Dureté	pH	Composé	Paramètre	Concentration	Référence
Copépodes								
Cyclops abyssorum	1,27mm	10	ND	7,2	Chlorure	CL50 - 48h	2500	Baudoin & Scoppa (1974)
Eudiaptomus padanus	1,27mm	10	ND	7,2	Chlorure	CL50 - 48h	500	Baudoin & Scoppa (1974)
Décapodes								
Crevette d'eau douce	adulte	15	17	6,96	Sulfate	CL50 - 96h	34	Daly *et al.* (1990a)
Amphipodes								
Gammarus sp.	ND	17	50	7,6	ND	CL50 - 24h	1200	Rehwoldt *et al.* (1973)
Gammarus sp.	ND	17	50	7,6	ND	CL50 - 96h	910	Rehwoldt *et al.* (1973)
Gammarus pulex	3-5mm	12	151	6,8-7,2	ND	CL50 - 48h	47	Taylor *et al.* (1991)
	3-5mm	12	151	6,8-7,2	ND	CL50 - 96h	37	Taylor *et al.* (1991)
	ND	ND	104	8,33	ND	CL50 - 48h	41	Stephenson *et al.* (1983)
	ND	ND	104	8,33	ND	CL50 - 96h	21	Stephenson *et al.* (1983)
Gammarus pulex	ND	ND	249	8,33	ND	CL50 - 48h	183	Stephenson *et al.* (1983)
	ND	ND	249	8,33	ND	CL50 - 96h	109	Stephenson *et al.* (1983)
Gammarus italicus	ND	8	240	8,1	Chlorure	CL50 - 24h	179	Pantani *et al.* (1990)
Gammarus pseudolimnaeus	ND	15	45	7,7	Sulfate	CL50 - 96h	20	Arthur & Leonard (1970)
Echinogammarus tibaldii	ND	7,5-8,5	240	7,9	Chlorure	CL50 - 96h	720	Pantani *et al.* (1995)
Crangonyx pseudogracilis	4mm	13	50	6,75	Sulfate	CL50 - 48h	2440	Martin & Holdich (1986)
	4mm	13	50	6,75	Sulfate	CL50 - 96h	1290	Martin & Holdich (1986)
Isopodes								
Asellus aquaticus	7mm	13	50	6,75	Sulfate	CL50 - 96h	9210	Martin & Holdich (1986)
Rotifères								
Brachionus calyciflorus	juvénile	20	36,2	7,3	Sulfate	CL50 - 24h	200	Couillard *et al.* (1989)
	ND	25	ND	ND		CL50 - 24h	26	Snell *et al.* (1991)
	ND	25	80-100	7,4-7,8	Sulfate	CL50 - 24h	76	Ferrando *et al.* (1992)
Brachionus rubens	juvénile	25	80-100	7,4-7,8	Sulfate	CL50 - 24h	19	Snell & Persoone (1989b)
Keratella cochlearis	ND	20	ND	8,3	Chlorure	CL50 - 24h	101	Borgmann & Ralph (1984)
Insectes								
Chironomus sp.	ND	17	50	7,6	ND	CL50 - 24h	650	Reywolt *et al.* (1973)
	ND	17	50	7,6	ND	CL50 - 96h	30	Reywolt *et al.* (1973)
Chironomus tentans	larve	13	25	6,3	Sulfate	CL50 - 48h	327	Khangarot & Ray (1989)
	larve	19-22	42,7	7,6	Sulfate	CL50 - 96h	16,7	Gauss *et al.* (1985)

(Suite et fin tableau I-11)

Organismes	Taille/age	T(°c)	Dureté	pH	Composé	Paramètre	Concentration	Référence
Chironomus tentans	larve	19-22	109,6	7,8	Sulfate	CL50 - 96h	36,5	Gauss *et al.* (1985)
	larve	19-22	172,3	8,1	Sulfate	CL50 - 96h	98,2	Gauss *et al.* (1985)
	larve	19-22	42,7	7,6	Sulfate	CL50 - 96h	211	Gauss *et al.* (1985)
	larve	19-22	109,6	7,8	Sulfate	CL50 - 96h	977	Gauss *et al.* (1985)
	larve	19-22	172,3	8,1	Sulfate	CL50 - 96h	1184	Gauss *et al.* (1985)
	larve	20	71	ND	Chlorure	CL50 - 96h	298	Nebeker *et al.* (1984a)
	larve	20	84	ND	Chlorure	CL50 - 96h	773	Nebeker *et al.* (1984a)
	larve	20	84	ND	Chlorure	CL50 - 96h	1446	Nebeker *et al.* (1984a)
	larve	20	84	ND	Chlorure	CL50 - 96h	1690	Nebeker *et al.* (1984a)
Chironomus riparius	larve	12	151	6,8-7,2			1200	Taylor *et al.* (1991)
	larve	12	151	6,8-7,2			700	Taylor *et al.* (1991)

* : Référence retenue parmi les données de toxicité critique pour la détermination de seuil de qualité dans la grille du SEQ-eau (Agence de l'eau)

Tableau I-12 : Quelques exemples de toxicité aiguë du cuivre pour les poissons d'eau douce (Cl50 -96h).

Organismes	Size/age	T(°c)	Dureté	pH	Composés	Paramètres	Concentration	Références
Oncorhynchus tshawytscha	0,66 g	11-13	211	7,4-8,3	Sulfate	CL50 - 96h	58	Hamilton & Buhl (1990)
	0,87 g	11-13	211	7,4-8,3	Sulfate	CL50 - 96h	54	Hamilton & Buhl (1990)
	alevin	12	24	7,1	ND	CL50 - 96h	26	Chapman (1978)
		12	24	7,1	ND	CL50 - 96h	19	Chapman (1978)
Oncorhynchus kisutch	0,41 g	12	41,3	7,1-8,0	Sulfate	CL50 - 96h	15	Buhl & Hamilton (1990)
	6 g	13,5	33	7,0-7,5	ND	CL50 - 96h	17 (Cu^{2+})	Buckley (1983)
	6 g	13,5	33	7,0-7,5	ND	CL50 - 96h	164 (Cu_{total})	Buckley (1983)
	2,7 kg	9,4	20	7,29	Chloride	CL50 - 96h	46	Chapman & Stevens (1978)
	0,60 g	12	41,3	7,1-8,0	Sulfate	CL50 - 96h	13,8	Buhl & Hamilton (1990)
Oncorhynchus mykiss	1 g	12	44	7,1	Count-N*	CL50 - 96h	20,4	Mayer & Ellersieck (1986)
	1 g	12	44	7,1	Count-NS*	CL50 - 96h	121	Mayer & Ellersieck (1986)
	1,6 g	13	44	7,1	Sulfate (98%)	CL50 - 96h	135	Mayer & Ellersieck (1986)
	alevin	12	24	7,1	ND	CL50 - 96h	28	Chapman (1978)
Oncorhynchus mykiss *			50-200				80	Stein *et al.* (1984)
Salvelinus fontinalis	juvénile	12	ND	ND	Sulfate	CL50 - 96h	110	McKim & Benoit (1971)
Salmo clarki	2,1 g	13	194	7,8	Chloride	CL50 - 96h	83,3	Chakoumakos *et al.* (1979)
	9,4 g	13	194	7,8	Chloride	CL50 - 96h	221	Chakoumakos *et al.* (1979)
	25,6 g	13	194	7,8	Chloride	CL50 - 96h	243	Chakoumakos *et al.* (1979)
Thymallus arcticus	alevin	12	41,3	7,1-8,0	Sulfate	CL50 - 96h	23,9-131	Buhl & Hamilton (1990)
	frai	12	41,3	7,1-8,0	Sulfate	CL50 - 96h	9,6	Buhl & Hamilton (1990)
	0,34 g	12	41,3	7,1-8,0	Sulfate	CL50 - 96h	2,58	Buhl & Hamilton (1990)
Pimephales promelas	1 g	17	44	7,1	Count-N*	CL50 - 96h	35,9	Mayer & Ellersieck (1986)
	1,1 g	17	44	7,1	Count-NS*	CL50 - 96h	154	Mayer & Ellersieck (1986)
	1,2 g	18	272	7,4	Sulfate (98%)	CL50 - 96h	838	Mayer & Ellersieck (1986)
	22 mm	20-26	202	7,5-8,2	Sulfate	CL50 - 96h	490	Pickering *et al.* (1977)
	55 mm	20-26	202	7,5-8,2	Sulfate	CL50 - 96h	460	Pickering *et al.* (1977)
Lepomis macrochirus	1,2 g	17	44	7,1	Count-N*	CL50 - 96h	3 280	Mayer & Ellersieck (1986)
	1,2 g	17	44	7,1	Count-N*	CL50 - 96h	13 700	Mayer & Ellersieck (1986)
	1 g	24	44	7,4	oxychloride	CL50 - 96h	980	Mayer & Ellersieck (1986)
	1,5 g	18	44	7,1	Sulfate (98%)	CL50 - 96h	884	Mayer & Ellersieck (1986)
	1,5 g	18	272	7,4	Sulfate (98%)	CL50 - 96h	7 340	Mayer & Ellersieck (1986)
	18,6 g	24	200	8	ND	CL50 - 96h	8 300	Geckler *et al.* (1976)
	19,2 g	24	200	8	ND	CL50 - 96h	10 000	Geckler *et al.* (1976)

(Suite tableau I-12)

Organismes	Size/age	T(°c)	Dureté	pH	Composés	Paramètres	Concentration	Références
Lepomis gibbosus	ND	28	55	8	ND	CL50 - 96h	2700	Rehwoldt *et al.* (1972)
Carassius auratus	0,9 g	18	272	7,4	Sulfate (98%)	CL50 - 96h	13 800	Mayer & Ellersieck (1986)
Roccus saxatilis	ND	28	55	8	ND	CL50 - 96h	4 000	Rehwoldt *et al.* (1972)
Roccus americanus	ND	28	55	8	ND	CL50 - 96h	6 400	Rehwoldt *et al.* (1972)
Anguilla rostrata	ND	28	55	8	ND	CL50 - 96h	6 000	Rehwoldt *et al.* (1972)
Cyprinus carpio	3,5-5,5 g	20	50	7,5	ND	CL50 - 96h	118	Peres & Pihan (1991)
	3,5-5,5 g	20	100	7,5	ND	CL50 - 96h	289	Peres & Pihan (1991)
	3,5-5,5 g	20	300	7,5	ND	CL50 - 96h	751	Peres & Pihan (1991)
Etheostoma caeruleum	41 mm	24	200	8	ND	CL50 - 96h	320	Geckler *et al.* (1976)
Etheostoma spectabile	55 mm	24	200	8	ND	CL50 - 96h	850	Geckler *et al.* (1976)
Ictalurus nebulosus	39 mm	24	200	8	ND	CL50 - 96h	540	Geckler *et al.* (1976)

* : Référence retenue parmi les données de toxicité critique pour la détermination de seuil de qualité dans la grille du SEQ-eau (Agence de l'eau), CL_{50} 96h

II.2.3.2. Les effets toxiques chroniques ou à long terme du cuivre sur les organismes et les communautés

II.2.3.2.a. Toxicité à long terme ou chronique du cuivre et effets sur les organismes

Le **tableau I-13** présente quelques effets délétères du cuivre sur les organismes végétaux, animaux invertébrés et vertébrés face à une contamination à long terme ou chronique.

Tableau I-13 : Quelques exemples de la toxicité à long terme du cuivre sur les végétaux, les invertébrés et les vertébrés (signe égal : pas de modification, diminution ↘, augmentation ↗).

Espèce	Concentration	Durée	Effet délétère	Référence
			Végétaux	
Enteromorpha compressa				
Provenant d'un site pollué	>610µg/l		variabilité cellulaire, photosynthèse,	Reed & Moffat (1983)
Provenant d'un site non pollué	>114 µg/l		taux de potassium intracellulaire =	Reed & Moffat (1983)
			symptome de toxicité	Reed & Moffat (1983)
Elodea canadensis *	690 µg/l	42 j	NOEC croissance	Kay *et al.* (1984)
Chlorella pyrenoidosa	63,5 µg/l		Division cellulaire et photosynthèse ↘	Stauber & Florence (1987)
Nitzchia closterium	176,5 µg/l		Inhibition de la division cellulaire	Stauber & Florence (1987)
	176,5 µg/l		photosynthèse =	Stauber & Florence (1987)
Dunaliella salina	378 µg/l et 49,6 µg/l	96h	ultrastructure cellulaire =	Visviki & Rachlin (1994b)
Chlamydomonas salina	378 µg/l et 49,6 µg/l	96h	ultrastructure cellulaire =	Visviki & Rachlin (1994b)
Dunaliella salina	0,03 µg/l	8 mois	volume cellulaire ↗	Visviki & Rachlin (1994b)
Chlamydomonas salina	0,03 µg/l	8 mois	Volume de la paroi cellulaire ↘ volume cellulaire ↗	Visviki & Rachlin (1994b)
Chlamydomonas reinhardii	12<(NOEC)< 49,1 µg/l	72h	deflagellation	Winner & Owen (1991b)
	12,2<(NOEC)< 43,0 µg/l	72h	densité cellulaire	Winner & Owen (1991b)
Chlorella pyrenoidosa	250 µg/l		taux de croissance ↘	Wong & Chang (1991)
	100 µg/l		Photosynthèse et chlorophylle a ↘	Wong & Chang (1991)
			Invertébrés	
Dahnia pulex	10 µg/l	70 j	survie ↘	Ingersoll & Winner (1982)
Dahnia pulex	20 µg/l	360 min/j	survie et taille ↘	Ingersoll & Winner (1982)
Asellus aquaticus	5 µg/l	90 j	Croissance des juveniles ↘	De Nicola Giudici & Migliore (1988)
Gammarus pseudolimnaeus	14,8 µg/l	6 sem.	survie ↘ + symptome de toxicité	Arthur & Leonard (1970)
Gammarus pulex	14,8 µg/l	100 j	densité de population ↘	Maund *et al.* (1992)
Orchestia gammarellus	688 mg/kg (nourriture)	48 h	Activité alimentaire ↘	Weeks (1993)
Orchestia gammarellus	> 817 mg/kg (nourriture)	20 j	Activité alimentaire =	Weeks (1993)
Asellus aquaticus	5 µg/l	30 j	survie des femelles =	De Nicola Giudici & Migliore (1988)
Asellus aquaticus	5 µg/l	30 j	taux de naissance =	De Nicola Giudici & Migliore (1988)
Tisbe furcata	56 µg/l	96 h	taux de croissance de la population ↘	Bechmann (1994)
Dreissena polymorpha			Activité de filtration ↘	Czembor, 2002
Dreissena polymorpha	13 µg/l		taux de filtration =	Kraak *et al.* (1992)
Dreissena polymorpha	53 à 90 µg/l		taux de filtration ↘ de 56% à 73%	Kraak *et al.* (1992)
Mytilus galloprovincialis			Croissance ↘	Soto et al, 2000
	40 µg/l		taux de lipofuscine dans les lysosomes ↗	Viarengo *et al.* (1990)
Mytilus edulis	6 µg/l	10 j	Croissance des larves ↘	Stromgren & Nielsen (1991)
	2 µg/l	30 j	Fréquence de reproduction	Stromgren & Nielsen (1991)
Protothaca staminea	> 5,8 mg/kg (sédiments)		Vitesse d'enfouissement ↘	Phelps *et al.* (1983)
Protothaca staminea	> 5,8 mg/kg (sédiments) et chélatant		vitesse d'enfouissement =	Phelps *et al.* (1983)
Chironomus decorus	100 à 5000 µg/l		developpement et éclosion =	Kosawat & Knight (1987b)
Polypedilum nubifer	de 10 à 40 µg/l dans l'eau		émergence passe de 74% à 2% ↘	Hatakeyama (1988)
	>1770 mg/kg dans nourriture		succés d'émergence ↘	Hatakeyama (1988)
	à 5200mg/kg dans nourriture		pas d'émergence ↘↘	Hatakeyama (1988)
Chironomus tentans	31 µg/l	CL50 10 j		Phipps *et al.* (1995)
Physa integra	14,8 µg/l	6 sem.	survie ↘ + symptome de toxicité	Arthur & Leonard (1970)
Campeloma decisum	14,8 µg/l	6 sem.	survie ↘ + symptome de toxicité	Arthur & Leonard (1970)
			Vertébrés	
Cyprinus carpio	19,1 µg/l, pH =7,6		effet observé =	Stouthart *et al.* (1996)
Cyprinus carpio	50,8 µg/l, pH =7,6		Na^+, Ca^{2+} dans le corps ↘, mortalité ↗	Stouthart *et al.* (1996)
Cyprinus carpio	19,1 et 50,8 µg/l, pH =6,3		Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^+ dans le corps ↘	Stouthart *et al.* (1996)
Cyprinus carpio	19,1 et 50,8 µg/l, pH =6,3		plus [Cu] ↗ déformation et mortalité des larves ↗	Stouthart *et al.* (1996)
Perca fluviatilis	> 22 µg/l	30 j	Croissance ↘	Collvin (1985)
Perca fluviatilis	> 22 µg/l	30 j	métabolisme de détoxication ↗	Collvin (1985)
Perca fluviatilis	> 22 µg/l	30 j	efficacité de conversion des aliments ↘	Collvin (1985)
Atherinops affinis	32< NOEC <190 µg/l		Test de fertilisation	Anderson *et al.* (1991)
	55< NOEC <123 µg/l	12 j	developpement de l'embryon	Anderson *et al.* (1991)
Brachydanio rerio	32 µg/l	1 j	survie des embryons ↘	Dave & Xiu (1991)
	1 à 16 µg/l	4 j	retard d'éclosion; survie des embryons ↘	Dave & Xiu (1991)
Lepomis macrochirus	261 µg/l	7 j	glucose du plasma ↗	Heath (1991)
	261 µg/l	7 j	ATP ↘	Heath (1991)
	40 µg/l	4 j	activité ↘	Ellgaard & Guillot (1988)
Ictalurus nebulosus	300 µg/l	1 mois	Changement épidermique	Benedetti *et al.* (1989)
	300 µg/l	1 mois	cellules à mucus ↗	Benedetti *et al.* (1989)
Channa punctatus	50 µg/l	4j	prolifération du REL, dégradation du RER	Khangarot (1992)
Channa punctatus	50 µg/l	4j	Perte de membranes des mitochondries	Khangarot (1992)
	50 µg/l	7 j	densité des vaccuoles ↗	Khangarot (1992)

* : Référence retenue parmi les données de toxicité critique pour la détermination de seuil de qualité dans la grille du SEQ-eau (Agence de l'eau).

Les effets observés peuvent être en premier lieu des comportements d'évitement comme c'est le cas pour les bivalves filtreurs (*Dreissena polymorpha*), le non-enfouissement pour les organismes fouisseurs ou la diminution de l'activité alimentaire lorsque la source de contamination est la nourriture. Ensuite s'observe un accroissement de l'activité des mécanismes de défense (production de mucus) ou d'élimination (prolifération du REL, et RER). Tous ces mécanismes de défense sont consommateurs d'énergie et cette baisse d'énergie se traduit souvent par une perte de poids, un ralentissement de la croissance ou une hypoactivité surtout chez le poisson. Ces processus s'observent également en conséquence des comportements d'évitement. Enfin, le niveau supérieur d'altération affecte la reproduction, les cellules et les noyaux cellulaires avant la mort ou la réduction du taux de survie des organismes.

II.2.3.2.b. Toxicité à long terme ou chronique du cuivre sur les communautés

Dans le cas de contamination à long terme, de part les effets observés sur les individus, il est simple d'imaginer que l'altération des mécanismes de photosynthèse ou de la croissance chez les végétaux pourrait engendrer à terme une sélection des individus les plus sensibles d'abord, puis une sélection des espèces les plus sensibles.

Pour les organismes animaux il en est de même, la baisse énergétique conséquente à l'accroissement de l'activité des mécanismes de défense ou suite à une réduction de la prise alimentaire va entraîner à terme la disparition des individus les plus sensibles et finalement des populations les moins aptes à supporter le stress métallique ou tout simplement les moins efficaces dans la détoxication des métaux (**tableau I-14**).

Tableau I-14 : Quelques exemples d'effets délétères observés au niveau des communautés biologiques suite à une contamination long terme ou chronique par le cuivre dans leur milieu ou en mésocosme.

Niveau d'observation	Cu dans le milieu*	Effet délétère	Référence
Communauté benthique ***10 jrs***	11,3 - 15 µg/l	Abondance ↘	Cléments et al.(1990)
Zooplancton ***5 sem***	20 µg/l et 40µg/l	Densité ↘	Winner & Owen (1990)
Phytoplancton ***5 sem***	20 µg/l et 40µg/l	Densité ↘	Winner & Owen (1990)
Communauté benthique ***5 sem***	40µg/l	Affectée ↘	Winner & Owen (1990)
Daphnia magma et D.pulex		Compétition	Leblanc (1985)
Zooplancton ***14 jours***	140 µg/l	Diversité ↘	Havens (1994b)
Phytoplancton ***14 jours***	20 µg/l	Biomass des espèces sensibles ↘	Havens (1994b)
Phytoplancton ***5 jrs***	50 < C <200 µg/l	Diversité ↘	Havens (1994a)
Assemblage de plancton	> 20 µg/l	Fixation de l'azote ↘	Wurtsbaugh et Horne (1982)
6 jours		Chlorophylle a ↘	
	> 10 µg/l	Fixation du carbone ↘	
		Selection d'espèces moins sensibles	
Microcosmes		Respiration ↘	
contaminés avec sédiments	100 mg/kg de ms	Chlorophylle a ↘	Scanferlato & Cairns (1990)
8 sem	1000 mg/kg de ms	ATP ↘	
		Production primaire ↘	
Microcosme	9,3 µg/l	Production primaire ↘	Hedtke (1984)
32 sem	> 30 µg/l	Croissance des macroalgues ↘	
		Passage autotrophique vers hétérotrophique	
Biotope naturel	120µg/l	1 poisson abondant affecté	Gekler (1976)
Chronique		5 macroinvertébrés abondants affectés	
Ruisseau oligotrophe	2,5 à 15 µg/l	Densité des populations	Leland (1989)
		des éphéméroptères, plécoptères, diptères,	
		coléoptères et trichoptère ↘	
		Herbivores moins sensibles	

II.2.4. Toxicité du zinc sur les organismes aquatiques

II.2.4.1. La toxicité aiguë du zinc

Les **tableaux I-15 a** et **b** présente quelques concentrations en zinc toxiques pour certains végétaux et les effets (**I-15 b**, ou non) associés observables. Les **tableaux I-16, I-17 et I-18** présentent respectivement les CL 50 mesurées pour quelques espèces d'invertébrés marins, d'eau douce et de poissons d'eau douce. Les effets délétères du zinc ont surtout été étudiés dans le cas de toxicité aiguë.

Tableau I-15a. Toxicité aiguë du zinc sur quelques végétaux d'eau douce et quelques exemples de contamination à plus long terme (modifié d'après EHC 221, 2001).

	T°C	composé	dureté	paramètre	effet	concentration (mg/l)	Référence
Algues unicellulaire							
Algues vertes	15,5	sulfate		96h- CE_{50}	croissance ↘	2,4	Rachlin & Farran (1974)
Chlorella vulgaris	20	sulfate		24h- CE_{50}	photosynthèse ↘	> 0,225	Starobuc et al., (1987)
Scenedesmus quadricaudate	25	zinc powder	16	72h- CE_{50}	croissance ↘	0,15	Van Woensel (1994)
Selenastrum capricornutum	25	oxyde	16		croissance ↘	0,17	Van Ginneken (1994)
Diatoms							
Navicula incerta	19	chlorure		72h- CE_{50}	croissance ↘	10	Rachlin et al., (1983)
Navicula seminulum *			50-200	5j-CL50	croissance ↘	1,32	US EPA (1986)
Macrophytes							
Elodea canadensis	24	sulfate	10	24h- CE_{50}	photosynthèse ↘	8,1	Brown & Rattigan (1979)
Elodea canadensis	n.g.	sulfate		28j- CE_{50}	plante - dommage ↗	22,5	Brown & Rattigan (1979)
Lemna minor		chlorure			plante - dommage ↗	67,7	Brown & Rattigan (1979)
Lemna minor	25-28	sulfate		7d- CE_{50}	croissance ↘	10	Dirilgen & Inel (1994)

* : Référence retenue parmi les données de toxicité critique pour la détermination de seuil de qualité dans la grille du SEQ-eau (Agence de l'eau).

Tableau I-15b. Concentrations en zinc testées sur quelques végétaux d'eau douce et n'ayant pas d'effets observables (modifié d'après EHC 221, 2001).

	T°C	composé	dureté	paramètre	effet	concentrations (mg/l)	Référence
Elodea nuttallii	21	sulfate		14j	=	32,7	Van der Werff & Pruyt (1982)
Callitriche platycarpa	21	sulfate		28j	=	32,7	Van der Werff & Pruyt (1982)
Callitriche platycarpa	21	sulfate		73j	=	0,654	Van der Werff & Pruyt (1982)
Spirodela polyrhiza	21	sulfate		73j	=	0,654	Van der Werff & Pruyt (1982)
Lemna gibba	21	sulfate		73j	=	0,654	Van der Werff & Pruyt (1982)

Au sein des organismes végétaux planctoniques, l'algue verte *Chlorella vulgaris* présente la plus faible CE50 (0.225 mg Zn/l), et la diatomée *Navicula incerta* la plus élevée (10 mg Zn/l).

Une certaine tolérance au zinc peut être observée chez les macrophytes puisque les CE50 « photosynthèse » varient de 8.1 mg Zn/l (*Elodea canadensis*) à 67.7 mg Zn/l (*Lemna minor*).

D'ailleurs, une concentration de 32.7 mg Zn/l n'a pas d'effet sur *Callitriche platycarpa* et *Elodea nuttalli* en considérant une durée d'exposition respective de 28 et 14 jours. (**Tableau I-15**).

Parmi les invertébrés d'eau douce et pour une dureté <100 mg $CaCO_3$/l, le cladocère *Daphnia magna* apparaît être l'espèce la plus sensible au zinc avec une CL50-48h de 0.068 mg Zn/l alors que le gastéropode *Amnicola sp.* possède la CL50-24h la plus élevée avec 28.1 mg Zn/l (**Tableau I-16**) suivi par *Chironomus sp.* dont la CL50-24h est de 21.5 mg Zn/l.

Tableau I-16. Toxicité aiguë du zinc sur les Invertébrés d'eau douce (modifié d'après EHC 221, 2001).

Organismes	Taille/age	T(°c)	Dureté	pH	Composé	Paramètre	Concentration	Référence
Gastéropodes								
Amnicola sp.	oeufs	17	50	7.6		24h-CL_{50}	28.1	Rehwoldt et al.,1973
	oeufs	17	50	7.6		96h-CL_{50}	20,2	Rehwoldt et al.,1973
	adulte					24h-CL_{50}	16,8	Rehwoldt et al.,1973
	adulte					96h-CL_{50}	14	Rehwoldt et al.,1973
Mollusques								
Ancylus fluviatilis	<2mm	10			sulfate	96h-CL_{50}	3,2	Willis (1988)
	>3mm	10			sulfate	96h-CL_{50}	4,5	Willis (1988)
Cladocères								
Daphnia magna		17-19	44-53	7,4-8,2	Chlorure	24h-CL_{50}	0,1	Biesinger & Christensen (1972)
		17-19	44-53	7,4-8,2	Chlorure	48h-CE_{50}	0,28	Biesinger & Christensen (1972)
	<48 h		175	6	Sulfate	48h-CL_{50}	0,24	LeBlanc (1982)
	<24 h	20		6,5	Sulfate	48h-CL_{50}	0,151	Oikari et al. (1992)
	<24 h	20		6,5	Sulfate	48h-CL_{50}	0,244	Oikari et al. (1992)
	<24 h		45	7,2-7,4	-	48h-CL_{50}	0,068	Mount & Norberg (1984)
	<24 h	20			Sulfate	48h-CL_{50}	0,75	Arambasic et al.., 1995
					Bromure	48h-CL_{50}	1,22	Magliette et al.(1995)
*			50-200			48h-CL_{50}	0,334	US EPA (1986)
D. pulex	<24 h		45	7,2-7,4		48h-CL_{50}	0,107	Mount & Norberg (1984)
Ceriodaphnia dubia		25			Bromure	48h-CL_{50}	0,5	Magliette et al. (1995)
C. reticulata	<24 h		45	7,2-7,4		48h-CL_{50}	0,076	Mount & Norberg (1984)
Moina irrasa	<24h	20	<5	8	Chlorure	48h-CL_{50}	0,059	Zhou et Bu (1994)
M. macrocopa		24-27		6,5	Sulfate	48h-CL_{50}	1,17	Wong (1992)
Copepodes								
Cyclops abyssorum	1,27 mm	10		7,2	Sulfate	48h-CL_{50}	5,5	Baudouin & Scoppa (1974)
Eudiaptomus padanus	1,27 mm	10		7,2	Sulfate	48h-CL_{50}	0,5	Baudouin & Scoppa (1974)
Parastenocaris germanic	adulte	1,5	10*	6,8	sulfate	48h-CL_{50}	4,5	Notenboom et al.. (1992)
	adulte	1,5	10*	6,8	sulfate	96h-CL_{50}	1,7	Notenboom et al.. (1992)
Amphipodes								
Gammarus sp.		17	50	7,6		24h-CL_{50}	10,2	Rehwoldt et al.,1973
						96h-CL_{50}	8,1	Rehwoldt et al.,1973
Isopodes								
Asellus aquaticus	7mm	13	50	6,75	sulfate	96h-CL_{50}	18,2	Martin & Holdich (1986)
Ostracodes								
Cypris subglobosa		28,5	200	7,9		48h-CL_{50}	34,99	Vardia et al. (1988)
		28,5	200	7,9		96h-CL_{50}	8,35	
Rotifères								
Brahionus calyciflorus	juvenile	20	36,2	7,3	Chloride	24h-CL_{50}	1,32	Couillard et al.. (1989)
		25				24h-CL_{50}	1,3	Snell et al. (1991)
Diptères								
Chironomus sp.		17	50	7,6		24h-CL_{50}	21,5	Rehwoldt et al.,1973
		17	50	7,6		96h-CL_{50}	18,2	Rehwoldt et al.,1973
C. tentans	3rd instar	13	25	6,3	Sulfate	48h-CL_{50}	8,2	Khangarot & Ray (1989)

* : Référence retenue parmi les données de toxicité critique pour la détermination de seuil de qualité dans la grille du SEQ-eau (Agence de l'eau).

Chez les invertébrés marins, les CL50 varient pour les organismes adultes de 0.4 à 20.8 mg Zn/l. (**Tableau I-17**).

Tableau I-17 : Toxicité aiguë du zinc sur quelques Invertébrés marins (modifié d'après EHC 221, 2001).

Organismes	Size/age	T(°c)	Dureté	pH	Composés	Paramètres	Concentrations	Références
Mollusques								
Crassostrea virginica	embryon	26	25		chloride	48h-CL_{50}	0,31	Calabrese et al.. (1973)
Mytilus edulis		12	7			24h-CL_{50}	20,8	Hietanen et al.. (1988)
Amphipodes								
Allorcheste compressa	0,06g	20,5	34,5	7,9	chloride	96h-CL_{50}	0,58	Ahsanullah (1976)
Décapodes								
Pagurus longicarpus	0,5 g	20	20	7,8	chloride	96h-CL_{50}	0,4	Eisler & Hennekey (1977)
Portunus pelaginus		25-27	35		chloride	48h-CL_{50}	0,56-0,77	Greenwood & Fielder (1983)
P. sanguinolentus		25-27	35		chloride	48h-CL_{50}	0,62	Greenwood & Fielder (1983)
Charybdis feriatus		25-27	35		chloride	48h-CL_{50}	0,96	Greenwood & Fielder (1983)
Palaemon sp.	0,28 g	19,5	35,5	7,8	chloride	48h-CL_{50}	1,3	Burton & Fisher (1990)

Chez les poissons d'eau douce, l'influence de la dureté de l'eau sur la toxicité du zinc a été mise en évidence par Pickering & Henderson (1966) sur *Pimephales promelas* et *Lepomis macrochirus* (**Tableau I-18**).

Tableau I-18 : Toxicité aiguë du zinc sur quelques poissons d'eau douce (modifié d'après EHC 221, 2001).

Organismes	Taille/age	T(°c)	Dureté	pH	Composé	Paramètre	Concentration	Référence
Oncorhynchus mykiss	alevin	12	41	7,1-8,0	chloride	96h-CL_{50}	2,17	Buhl & Hamilton (1990)
Oncorhynchus mykiss	0,60 g	12	41	7,1-8,0	chloride	96h-CL_{50}	0,17	Buhl & Hamilton (1990)
*			50-200			96h-CL_{50}	0,098	US EPA (1986)
Salmo clarki	0,60 g	10	38	7,5	sulfate	96h-CL_{50}	0,152	Mayer & Ellersieck (1986)
	0,9 g	15	43	7,5	sulfate	96h-CL_{50}	0,6	Mayer & Ellersieck (1986)
	0,9 g	10	40	7,8	sulfate	96h-CL_{50}	0,13	Mayer & Ellersieck (1986)
	1,0 g	10	40	8,5	sulfate	96h-CL_{50}	0,061	Mayer & Ellersieck (1986)
	1,0 g	10	38	6,5	sulfate	96h-CL_{50}	0,1	Mayer & Ellersieck (1986)
Pimephales promelas	1-2g	25	20	7,5	sulfate	96h-CL_{50}	0,77-0,96	Pickering & Henderson (1966)
	1-2g	25	360	8,2	sulfate	96h-CL_{50}	33,4	Pickering & Henderson (1966)
Lepomis macrochirus	1-2g	25	20	7,5	sulfate	96h-CL_{50}	4,85-5,82	Pickering & Henderson (1966)
	1-2g	25	360	8,2	sulfate	96h-CL_{50}	40,9	Pickering & Henderson (1966)
	1-2g	15	20	7,5		96h-CL_{50}	6,44	Pickering & Henderson (1966)
Anguilla rostrata		28	55	8		96h-CL_{50}	14,5	Rehwoldt et al. (1972)
Cyprinus carpio		28	55	8		96h-CL_{50}	7,8	Rehwoldt et al. (1972)
	3,2 cm	15		7,1	sulfate	96h-CL_{50}	0,45-1,34	Alam & Maughan (1992)
	6,0 cm	15		7,1	sulfate	96h-CL_{50}	1,64-2,25	Alam & Maughan (1992)
	47-62 mm	15	19	6,3	sulfate	96h-CL_{50}	3,12	Khangarot et al.(1983)
Tilapia zilli	subadult	9,5	20-22	6,7	sulfate	96h-CL_{50}	33	Hilmy et al.. (1987)
		25	20-22	6,7	sulfate	96h-CL_{50}	13	Hilmy et al.. (1987)

* : Référence retenue parmi les données de toxicité critique pour la détermination de seuil de qualité dans la grille du SEQ-eau (Agence de l'eau).

Les espèces les plus sensibles au zinc semblent être les espèces de cours d'eau supérieur comme *Salmo clarki* et *Oncorhynchus mykiss* dont les CL50 varient de 0.61 à 2.17 mg Zn/l. Pour les autres poissons, les CL50, correspondant à une dureté de l'eau < 50 mg $CaCO_3$/l, sont comprises entre 0.47 (*Cyprinus carpio*) et 33 mg Zn/l (*Tilapia zilli*) (**Tableau I-18**).

II.2.4.2. La toxicité chronique du zinc

Les données fournies par la littérature sur la toxicité chronique ou à long terme du zinc sont regroupées dans le **tableau I-19** pour les organismes d'eau douce et marins, ainsi que certaines communautés.

Paulauskis & Winner (1988) ont montré l'influence de la dureté sur la toxicité chronique du zinc (50 jours) basé sur le MATC[4] pour la production de jeunes chez *Daphnia magna*. Les concentrations en zinc ayant un effet délétère se répartissent dans une gamme de valeurs allant de 25 à 175 µg Zn/l pour une dureté respective de 51.9 et 197 mg $CaCO_3$/l et illustrent clairement l'influence de la dureté sur la toxicité du zinc vis à vis des organismes. Par ailleurs, l'ajout d'acide humique (1.5 mg/l) dans le milieu, et pour les mêmes duretés (51.9 et 197 mg $CaCO_3$/l), augmente les seuils de concentrations qui passent de 25 et 175 µg Zn/l, à respectivement 100 et 225 µg Zn/l, avec mise en évidence de l'influence de l'acide humique sur la toxicité du zinc.

[4] MATC : maximum acceptable toxicant contamination.

Tableau I-19 : Quelques exemples des effets délétères du zinc sur des organismes d'eau douce, marins et des communautés biologiques suite à une contamination long terme ou chronique.

Espéce	Concentration	Durée	Effet délétère	Référence
Eau douce				
Corbicula sp.	0,034-1,1 mg/l	> 20 jrs	indice cellulase ↘ poids ↘	Farris et al. (1989)
Biomphalaria glabrata	1,5 mg/l	33 jrs	survie (- 60%) juvénile ↘	Münzinger & Guarducci (1988)
	1,5 mg/l	33 jrs	survie (- 20%) adulte ↘	
Orconectes virilis	84 mg/l, 26 mg $CaCO_3$/l	LC50-2sem.		Mirenda (1986)
Gammarus pulex	0,1, 0,3 et 0,5 mg/l	7 jrs	taille de la progéniture ↘	Maltby & Naylor (1990)
Daphnia magna *	0,043 mg/l	7 jrs	NOEC reproduction	US EPA (1986)
*	0,052 mg/l	7 jrs	LOEC reproduction	US EPA (1986)
Phoxinus phoxinus	< 0,02 mg/l	150 jrs	croissance ↘ activité alimentaire ↘	Bengtsson (1974a)
Oncorhynchus nerka	30 à 242 µg/l, 35 mg CaCO3/l	22 mois	survie, fécondité, croissance =	Chapman (1978a)
Salvelinus fontinalis	2,6 à 534 µg/l	trois générations	pas d'effet	Holcombe et al. (1979)
	1368 µg/l		survie des embryons et larves ↘	Holcombe et al. (1979)
Oncorhynchus mykiss	1,12 mg/l	7jrs	hyperglycémie	Watson & McKeown (1976)
	1,12 mg/l	63 jrs	croissance ↘	Watson & McKeown (1976)
Eau de mer				
Mytilus edulis	< 0,46 mg/l		taux de filtration ↘	Redpath & Davenport (1988)
	0,46-0,86 mg/l		arrêt de filtration	Redpath & Davenport (1988)
Orchestia gammarellus	63 à 458 mg/kg (aliment)	48h	taux d'alimentation ↘	Weeks (1993)
		20 jrs	pas d'effet	Weeks (1993)
Communauté				
Corbicula sp.	> 0,05 mg/l	20 < tps < 30 jrs	gain de poids ↘	Belanger et al. (1986)
	1 mg/l	30 jrs	survie ↘	
periphyton	0,5 mg/l	30 jrs	inhibition de 5 diatomées densité réduite de < 5% nombre de protozoaire divisé par 2	Genter at al. (1988)
communauté de plancton	17,1 µg/l	2 sem.	Chlorophylle a ↘ oxygène dissous ↘ diversité du zooplancton ↘	Marshall et al. (1983)
Communauté de périphyton	73 et 172 µg/l	21 jrs	Richesse spécifique ↘ production primaire ↘ respiration ↘	Niederlehner & Cairns (1993)
Communauté epilithique	1 mg/l	30 jrs	selection des espèces métal tolérantes	Cowell et al. (1989)
communauté benthique	130 µg/l	7 jrs	effet significatif au niveau population effet significatif au niveau communauté	Kiffney & Clements (1994)

* : Référence retenue parmi les données de toxicité critique pour la détermination de seuil de qualité dans la grille du SEQ-eau (Agence de l'eau).

Concernant les poissons, dans les études réalisées avec une dureté de l'eau ≥ 100 mg CaCO3/l (Dave *et al.*, 1987 ; Watson & McKeown, 1976) sur *Brachydanio rerio* et *Oncorhynchus mykiss*, les NOEC(s) sont ≥ 500 mg/l . Pour des études réalisées avec une dureté ≤ 100 mg CaCO3/l (Benoit & Holcombe, 1978 ; Chapman, 1978a et Holcombe *et al.*, 1979) sur *Pimephales promelas*, *Oncorhynchus nerka* et *Salvelinus fontinalis*, les NOEC étaient ≤ 50 mg/l (EHC 221, 2001).

II.3. Tolérance des organismes au métaux cuivre et zinc

Les organismes végétaux et animaux peuvent présenter une certaine tolérance au cuivre et au zinc. Ainsi Wood (1983) a montré que des populations naturelles de phytoplancton pouvaient présenter une tolérance à l'addition d'ions cuivre, lequel est ajouté en quantité excédant largement les limites physiologiques des cultures de phytoplancton en laboratoire. Cette tolérance semble être le fait d'une régulation de la biodisponibilité du cuivre ajouté par une abondance d'agents complexant le cuivre. Les populations de phytoplancton côtières semblent moins sensibles que les communautés continentales ou océaniques. En fait, la toxicité du cuivre est plus corrélée avec la capacité à complexer le cuivre qu'avec la composition et la structure des communautés.

La présence de dépôts intracellulaire contenant du cuivre a été observée dans des algues vertes du type *Scenedesmus* présentant une tolérance au cuivre (Silverberg *et al.*, 1976). Silverberg et les co-auteurs ont conclu que la présence d'inclusions pouvait être considérée comme un système de détoxication permettant la tolérance parce qu'ils étaient absents chez les organismes non-tolérants.

Hanson & Stefan (1984) ont mis en évidence la dominance des cyanobactéries dans un système aquatique contaminé par le cuivre depuis plus de 60 ans et présentant dans l'eau et les sédiments des concentrations atteignant respectivement 250 µg Cu/l et 5600 mg Cu/kg de ms.

Grant *et al.* (1989) ont également étudié les mécanismes de tolérance chez *Nereis diversicolor* (polychète). Il semblerait que les polychètes provenant d'un site contaminé (1733 mg Cu/kg de ms dans les sédiments) soient plus tolérants, quand ils sont exposés à 500 µg Cu/l dans des tests de toxicité aiguë, que ceux provenant d'un site peu contaminé (19 mg Cu/kg de ms dans les sédiments).

La tolérance au zinc est un phénomène bien documenté et ce pour une grande diversité de plantes (Pawlik-Skowronska, 2003a) et autres organismes. Cette tolérance peut être acquise de deux façons (Miller & Hendricks, 1996): par une acclimatation dés les premiers stades du cycle de vie ou suite à une sélection naturelle. Le dernier mode d'acquisition étant transmissible aux générations suivantes contrairement au premier. Cependant, comme remarqué par Bervoets *et al.* (1996), peu d'études ont distingué les effets d'acclimatation sur la prise de métal ou la toxicité.

Pour les bactéries aussi, les phénomènes de tolérance ont été étudiés et ils sont corrélés avec le degré de pollution en métal du site (Saeki *et al.*, 2002). La tolérance au zinc a été estimée par la capacité des bactéries à grandir dans des milieux présentant des concentrations en zinc de 4 à 512 mg/l. Entre 4 et 16 mg/l de zinc stimulent la croissance des bactéries provenant de sites contaminés.

Dans les sols contaminés en zinc, les champignons libres, aussi bien que ceux associés dans des mycorhizes avec les plantes supérieures ont développé une résistance au zinc (Colpaert & Van Assche, 1992 ; Gadd, 1993).

Dans l'eau, Shehata & Whitton (1981) ont rapporté que les cyanobactéries sont fréquentes dans les eaux présentant une forte concentration en zinc, et les tests en laboratoire ont montré que ces algues étaient plus résistantes que celles issues de site manquant de zinc.

Antonovics *et al.* (1971) ont recensé la tolérance aux métaux chez les végétaux et ont trouvé plusieurs exemples de communautés végétales qui montraient une tolérance accrue au zinc. Tous les végétaux grandissant depuis longtemps sur un sol enrichi en zinc, ont

développé une résistance, que ce soit des champignons, des mousses, des fougères ou des angiospermes.

Chez les invertébrés, l'acclimatation et l'adaptation au zinc ont été démontrés par (Postma *et al.*, 1995 ; Miller & Hendricks (1996) pour *Chironomus riparius*. D'autres exemples de résistance au zinc sont fournis par Klerks & Weis (1987), Klerks & Levinton (1989) et Klerks (1990).

Chez la truite arc-en-ciel, une pré-exposition à une concentration de 2 mg/l pendant 5 jours diminuerait la toxicité aiguë du métal (Bradley & Sprague, 1985). Anadu *et al.* (1989) montrent également que l'acclimatation à une concentration en zinc de 50µg Cu/l augmente la tolérance des juvéniles de la truite arc-en-ciel par un facteur de 3 à 5. Toutefois, la tolérance au zinc peut être perdue lorsque les organismes sont placés dans une eau non contaminée et le phénomène est totalement réversible.

Hogstrand & Wood (1995) ont montré que l'acclimatation au zinc chez la truite arc-en-ciel peut se développer sans qu'aucune augmentation du niveau d'accumulation en zinc dans les branchies et le foie ne soit détectable. L'acclimatation au zinc n'inclut pas nécessairement l'induction des métallothionéines. L'inhibition de la prise de calcium par le zinc persiste pendant les expositions chroniques et repose principalement sur une compétition entre les deux cations pour les mêmes sites. De plus, chez les poissons adaptés au zinc, une diminution du taux d'entrée de zinc par rapport au contrôle a été observée. Les auteurs ont, par conséquent, spéculé que les poissons seraient capables de réguler la prise de calcium à partir du milieu extérieur séparément de celle du zinc.

Chez les poissons adaptés et tolérants au zinc, l'entrée de zinc peut être fortement réduite, sans que cela n'affecte l'entrée du calcium. Des études postérieures ont montré que une acclimatation de moins de trois jours n'augmentait pas la tolérance des organismes (EHC 221, 2001).

II.4. Influence du milieu sur la toxicité des métaux

Tous les facteurs qui limitent la biodisponibilité (liaison des métaux dans le milieu, spéciation), l'assimilation, et qui favorisent l'élimination des métaux, diminuent leur toxicité. De même la présence d'éléments qui sont en compétition avec le cuivre ou le zinc pour les sites de fixation va réduire la toxicité des métaux, par réduction de leur entrée dans l'organisme.

II.4. 1. La toxicité du cuivre

La toxicité du cuivre est modifiée par la dureté de l'eau, la salinité, le pH, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^{+}, les matières organiques dissoutes et particulaires et la présence de ligands inorganiques dans le milieu (Santore *et al.*, 2001 ; De Schamphelaere & Janssen, 2002).

Une température élevée peut également augmenter la toxicité du cuivre (Centeno *et al.*, 1993; Snell *et al.*, 1991, Rao & Khan, 2000). Cependant Ozoh (1992) a montré que la réponse aiguë des juvéniles et adultes de l'annélide *Hediste diversicolor* était affectée par la présence de sédiment, et qu'en l'absence de sédiment, une augmentation de la salinité (7.3 à 30.5‰) et de la température (12 à 22°C) diminuait la toxicité du cuivre, alors qu'en présence de sédiment une augmentation de la température et de la salinité augmentait la toxicité du cuivre.

Stauber & Florence (1985a, b) ont montré que la toxicité du cuivre sur la diatomée marine *Nitzchia closterium* était réduite par addition de manganèse (III) et de fer(III) dans le milieu de culture. Les même auteurs (1987) ont démontré que l'addition au milieu de culture de métaux trivalents comme l'aluminium, le fer, le chrome ou des métaux divalents comme le manganèse et le cobalt réduisaient la toxicité du cuivre. Les espèces trivalentes forment une couche d'oxyde métallique hydraté autour de la cellule, laquelle adsorbe les ions cuivre.

Pour *Cyprinus carpio*, la CL_{50}-48h pour le cuivre peut s'élever de 118 à 751µg Cu/l, lorsque la dureté de l'eau croit de 50 à 300 mg $CaCO_3$/l (Peres & Pihan, 1991a). De la même manière la CL50-96h pour le cuivre de *Lepomis macrochirus* (Mayer & Ellersieck, 1986 cité dans EHC 200 (1998)) est de 884 µg/l avec une dureté de 44 mg $CaCO_3$/l, et de 7340 µg Cu/l avec une dureté de 272 mg $CaCO_3$/l.

La dureté de l'eau est selon Jayarad et al. (1992), l'un des paramètres qui contrôle le mieux la toxicité du cuivre. D'ailleurs, la variable dureté de l'eau a été intégrée dans les évaluations du risque environnemental lié aux métaux, comme c'est le cas dans le système d'évaluation de la qualité de l'eau (SEQ-eau) édité par l'agence de l'eau en partenariat avec le ministère de l'environnement. Cette grille d'évaluation fournit, en fonction de l'usage prévu de l'eau, des seuils de qualité allant de bleu pour une bonne aptitude à rouge pour une inaptitude.

II.4. 2. La toxicité du zinc

La toxicité du zinc pour les organismes aquatiques est affectée par des facteurs tels que température, dureté, pH et carbone organique dissous.

La toxicité du zinc peut être influencée par des facteurs intrinsèques et extrinsèques. De nombreuses études ont démontré que la toxicité du zinc diminuait avec l'augmentation de la dureté de l'eau (Sinley *et al.*, 1974 ; Bradley & Sprague, 1985 ; Winner & Gauss, 1986 ; Everall *et al.*, 1989) et avec la diminution de la température (Himly *et al.*, 1987 ; Zou & Bu, 1994). Cependant, Berglind & Dave (1984) rapportent que la dureté n'a pas d'effet sur la toxicité du zinc pour les daphnies, lorsqu'elle est comprise entre 50 et 300 mg CaCO3/l. De même Rehwoldt *et al.* (1972) n'ont pas mis en évidence d'effet de la température sur la toxicité du zinc sur les poissons d'eau douce. Cependant Smith & Heath (1979, cité dans EHC 221, 2001) ont rapporté des effets bénéfiques ou pas d'effet de la température sur la toxicité

du zinc respectivement pour *Carasssius auratus*, *Lepomis macrochirus*, *Notemigonus crysoleucas* et *Oncorhynchus mykiss*. Il semblerait que l'influence de la température sur la toxicité du zinc soit espèce-spécifique.

La toxicité du zinc est par ailleurs influencée par le pH et la salinité (EHC 221, 2001).

Naylor *et al.* (1990) rapportent que les juvéniles de *Gammarus pulex* et *Asellus aquaticus* seraient plus sensibles que les adultes. Cependant, d'autres études ont montré que l'âge avait peu d'effet sur la toxicité du zinc (Martin *et al.*, 1989 ; Collyard *et al.*, 1994).

Il a également été montré qu'il existait des interactions entre les différents métaux présents dans un milieu aquatique. C'est la cas pour le zinc qui peut avoir un comportement antagoniste en combinaison avec le cuivre (Ahsanullah *et al.*, 1988 ; Vranken *et al.*, 1988 ; Kraak *et al.*, 1994b). Cependant ces interactions entre métaux peuvent varier en fonction des conditions physicochimiques. Pour l'instant, selon Tomasik *et al.* (1995), la toxicité du zinc en eau douce (50 mg $CaCO_3$/l) est limitée par le magnésium et le molybdène et augmentée en présence de cobalt et sélénium. Toutefois en eau dure (100 mg $CaCO_3$/l), le zinc est soit inhibé par tous les métaux (à une concentration de 1mg/l), soit il y a une légère synergie (à 0.5 mg/l).

II.5. Evaluation du risque environnemental lié à la toxicité des métaux

II.5.1 Modélisation

Les critères de qualité environnementale ont tenté de définir, sur la base d'informations scientifiques et de principes écotoxicologiques, les concentrations dans l'environnement de produits chimiques spécifiques qui n'affectent pas la structure et la fonction des écosystèmes aquatiques et terrestres. Toutefois, de nombreux obstacles à l'évaluation de l'impact potentiel des métaux sur les environnements aquatiques ont été identifiés (Janssen *et al.*, 2000), dont la non concordance des résultats issus d'expérimentation en laboratoire par rapport aux observations *in situ* (Stuijfzand *et al.*, 1999a, b).

L'un des principaux écueils dans les procédures d'évaluation actuellement proposées est l'inadéquation ou l'absence totale de prise en compte de la biodisponibilité des métaux. Cependant, une évidence s'impose actuellement, selon laquelle ni la concentration en métal total, ni la concentration en métal dissous ne sont, seules, de bons indices de la biodisponibilité et de la toxicité des métaux (Campbell, 1995 ; Bergman & Dorward-King, 1997 ; Janssen *et al.*, 2000, 2003).

C'est dans l'objectif de parfaire le pouvoir prédictif des modèles qu'une combinaison d'un modèle de détermination de la spéciation des métaux et d'un modèle prenant en compte les interactions entre les métaux et les matières organiques (WHAM-Mmodel V ; Tipping, 1994) a été proposé : le BLM.

Le modèle BLM (biotic ligand model) est une adaptation du modèle GSIM (Gill Surface Interaction Model ; Pagenkopf, 1983) et la **figure I-18** en synthétise les bases conceptuelles.

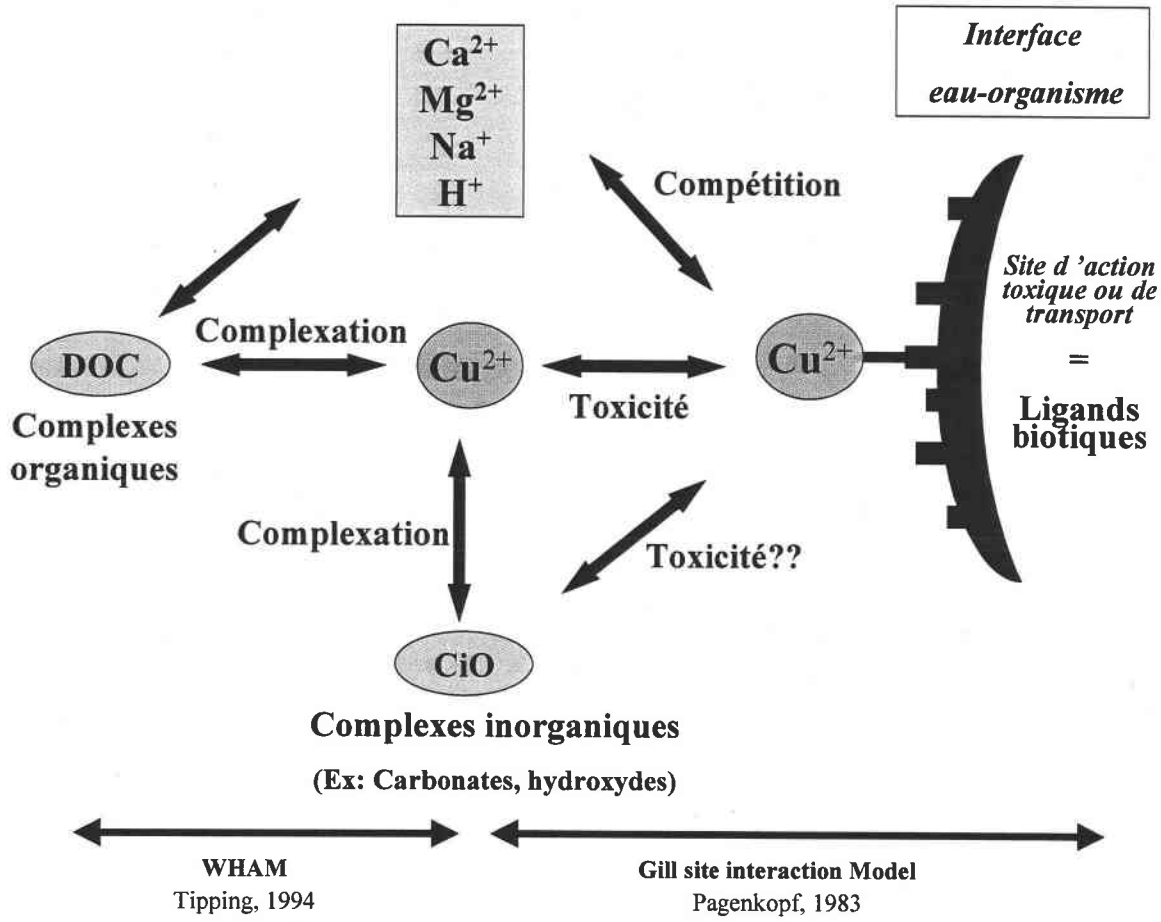


Figure I-18 : Synthèse schématique du modèle ligand biologique (BLM) (exemple du cuivre), lequel est basé sur une combinaison du concept GSIM (Pagenkopf, 1983) et du programme de spéciation géochimique WHAM (Tipping, 1994) (modifié d'après Janssen *et al.*, 2003).

Dans ce modèle, le ligand biotique est juste considéré comme un autre ligand en solution ayant une densité de site de liaison et une constante de stabilité pour chacune des espèces chimiques avec lesquelles il réagit. Les interactions métal-ligand biotique et la toxicité en résultant sont établies en reliant le niveau critique de bioaccumulation du métal sur le ligand biotique (BL) à la CL50 du métal dissous (ou autres critères d'effets) (Janssen et al., 2003). Une description détaillée des aspects biologiques, chimiques et mathématique et autres aspects compilés dans le BLM sont disponibles dans les articles de Di Toro *et al.* (2001), Santore *et al.* (2001), De Schamphelaere *et al.* (2002), Bell *et al.* (2002) et Janssen *et al.* (2003).

Bien que de nombreuses études aient démontré la validité et le potentiel prédictif du BLM, il faut noter que l'effort de recherche a principalement été concentré sur la prédiction de la toxicité à court terme sur le poisson. Chez le poisson, une corrélation entre la toxicité

aiguë et la concentration en métal dans ou sur le ligand biotique est souvent rapportée (MacRae *et al.*, 1999 ; Santore *et al.*, 2001). Des BLMs sont actuellement développés pour une application à d'autres espèces d'algues (Heijerick *et al.*, 2002a, b), daphnies, crustacés (Di Toro *et al.*, 2001 ; Santore *et al.*, 2001) et des versions plus affinées du BLM intégrant la biodisponibilité dans le cas du cuivre, de $CuOH^+$ et $CuCO_3$, en plus de l'ion Cu^{2+} sont proposées (De Schamphelaere & Janssen, 2002).

Le cuivre forme des complexes avec des ligands organiques et inorganiques, d'où résulte une diminution de l'activité Cu^{2+}. Cu^{2+} et, dans certains cas, les hydroxydes et les carbonates de cuivre se lient avec les ligands cellulaires, provoquant une réponse toxique. La compétition entre le cuivre et les cations (Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^+ et H^+) a pour conséquence une diminution du nombre de sites disponibles pour le cuivre sur les ligands biologiques, d'où une diminution de la toxicité.

Bien que ces modèles se perfectionnent et soient de plus en plus précis, il est encore nécessaire d'affiner les recherches pour prédire des effets à long terme ou chroniques des métaux sur les écosystèmes aquatiques. Pour cela l'intégration des caractéristiques biologiques (physiologie) (voir McGeer *et al.*, 2000 ; Grosell *et al.*, 2000) et des liens trophiques des espèces, est nécessaire pour affiner les prédictions de toxicité potentielle des métaux sur les organismes (voir Janssen *et al.*, 2003). Très récemment, l'inhibition de la prise de Na^+ est considérée comme le paramètre clé de la prédiction de la toxicité aiguë du cuivre vis à vis des poissons d'eau douce et des crustacés (Bianchini *et al.*, 2002 ; Grosell *et al.*, 2002). En effet, chez les poissons et l'écrevisse, les branchies apparaissent être le site majeur de prise et de toxicité des métaux, elles constituent de fait, la principale cible des métaux, comme cela est considéré dans le schéma du BLM. Cependant cette technique n'est pas valable pour les organismes ne possédant pas de branchies (Bianchini & Bowles, 2002).

En conclusion les limites et les possibilités de l'intégration de ce type de modèle dans les schémas de management environnemental doivent encore être explorées.

II.5.2. Les seuils de qualité de l'eau pour le cuivre : SEQ-eau – Potentialité biologique

Les seuils de qualité (**Tableau I-20**) fixés par la grille du SEQ-eau sont basés sur la prévision des effets toxiques du cuivre sur les espèces, eux-mêmes déterminés à partir de données de toxicité critique à court et à long terme pour 4 espèces représentatives de trois niveaux trophiques.

Pour chaque seuil, les limites sont données pour une dureté comprises entre 0 et 50 mg $CaCO_3$/l, 50 et 200 mg $CaCO_3$/l et > à 200 mg $CaCO_3$/l.

Le premier seuil de qualité correspond ainsi, à la plus basse NOEC chronique mesurée parmi ces 4 espèces, divisée par un facteur de sécurité de 10 soit 1 µg Cu/l pour une dureté de 50 à 200 mg $CaCO_3$/l.

Le seuil 4/4 de qualité est égal à la moyenne des CL/E 50 aiguë pour les trois niveaux trophiques (algues/plantes, invertébrés et poissons), soit 42µg Cu/l pour une dureté comprise entre 50 et 200 mg $CaCO_3$/l.

En ce qui concerne le premier maillon de la chaîne trophique, celui des producteurs, il est représenté dans le SEQ –eau par une algue (*Chlorella vulgaris*) et une plante (*Elodea canadensis*). La CL50-96h-croissance pour l'algue est de 62µg/l, or dans le tableau II-5, 9 espèces d'algues présentent des CL50-aiguës-croissance inférieures à cette valeur. De même toutes les CL50- aiguës -photosynthèse, sauf une, sont inférieures à cette même valeur ; ceci est d'autant plus vrai en eau douce ou les CL50-photosynthèse des algues sont comprises entre 5.10^{-4} et $3.3.10^{-2}$ µg Cu/l.

Le SEQ-eau n'utilise pas de donnée de toxicité chronique pour le phytoplancton, or certaines données sont à présent disponibles, par exemple chez *Dunaliella salina* et *Chlamydomonas salina*, une exposition à 0.03 µg Cu/l pendant 8 mois provoque une augmentation du volume cellulaire (**Tableau I-11**). De même le tableau II-9, montre qu'une exposition chronique au cuivre provoque la réduction de la fixation du carbone, la disparition d'espèces sensibles ou une diminution de la respiration dès 10µg/l et sur des laps de temps courts (quelques jours). Une réduction significative de la production primaire est observée pour des concentrations en cuivre inférieures à 10µg/l après 32 semaines d'exposition.

Concernant les invertébrés, la référence utilisée par le SEQ-eau, *Daphnia magna* en toxicité aiguë correspond à une des espèces les plus sensibles au cuivre, en tout cas en laboratoire, puisque aucune des espèces, figurant dans le tableau II-6, ne présente de CL50 inférieure à 15 µg/l pour une dureté de 50 à 200 mg $CaCO_3$/l. Toutefois, dans le cas d'une exposition chronique, 90jrs, la croissance des juvéniles de *Asellus aquaticus* est altérée dès 5µg Cu/l, or la NOEC 14j pour *Daphnia magna* est de 10µg/l. Il serait, par conséquent, intéressant d'intégrer une échelle de temps supérieure pour l'évaluation des risques de toxicité chronique du cuivre sur les organismes.

Au regard des informations collectées dans les **Tableaux I-8** à **I-12**, il apparaît que les données de toxicité du cuivre à très long terme, c'est à dire sur une échelle de temps plus proche de celle observée *in situ* sont rares voir inexistantes. D'où la nécessité de réaliser des études écotoxicologiques en condition chronique de contaminations et *in situ*.

Il est également nécessaire de considérer le fait que les seuils de toxicité observés dans les **Tableaux I-10** à **I-14** sont très variables en fonction des espèces et des conditions d'exposition (cf chapitre I-3 et I-4) De fait, *in situ*, cela se traduit par une réponse des individus ou des communautés qui sera spécifique au site d'étude. Il est donc essentiel que l'évaluation des risques de toxicité du cuivre soit également spécifique à chaque site.

Par conséquent, une des questions clés de l'écotoxicologie reste de savoir dans quelle mesure les tests réalisés en laboratoire en conditions standardisées et contrôlées peuvent permettre de prédire les effets toxiques d'un polluant en milieu naturel. Les informations obtenues grâce aux expérimentations en laboratoire constituent une base pour évaluer les risques toxiques potentiellement observables dans les milieux contaminés, mais elles doivent être utilisées avec prudence.

De même les études réalisées à long terme en laboratoire ou en mésocosme sont malgré tout limitées à des pas de temps courts comparé à l'échelle de temps des écosystèmes.

II.5.3. Les seuils de qualité de l'eau pour le zinc : SEQ-eau – Potentialité biologique

La procédure est la même que pour la définition des seuils de qualité de l'eau pour le cuivre. Le tableau **I-20** présente les données de toxicité critique sélectionnées pour l'établissement des seuils de qualité, de même que les valeurs de ces seuils de qualité pour trois classes de dureté.

Les mêmes constatations peuvent être faites quant à l'établissement des seuils de qualité de l'eau pour le zinc, que pour le cuivre. A cela s'ajoute le fait qu'aucune donnée de toxicité chronique (>à 7j) n'est utilisée pour définir les seuils de qualité.

Le zinc est moins toxique pour les organismes que le cuivre. Pour les producteurs primaires, la référence utilisée par le SEQ-eau est la CL50-4j-croissance de *Navicula seminulum*, qui est de 1 320 µg/l. Les CL50-croissance et photosynthèse du tableau II-11a qui sont inférieures à cette valeur correspondent à une dureté de 16 mg CaCO3/l. Pour les macrophytes toutes les CL50 aiguës sont supérieures à 8.1 mg Zn/l.

Tableau I-20 : Grille de qualité du SEQ-eau pour les polluants minéraux sur eau brute et la fonction « potentialités biologiques » (Agence de l'eau, 1999).

	Bleu	Vert	Jaune	Orange
Arsenic (µg/l)	10	100	270	1800
Cadmium (µg/l)				
$CaCO_3 < 50$ mg/l	0.01	0.1	0.37	2.5
$50 < CaCO_3 < 200$	0.04	0.37	1.3	8.7
$CaCO_3 > 200$ mg/l	0.09	0.85	3	20
Chrome total (µg/l)				
$CaCO_3 < 50$ mg/l	0.4	3.6	70	320
$50 < CaCO_3 < 200$	1.8	18	350	1600
$CaCO_3 > 200$ mg/l	3.6	36	700	3200
Cyanure (µg/l)	5	5	10	
Nickel (µg/l)				
$CaCO_3 < 50$ mg/l	2.5	25	140	230
$50 < CaCO_3 < 200$	6.2	62	360	580
$CaCO_3 > 200$ mg/l	12	120	720	1160
Mercure (µg/l)	0.07	0.7	3	21
Plomb (µg/l)				
$CaCO_3 < 50$ mg/l	2.1	21	100	370
$50 < CaCO_3 < 200$	5.2	52	250	930
$CaCO_3 > 200$ mg/l	10	100	500	1900
Cuivre (µg/l)				
$CaCO_3 < 50$ mg/l	0.17	1.7	2.5	7
$50 < CaCO_3 < 200$	1	10	15	42
$CaCO_3 > 200$ mg/l	2.7	27	40	110
Zinc (µg/l)				
$CaCO_3 < 50$ mg/l	2.3	23	52	190
$50 < CaCO_3 < 200$	4.3	43	98	350
$CaCO_3 > 200$ mg/l	14	140	330	1200

Origine des seuils

Se référer, pour les métaux à l'annexe 4 du SEQ-eau qui présente les seuils de qualité pour divers micropolluants. Les seuils de cyanure son issus de « Quality Criteria for Water » R.E. Train, US.EPA, 1979, p.65. Recommandation pour la vie aquatique d'eau douce : 5 µg/l. La concentration de 10 µg/l a déjà des effets toxiques sur la vie aquatique.

PARTIE II :

MATERIELS ET METHODES

Chapitre I. Description du site d'étude

I.1. Localisation du site d'étude

Le centre nucléaire de production d'électricité de Cattenom (C.N.P.E.) est implanté sur la commune de Cattenom, dans le département de la Moselle (**Figure II-1**). Les principales villes voisines sont: Thionville à 8 Km, Metz à 33 Km et le Luxembourg à 20 Km. Les frontières de l'Allemagne, du Luxembourg et de la Belgique sont à une dizaine de kilomètres.

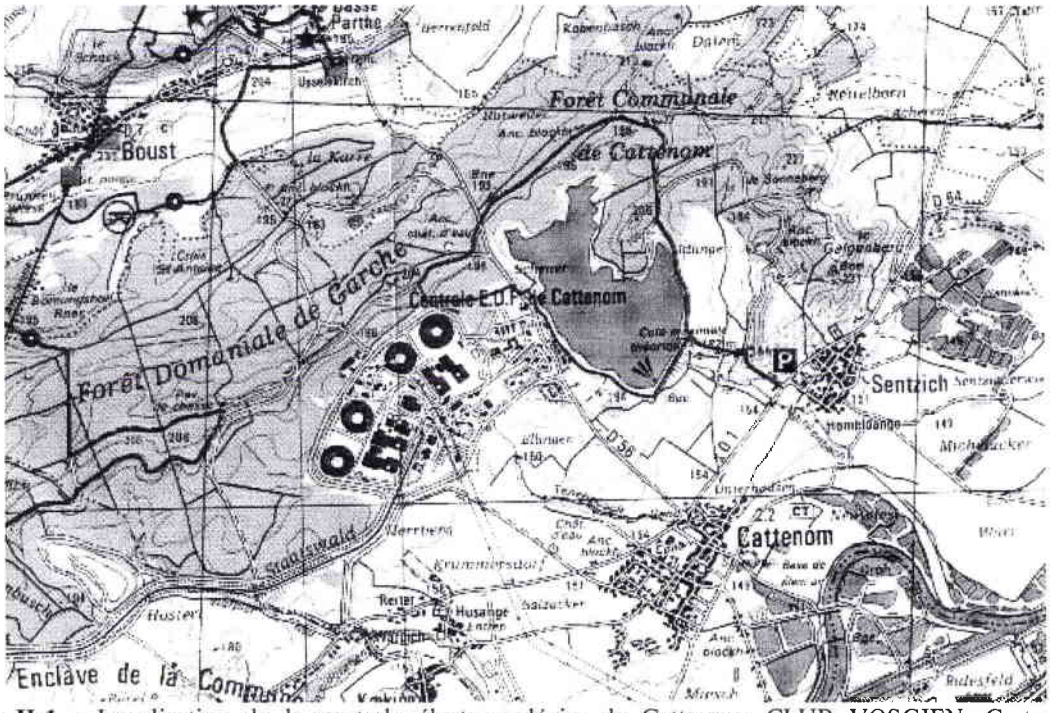


Figure II-1 : Localisation de la centrale électronucléaire de Cattenom. CLUB VOSGIEN, Carte N°8/8, METZ/THIONVILLE, LONGUYON, SIERCK-LES-BAINS, Echelle 1:50 000.

Afin de trouver un sol capable de supporter le poids des bâtiments, et mettre les installations à l'abri des inondations, ce site a été choisi sur les rives de la Moselle, à 20 mètres au-dessus du niveau de celle-ci et à 3 Km vers l'ouest en rive gauche. Il est entouré sur 3 côtés par la forêt de Cattenom.

La chaudière centrale (cuve du réacteur) et ses circuits auxiliaires sont regroupés dans les bâtiments constituant l'îlot nucléaire (bâtiment réacteur, bâtiment combustible ; bâtiment des auxiliaires nucléaires et bâtiment des auxiliaires de sauvegarde).

Le fonctionnement de la centrale a démarré en octobre 1986. Le site est constitué de quatre tranches nucléaires de 1300 MW de la filière eau pressurisée (P.W.R) et il est associé à deux ouvrages hydrauliques : le réservoir du Mirgenbach à Cattenom et la retenue de Vieux pré dans les Vosges.

Le système de refroidissement de chaque tranche comprend trois circuits de refroidissement ; le troisième ou circuit tertiaire comporte un aéroréfrigérant et un condenseur en laiton source de la contamination métallique (**Figure II-2**).

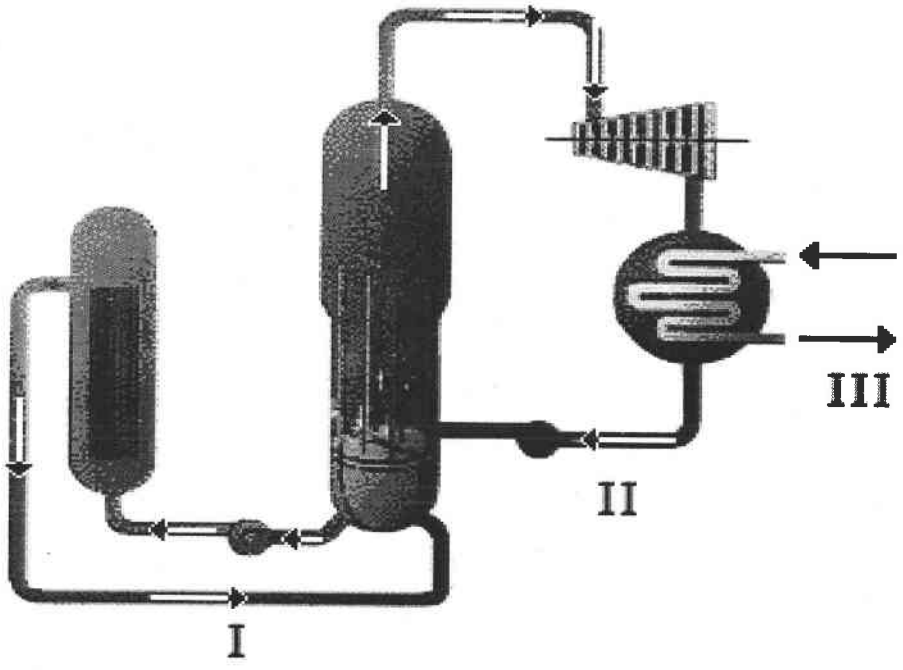


Figure II-2 : Représentation schématique des circuits primaire, secondaire et tertiaire de refroidissement d'une centrale nucléaire.

I.2. Le circuit de l'eau de refroidissement

Le circuit de refroidissement (CRF) de la centrale de Cattenom est schématisé sur la **figure II-3**.

L'eau qui alimente le CRF de la centrale de Cattenom est directement pompée en rivière Moselle (8 m^3/s pour 4 réacteurs) par un ouvrage de pompage avant d'être dirigée via un ouvrage d'alimentation et de rejet (O.A.R.) vers l'installation nucléaire. A ce niveau, l'eau intègre le CRF de la centrale, qui est un circuit semi-fermé avec un débit de 50 m^3/s, où elle fait l'appoint. Dans ce circuit, l'eau s'échauffe au contact des échangeurs en laiton, qu'elle refroidit, avant d'être dirigée vers les aéroréfrigérants ou s'opère son refroidissement par pulvérisation sur des lattes horizontales en plastique, grâce à l'air froid extérieur. Une partie de l'eau refroidie, correspondant au débit d'entrée (8m3/s) moins l'évaporation (3m3/s), constitue le débit de purge du circuit semi-fermé (5 m^3/s) et est injectée dans la retenue du Mirgenbach via un ouvrage d'injection. Après un temps de séjour moyen de 10 jours, un débit équivalent à celui de l'entrée (5 m^3/s) est déversé en rivière Moselle via un ouvrage de reprise de l'eau dans le lac et un ouvrage de rejet en Moselle. Ce débit de rejet dans la Moselle

compense le débit prélevé en amont (8 m3/s), moins l'évaporation au niveau des aéroréfrigérants (3 m3/s).

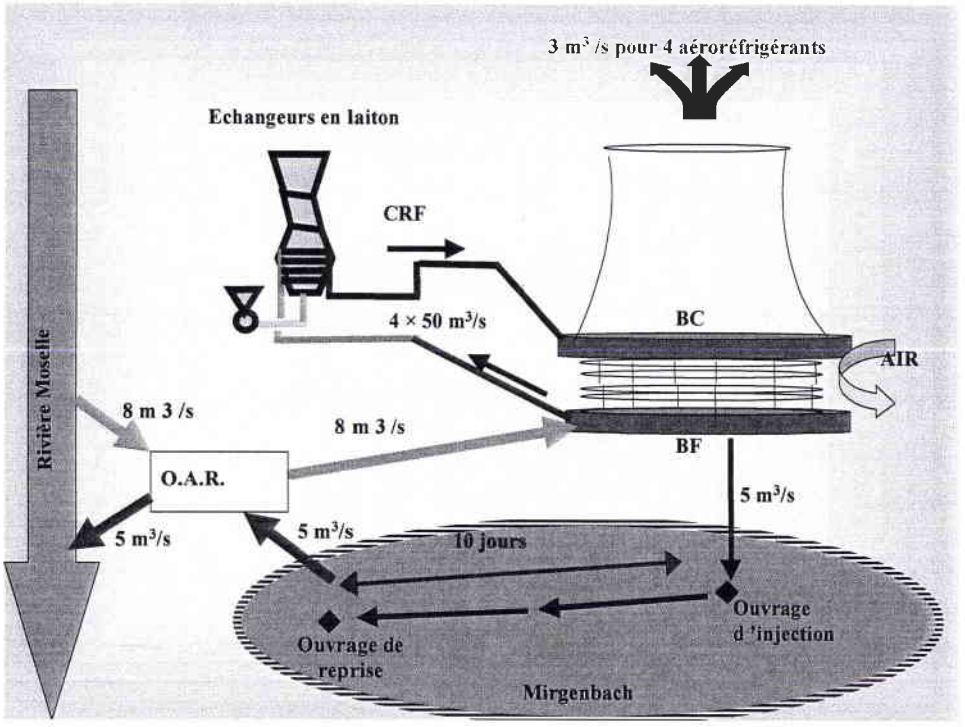


Figure II-3: Les circuits de refroidissement (simplifié) de la centrale électronucléaire de Cattenom (BC : Bassin chaud ; BF : Bassin froid ; CRF : Circuit de refroidissement tertiaire de la centrale de Cattenom).

La retenue du Mirgenbach a été mise en eau en 1985 afin de disposer d'une source de refroidissement de sauvegarde, dans le cas d'une impossibilité d'alimentation en eau de la Moselle ou d'une insuffisance du débit de la Moselle. Aucun rejet d'effluent radioactif n'y est effectué. Elle est fermée par un barrage de 22 m de haut en argile imperméable qui retient 7.3 millions de mètres cube sur une superficie de 95 ha. La création d'une retenue non vidangeable où s'effectue le rejet des purges du circuit de refroidissement répond à un objectif bien précis. Il s'agit d'un volume d'eau de sécurité et d'un tampon thermique, la conception de la centrale ayant été également menée avec le souci de réduire le plus possible son impact thermique sur la Moselle en bénéficiant de la surface d'échange air/eau de la retenue artificielle.

Egalement associée au fonctionnement de la centrale, la retenue de vieux pré, située dans les Vosges, d'une capacité de 70 millions de mètres cube, a pour fonction de compenser les débits évaporés dans les tours de refroidissement ($3m^3/s$) quand le débit de la Moselle descend au-dessous de 26 mètres cubes par seconde à la frontière.

Il existe deux types de fonctionnement du CRF: un fonctionnement normal, avec la Moselle, (**Figure II-3**) et un fonctionnement en circuit fermé sur le lac, sans la Moselle.

Il est possible d'envisager exceptionnellement le fonctionnement normal des tranches lorsque la liaison Moselle-C.N.P.E est interrompue. Dans ce cas, à pleine puissance, l'eau de la retenue est consommée, par évaporation dans les aéroréfrigérants (3 m^3/s) et par rejet direct des débits annexes (0.4 m^3/s) à la Moselle, à raison de 3.4 m^3/s en moyenne pour 2 tranches. Ce cas de fonctionnement ne peut donc qu'être limité dans le temps afin de toujours conserver une quantité d'eau suffisante dans le lac et qui plus est, à une température acceptable. Les études du comportement thermique de la retenue ont permis de déterminer ce temps pour un fonctionnement de 4 tranches; il est de l'ordre d'une dizaine de jours.

I.3. Origine de la contamination métallique dans les sites d'étude

La présence de cuivre et de zinc, micropolluants métalliques majeurs du Mirgenbach, est la conséquence d'une synergie de 3 influences :

1. L'apport métallique de la Moselle amont recevant les rejets de l'industrie (Zn, Pb).
   La rivière Moselle possède un lourd passé quant aux pollutions métalliques et ceci du fait des activités sidérurgiques de la région. Avec le ralentissement de ces activités il y a une vingtaine d'années, une amélioration de la qualité des sédiments est constatée. Les niveaux de contamination en cuivre et en zinc sont passés de 46.6 à 13.26 mg Cu/kg de ms et de 477 à 141 mg Zn/kg de ms entre 1996 et 2001 (**Tableau II-1**). Les raisons de cette amélioration sont principalement, l'arrêt de l'exploitation du fer, le curage des sédiments et le renforcement des normes de rejets avec la création de stations de traitement adaptées.

Tableau II-1 : Concentration en cuivre et en zinc dans les sédiments de la rivière Moselle à Uckange, en amont du pompage d'eau de la centrale nucléaire (Données fournies par l'agence de l'eau Rhin-Meuse).

Année	**Cu** mg/kg de ms	**Zn** mg/kg de ms
1996	47	477
1997	40	464
1998	35	423
1999	47	252
2000	9	98
2001	13	141

2. La concentration des éléments constitutifs de l'eau brute par évaporation de l'eau au niveau des aéroréfrigérants. Ce phénomène à un pouvoir de concentration équivalent en moyenne à un FC de 1.7 pour l'année 2002 (**Tableau II-2**).

Tableau II-2: Evolution des facteurs de concentration des éléments constitutifs de l'eau, ici des chlorures, entre la rivière Moselle et l'entrée dans la retenue du Mirgenbach.

Date	FC
Janv-2002	1.6
Fév-2002	1.71
Mars-2002	1.41
Avr-2002	1.66
Mai-2002	3.33
Juin-2002	1.88
Juil-2002	1.61
Août-2002	1.66
Sept-2002	1.35
Oct-2002	1.53
Nov-2002	1.17
Déc-2002	1.65
Moyenne	***1.71***
Minimum	***1.17***
Maximum	***3.33***

3. La libération additionnelle de métaux par corrosion principalement du circuit de refroidissement (échangeurs en laiton) de la centrale de Cattenom (Mersch *et al.*, 1993). Le laiton utilisé est un alliage à 70% de cuivre et 30% de zinc.
   La corrosion est amplifiée par la charge élevée en chlorures de l'eau de la Moselle (Cl^- moy: 258 mg/l en 2002), qui rend l'eau très agressive. En outre, l'eau est très riche en calcium (Ca^{2+}) d'où un risque d'entartrage combattu par une vaccination avec HCl.

La Lorraine dispose d'une richesse naturelle : le sel. A l'origine exploité dans la vallée de la seille, le sel est aujourd'hui produit dans la vallée de la Meurthe. Une saline produit du sel gemme et du sel raffiné extrait par sondage (sel de table). Deux industriels utilisent la saumure extraite par sondage comme matières premières et produisent à eux seuls 1.4 million de tonnes/an de carbonate de sodium (utilisé pour la fabrication du verre...). Ces activités sont à l'origine d'une pollution saline importante de la Meurthe et de la Moselle (**Tableau II-3**).

Tableau II-3 : Quantité de sel rejetée par l'industrie saline dans le bassin Rhin-Meuse (Données fournies par l'agence de l'eau Rhin-Meuse). * Site rejetant dans la rivière Meurthe affluent de la rivière Moselle.

Libellé du site	Commune	Pollution rejetée (kg/j)
SALINS DU MIDI*	VARANGEVILLE	0.058
MPDA	MULHOUSE	1.212
NOVACARB*	LANEUVILLE DEVANT NANCY	1.511
SOLVAY*	DOMBASLE	3.620

I.4. les stations de prélèvement

Les stations de prélèvements sont positionnées d'amont en aval du circuit de l'eau de refroidissement de la centrale nucléaire **(Figure II-4).**

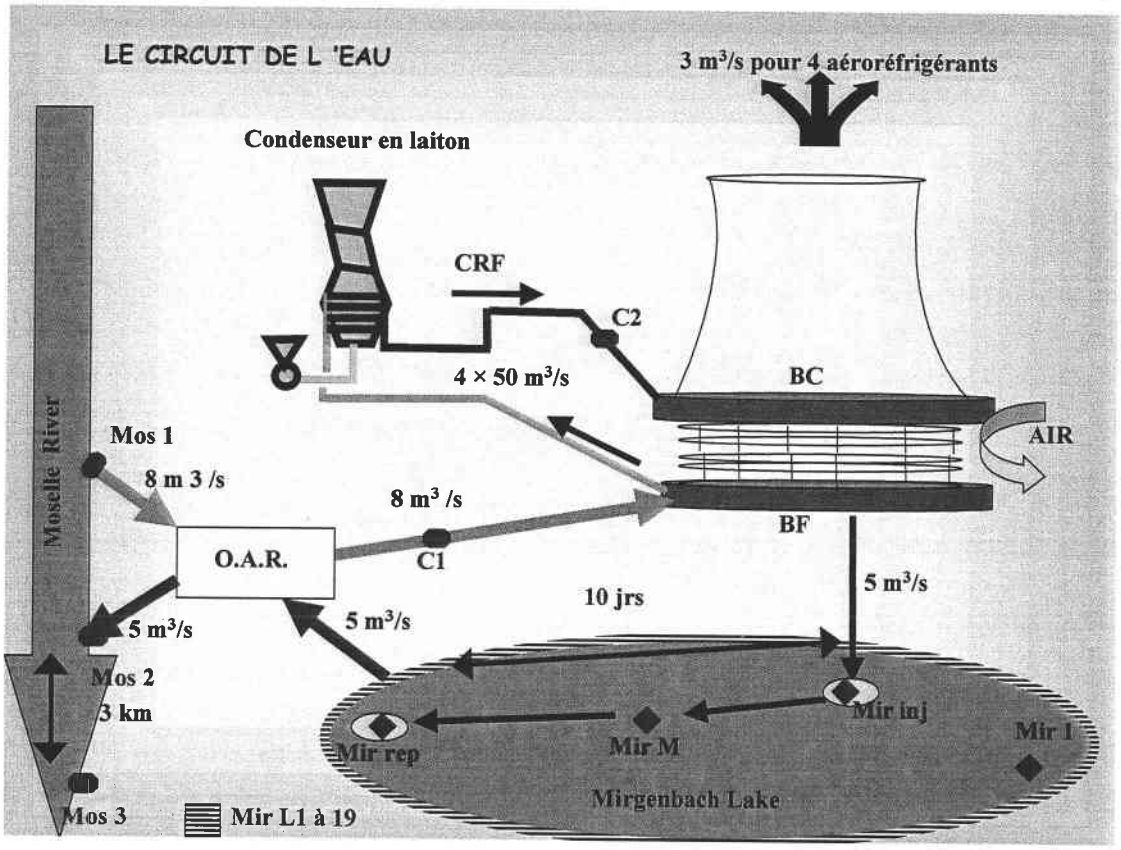


Figure II-4 : Localisation des stations de prélèvements le long du circuit de l'eau de refroidissement de la centrale nucléaire. Les points de prélèvements sont représentés en rouge sur la figure.

1.4.1. Les stations situées en rivière Moselle

Les stations de prélèvements sont les suivantes (**Figure II-4 et II-6**):

1. ***La station Mos1*** est située sur la rivière Moselle en amont de l'ouvrage de pompage d'eau de la centrale de Cattenom (rive gauche).

2. ***La station Mos2*** est située sur la Rivière Moselle au niveau de l'ouvrage de rejet général du C.N.P.E. Deux sous-stations sont à distinguer, la station Mos2 rejet, située dans le rejet général, avant le mélange avec les eaux de la rivière, où sont réalisés la physico-chimie et le transfert d'organismes ; et la station Mos2, située sur la rive gauche à 2m en aval du rejet, où sont effectués les prélèvements d'organismes autochtones. Les organismes autochtones ne colonisant pas la zone de rejet en raison des perturbations liées au fort débit d'eau (5 m^3/s environ).

Cette station pose plusieurs problèmes de représentativité, le premier étant la présence d'un barrage de régulation du niveau d'eau à 100m en aval et le second étant sur la rive droite, à 100m en aval, la présence d'une centrale électrique. Ces ouvrages génèrent des

perturbations de l'écoulement de l'eau (**Figure II-5A et 5B**) en déviant les eaux de la rivière et du rejet de la centrale. Deux situations extrêmes sont décrites par les **figures II-5A et II-5B**, mais des situations intermédiaires existent. Malgré ces biais la station Mos2 n'a pas été déplacée, parce que cette zone est la seule ou l'impact du rejet peut être évalué avant dilution du rejet dans les eaux de la Moselle.

Le rejet de cuivre et de zinc pourra toutefois être quantifié dans la zone Mos2 rejet et la station Mos2 rive permettra d'estimer l'impact sur les organismes autochtones, sachant que seule une fraction du rejet atteint cette zone. Ne maîtrisant pas la dynamique exacte de l'écoulement des eaux, il est difficile d'estimer cette fraction, toutefois la comparaison entre les résultats fournis par les organismes autochtones de la station Mos2 rive et les organismes transférés de la station Mos2 rejet pourrait permettre d'apporter des informations.

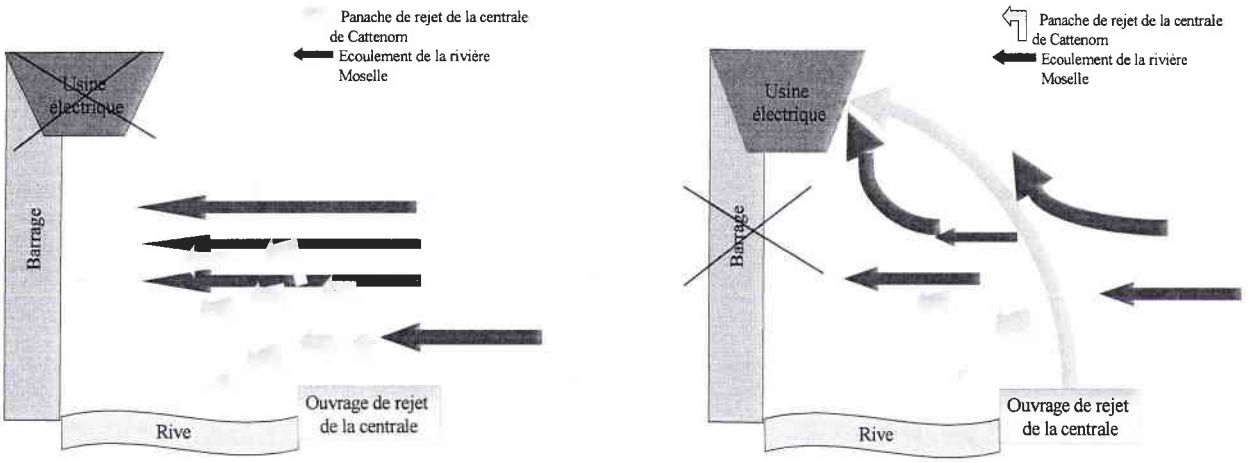


Figure A **Figure B**

Figure II-5 : Schémas représentant l'écoulement du panache de rejet de la centrale de Cattenom dans le cas « barrage ouvert et usine fermée » (Figure A) et dans le cas « barrage fermé et usine en fonctionnement » (Figure B).

3. ***La station Mos3*** est située sur la rivière Moselle, en aval éloigné de l'ouvrage de rejet, au niveau de Berg sur Moselle (rive gauche). Cette station était positionnée, au début de l'étude, sur la zone navigable de la Moselle, au niveau de Berg-sur-Moselle. Cependant le passage des péniches à cet endroit provoquait des perturbations intenses et fréquentes du niveau d'eau, d'où une faune peu abondante sur la rive dans la zone de batillage. De plus les balancements imposés aux cages, malgré plusieurs tentatives de fixation, entraînaient la mort rapide des organismes transférés. Pour ces raisons, la station Mos3 a été déplacée de 5 km vers l'amont, au départ d'un bras mort. Ainsi, la qualité d'eau restait la même, mais les organismes et les cages étaient protégées du passage des péniches. De plus, les bras morts d'une rivière sont caractérisés par un ralentissement du courant, ce qui en fait des zones propices à la sédimentation des particules. Cette zone est également caractérisée par une zone de rive non empierrée présentant des caractéristiques plus sauvages que dans la zone navigable et constituant une zone de reproduction pour les poissons.

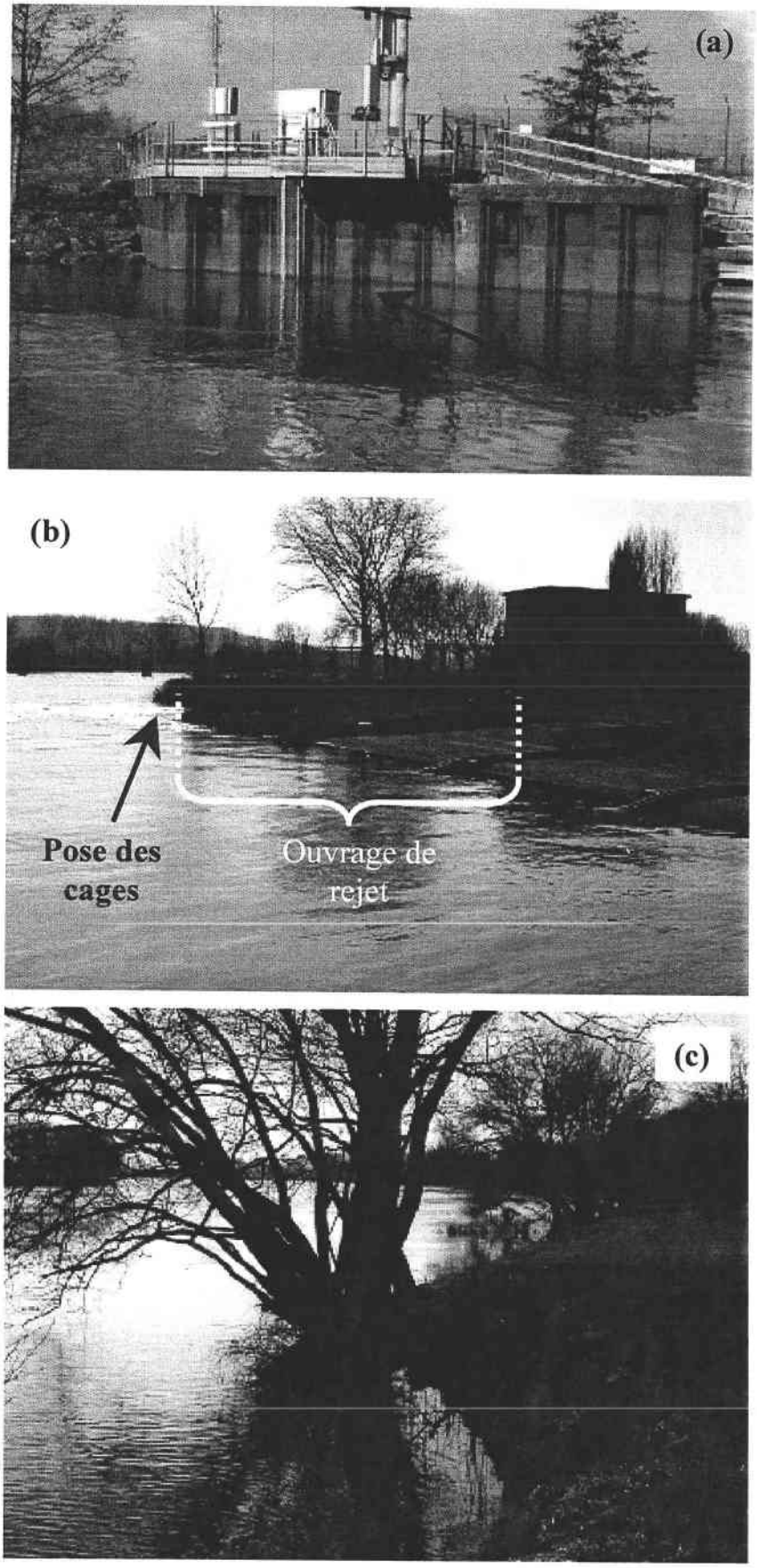


Figure II-6 : Illustrations photographiques et localisation des zones d'implantation des cages sur la Moselle. a : Mos1 ; b : Mos2 ; c : Mos3.

1.4.2. Les stations situées sur la retenue du Mirgenbach

Les stations de la retenue du Mirgenbach peuvent être séparées en deux groupes, les stations de pleine eau et les stations littorales. Les stations de pleine eau, localisées sur la **figure II-4**, sont citées en fonction de leur position par rapport à l'ouvrage d'injection dans le lac des eaux de purge du C.N.P.E., à l'exception des stations de pêche:

1. ***La station Mir 1*** est située dans la corne nord de la retenue du Mirgenbach.
2. ***La station Mir inj*** est située à l'aplomb de l'ouvrage d'injection dans la retenue.
3. ***La station Mir M*** est localisée au milieu du lac.
4. ***La station Mir rep*** est positionnée à l'aplomb de l'ouvrage de reprise d'eau vers la rivière Moselle.

5. ***Les stations de pêche*** sont réparties sur la totalité du lac et sont au nombre de 7 (A, B, C, E, F, G, H). Les codes affectés aux stations sont ceux utilisés depuis de nombreuses années par l'équipe gérant le suivi ichtyologique de la retenue du Mirgenbach (**Figure II-7**).

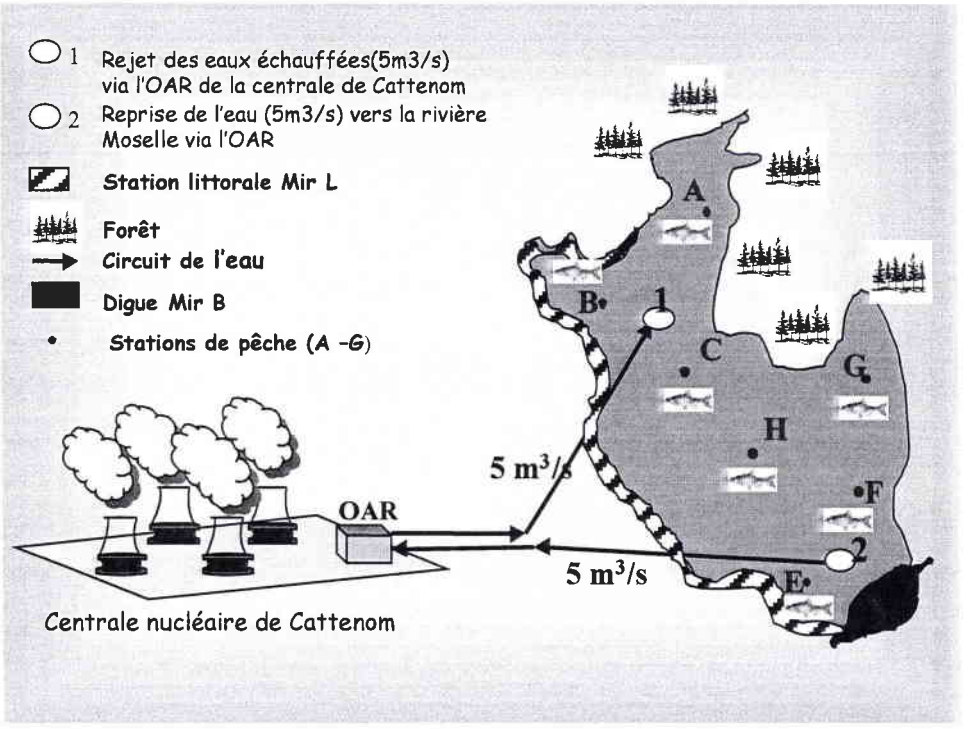
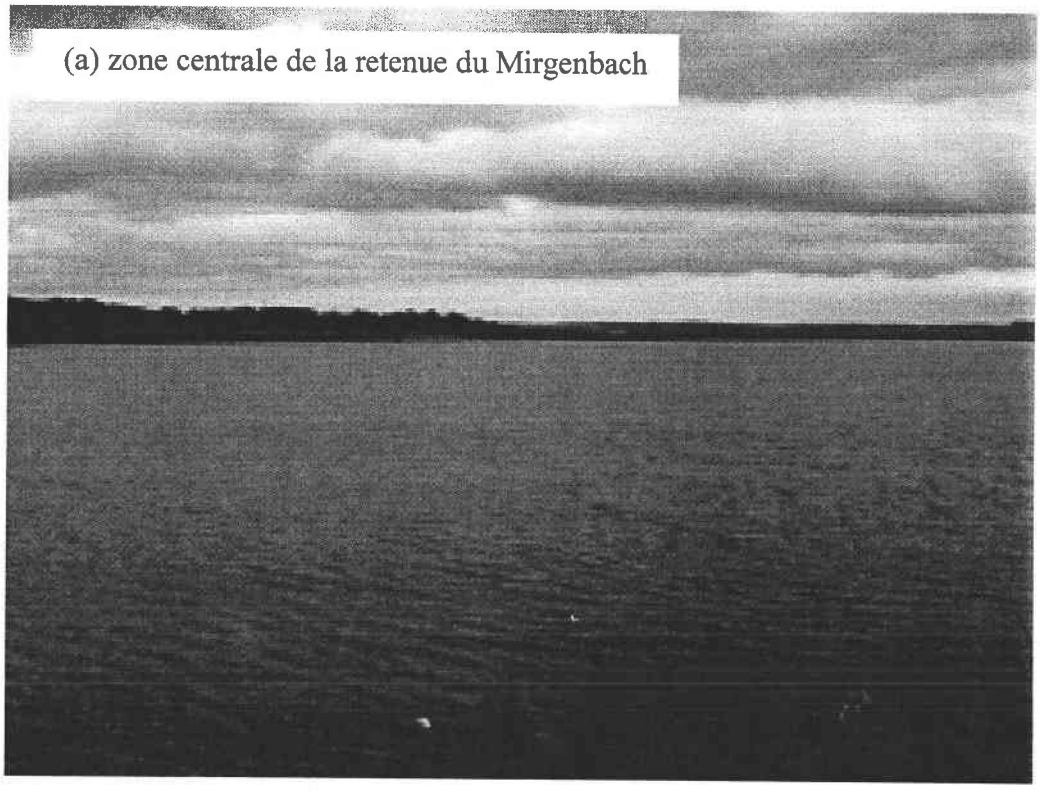


Figure II-7 : localisation des stations de collecte des organismes autochtones sur la retenue du Mirgenbach

Les stations littorales pour le prélèvement d'organismes autochtones sont représentées sur la **figure II-7** et regroupent la zone littorale Mir L à l'ouest du lac et la zone Mir B correspondant aux enrochements du barrage de la retenue du Mirgenbach.
Les stations littorales ont été choisies sur des critères de présence de substrat favorisant la présence des organismes recherchés, d'accessibilité et de facilité de collecte.

Les stations littorales Mir L1 à L18 (**Figure II-4**) sont réparties autour du lac et correspondent à des stations de prélèvement de sédiments réalisées le 11 octobre 2001 lors de l'abaissement d'environ 3 m du niveau d'eau du lac dans le cadre d'un contrôle des installations.



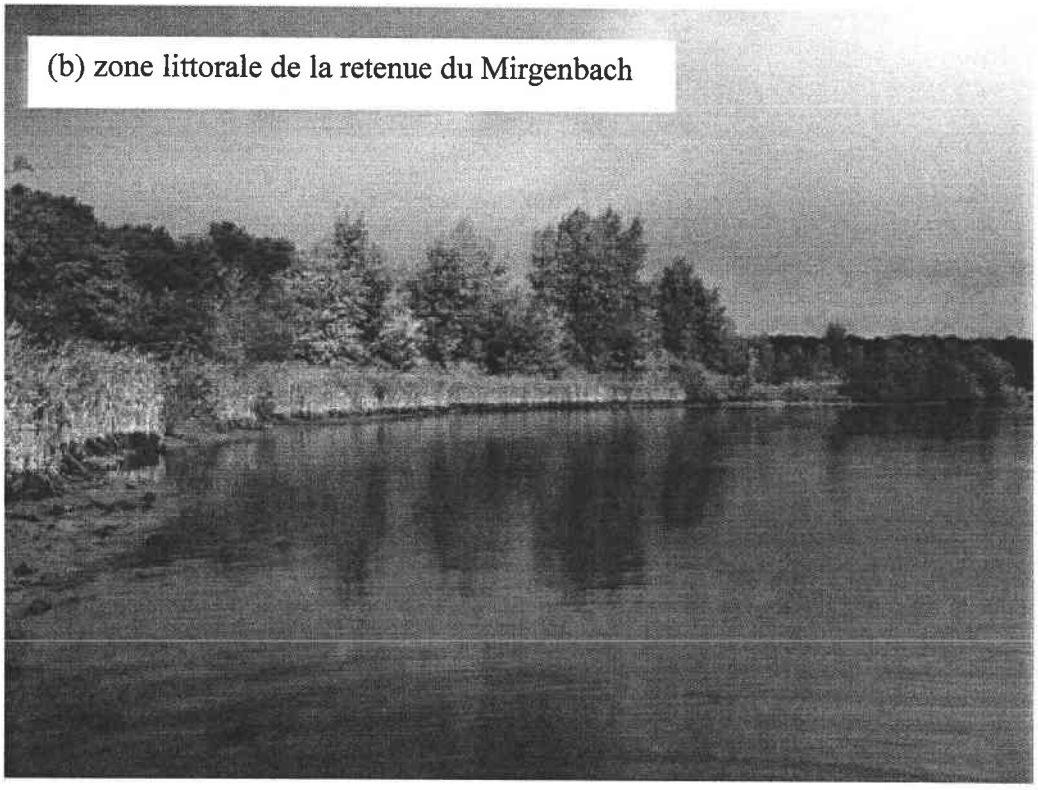


Figure II-8 : Illustrations photographiques de la retenue du Mirgenbach en zone centrale (a) et littorale (b).

1.4.3. Les stations situées dans les installations de la centrale de Cattenom

Ces stations sont des stations de prélèvement situées sur le circuit tertiaire de refroidissement de la centrale de Cattenom et ont nécessité l'installation de systèmes de dérivations sur le CRF avec la collaboration de la centrale de Cattenom. Une dérivation, nommée C1, a été positionnée en amont du CRF, avant l'entrée de l'eau dans le circuit semi-fermé des aéroréfrigérants; une autre dérivation C2 a été installée dans le circuit semi-fermé en aval des condenseurs (**Figure II-4 et II-9**).

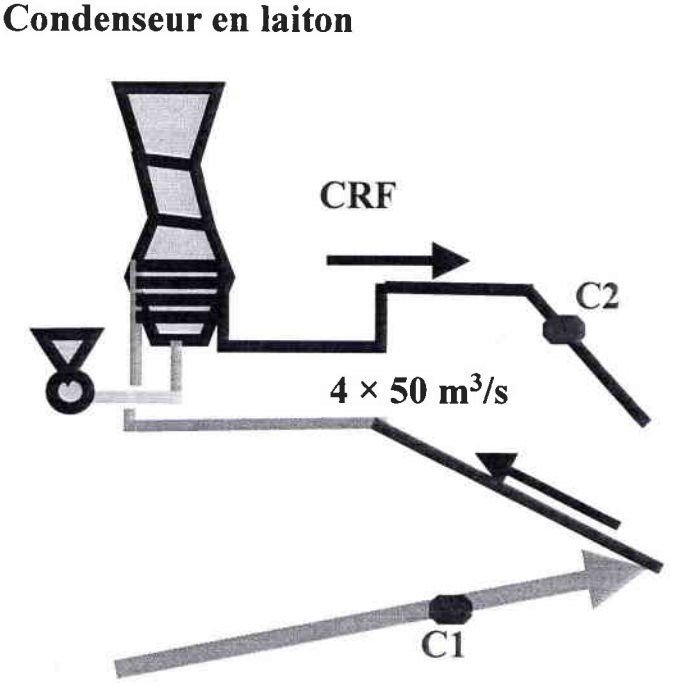


Figure II-9 : Localisation des stations C1 et C2 dans le CRF de la centrale de Cattenom.

Chapitre II. Choix des matériels abiotiques et biotiques et Méthodologie d'échantillonnage

Les modalités d'action d'un polluant métallique sur un écosystème peuvent être illustrées par une cascade d'événement, depuis sa source, sa circulation et son transit dans les différents compartiments biotiques et abiotiques (**figure II-10**) jusqu'à son impact global sur le biotope et la biocœnose. Pour évaluer l'impact d'un contaminant métallique sur le milieu récepteur, il est donc nécessaire de comprendre sa répartition, sa distribution et les transferts dans l'écosystème.

La recherche et la quantification des micropolluants est, par conséquent, réalisée dans les différents compartiments de l'écosystème.

Deux types de supports analytiques sont à distinguer :

- les compartiments abiotiques ;
- les compartiments biotiques.

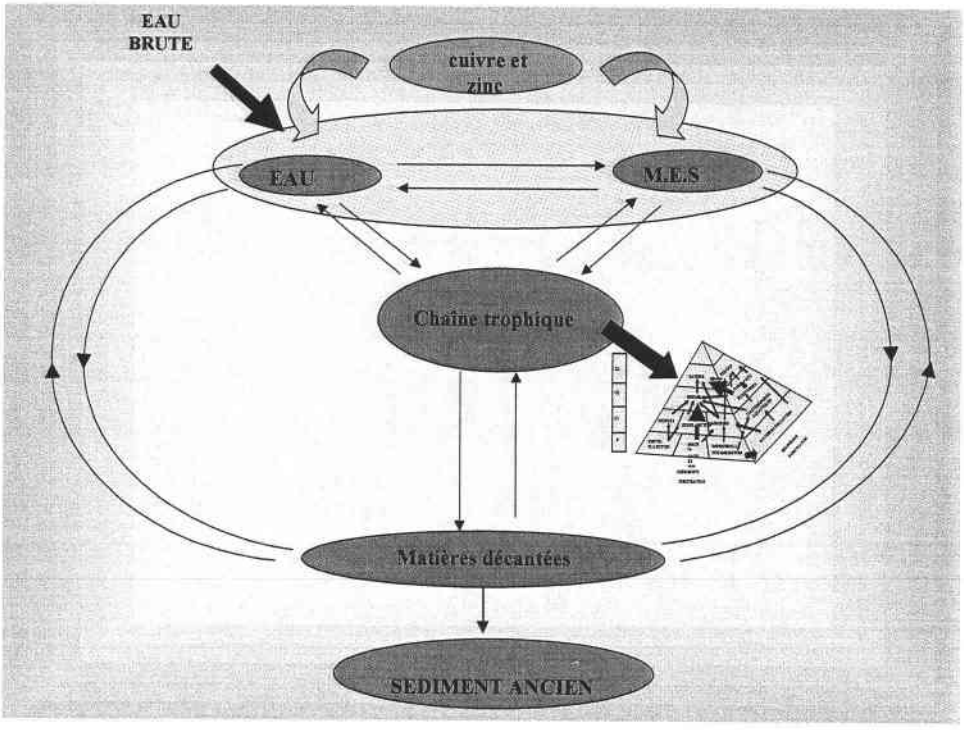


Figure II-10 : Les différents niveaux d'étude de la distribution, la circulation et le transfert des métaux dans un système aquatique (modifié d'après Marchandise & Robbe in Robbe, 1981).

II.1. Les matériels abiotiques

II.1.1. Le choix des matériels

L'analyse bibliographique a permis de mettre en évidence l'importance des matières en suspension organiques et inorganiques dans le contrôle du niveau de contaminant présent dans la phase circulante. Dans la phase liquide les formes ioniques du métal peuvent être solubilisées alors que dans la phase solide (matières en suspension), le métal est lié à des particules. Les matières en suspension vont ainsi mobiliser une partie plus ou moins importante des polluants métalliques et de fait, influer directement sur la biodisponibilité du métal. Par conséquent, les M.E.S. inertes ou organiques, représentent, par leur importante capacité de piégeage de micropolluants, un maillon intermédiaire entre la phase circulante et la phase stationnaire, en l'occurrence les sédiments.

Les sédiments, par rapport aux autres supports inertes, ont l'avantage de conserver l'empreinte d'une pollution et ce, jusqu'à une éventuelle remobilisation. Dans la plupart des cas de pollution métallique, le sédiment représente le compartiment le plus fortement contaminé. Toutefois, ses capacités d'indicateur se heurtent tout de même au problème de

dynamique de dépôt qui rend difficile un prélèvement représentatif d'une période donnée. Lorsqu'il y a remise en suspension de sédiment, ce compartiment peut également devenir une source de contamination de l'eau (Nakanishi *et al.* , 1989; Tanner & Clayton, 1990, Al Shukry *et al.*, 1992).

Il apparaît clairement qu'aucun de ces supports inertes, seul, ne peut fournir toutes les informations nécessaires à la compréhension des mécanismes qui régissent la distribution, la circulation et le transfert des métaux au sein des compartiments abiotiques. Il en est de même pour l'établissement d'un diagnostic complet de l'état de contamination.

Par conséquent, trois niveaux d'intégration de l'information ont été choisis dans le cadre de cette étude, l'eau brute, les matières en suspension qui seront suivies dans la phase circulante (eau brute), dans la fraction récemment décantée, et dans les sédiments anciens. Une caractérisation physique et chimique des sédiments et des matières décantées a été réalisée. L'étude de la spéciation des métaux, principalement du cuivre, sur ces mêmes supports permet d'estimer la biodisponibilité des métaux et de prévoir une éventuelle remobilisation du cuivre et du zinc.

II.1.2. Echantillonnages

II.1.2.a. Prélèvement d'échantillons d'eau

- **Eau brute**

  Lors de chaque campagne de terrain, des échantillons d'eau ont été collectés et analysés en même temps que les organismes pour comparer les informations apportées par les différents compartiments. L'eau est prélevée à environ 10 cm sous la surface, pour éviter les flottants, dans des flacons de 1 L en polyéthylène et acidifiée à 1 % (v/v) avec de l'acide nitrique concentré (qualité normapure) dés le retour du terrain. Les flacons sont conservés en chambre froide à 4 °C jusqu'au dosage.

  Les échantillons d'eau brute sont prélevés avec une périodicité mensuelle sur toutes les stations Moselle et Mirgenbach entre novembre 2000 et décembre 2002. Deux campagnes de prélèvement sont réalisées en juin et décembre 2001 pendant 30 jours avec le concours de la centrale de Cattenom et de la DER de Chatoux, pour effectuer un échantillonnage journalier d'eau brute au niveau du circuit de pompage d'eau en Moselle (avant exploitation de l'eau, station C1), et dans le CRF (station C2).

- **Eau filtrée**

  Afin de déterminer la fraction métallique libre, et celle associée aux matières en suspension (MES), des échantillons supplémentaires d'eau brute sont prélevés tous les trois mois dans des flacons en polyéthylène de 2 L à environ 10 cm sous la surface. Ces échantillons subissent, avant analyse, une étape de filtration sur filtre 0.45 µm.
  L'étude de la répartition du cuivre et du zinc entre la phase soluble et particulaire a été réalisée sur les échantillons d'eau brute des station Moselle Mos1, Mos2 et Mos3 et de la station Mir M de la retenue du Mirgenbach.

II.1.2.b. Prélèvement des sédiments

- **Les sédiments de fond**

Une benne (**figure II-11A**) est utilisée pour prélever les sédiments de fond sur les stations de pleine eau. Pour les stations littorales de la retenue du Mirgenbach et en rivière Moselle, une pelle à sédiments (**Figure II-11B**) est utilisée pour la collecte.

Pour obtenir un échantillon, quatre à six prélèvements sont réalisés quelle que soit la technique utilisée, pour les stations de fond, un sur chaque coté du bateau. L'ensemble est alors homogénéisé dans une bassine en plastique et un sous-échantillon est placé dans un pot en polypropylène d'1 L fermé par un couvercle à vis. Le transport des échantillons jusqu'au laboratoire se fait dans des glacières.

De retour au laboratoire les échantillons sont placés dans des cristallisoirs en verre préalablement décapés avec de l'acide technique pur puis rincés plusieurs fois avec de l'eau distillée, avant d'être séchés dans une étuve à 60°C pendant plusieurs jours jusqu'à masse constante.

Les prélèvements de sédiment sont réalisés deux fois par an sur toutes les stations d'étude Moselle et Mirgenbach de novembre 2000 à août 2002.

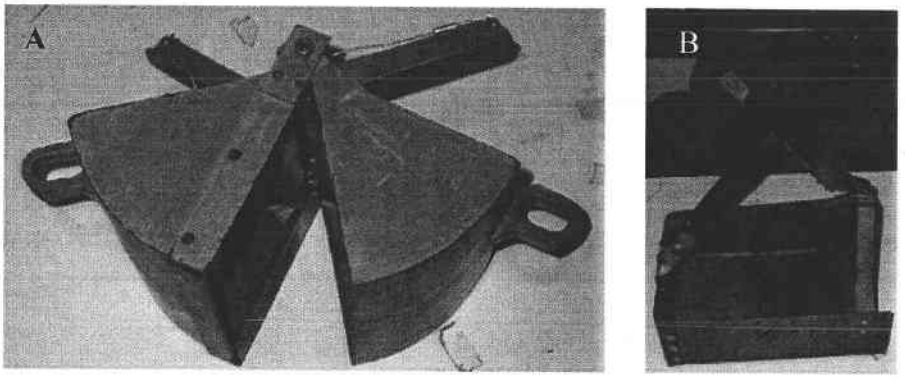


Figure II.11 : Détail de la benne (A) et de la pelle (B) à sédiments.

- **Les matières décantées**
  - ➢ Dans la retenue du Mirgenbach

Il s'agit pour cette étude, de l'utilisation d'un modèle déposé de sédimentomètre (**Figure II-12).** Cette technique nous permet de collecter le seston décanté à la station Mir M qui est la plus représentative de l'ensemble du lac. Le seston décanté est constitué d'un mélange de phytoplancton mort, zooplancton mort, bactéries et de particules en suspension. Ces 4 composants ont la capacité d'adsorber et/ou d'absorber le cuivre. En décantant vers le fond de la retenue ils vont constituer un axe majeur de transfert du cuivre vers les sédiments.

Leur piégeage dans un sédimentomètre nous permettra d'évaluer la quantité de cuivre qui a décanté dans le lac pendant un mois.

Le dispositif utilisé comprend un cadre en métal inoxydable, au sein duquel est placé un bidon de 30 L surmonté d'un entonnoir d'une superficie de 0.093 m2 destiné à recueillir les particules tombant au fond du lac pendant le temps de pose (1 mois). L'ensemble est relié à une bouée qui signale la présence du dispositif en surface.

Cette technique de prélèvement permet de mesurer le flux moyen de décantation des MES dans la retenue du Mirgenbach. En connaissant les concentrations en métal dans les MES ou seston décanté, la hauteur de la colonne d'eau, la surface de collecte, le temps de pose, une estimation des flux de métaux incorporés aux sédiments chaque mois pourra être faite.

Le sédimentomètre est resté en place de novembre 2000 à octobre 2002. Chaque mois les matières décantées ont été prélevées. De février à mars 2002 et de novembre à décembre 2002, aucun prélèvement n'a pu être effectué puisque le sédimentomètre endommagé a du être retiré du site pour réparation.

➢ Dans le circuit de refroidissement

Un prélèvement de MES est réalisé au niveau des stations C1 et C2 par le biais d'une dérivation d'eau alimentant un système de décantation des MES muni d'un revêtement en alvéole. Le décanteur est resté en place pendant 30 jours en juin et décembre 2001, avant d'être relevé. Les MES ainsi collectées sont transférées dans un pot en polypropylène d'un litre et acheminées jusqu'au laboratoire dans une glacière. Au laboratoire les échantillons sont séchés à 60°C dans une étuve jusqu'à poids constant. Des précautions sont nécessaires lors de la manipulation de ces échantillons car ils proviennent du circuit de refroidissement de la centrale où la légionnelle est présente. Ces prélèvements vont permettre d'estimer les quantités de Cu et de Zn libérées par le système de refroidissement de la centrale de Cattenom.

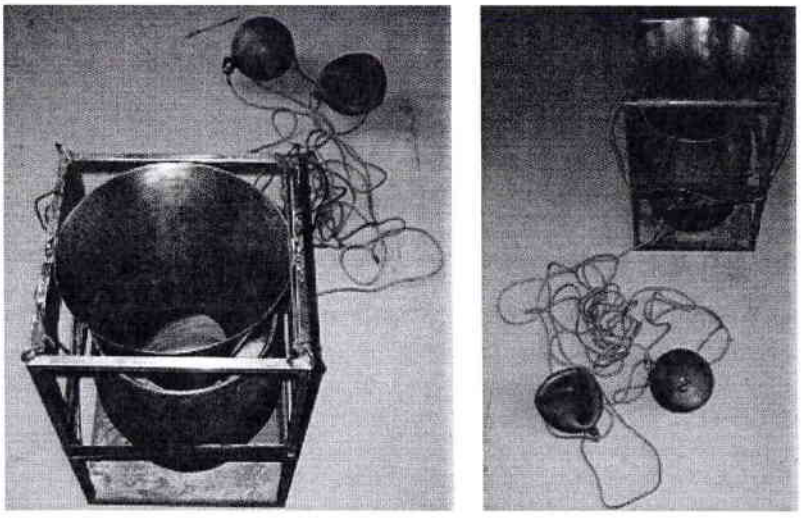


Figure II.12 : Détail du Sédimentomètre

II.2. Les matériels biotiques

Le concept de biosurveillance passive, qui est 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 ou la plante 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. La biosurveillance active, au contraire, correspond au transfert d'indicateurs biologiques à partir d'un site de référence sur les stations d'étude. Cette technique présente plusieurs avantages dont 4 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,
3. les résultats obtenus aux différentes stations d'étude sont directement comparables.
4. cette technique permet d'étudier la cinétique d'accumulation des métaux par les organismes à partir d'un temps T0.

Cette technique permet également de comparer la réponse d'une population autochtone face à une contamination chronique à la réponse d'une population non acclimatée au contaminant et au site.

Toute substance détectée dans un organisme, quelle que soit la cible du contaminant (organes, organismes entiers), est qualifiée de biologiquement disponible. Ce qui sous-entend que la substance considérée, sous une ou plusieurs formes chimiques présentes dans le milieu, interagit avec le vivant et peut s'y accumuler et/ou provoquer des effets toxiques. La fraction du contaminant accumulée dans un organisme est également susceptible d'être transférée ou non d'un niveau trophique n à un niveau trophique n+1. Cette information est donc cruciale pour l'estimation de la répartition et du devenir des polluants dans les écosystèmes.

Les êtres vivants sont des intégrateurs dans le temps et en fonction de la source de contamination. Ceux qui sont fixés ou peu mobiles sont soumis à l'historique de contamination de leur biotope. Par exemple, l'état biologique d'un organisme, sa capacité à tolérer un contaminant ou la présence ou l'absence d'une espèce, seront des résultantes de l'histoire de la contamination du milieu. L'étude des niveaux de bioaccumulation des contaminants dans les organismes, de même que celle de ses variations spatio-temporelles, peuvent permettre d'appréhender et de mieux comprendre les interactions entre polluants, organismes et milieu.

La comparaison entre différents sites d'étude est facilitée par l'étendue de l'aire de répartition géographique des espèces utilisées.

Il est également fait mention dans la littérature de l'effet des mécanismes d'assimilation et excrétion par certains organismes sur la spéciation et le cycle des métaux, ainsi que sur leur transfert dans l'écosystème. Par conséquent il est utile de ne pas limiter les études *in situ* de la répartition et de la circulation des métaux aux seuls organismes bioindicateurs (cf. Partie I – Chapitre III) mais d'intégrer l'ensemble de la biocœnose.

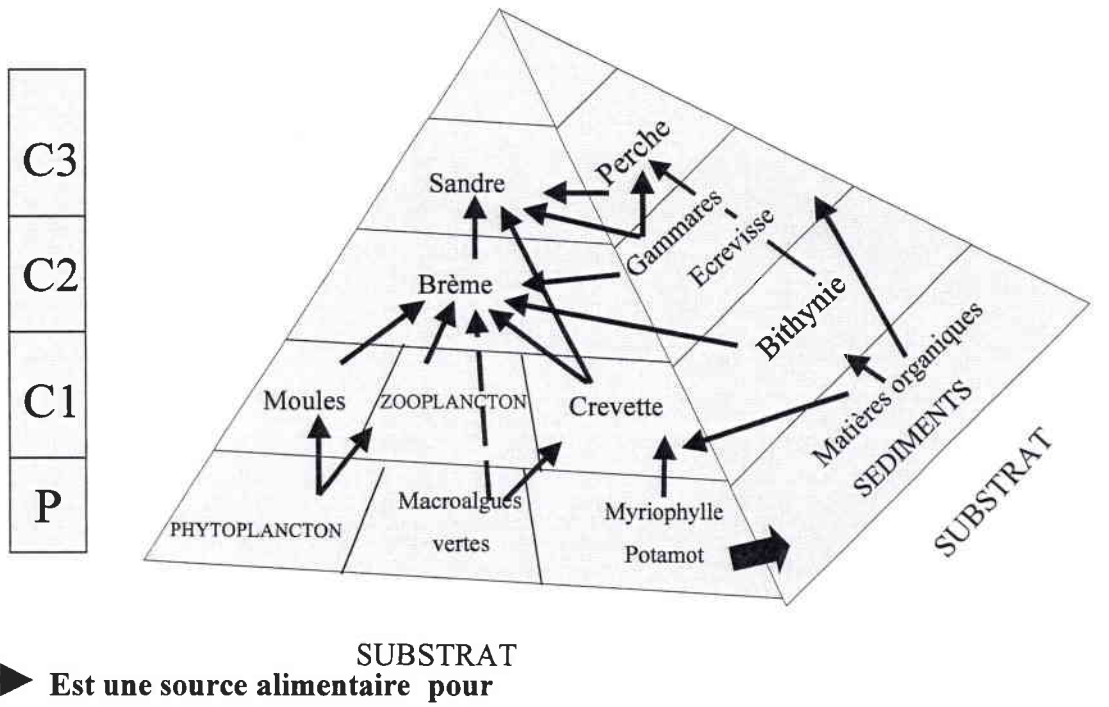
II.2.1. Choix des organismes retenus en biosurveillance passive

Le choix des organismes prélevés pour analyse au cours de cette étude repose sur deux critères, en plus de leur présence et de leur accessibilité sur les sites d'étude, à savoir, leur position dans la chaîne trophique et les caractéristiques de l'organisme en terme de stratégie de réponse aux métaux (bioaccumulation, régulation, excrétion, modification de la biodisponibilité : cf. Partie I – Chapitre II).

Tous les organismes ne sont pas échantillonnés avec la même fréquence. Certains organismes ont fait l'objet d'un suivi mensuel pendant deux années et sur toutes les stations Moselle et Mirgenbach, d'autres ont été collectés de façon plus ponctuelle, soit en continu mais sur une courte période de l'année, soit de façon aléatoire plusieurs fois dans l'année ; ceci pour des raisons de faible abondance, de difficulté d'accessibilité ou de prélèvement, ou parce que l'espèce n'était présente sur les sites qu'une partie de l'année.

II.2.1.1. Présentation de la chaîne trophique étudiée dans la retenue du Mirgenbach

L'ensemble des informations obtenues sur les compartiments biotiques de la retenue du Mirgenbach (régime alimentaire, niveaux de bioaccumulation, évolution des populations sur une période de 10 années) ont permis de reconstituer une chaîne alimentaire regroupant tous les niveaux trophiques (**Figure II-13.**). Ainsi l'étude des transferts du cuivre et les variations interspécifiques des niveaux de bioaccumulation ont pu être étudiés, de même que l'effet à long terme ou chronique du cuivre. L'ensemble de ce travail constitue la dernière partie du mémoire.



P: Producteur ; **C1**: Consommateur primaire; **C2**: Consommateur secondaire; **C3**: Consommateur tertiaire.

Figure II-13 : Représentation schématique de la chaîne trophique étudiée dans la retenue du Mirgenbach et des relations alimentaires existant entre chaque niveau.

Les producteurs primaires, phytoplancton, macroalgues vertes et macrophytes constituent le premier niveau de la chaîne alimentaire, celui des autotrophes.

Le second niveau correspond aux consommateurs primaires dont les organismes filtreurs (dreissènes) et phytophages (caridine et zooplancton). A partir de ce niveau trophique, il est reconnu que les organismes ont rarement un régime alimentaire stricte, végétarien ou carnivore par exemple. Ainsi la caridine ou crevette d'eau douce bien que considérée comme organisme exclusivement végétarien (Tachet *et al.*, 1996) peut consommer au stade adulte des organismes morts (dreissènes et corbicules mortes dans les cages de transfert). De même certains auteurs considèrent que la moule zébrée *D. polymorpha* est capable d'ingérer du petit zooplancton (rotifères) dans de faibles proportions mais également et en quantité non négligeable des matières en suspension.
Les bithynidés ont été classés dans la chaîne des détritivores comme consommateurs primaires.

Les crustacés comme l'écrevisse et le gammare sont classés dans la chaîne des détritivores mais également en tant que consommateurs secondaires de la chaîne des autotrophes. Le gammare est considéré comme un consommateur très opportuniste, il peut consommer des végétaux, de la matière organique (organismes morts), mais il peut également être un prédateur vorace (cannibalisme, consommation d'insectes). L'écrevisse présente également des caractéristiques d'espèce opportuniste et son régime est en fait omnivore (végétaux, racines, œufs de poissons, petit crustacés, gastéropodes, ...).
Parmi les consommateurs secondaires, la brème a également un régime alimentaire varié puisque les contenus digestifs ont montré la présence de coquilles de dreissènes, d'algues vertes, de sédiments certainement ingérés en fouillant la vase à la recherche de vers de vase et de gastéropodes. La brème peut également consommer des petits crustacés comme le gammare.

La perche et le sandre, deux percidés sont les représentants du plus haut niveau trophique, celui des consommateurs tertiaires. La perche, carnivore et benthophage, peut consommer des petits poissons mais également des petits crustacés, des mollusques dont des gastéropodes. L'analyse des contenus digestifs a également montré la consommation d'écrevisse. Concernant le sandre, les individus adultes sont strictement ichtyophages alors que les juvéniles (200 à 400g) consomment principalement des petits poissons et des caridines principalement.

II.2.1.2. Les organismes végétaux choisis pour leur qualité d'indicateur

Ce compartiment représente le premier maillon de la chaîne trophique des autotrophes, celui des producteurs primaires, d'où son importance dans cette étude. Ils regroupent :

- Algues du phytoplancton
- Algues vertes
  - *Cladophora sp.*
  - *Oedogonium sp.*

- *Enteromorpha intestinalis*

- Macrophytes
  - *Potamogeton pectinatus* (Potamot pectiné)
  - *Myriophyllum verticilatum* (Myriophylle)

Le phytoplancton contrairement aux autres végétaux est présent en pleine eau et capte tous les éléments nécessaires à sa vie à partir de son environnement aqueux. Les organismes phytoplanctoniques vont être à l'origine de la contamination alimentaire des consommateurs primaires tel que les dreissènes par exemple, et sont de fait à l'origine des phénomènes de transfert des contaminants dans les niveaux supérieurs de la chaîne alimentaire.

Les algues vertes filamenteuses présentent parfois l'avantage de posséder un stade de vie fixé et un stade de vie libre, ce qui fournit un niveau d'information intermédiaire entre les algues phytoplanctoniques et les macrophytes.

Les macrophytes possèdent la capacité de capter les métaux à partir de l'eau et des sédiments du fait de la présence d'un système racinaire et foliaire.

a. Le phytoplancton

Ce compartiment représente le premier maillon d'une chaîne trophique aquatique, d'où son importance dans cette étude.

Les espèces dominantes (Figure II-14) : Au printemps et au début de l'été, le phytoplancton est principalement constitué de diatomées et de chlorophycées mais à partir de la fin du mois de juillet se développe le dinoflagellé *Ceratium hirundinella* qui domine la fleur d'eau de cette période jusqu'à début octobre.

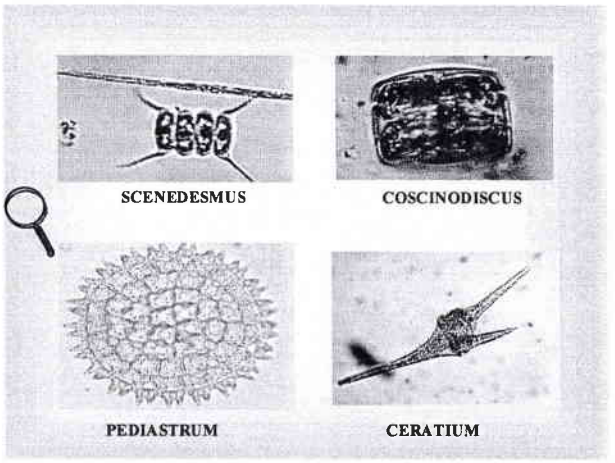


Figure II-14 : Espèces dominantes du phytoplancton en période printanière et estivale dans la retenue du Mirgenbach.

Echantillonnage :

Le plancton a été prélevé à l'aide d'un filet à plancton (maille 20µm) tracté au bout d'un filin métallique relié à un treuil (**Figure II-15).** Un système de filtration permet de concentrer un échantillon de plancton après passage d'un volume d'eau non constant (il s'agit de récolter une masse suffisante). Le prélèvement de plancton s'effectue à l'horizontal sous la surface. L'échantillon ainsi obtenu, comprenant du zooplancton, du phytoplancton, des bactéries et des particules en suspension, est transvasé dans une bouteille en polyéthylène d'un litre et est conservé dans une glacière pour le transport.

Les prélèvements de plancton ont été effectués le matin, ce qui signifie que le zooplancton est encore présent en surface (Migration verticale journalière du zooplancton) et que les populations phytoplanctoniques sont également présentes en surface (luminosité non limitante encore). Les prélèvements de plancton sont effectués chaque mois entre la station Mir M et la station Mir rep.

A titre indicatif, une détermination des espèces dominantes présentes dans les échantillons estivaux a également été réalisée.

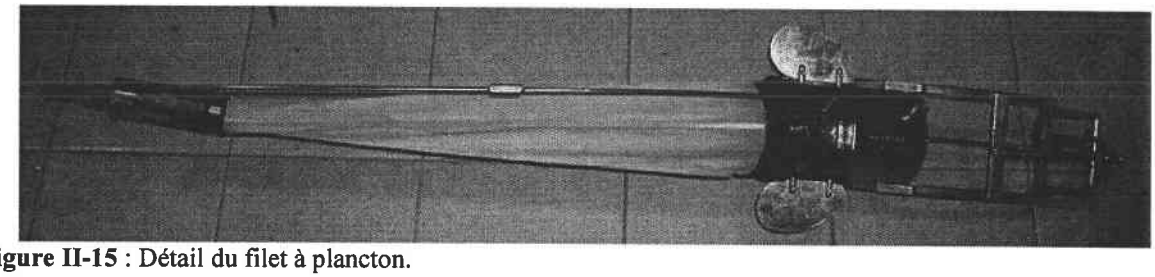


Figure II-15 : Détail du filet à plancton.

b. Les algues

b.1. Présentation des espèces d'algues vertes

b.1.1. *Cladophora* (**Figure II-16** et **II-17**)

Position systématique: Classe: Chlorophycée
Ordre: Siphonocladale
Famille: Cladophoraceae
Genre: *Cladophora*



Figure II-16. *Cladophora*

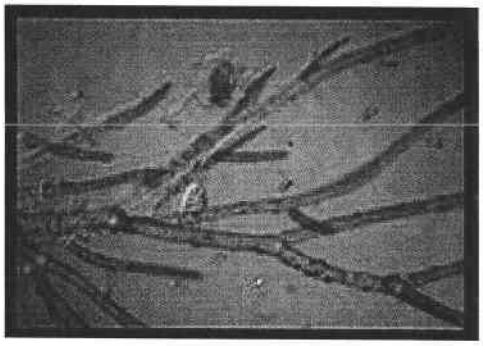


Figure II-17. *Cladophora* MO x 100

Aspect: Long filament en quenouille - **Couleur** : verte. - **Toucher** : rêche, renforcé par l'essorage. Filament fixé dans son plus jeune âge puis flottant librement.

Aspect sous loupe binoculaire: Thalles buissonnants ou sphériques. Filaments unisériés, cylindriques richement ramifiés, uniquement dressés. Le type de ramification variant en fonction de la saison et des conditions écologiques.

Ecologie: Caractéristiques des eaux dures et de pH entre 7 et 10. Aussi bien présente en courant lent que rapide.

Substrats: Pierres, galets, blocs, dalles.

b.1.2. *Oedogonium* (**Figure II-18**)

Position systématique: Classe : Chlorophycée
Ordre : Oedogoniale
Famille : Oedogoniaceae
Genre : *Oedogonium*

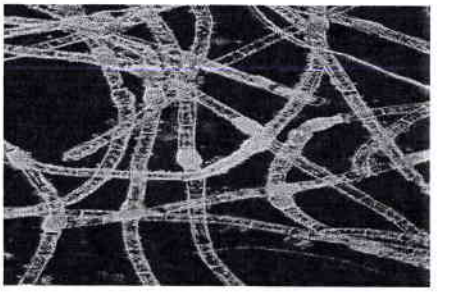


Figure II-18 : *Oedogonium* MO x 100

Aspect: Duvet fixé (jeune) - masse floconneuse flottante (adulte) - **Couleur** : jaune, vert-jaune, brun-vert. - **Longueur** : jusqu'à 30 cm. - **Toucher** : doux ou légèrement visqueux.

Aspect à la loupe binoculaire: Filaments unisériés, non ramifiés.

Ecologie: Développement maximal au printemps. Taux de croissance maximal des Oedogoniales pour des températures supérieures à 15 °C - H(cm): 1 – 40.

Substrats: Pierres, galets, dalles de ciment, végétaux.

b.1.3. *Enteromorpha intestinalis*

Position systématique: Classe : Chlorophycées
Ordre: Ulvales
Famille: Ulvaceae
Genre et espèce : *Enteromorpha intestinalis*

Aspect: Thalles en doigt de gant ou en long ruban. - **Couleur**: vert, vert-olive pâle ou vert-jaune. - **Longueur**: 30 cm et jusqu'à 150 cm. - **Odeur:** choux de bruxelle, marée. - **Toucher :** doux.

Aspect à la loupe binoculaire: Thalle tubulaire, simple ou ramifié constitué d'une seule assise cellulaire (paroi monochromatique).

Ecologie : Genre rencontré surtout en milieu marin. Caractéristique des eaux salées, des eaux saumâtres et des eaux douces polluées. Eaux lentiques ou lotiques.

Substrats: Galets.

b.2. Echantillonnage

Les macroalgues vertes filamenteuses *Oedogonium* et *Cladophora* sont collectées à la main sur les substrats rocheux, alors que les algues vertes *Enteromorpha* sont collectées en surface de l'eau. Les algues subissent une première phase de lavage sur le terrain avec l'eau du site et sont placées dans des sachets en plastique à fermeture « zippée » avant d'être transportées au laboratoire dans une glacière. De retour au laboratoire, les algues sont soigneusement lavées avec de l'eau distillée pour éliminer les matières en suspension puis sont séchées à 40°C dans des sachets en papier.

Ces espèces n'ont pas fait l'objet d'un suivi régulier, trois campagnes d'échantillonnage seulement ont été réalisées dans le but d'estimer leur niveau de contamination.

c. Les macrophytes

c.1. Présentation des espèces

***c.1.1. Potamogeton pectinatus* (Figure II-19)**

Famille : Potamogétomaceae
Genre et espèce : *Potamogeton pectinatus*



Figure II-19 : *Potamogeton pectinatus*

c.1.2. *Myriophyllum* sp. (Figure II-20)

Famille : Halorragidaceae
Genre et espèce : *Myriophyllum verticilatum*

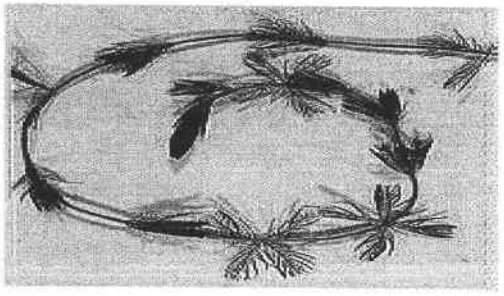


Figure II-20 : *Myriophyllum verticilatum*

c.2. Echantillonnage

Les macrophytes sont prélevés à la main dans les zones littorales d'avril à septembre en 2001 et 2002. Après un rinçage dans l'eau du site de récolte, les végétaux sont placés dans des sachets en plastique à fermeture « zippée » puis sont transportés dans une glacière. Au laboratoire les échantillons subissent un second lavage avec de l'eau distillée avant d'être séchés à 40°C dans des sachets en papier.

II.2.1.3. Les organismes animaux choisis pour leur qualité d'indicateur

L'analyse bibliographique a montré que les métaux traces sont connus pour être accumulés par les invertébrés, en particulier par une variété d'espèces de mollusques. Les mollusques aquatiques semblent refléter le niveau ambiant de contamination et sont de fait, largement utilisés comme organismes bioindicateurs, spécifiquement la moule marine *Mytilus edulis* ou son équivalent d'eau douce *Dreissena polymorpha*, mais également les unionidés et à un moindre degré les gastéropodes d'eau douce.

L'utilisation des moules en tant qu'indicateurs de contamination en cuivre et en zinc est très discutée. En effet de nombreuses études en laboratoire et sur le terrain ont mis en évidence une grande incohérence des résultats et la difficulté de discerner un schéma général de bioaccumulation des mollusques.

Parmi les organismes proposés comme indicateurs biologiques de pollution chimique en milieu dulçaquicole, les bryophytes aquatiques et les mollusques filtreurs ont particulièrement retenu l'attention en Europe. La position élevée des poissons dans les réseaux trophiques ainsi que les aspects toxicologiques et sanitaires confèrent à l'étude de l'accumulation de micropolluants dans les poissons un grand intérêt. Il existe d'importantes variations des niveaux de bioaccumulation, liées d'une part au micropolluant étudié et d'autre part au type de poisson (espèce, taille, régime alimentaire). Le régime alimentaire varie en fonction des espèces de poissons. Le niveau de bioaccumulation d'un métal ne sera pas le même pour un organisme planctophage, benthophage ou carnassier. La source alimentaire elle-même ne va pas concentrer les métaux de la même manière.

Des crustacés ont également été intégrés dans cette étude en raison de leur position dans la chaîne trophique, de leur spécificité en terme de physiologie respiratoire et de leur capacité de régulation du cuivre et du zinc.

Le **tableau II-4** synthétise les caractéristiques écologiques de chacune des espèces qui vont être décrite dans ce chapitre.

a. Les consommateurs primaires

a.1. Le zooplancton

Echantillonnage : c.f. échantillonnage du phytoplancton

a.2. Crustacés décapodes (*Atyaephyra desmarestii,* **Figure II-21)**

Position systématique: Classe: Crustacé
Sous-classe: Malacostracé
Ordre: Décapode.
Genre et espèce: *Atyaephyra desmarestii* (Millet, 1831)



Figure II-21. *Atyaephyra desmarestii*

Tableau II-4: Synthèse des données écologiques concernant les espèces étudiées (Tachet *et al.* (1996) et observations personnelles correspondant à l'habitat et l'alimentation des organismes sur les sites d'étude.

Familles	Biotope	Nourriture	Mode de nutrition	Remarques
Dreissenidae	Substrats durs. Potamon (lac).	Microflore. Microphytes.	Filtreurs ; eau libre.	Fixés au substrat (par un byssus)
Corbiculidae	Sables-graviers.	Microflore. Microphytes.	Filtreurs ; eau libre.	Fouisseurs (peut ingérer des sédiments)
Gammaridae	Variés (surtout regroupés sous les pierres et dans les anfractuosites).	Débris organiques épibenthiques; invertébrés.	Broyeurs omnivores et excessivement opportunistes.	Médiocre nageur, tendance fouisseuse.
Atyidae	Observées au niveau des herbiers de macrophytes. Sous les pierres, dans les interstices	Broute les encroûtements sur les végétaux et les pierres.	Broyeurs et omnivores.	Eau faiblement salée (littoral, effluents de mines de sel)
Astacidae	Sous les pierres, dans les anfractuosités, dans les galeries creusées	Végétaux, débris organiques, invertébrés (caridines, gastéropodes)	Omnivores	
Bithyniidae	Vase. Macrophytes. Sous les pierres.	Débris végétaux.	Brouteurs, racleurs de substrat. Détritivores	
Viviparidae	Sur les pierres ; posé sur le fond.		Brouteurs, racleurs de substrat. Détritivores	
Lymnaeidae	Macrophytes ; sur ou sous les pierres ; branches de bois flottantes.	Débris végétaux ; végétaux.	Brouteurs, racleurs de substrat. Détritivores à herbivores	Eau peu profonde
Percidae	Pleine eau	Sandre : Petits poissons, caridines. Perche : benthos, petits poissons	Carnivores Carnivores et benthophages	
Cyprinidae	Pleine eau	Brème : vers de vase, mollusques gastéropodes et bivalves. Gardon : algues, zooplancton	Benthophage Phytophage	

D'origine méditerranéenne, les caridines présentent une population très importante dans la retenue du Mirgenbach. Ceci peut s'expliquer par des températures toujours supérieures à 10 °C et pouvant atteindre 30°C l'été, mais surtout par la conductivité élevée.
Au cours de la première année d'étude, les caridines étaient capturées au niveau des roselières. A présent elles sont présentes en grand nombre dans la retenue du Mirgenbach, sous les pierres, dans les herbiers, les chevelus racinaires et en pleine eau dans les cages d'organismes transférés.

Echantillonnage
Les caridines sont prélevées en passant un troubleau dans les herbiers des berges du Mirgenbach ou en soulevant les pierres. Le troubleau est retourné au-dessus d'un jeu de tamis et est rincé soigneusement avec de l'eau du site pour récupérer les individus capturés.
Depuis peu la présence des caridines a été observée en Moselle au niveau de la station 2 d'abord puis au niveau de la station 1 amont. Toutefois comme l'espèce n'est pas présente sur toutes les stations Moselle et en quantité suffisante, elle n'a pas été étudiée en rivière, sauf au niveau de la station Mos 1. Les individus de cette station permettent d'évaluer un niveau de contamination de référence à comparer celui des individus du Mirgenbach.
Les organismes sont séparés par classes de taille avant le dosage (classes : 5-10 mm – 10-15 mm – 15-20 mm – 20-25 mm – 25-30 mm –30-35 mm) .

a.3. Mollusques gastéropodes pulmonés (*Radix ovata,* **Figure II-22**)

Position systématique:

Embranchement:	Mollusque
Classe :	Gastéropode
Sous-classe:	Pulmoné
Famille :	Lymnaeidae
Genre et espèce:	*Radix ovata* (Draparnaud, 1805)

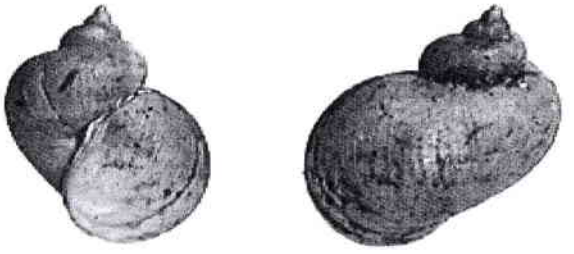


Figure II-22 : *Radix ovata*

Echantillonnage
Les limnées ont été collectées une à une à la main au niveau des herbiers et des roches immergées à faible profondeur, et ce au niveau des stations Mos1, Mos2, et Mos 3. Ce gastéropode étant absent dans la retenue du Mirgenbach.
Les classes de taille prélevées sont 5-11 mm – 11-13 mm – 13-16 mm - 16-19 mm mais toutes ne sont pas présentes à chaque prélèvement.
En période hivernale, les limnées sont peu ou pas présentes sur les sites d'étude.

a.4. Mollusques gastéropodes prosobranches (*Viviparus viviparus,* **Figure II-23**)

Situation systématique: Embranchement: Mollusque
Classe : Gastéropode
Sous-classe: Prosobranche
Famille : Viviparidae
Genre et espèce: *Viviparus viviparus* (Linné, 1758)



Figure II-23 : *Viviparus viviparus*

Viviparus est un gastéropode facilement identifiable de part les caractéristiques de sa coquille. Brouteur et racleur de substrat, il est présent à la surface des roches et des sédiments. Il est également le plus gros gastéropode disponible sur les stations d'étude, ce qui fait de lui un support d'étude intéressant car contrairement aux limnées ou aux bithynies qui nécessitaient la constitution de lots pour obtenir un poids sec suffisant, un individu permet de réaliser un dosage.

Echantillonnage

Les gastéropodes ont été prélevés à la main sur les rochers ou à la surface du sédiment sur les stations Mos1, Mos2 et Mos3, en 2001 et 2002 à chaque fois que cela était possible. En effet, ces organismes sont rares ou absents durant la période hivernale et non accessibles en automne car le niveau d'eau est trop haut. En outre, ils sont absents de la retenue du Mirgenbach.

a.5. Mollusques lamellibranches

a.5.1. ***Les mollusques lamellibranches fixés*** (*Dreissena polymorpha,* **Figure II-24**)

Dreissena polymorpha est un organisme typique du milieu d'eau douce et il est abondant sur les sites d'étude du fait de sa capacité invasive.

Position systématique : Embranchement: Mollusque
Classe: Bivalve
Sous-classe: Hétérodonte
Ordre: Eulamellibranche
Super-famille : Dreissenoidae
Famille: Dreissenidae
Genre et espèce: *Dreissena. polymorpha (Pallas 1771)*



Figure II-24 : *Dreissena polymorpha*

La coquille des dreissènes est de forme variable, globalement mytiliforme et zébrée de bandes en Z irrégulières, noires sur fond crème. La dreissène est originaire des bassins de la mer Caspienne et de la mer Noire. Par ailleurs la biologie de *Dreissena polymorpha* est caractérisée par un mode de vie fixe, une nutrition par filtration et un grand effort de reproduction. Les deux premières propriétés confèrent à l'animale des avantages certains pour son utilisation dans des études d'écotoxicologie.

Echantillonnage

Pour l'ensemble des expériences, des lots de dreissènes les plus homogènes possibles ont été utilisés pour limiter la variabilité intra-échantillon. Un prélèvement est constitué de plusieurs classes de taille (14-18 mm ; 18-22 mm, 22-26 mm ; 26-30 mm ; 30-34 mm), en essayant à chaque fois de prélever un lot d'individus dans un maximum de ces classes ; la classe de taille 18-22 mm n'est pas accessible toute l'année et sur toutes les stations.

La moule zébrée colonise tous les substrats durs, avec des préférences marquées pour les surfaces rocheuses. Après les prélèvements, les pierres sont remises dans leur position initiale dans un souci de limiter les perturbations du biotope.
Dans la Moselle, les remblais constituent des biotopes privilégiés. Les dreissènes se trouvent souvent sur la face inférieure des pierres, à l'abri des prédateurs que sont principalement les canards, les rats, la carpe, la brème.
Le prélèvement s'effectue en coupant, à l'aide d'un scalpel, le byssus de fixation. Les animaux récoltés sont rincés soigneusement, placés dans des flacons en polyéthylène remplis d'eau du site puis placés dans une glacière pour le transport. Un volume d'eau important est nécessaire pour assurer une oxygénation suffisante jusqu'au laboratoire.

Les manipulations en laboratoires seront décrites ultérieurement.

Remarque : Compte tenu de la grande variabilité de taille des individus autochtones en fonction des sites, il n'a pas été facile de disposer d'échantillons homogènes et constants.
C'est pourquoi lors des prélèvements, la classe de taille des organismes prélevés sera mentionnée lors de la présentation des résultats. Pour ces mêmes raisons, le nombre d'individus prélevés n'est pas constant au cours de l'étude, mais est il toujours supérieur à 8.

a.5.2. *Les mollusques lamellibranches fouisseurs* (*Corbicula fluminea,* **Figure II-25**)

Position systématique :

Embranchement:	Mollusque
Classe:	Bivalve
Ordre:	Eulamellibranche
Sous-ordre:	Heterodonta
Super-famille :	Corbiculacea
Famille:	Corbiculidae
Genre et espèce	*Corbicula. fluminea*

Les individus rencontrés dans la partie française de la Moselle appartiennent aux deux espèces *C. fluminea* et *C. fluminalis* (Bachmann *et al.*, 1995). Toutefois, seule l'espèce *C. fluminea*, présente sur toute les stations d'étude en Moselle, a été intégrée à l'étude.

Caractéristiques de l'espèce

Morphologie externe

Corbicula fluminea présente une coquille extérieurement jaune-verdâtre. La forme globale de la coquille parait plus ovale chez *C. fluminalis* alors qu'elle apparaît plutôt trigone chez *C. fluminea.* En dehors de ce critère distinctif les striations externes de la coquille sont une bonne marque de différenciation: elles sont espacées et profondes chez *C. fluminea* alors qu'elles apparaissent beaucoup plus nombreuses et moins marquées chez *C. fluminalis.*
Pour les individus de petite taille (H< 8 mm) la couleur de la coquille, très claire chez C. *fluminea* est un bon signe distinctif.

Répartition géographique

La répartition naturelle des espèces actuelles de corbicule s'étend aux régions tropicales et subtropicales des continents asiatique, africain, australien et à la Nouvelle-Guinée (Zadhin, 1965). En France le genre *Corbicula* a été signalé dans de nombreuses rivières comme la Dordogne (Mouthon, 1981) et très récemment dans la Moselle (Bachmann, 2000).

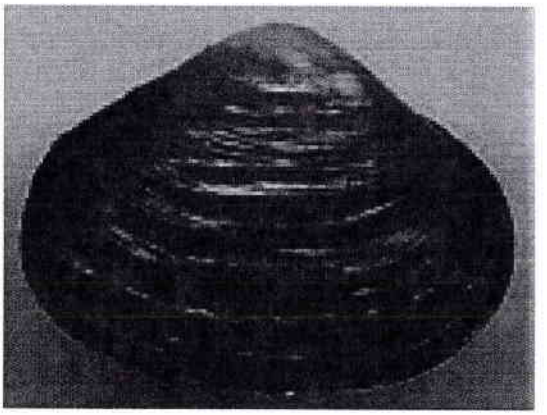


Figure II-25 : *Corbicula fluminea*

Aspect écologique (**Tableau II-5**)

C. fluminea est une espèce lotique préférant les eaux douces bien oxygénées (Haesloop, 1992) dont la salinité ne dépasse pas 2 $^{0}/_{00}$.

D'après Mac Mahon (1983), une partie du caractère invasif de *Corbicula* réside dans son fort taux de croissance.

Les corbicules se nourrissent de phytoplancton qu'elles filtrent au niveau des branchies. Selon, Bachmann (1995), les corbicules peuvent également ingérer une quantité non négligeable de sédiments en formant un cordon alimentaire à partir du pied. Bien que les corbicules puissent coloniser une grande variété de substrats allant des cailloux grossiers à la vase, le maximum de densité est atteint dans des sables grossiers ou dans un mélange sable-gravier (Belanger *et al.*, 1985; Bachmann *et al.*, 1995; Bachmann *et al.*, 1997)

Tableau II-5 : Caractéristiques biologiques de *Corbicula fluminea.*

Paramètres	***C. fluminea***
Maturité	Quelques mois
Taille adulte	6 – 10 mm
Durée de vie	2 à 3 ans
T° C minimale létale	2° C (French & Schloesser, 1991)
Réduction de la filtration	T°C > à 25 °C
T° C létales supérieure	35 à 40 ° C

Echantillonnage

Les organismes sont prélevés dans des zones peu profondes à la main ou à l'aide d'une pelle à sédiments. Un prélèvement contient plusieurs classes de taille allant d'environ 1 à 3 cm.

Les individus sont stockés dans des bidons de 2L en polyéthylène. Le transport jusqu'au laboratoire s'effectue dans une glacière.

Il est important de s'assurer que la quantité d'eau dans les bidons apporte une bonne oxygénation des organismes pendant le transport.

Les organismes prélevés sont séparés avant dosage par classe de taille (5-10 mm – 10-15 mm-15-20 mm – 20-25 mm – 25-30 mm –30-35 mm)

Les corbicules, bien représentées dans les sédiments des stations Moselle, ont fait l'objet d'un suivi mensuel sur les stations Mos 1, Mos 2, Mos 3 entre novembre 2000 et décembre 2002.

Au niveau du Mirgenbach, aucun individu vivant n'a pu être collecté lors des dragages malgré une présence signalée par V. Bachmann (communication orale). Des coquilles vides ont cependant été récoltées lors de la vidange partielle.

b. Les consommateurs secondaires

b.1. Crustacés amphipodes (*Dikerogammarus villosus,* **Figure II-26**)

Position systématique:

Embranchement:	Arthropode
Classes:	Crustacé
Sous-classe:	Malacostracé
Ordre:	Amphipode
Famille:	Gammaridae
Genre et espèce:	*Dikerogammarus villosus* (Sovinski, 1894)

Certains auteurs ont utilisé plusieurs espèces de crustacés amphipodes pour tester la toxicité létale ou sublétale des sédiments (Ankley *et al.*, 1989, Borgmann & Munawar 1989, Bondorff *et al.*, 1990).

Dans le cadre d'une étude portant sur l'évaluation de la toxicité d'extraits de sédiments chez deux espèces de crustacés dont *Gammarus gauthieri Pinkster (1971)* (amphipode), il a clairement été mis en évidence la sensibilité des gammares au niveau de pollution des sédiments (Fadil *et al.*, 1997). Le test " *G. gauthieri*" réalisé dans cette étude est très proche du test "*G. pulex*" pratiqué par Sloof *et al.* (1983) pour l'évaluation de la toxicité létale à court terme (CL 50 24 H) des micropolluants organiques et minéraux.

Les gammares sont des organismes détritivores épibenthiques doués d'une grande activité natatoire au niveau de l'interface eau / sédiment, entraînant une certaine bioturbation qui peut expliquer leur sensibilité. L'espèce présente sur les sites d'étude est *Dikerogammarus villosus*, une espèce invasive, qui de fait possède des qualités de tolérance importante.

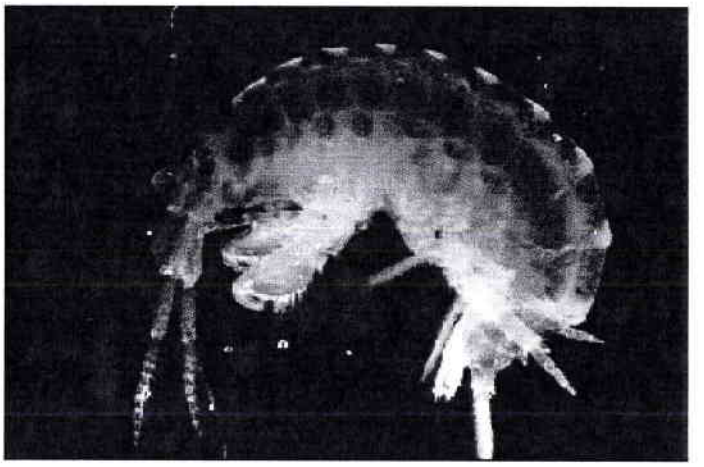


Figure II-26 : *Dikerogammarus villosus*

Echantillonnage

Une partie des gammares a été prélevée en même temps que les caridines en passant un troubleau dans les herbiers des berges du Mirgenbach. Le troubleau est retourné au-dessus d'un jeu de tamis et rincé soigneusement avec de l'eau du site pour récupérer les individus capturés. Une autre partie des gammares provient des collectes réalisées à la main soit dans l'eau peu profonde sous les pierres (associé aux dreissènes) soit dans les cages de transfert.

Au niveau des herbiers, seuls des individus de petite taille < à 0.5 cm sont collectés alors qu'au niveau des pierres, les individus de grande taille sont plus abondants.
Un échantillon prélevé sur le terrain regroupe plusieurs classes de taille, car il est difficile d'effectuer un tri sur site, les organismes sont donc séparés par classe de taille avant le dosage (classes : 5-10 mm – 10-15 mm – 15-20 mm – 20-25 mm – 25-30 mm – 30-35 mm). La taille des lots de gammares est variable, ce, en fonction de la taille des individus collectés.

Les gammares étant très bien représentés au niveau des sites d'études, ils ont fait l'objet d'un suivi mensuel sur les stations Mos 1, Mos 2, Mos 3 et Mir L entre novembre 2000 et décembre 2002.

b.2. Crustacés décapodes astacidés (*Orconectes limosus,* **Figure II-27**)

Position systématique: Embranchement : Arthropodes
Classe : Crustacés
Ordre : Décapodes
Famille : *Astacidae*
Genre et espèce : *Orconectes limosus* (Rafinesque, 1817)

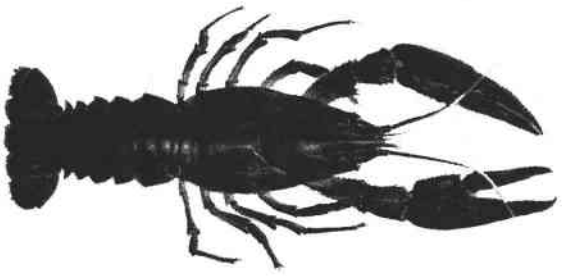


Figure II-27. *Orconectes limosus*

Cette écrevisse est une espèce invasive qui a conquis le continent européen grâce à l'homme; en voulant en faire l'élevage, il a favorisé son développement excessif, au point de lui permettre de prendre la place des autres espèces d'écrevisses autochtones. En France, elle a été introduite en 1911 et depuis, elle a gagné une grande partie du territoire.
Au fil des ans, elle a supplanté l'écrevisse à pieds blancs (*Austropotamobius pallipes*) et l'écrevisse à pieds rouges (*Astacus astacus*). L'écrevisse américaine est plus résistante aux maladies et aux pollutions. Elle se pare d'une couleur verte olivâtre et présente des tâches marron sur l'abdomen. Elle aime les eaux calmes et profondes. Elle s'accommode d'eaux de qualité médiocre voire polluées. Elle peut également résister plusieurs heures à l'absence d'oxygène.

Elle est presque exclusivement omnivore et mange des larves d'insectes, des mollusques, des œufs de poissons, des poissons malades ou morts, et, spécialement les jeunes, des racines de macrophytes aquatiques (Renoncules).

Echantillonnage

La collecte des écrevisses a eu lieu seulement pendant 4 mois seulement mais des captures ponctuelles ont permis de bénéficier d'échantillons complémentaires.
Plusieurs tentatives de capture ont été réalisées à l'aide de nasses, et de balances posées la nuit avec différents types d'appâts (poisson mort, viande, pain), mais aucune n'a été concluante.

Les écrevisses ont donc été prélevées à la main ou à l'aide d'une canne, de nuit, avec un appât sur les stations Mos1, Mos2, Mos3 et Mir L.
La taille, la période de collecte et le nombre d'individus analysés seront précisés dans les tableaux de résultats.

b.3. Poissons cyprinidés (Abramis brama et Rutilus rutilus, **Figure II-28** *et* **II-29** *respectivement)*

Position systématique:	Embranchement:	Vertébré.	
	Classe:	Osteichtyen	
	Sous-classe:	Actinoptérygien	
	Ordre:	Cypriniforme	Cypriniforme
	Famille:	Cyprinidé	Cyprinidé
	Genre et espèce :	*Abramis brama*	*Rutilus rutilus*
	Régime alimentaire :	**Benthophage**	**Phytophage**

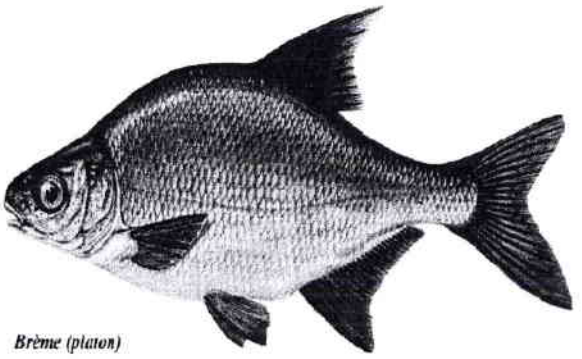


Figure II-28 : *Abramis brama*

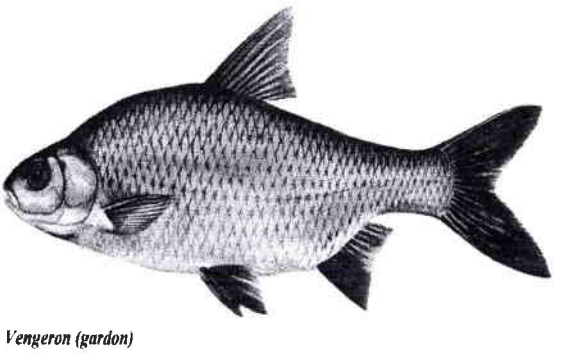


Figure II-29 : *Rutilus rutilus*

Généralités

La pénétration d'une substance chimique dans le poisson peut s'effectuer par deux voies principales, la voie respiratoire (branchiale et secondairement cutanée) et la voie digestive. Le poisson absorbe le polluant par ingestion de proies elles mêmes contaminées, ce qui peut donner lieu a des phénomènes d'accumulation de contaminant dans certains organes (organotropisme des polluants).

Il existe d'importantes variations dans le niveau de bioaccumulation, en liaison d'une part avec la nature du micropolluant et d'autre part avec le type de poisson (espèce, taille, habitat, régime alimentaire). Ainsi, le niveau de bioaccumulation d'un métal ne sera pas le même pour un organisme planctonophage, benthophage ou carnassier d'où le choix des espèces étudiées. La nature de la ressource alimentaire influence également le niveau de contamination.

La bioaccumulation varie en fonction des organes étudiés et de leurs fonctions physiologiques. Les organes de métabolisation et d'excrétion (foie, rein) présentent des propriétés accumulatrices de micropolluants d'ailleurs mises en évidence lors d'une étude de la contamination métallique réalisée sur la retenue du Mirgenbach (Mersch *et al.*, 1993). Le muscle présente, en général de faible taux de cuivre et de zinc (cf. analyse bibliographique), cependant, c'est la partie du poisson qui est consommé par l'homme et le muscle est dominant

en masse par rapport à l'organisme entier. Notre étude portera par conséquent sur les organes foie, rein, rate et muscle.

Caractéristiques

La brème

Caractères : Le corps est haut et comprimé. L'identification des brèmes est réalisée à partir des dents pharyngiennes qui sont sur une seule rangée.
Taille : La taille est généralement de 30 à 40 cm pour un poids de 0.500 à 2 kg.
Habitat, mœurs et alimentation: La brème est très commune dans l'eau stagnante ou à courant lent, avec sol argileux ou vaseux. Les poissons les plus âgés se tiennent surtout au-dessus d'un fond nu et mangent la larve rouge des chironomidés, *pisidium* et des vers, par exemple des tubifex. Les débris de plantes et la vase ingurgités en même temps que le benthos sont recrachés. En eau trouble, ou dans les lacs surpeuplés, la brème est souvent contrainte de compléter cette nourriture par du plancton. Cependant, les contenus digestifs ont également révélé la présence de coquille de dreissènes chez certains individus et d'algues vertes.

Le gardon

Caractères : Les yeux sont rougeâtres et la ventrale est située au dessus du bord antérieur de la dorsale. L'arête du corps entre les ventrales et l'anus n'est pas tranchante comme chez le rotengle
Taille : En général le gardon mesure 25 cm pour un poids de 200g et un âge de 7 à 12 ans.
Habitat et moeurs: C'est un des poissons les plus communs et les plus répandus dans les lacs..
Alimentation : La nourriture est en partie animale (larves d'insectes, mollusques, crustacés tel que le gammare, et en partie végétale (plantes flétries, débris d'*Elodeas*, *Myriophyllum*, lentilles d'eau, *Charas* ou « gazons de diatomées qui recouvre les roseaux, les souches ou les pierres. Dans les poissons disséqués, les contenus digestifs étaient cependant dominés par les végétaux.

Echantillonnage

Les poissons sont prélevés lors des campagnes de pêche organisées dans le cadre du suivi ichtyologique de la retenue du Mirgenbach. Les engins de captures sont de type passif, a savoir, des filets verticaux de mailles différentes (10, 20, 30, 40, 50, et 60 mm).

Lors de campagnes réalisées en 1999, des dosages du Cu et du Zn ont été réalisés sur des organes de Perches, Sandres, Gardons, et Brèmes, espèces les plus représentées à l'époque. Les populations ayant évoluées, les seuls adultes capturés en nombre suffisant en 2000, 2001 et 2002 ont été les brèmes.

La dissection des organismes a eu lieu sur le terrain, si cela était possible. Les organes, après dissection, (foie, rate, rein et muscle) ont été placés, dans des petits tubes en plastique transparent, et transportés dans une glacière. Lorsqu'il s'agit de poissons entiers, ils sont placés dans une glacière avec beaucoup de glace, pour le transport et congelés une fois de retour au laboratoire. La dissection a alors lieu ultérieurement au laboratoire.

En Moselle, les poissons (exclusivement des brèmes) ont été collectés avec l'aide du CSP (pêche électrique) au cours d'une campagne de prélèvement les 26 et 27 juin 2001 à Uckange (Station amont) et Berg sur Moselle (Mos3 aval). Une seconde campagne de prélèvement a été réitérée en 2002, mais seuls des chevaines ont pu être capturés et les résultats ne seront pas présentés.

c. Les consommateurs tertiaires

Les poissons percidés (*Perca fluviatilis* et *Lucioperca lucioperca)* sont présentés **Figure II-30** et **II-31** respectivement)

Position systématique :	Embranchement:	Vertébré	
	Classe :	Osteichtyen	
	Sous-classe :	Actinoptérygien	
	Ordre	Perciforme	Perciforme
	Famille :	Percidé	Percidé
	Genre :	*Perca*	*Lucioperca*
	Espèce :	*fluviatilis*	*lucioperca*
	Régime alimentaire :	**Carnassier, Benthophage**	**Carnassier**



Figure II-30 : *Perca fluviatilis*

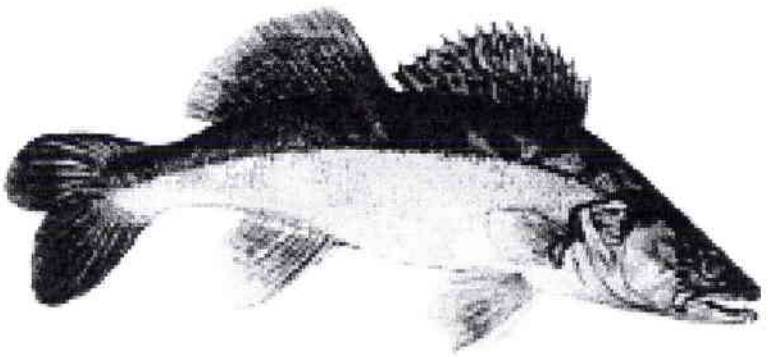


Figure II-31 : *Lucioperca lucioperca*

Caractéristiques

La Perche

Caractères : Le corps est élevé, le dos un peu bossu. La première dorsale présente de 13 à 15 rayons épineux et porte une tache noire postérieure. L'opercule se termine par une forte épine.
Taille : A 8-10 ans, la perche mesure près de 25 cm et pèse environ 0.2 kg ; ces organismes peuvent toutefois atteindre les 50 cm pour un poids de 3.5 kg.
Habitat : La perche est un habitant typique des lacs et étangs bien oxygénés de faible altitude.
Mœurs : La perche est un poisson relativement sédentaire vivant souvent en bancs d'individus d'âge et de taille différente.
Alimentation : La nourriture consiste principalement en des larves d'insectes, des crustacés d'eau douce, de jeunes écrevisses et occasionnellement des œufs de poissons. Les grandes

perches sont des chasseurs solitaires qui mangent des petits gardons, brèmes, etc.

Le Sandre

Caractères : Corps élancé. L'opercule ne présente pas d'épines. La bouche est armée de nombreuses dents, au milieu desquelles, se situe une grande « canine ». La dorsale, épineuse, comporte de 13 à 15 rayons, et est marquée de points foncés. Toutefois, elle ne présente pas de grande tâche noire près du bord postérieur.

Taille : A 5-6 ans, le sandre mesure de 35-55 cm et pèse environ 1 kg.

Habitat : De part sa grande exigence, la distribution du sandre n'est pas aussi vaste que celle de la perche. L'espèce est principalement rencontrée dans de grands ou assez grands lacs, plutôt chaud et ayant de bonnes conditions d'oxygénation. Il prospère essentiellement dans des eaux troubles, où il n'est pas en compétition avec le brochet, et où il peut s'emparer des proies sans être vu.

Alimentation : Le sandre se nourrit de brèmes, de gardons, de perches, etc.

Echantillonnage

Voir échantillonnage des brèmes et gardons (b.3. poissons cyprinidés).

***d. Les détritivores (Bithynia tentaculata*, Figure II-32)**

Position systématique: Embranchement: Mollusque
Classe: Gastéropode
Sous-classe: Prosobranche
Genre et espèce: *Bithynia tentaculata*

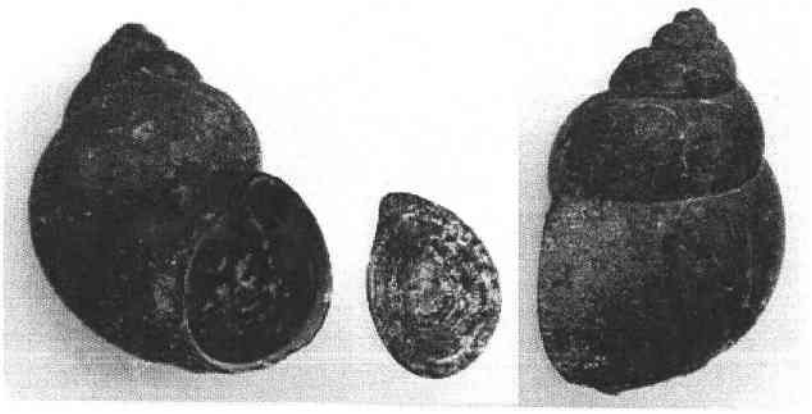


Figure II-32 : *Bithynia tentaculata* (avec opercule)

Echantillonnage

Les bithynidés ont été capturés en même temps que les caridines et les limnées, le plus souvent sous les pierres à très faible profondeur. Très peu de prélèvements ont pu être réalisés car l'espèce est peu abondante sur les sites d'étude. Mentionnons que ces organismes sont de très petite taille et qu'il est nécessaire d'en prélever un grand nombre pour pouvoir effectuer une analyse.

II.2.1.4. Synthèse des études des compartiments abiotiques et biotiques par station (**Tableau II-6 et II-7**)

Tableau II-6 : Récapitulatif des compartiments abiotiques suivis au cours de l'étude en fonction des stations

	Mos1, 2 et 3	**Mir 1**	**Mir inj**	**Mir M**	**Mir rep**	**Mir L**	**Périodicité**
Eau brute	•	•	•	•	•	•	Mensuelle
Eau filtrée	•			•			Trimestrielle
Sédiments	•	•	•	•	•	•	Bisannuelle
Matières décantées (Mir M)				•			Mensuelle
Matières décantées du CRF (C1 et C2)							Biannuelle

Tableau II-7 : Récapitulatif des compartiments biotiques autochtones suivis au cours de l'étude en fonction des stations

	Mos1	Mos2	Mos3	Mir	Périodicité
Zoo et phytoplancton				•	Mensuel
Algues vertes	•			•	3 campagnes
Macrophytes	•	•	•	•	Printemps à automne
Caridines	•			•	Mensuel
Gammares	•	•	•	•	Mensuel
Dreissènes	•	•	•	•	Mensuel
Corbicules	•	•	•	Absent	Mensuel
Limnées	•	•	•	Absent	Printemps à automne
Vivipares	•	•	•	Absent	Printemps à automne
Bithynies	•		•	•	Ponctuel
Ecrevisses	•	•	•	•	Sur 4 mois + ponctuel
Brèmes	•		•	•	2 campagnes par an
Gardons				•	1 campagne
Sandres				•	1 campagne
Perches				•	1 campagne

II.2.2. les organismes retenus en biosurveillance active

La technique de transfert des organismes repose sur l'introduction d'organismes dans des enceintes closes, permettant des échanges importants avec le milieu environnant et pouvant être transplantés dans différents sites, choisis notamment en fonction de leur intérêt écotoxicologique et de leur compatibilité avec les espèces retenues. Parmi les espèces pouvant être envisagées les mollusques filtreurs présentent de nombreux avantages (déplacement réduits, intégration des voies de contamination directe et trophique, durée de vie assez longue, dissection aisée, compatibilité avec la stabulation et les conditions de laboratoire). Les mollusques filtreurs *D. polymorpha* et *C. fluminea* ont été choisis parce que d'une part leurs équivalents autochtones existent déjà sur les stations d'étude, ce qui permet de réaliser une étude comparée et que d'autre part, ces organismes dits « invasifs » peuvent être prélevés en quantité importante et sont disponibles quasiment toute l'année.

Les organismes transférés proviennent de stations dites neutres (exemptes de pollution métallique) ou témoin. Le choix des sites de prélèvement s'est porté sur la rivière Meuse, au niveau de Commercy pour les dreissènes et sur une station en Moselle au niveau du plan d'eau du Saulcy à Metz, pour les corbicules. Ces deux sites présentent des niveaux faibles de contamination en cuivre et en zinc (**tableau II-8**) et des populations importantes pour les deux espèces.

Tableau II-8 : Présentation des niveaux de contamination en cuivre et en zinc en µg/l mesurés dans l'eau brute des stations Commercy, Saulcy et Madine.

	Cuivre (µg/l)	Zinc (µg/l)
COMMERCY	2,3 +/- 1,3	2,5 +/- 0,7
SAULCY	6,4 +/- 3,7	7,4 +/- 2,2
MAD	3 +/- 2	4,6 +/- 2,2

Méthode utilisée

Première étape : Les organismes sont récoltés au nombre de 1080 afin de fournir des lots de 12 organismes × 5 stations sur 12 mois soit 720 organismes auxquels s'ajoute un stock de sécurité de 360 individus. Les organismes collectés sont placés dans des glacières remplies d'eau du site pour le transport jusqu'au laboratoire.

1er Contrôle : Un échantillon de 12 individus est prélevé à part pour contrôler après 24h de purge les niveaux de contamination des organismes sur leur site d'origine. De même un échantillon d'eau brute est prélevé sur les deux sites de récolte : Commercy et Saulcy.

Deuxième étape : Au laboratoire les organismes sont rincés avec de l'eau déchlorée, puis triés c'est à dire répartis dans 5 bacs (un pour chacune des 5 stations de transfert) en PVC avec un système de bullage en s'assurant que chacun des bacs contient un échantillon homogène de la population de départ (même nombre d'individus dans chaque bac et même répartition des classes de taille). Les organismes subissent une purge d'une semaine dans une eau de source de marque « cristalline » dont la composition est fournie par le **Tableau II-9**.

Tableau II-9 : Composition chimique de l'eau de source utilisée dans les bacs de purge des organismes

Calcium (mg/l)	6.4	Bicarbonates (mg/l)	20.0
Magnésium (mg/l)	1.2	Sulfates (mg/l)	5.0
Sodium (mg/l)	3.0	Chlorures (mg/l)	3.0
Potassium (mg/l)	0.5	Nitrates (mg/l)	4.0
Extrait sec à 130°C : 30 mg/l		pH: 6.5	

2ème contrôle : Un échantillon de 12 individus est prélevé avant le transfert des organismes sur les stations afin d'analyser les concentrations résiduelles en Cu et Zn. Le niveau de contamination mesuré constitue la référence pour les individus transférés au temps To.

Troisième étape : Les organismes sont transférés sur les stations d'étude du Mirgenbach Mir M et de la rivière Moselle : Mos1, Mos2 et Mos3.

Les deux espèces sont placées dans des cages rectangulaires ajourées en polypropylène non teinté et disposant d'un couvercle à clips.

- Pour les dreissènes, les cages sont garnies à l'intérieur d'un grillage en plastique vert de maille 2 mm et le fond est garni de carrelages qui permet leur fixation (**Figure II-33.a**). Les cages reliées à une corde sont installées à mi-profondeur d'eau aux différentes stations. Chaque mois 12 organismes transférés sont récoltés sur chaque station d'étude du Mirgenbach et de Moselle.

- Pour les corbicules, le fond des cages et les côtés jusqu'à mi-hauteur sont couverts d'un plastique épais fixé par du fil de fer plastifié (**Figure II-33.b**). Ce plastique épais à pour rôle de maintenir le sédiment à l'intérieur de la cage. Le sédiment placé dans les cages est un mélange de sable-gravier provenant du site d'origine des organismes et de sédiments plus fins provenant du futur site de transfert. Les cages reliées à une corde sont immergées et reposent sur le sédiment. Les prélèvements de 12 organismes transférés sont effectués tous les mois en même temps que la récolte d'organismes autochtones.

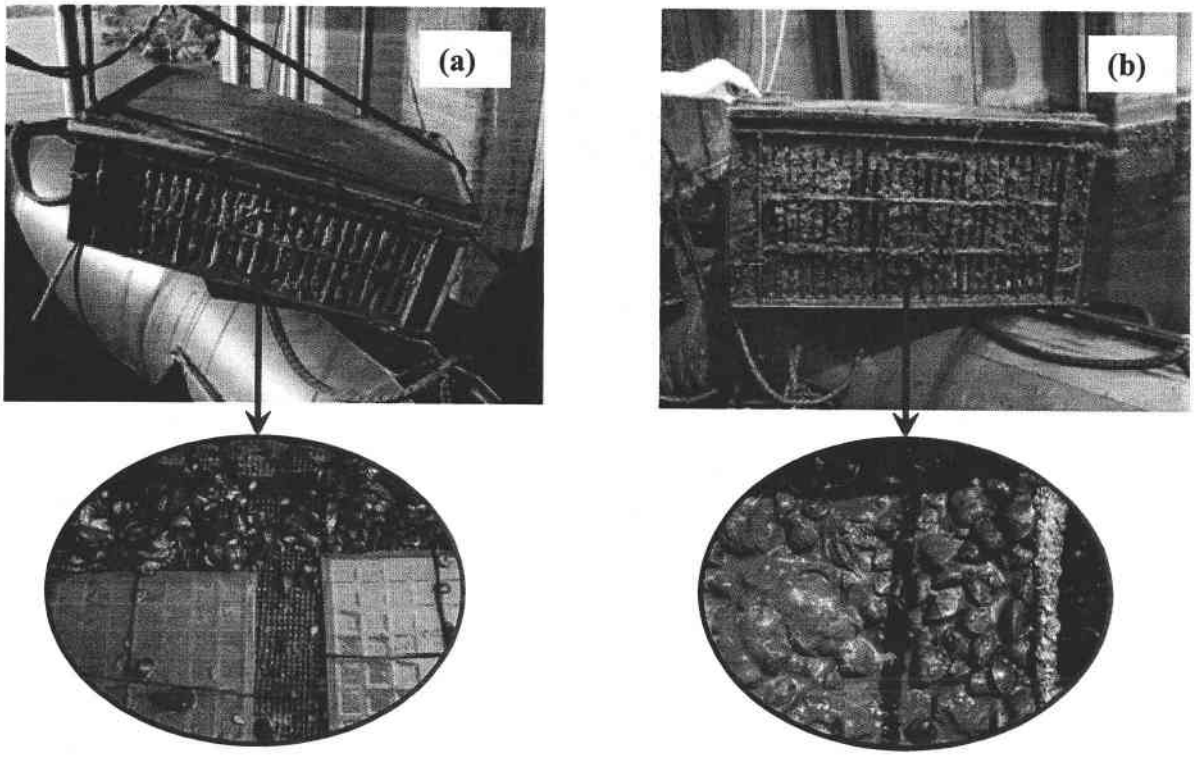


Figure II-33 : Détail des cages pour le transfert des dreissènes (a) et des corbicules (b)

Station de transfert de référence : Afin de détecter un possible effet d'encagement et de disposer de valeurs de référence, le lac de la Madine a été retenu comme station de référence. Des dreissènes autochtones du lac de la Madine ont été prélevées, placées dans des cages et replacées sur le lac de la Madine. Chaque mois 12 individus sont collectés pour analyse et les concentrations métalliques sont contrôlées dans l'eau.

Durée du transfert : Les organismes sont transférés pour une durée prévue au départ de 12 mois, mais en pratique la durée de ce transfert n'excède que rarement six mois, et ce pour les raisons suivantes :

- Les crues en rivière Moselle.
- La dégradation des cages par un tiers.
- La mort des organismes après les périodes de reproduction.
- La variation brutale des températures.
- L'existence de fleurs d'eau à cyanobactéries pour la retenue du Mirgenbach.
- La navigation (péniche de grand gabarit) provoquant un batillage conséquent.

Chaque fois que les organismes transférés meurent sur une station, un nouveau transfert est initialisé sur toutes les stations. Toutefois en automne et en hiver, les conditions hydrologiques limitent l'accessibilité aux populations de bivalve et il est impossible de prélever les 1080 organismes nécessaires à un nouveau transfert.

Chapitre III. Méthodes analytiques

III.1. Les compartiments abiotiques

III.1.1. Traitement des échantillons

III.1.1.1. L'eau brute et l'eau filtrée

L'eau brute ne nécessite aucun traitement préalable avant la minéralisation pour le dosage des métaux totaux. La fraction soluble et la fraction particulaire des métaux sont séparées par filtration de l'eau brute sur filtre HPLV 0.45 µm, rincé au préalable avec de l'eau acidifiée à 5% (HNO_3 qualité normapure, 96%). Le filtrat est acidifié à 1% HNO_3 (96%, qualité normapur), puis conservé au froid, à 4°C, avant dosage. La proportion de cuivre et de zinc fixée sur les MES sera déduite à partir de la soustraction entre la concentration totale de métaux dans l'eau brute et celle mesurée dans le filtrat. La fraction de métaux particulaires peut également être déterminé en minéralisant les filtres chargés des MES, mais cette technique pose le problème de la contamination des filtres, notamment pour le zinc.

III.1.1.2. Matières décantées

III.1.1.2.a. Les matières décantées du sédimentomètre

De retour du terrain, le sédimentomètre est placé en chambre froide à 4°C, jusqu'à complète décantation des MES (environ 3 jours). L'eau surnageante est alors siphonnée à l'aide d'une trompe à eau.

Le culot obtenu est homogénéisé puis transvasé dans une éprouvette graduée en polypropylène préalablement nettoyée à l'acide technique pur et rincée à l'eau distillée. Le sédimentomètre est rincé plusieurs fois avec de l'eau nanopure pour récupérer la totalité des MES qu'il contient et l'eau de rinçage est ajoutée au contenu de l'éprouvette. Dans l'éprouvette, le culot subit alors une seconde phase de décantation, et ceci jusqu'à volume constant. Cette étape nous permettra de connaître le volume de sédiment frais dans le lac entre la pose et le relevé du sédimentomètre. L'eau surnageante est aspirée à nouveau et le poids frais des sédiments est déterminé.

III.1.1.2.b. Les matières décantées du circuit de refroidissement

Les échantillons collectés dans le CRF sont traités comme des sédiments. A partir de cette étape tous les types de sédiment seront traités de la même manière.

III.1.1.3. Les sédiments

Les différentes phases de traitement des sédiments avant minéralisation ont été effectuées selon la norme NF T 31-151 et sont décrites ci-dessous :

1. Les sédiments sont séchés à 50 ° C dans des cristallisoirs en verre préalablement décapés à l'acide technique pur.
2. Broyage au mortier du sédiment sec jusqu'à homogénéisation de l'échantillon.
3. Tamisage de l'échantillon sur un tamis de maille 2 mm : Les tamis sont constitués d'un cadre en plastique et d'un maillage de nylon.
4. Pesée de 2 fois 1 g de matière sèche.
5. Minéralisation (cf. minéralisation et dosage).

III.1.2. Minéralisation

Le **tableau II-10** synthétise les techniques de minéralisation utilisées pour les compartiments abiotiques.

Tableau II-10: Protocole de minéralisation.

	Minéralisation			Dosage	Résidus de minéralisation
Filtrat	Acidification à 1% (v/v) avec HNO_3 à 36 %.			SAA four/ Flamme.	
Eau brute	Acidification à 2 % (v/v) avec HNO_3 à 36 %.			SAA four / flamme.	
Animaux Végétaux	Acidification avec 3 ml HNO_3 (36%). / Acidification avec 4.5 ml HNO_3 (36%).	Echantillons placés 24 H en étuve à 60 ° C ; portoirs sous pression.	Après refroidissement, Volume ajusté à 19 ml avec de l'eau nanopure.	SAA four / flamme.	Lipides. Lignine.
Sédiments	Acide fort 10 ml HNO_3 36%. Agitation 24 h puis décantation.	Surnageant + 10 ml HNO_3 36 % + 10 ml $HClO_2$ 35%. Agitation 24 H.	Réunion des 2 surnageants. Réduction à 250°C et Extension du volume à 50 ml avec HNO_3 4%.	SAA Four avec ajouts dosés pour évaluer l'effet matrice.	NORME NF T 31-151

III.1.3. Etude de la spéciation des métaux par extraction séquentielle

A l'issue des travaux réalisés sur le comportement du cuivre (circulation, toxicité...) au niveau de la retenue du Mirgenbach et de la Moselle, il apparaît que l'étude des métaux (notamment du cuivre provenant de la corrosion des condenseurs en laiton du CNPE de Cattenom) nécessite une détermination de leur état de spéciation. En effet, l'identification de la source de la contamination et la teneur totale en métaux ne fournissent qu'une estimation incomplète des risques liés à cette pollution : la mobilisation, le transport, la biodisponibilité et la toxicité des métaux dépendent également de leur état de spéciation.

Les mécanismes majeurs de piégeage dans le sédiment conduisent à l'existence de 6 formes géochimiques majeures du métal (Tessier *et al.*, 1979 ; Salomons *et al.*, 1988) : 1) fraction soluble à l'eau, 2) fraction échangeable, 3) fraction acido-soluble, 4) fraction réductible, 5) fraction oxydable et 6) fraction résiduelle.

Ces différentes fractions métalliques ont des mobilités, comportements chimiques et biodisponibilités différentes. De ce fait, il est nécessaire d'identifier et de quantifier les formes sous lesquelles le métal se trouve piégé dans le sédiment afin d'évaluer la mobilité et disponibilité du métal (Tessier *et al.*, 1979; Ure et al., 1993; Howard & Vandenbrink, 1999).

L'étude de la spéciation du cuivre sera appliquée à une fraction des sédiments et des matières décantées collectées en été et en hiver 2001 et en été et en hiver 2002 sur les stations Mos1, C1, C2, Mir inj, Mir 1, Mir M, Mir rep, Mos 2 et Mos3. Dans le cadre de cette étude de la spéciation des métaux dans le système CNPE - Mirgenbach – Moselle, une procédure d'extraction séquentielle basée sur le protocole de Leleyter & Probst (1999) sera appliquée mais l'ordre des attaques (**Figure II-34)** et la technique d'extraction de la fraction oxydable sont modifiées. Dans le protocole de Leleyter & Probst (1999), les attaques se font dans l'ordre 1-2-3-5-4 et la quatrième fraction est extraite avec H_2O_2 et non $Na_4P_2O_7$.

Sur les mêmes échantillons est réalisé une extraction totale des métaux cuivre et zinc par attaque acide forte (NORME NF T 31-151).

Chaque échantillon est tripliqué afin d'éliminer toutes sources de biais potentielles et permettre une analyse statistique.

Entre chaque étape de l'extraction, le résidu de sédiment est rincé deux fois avec 10 ml d'eau nanopure et l'eau de rinçage est ajoutée au filtrat d'extraction. Cette opération permet également de diluer le filtrat et donc la matrice de réaction afin de limiter les problèmes, lors de l'analyse des métaux, liés aux « effets matrice ». Le résidu rincé est séché en étuve à 40°C avant l'étape suivante d'extraction, puis pesé.

1. Fraction soluble à l'eau: 1g d'échantillon est extrait par 20 ml d'eau déionisée UHP pendant 30 minutes sous agitation magnétique. La suspension est ensuite filtrée et le résidu est rincé avec 10 ml d'eau déionisée UHP. Une aliquote du filtrat est récupéré dans un tube en polyéthylène de 20 ml et conservé en chambre froide à 4°C. Le résidu est, quant à lui, séché dans une étuve à 60°C pendant plusieurs jours jusqu'à masse constante.

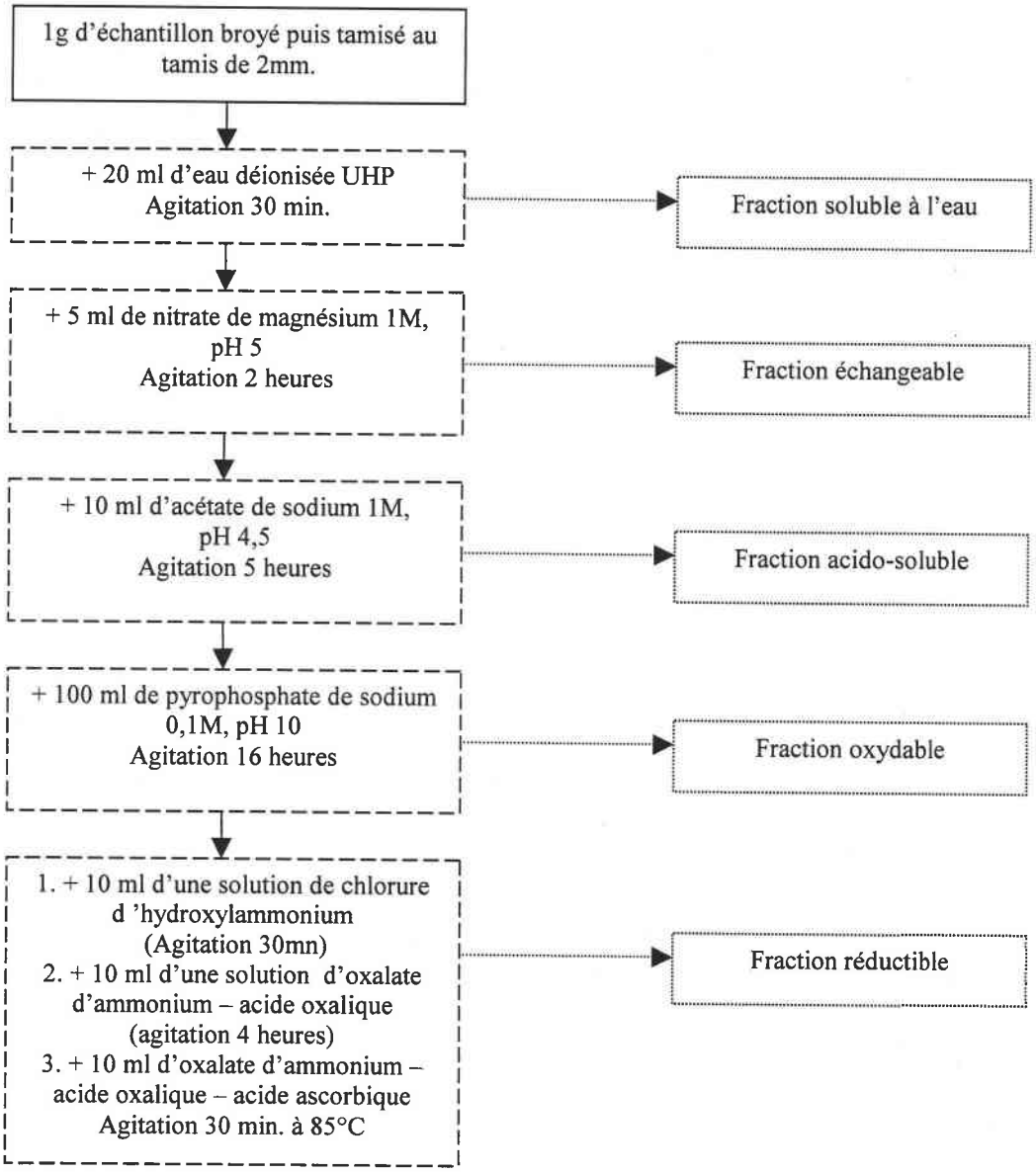


Figure II-34: Principe de l'extraction séquentielle en cascade. Après chaque extraction, le résidu de sédiments est récupéré, puis séché à l'étuve à 60°C jusqu'à masse constante

2. Fraction échangeable: Le résidu de la fraction précédente est mélangé à 5 ml d'une solution 1M de nitrate de magnésium $Mg(NO_3)_2$ au pH = 5. La réaction dure 2 heures sous agitation magnétique. La suspension est ensuite filtrée et le résidu est rincé avec 10 ml d'eau déionisée UHP. L'ajout de 5ml de la solution 1M de nitrate de magnésium est encore nécessaire afin de désorber tous les cations échangeables. Une fois que ces 5 ml ont percolé, le résidu et le filtre sont à nouveau rincés avec 10 ml d'eau déionisée UHP. Une aliquote du filtrat est récupérée dans un tube en polyéthylène de 20 ml et conservé en chambre froide à 4°C. Le résidu est, quant à lui, séché dans une étuve à 60°C pendant plusieurs jours jusqu'à masse constante.

Le but de cette étape est d'extraire les cations adsorbés sur des sites d'échange. La matière organique et certains oxydes de manganèse, ayant une structure en tunnel, possèdent des sites à charge permanente, mais ce sont surtout les minéraux argileux qui en possèdent. Ces derniers se caractérisent par une structure en feuillets constitués de couches octaédriques et tétraédriques séparées par une zone dite interfoliaire. Des substitutions à l'intérieur du réseau créent un déficit de charge positive comblé par des cations qui se placent dans cette zone interfoliaire pour neutraliser ces sites à charge fixe (Leleyter, 1998).
Les sites à charge variable (c'est-à-dire dépendant du pH du milieu) de la MO et des argiles participent aussi à l'échange de cations.

3. Fraction acido-soluble: Le résidu de la fraction précédente est mélangé à 10 ml d'une solution d'acétate de sodium (1M CH_3COONa ajusté à pH 4,5 avec de l'acide acétique CH_3COOH). La réaction dure pendant 5 heures sous agitation magnétique. La suspension est ensuite filtrée et le résidu est rincé avec 20 ml d'eau déionisée UHP. Une aliquote du filtrat est récupérée dans un tube en polyéthylène de 20 ml et conservée en chambre froide à 4°C. Le résidu est, quant à lui, séché dans une étuve à 60°C pendant plusieurs jours jusqu'à masse constante. Cette étape permet d'extraire les métaux associés aux carbonates.

4. Fraction oxydable: Le résidu de la fraction précédente est mélangé à 100 ml de pyrophosphate de sodium ($Na_4P_2O_7$ 0,1 M à pH 10) (extraction de la matière organique et surtout des complexes organo-métalliques). La réaction dure 16 heures sous agitation magnétique. Trois prises de 1 ml sont effectuées, puis centrifugées à 18000 t/min durant 20 minutes afin de permettre la floculation des particules mises en suspension au cours de l'extraction. Ces prises sont ensuite conservées en chambre froide à 4°C. La suspension restante est filtrée puis rincée avec 20 ml d'eau déionisée UHP. Le résidu est ensuite séché dans une étuve à 60°C pendant plusieurs jours jusqu'à masse constante.

5. Fraction réductible: La première étape de cette extraction consiste en la réduction des oxydes de manganèse. Pour cela, la phase précédente est mélangée avec 10 ml de 0.1M chlorure d'hydroxylammonium (NH_2OH HCl). La réaction dure 30 mn avec une agitation magnétique constante.
La seconde étape de la destruction de la fraction réductible correspond à la destruction des oxydes de fer amorphes. Dans ce procédé, le pouvoir de dissolution sur les oxydes de fer d'un acide (l'acide oxalique) est combiné avec le pouvoir de solubilisation d'un ligand chélatant (l'oxalate d'ammonium). La phase précédente est alors mélangée avec 10 ml d'oxalate d'ammonium-acide oxalique 0.2M $(NH_4)_2C_2O_4$ – 0.2M $H_2C_2O_4$ au pH=3 (souvent appelé réactif de Tamm). La réaction dure 4 heures, avec une agitation magnétique continue, en absence de lumière (car la lumière est un catalyseur de l'oxydation).
La troisième étape de la destruction de la fraction réductible correspond à la solubilisation des oxydes de fer cristallins. Pour améliorer la capacité de dissolution des oxydes de fer un réducteur puissant (l'acide ascorbique) est ajouté au mélange précédent (acide oxalique et oxalate d'ammonium).

La réaction nécessitant un chauffage, elle doit obligatoirement être réalisée dans des récipients fermés et étanches pour prévenir les pertes par évaporation.
Le résidu de la fraction précédente est mélangé à 10 ml d'une solution d'oxalate d'ammonium – acide oxalique – acide ascorbique [0.2M $(NH_4)_2C_2O_4H_2O$ – 0.2M $H_2C_2O_4$ – 0.1M $C_6H_8O_6$]. La réaction dure 30 minutes à 85°C de façon étanche (afin de prévenir les pertes par évaporation). La suspension est ensuite filtrée et le résidu est rincé avec 10 ml d'eau déionisée UHP. Le filtrat est récupéré dans un tube en polyéthylène de 20 ml et conservé en chambre froide à 4°C.

6. Fraction résiduelle: Elle est égale à la teneur totale en cuivre extraite par attaque acide forte (NORME NF T 31-151) moins la somme des fractions précédentes.

Pour une meilleure compréhension de la spéciation des métaux dans les sédiments étudiés une caractérisation physico-chimique et une analyse granulométrique des sédiments ont également été réalisées. Les éléments analysés dans les sédiments sont présentés ci-dessous et la technique d'analyse est précisée. Toutes ces analyses ont été effectuées à l'INRA d'Arras.

- **Granulométrie** après décarbonatation selon la norme NFX 31-107 adaptée par l'INRA d'Arras : l'analyse granulométrique est réalisée par sédimentation selon la méthode de la pipette (argiles < 2µm ; 2 µm < limons fins < 20 µm ; 20 µm < limons grossiers < 50 µm ; 50 µm < sables fins < 200 µm ; 200 µm < sables grossiers < 2000 µm).

- L'**humidité à 105°C** : c'est une mesure de l'eau résiduelle (à 105°C) restant dans l'échantillon après un séchage modéré (60°C) par différence de poids avant et après séchage à 105°C (NF ISO 11465). La quantité d'eau restant à 105°C est d'autant plus élevée que le sédiment est riche en MO et/ou argile. La mesure d'humidité est utilisée pour exprimer les résultats ($CaCO_3$, C_{org}, ect.) en g/kg de matière sèche (105°C).

- **le Calcaire** ($CaCO_3$) total est déterminé par calcimétrie volumétrique, qui est un dosage volumétrique du CO_2 dégagé sous l'action d'acide fort (HCl le plus souvent) en excés (NF ISO 10693)

- **Le Carbone organique et l'azote total** sont déterminés par combustion sèche selon les normes NF ISO 10694 et NF ISO 13878

- La **CEC ou capacité d'échange cationique et les cations échangeables** sont déterminés par une extraction au chlorure de colbaltihexamine (NF X 31-130 pour CEC, Ca, Mg, K ; Na ; Méthode INRA pour Al, Mg et H) : au cours de cette extraction le chlorure de colbaltihexamine se substitue aux cations échangeables du sédiment. Dans l'extrait sont alors dosés les cations libérés : Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^+, Na^+, Al^{2+}, Mn^{2+} sont dosés par ICP et H+ est dosé par titrimétrie. La CEC peut ensuite être calculé en faisant la somme des cations Ca^{2+}, Mg^{2+},

K^+, Na^+, Al^{2+}, Mn^{2+} et H^+.

- **Les Fe_O** ou formes amorphes du fer qui correspondent au fer associé aux complexes organiques et aux oxydes mal cristallisées sont extraits par le réactif de Tamm (oxalate d'ammonium + acide oxalique à pH 3) (méthode INRA). La réaction a lieu à l'obscurité et à 20°C, l'extrait est ensuite centrifugé puis le $Fe_{O\ ou\ oxalate}$ est dosé.

- **Les Fe_d** ou fer associé aux complexes organiques, oxydes mal cristallisés et oxydes bien cristallisés sont extraits par la méthode de Mehra-Jackson (méthode INRA). Le réactif est un mélange de dithionite de sodium (réducteur) et de tricitrate de sodium (complexant), tamponné par le bicarbonate de sodium vers la neutralité. L'extrait est alors centrifugé puis les $Fe_{d\ ou\ dithionite}$ sont dosés.
La différence $Fe_d - Fe_O$ permet d'obtenir le fer des oxydes bien cristallisés.

III. 2. Les compartiments biotiques

III.2.1. Traitement des échantillons

De retour au laboratoire, les échantillons biologiques subissent une série de traitements avant minéralisation.

III.2.1.1. le plancton

Concernant le plancton, deux types d'étude sont réalisés. En été, de retour au laboratoire, quand la biomasse planctonique est importante, le zooplancton est séparé du phytoplancton par filtration sur des tamis de maille décroissante 1000µm, 500µm, 200µm, 100µm, 50µm et 20µm.

C'est une observation au microscope qui permet de déterminer s'il s'agit de zooplancton de phytoplancton ou d'un mélange des deux. Une détermination des espèces dominantes est également effectuée.

En général la séparation se fait relativement bien. Pour les lots des mailles 1 mm, 500 µm, 200 µm, il s'agit de zooplancton et pour les mailles 100µm et 50µm et 20µm de phytoplancton. Les concentrations en métaux dans chaque fraction sont contrôlées, et dans le cas d'une faible différence de niveaux métalliques au sein des espèces phytoplanctoniques et zooplanctoniques, les sous échantillons correspondant sont regroupés dans un même tube de 20 ml.

Après une phase de séchage en étuve à 40 ° C, les échantillons sont pesés et si le poids est suffisant, deux à trois réplicats sont constitués pour le dosage des métaux. Le protocole de minéralisation est le même que celui utilisé pour le reste des compartiments biologiques.

En dehors des périodes de bloom planctonique, la biomasse planctonique étant insuffisante pour traiter séparément le zoo et le phytoplancton, l'étude des concentrations en cuivre et en zinc a été réalisée sur le plancton total.

III.1.1.2. Les invertébrés

Les organismes collectés sont extraits de l'eau du site de collecte et subissent une première phase de nettoyage à l'eau déchlorée afin d'éliminer les particules en suspension et autres détritus. Les organismes sont alors placés dans des bacs munis d'un système de bullage contenant une eau de source dont la composition est fournie par le **Tableau II-6** (p.115). Un bac contient les organismes d'une station d'étude.

Après 24h de purge (Léglize & Crochard , 1987), les organismes sont prélevés dans les bacs puis subissent une seconde phase de nettoyage avec de l'eau de source.
Pour chaque station, chaque espèce est séparée et placée dans un sachet zippé en plastique avant d'être congelée –18°C.

Après décongélation, les organismes sont mesurés, puis pour certains disséqués (dissection des mollusques pour garder les parties molles et des écrevisses pour séparer le muscle abdominal et les viscères thoraciques). Des lots d'individus de même taille sont constitués, chaque lot est placé dans un tube à minéraliser (exemple : un lot de gammares correspond à 10 gammares de taille 15-20 mm). Pour chaque lot, c'est à dire chaque classe de taille, deux à trois réplicats sont réalisés. Le nombre de réplicat et d'organismes peut varier en fonction de nombre d'organismes qu'il a été possible de collecter sur chaque station. Ces indications seront fournies dans les tableaux de résultats. Concernant les écrevisses, un échantillon correspond au muscle ou aux viscères d'un individu.

III.1.1.3. Les poissons

Les poissons ne subissent pas le même traitement que les invertébrés, parce qu'ils sont soit conservés entiers dans de la glace sur le site de collecte et congelés de retour au laboratoire, soit parce qu'ils sont disséqués sur le site de prélèvement et les organes (foie, rein, rate et muscle) sont placés dans des tubes en polypropylène hermétique et conservés dans de la glace.

Quel que soit le cas de figure, les organes collectés sont séchés à 40°C et broyés, puis 100 à 300 mg de ms sont placés dans des tubes à minéraliser, ce qui constitue un échantillon. Quand la masse de l'organe prélevé le permet, deux répliquats sont réalisés.

III.2.2. Minéralisation

Environ 300 mg de chaque sous échantillon sont minéralisés pendant 24 H à chaud (60° C) et sous pression dans des tubes en polyéthylène en utilisant 4.5 ml d'acide nitrique à 36 % (qualité normapure, environ 8 M). Cette attaque acide détruit toute la matière organique, sauf dans le cas des mollusques ou une partie des lipides reste collée aux parois des tubes.

Mais cela ne génère aucun biais puisque le cuivre et le zinc ne sont pas des métaux connus pour être accumulés dans les lipides, comme c'est le cas pour le plomb.
Après refroidissement le volume est ajusté à 19 ml avec de l'eau nanopure. L'acidité des minéralisats est alors d'environ 5 %. Des essais à blanc, inclus dans chaque série sont destinés à évaluer l'apport métallique du matériel et des produits chimiques ainsi que d'éventuelles contaminations survenues lors des manipulations.

III.3. Technique analytique: Spectrophotométrie d'absorption atomique

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

Dans les minéralisats obtenus à partir des tissus des organismes, le cuivre et le zinc sont dosés par SAA à flamme (Perkin-Elmer 2380) et les résultats d'analyse sont exprimés en µg/L. La conversion en µg /g ou mg/kg 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 en poids sec de tissus digérés (en mg).

Les minéralisats obtenus à partir des sédiments et matières décantées, de même que les solutions issues des extractions séquentielles sont analysés en SAA en four en subissant au préalable une phase de dilution.

III.3.1. SAA en flamme

L'analyse en flamme passe par deux étapes :

- l'aspiration du liquide par l'intermédiaire d'un petit capillaire suivi d'une nébulisation ou dispersion en fin brouillard du liquide à analyser
- l'atomisation ou dissociation en ions et atomes du composé chimique dissous ou en suspension.

III.3.2. SAA Four

L'atomisation sans flamme utilise un tube graphite, l'échantillon déposé sur une électrode de graphite est volatilisé et atomisé dans un tube de graphite chauffé à haute température par effet joule.

L'atomisation est provoquée par un arc alternatif éclatant entre l'électrode et le tube. L'ensemble est placé dans une enceinte sous argon. La volatilisation du liquide est brutale et par suite, la sensibilité très élevée. Selon l'élément a dosé, on optera pour un cycle de montée en température spécifique. Le cycle de montée en température se décompose en trois parties :

1. Un palier à basse température, destiné à l'évaporation du solvant,
2. Un palier intermédiaire à température très variable selon la nature de l'échantillon, destiné à détruire les composé non métalliques et évitant ainsi la formation de fumées pendant la phase d'atomisation.
3. Un palier d'atomisation à haute température pendant lequel s'effectue la lecture.

La différence essentielle entre les deux techniques flamme ou four réside dans la sensibilité.

Les ajouts dosés consistent 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 matrice. On obtient ainsi un facteur correcteur qui tient compte de l'interférence de la constitution de la matrice avec l'analyse.

III.3.3. Contrôle de la procédure de dosage

Beaucoup de précautions ont été prises lors de la collecte et la préparation des échantillons pour éviter tous les risques de contamination extérieure avant l'analyse des métaux. Tout le matériel en polypropylène neuf est rincé avec une solution d'acide technique à 10%. Le matériel recyclé ou en verre a été soigneusement lavé avec de l'acide technique pure puis rincé plusieurs fois avec de l'eau nanopure.

Le cuivre et le zinc sont dosés en SAA flamme (Perkin-Elmer – Analyst 100; NF T 90-119) ou en SAA four (Varian – SpectrAA-300; NF T 90-112)

L'étalonnage du spectrophotomètre de flamme est réalisé avec des solutions étalons de 0.5, 1 et 2 mg/l de Cuivre ou de Zinc ou 2, 5 et 10mg/l en fonction des concentrations des solutions à doser et d'un blanc acidifié au même degré que les solutions à doser. Le contrôle de la droite étalon est effectué tous les 10 tubes, pour éviter les effets de dérive.

La procédure de contrôle de la qualité du dosage inclue les blancs de manipulation et de solution et le dosage en trois répliquats des échantillons. Pour vérifier les résultats analytiques, des échantillons standard correspondant à des matrices abiotiques (eau: SPS-SW1, NIST) et biotiques (hépatopancréas: NRC-Tort 2, certifié par NIST et mousse certifié par BCR-IRMM) sont analysés en même temps que nos échantillons. Une différence inférieure à 10% entre nos valeurs et les valeurs certifiées des échantillons standard nous permet de valider les valeurs obtenues.

Chapitre IV. Microanalyses X (EDS)

L'étude des éléments minéraux constituants les échantillons de sédiments est réalisée grâce à un spectrophotomètre à sélection d'énergie (EDS) couplé à un microscope électronique à transmission de type Philips CM20 (Pihan, 2001) dans les locaux du service de Microscopie Electronique de Nancy.

La poudre de sédiment est mise en solution dans l'alcool, puis déposée sur une grille en nickel recouverte d'un film de carbone. Après évaporation de l'alcool, la poudre fixée sur la grille est analysée.

Chapitre V. Analyses des données : Méthodes statistiques

Face au grand nombre de données recueillies et à la diversité des variables considérées, l'étude des données a été réalisée progressivement en commençant par une présentation exhaustive des informations avant d'étudier les variations saisonnières et interstations des paramètres et de tenter de mettre en relation les variables complémentaires par des corrélations linéaires ou des méthodes d'analyses multivariées permettant de dégager les principaux éléments de discussion.

Dans le cadre du travail effectué, l'analyse est principalement basée sur des comparaisons interstations ou interéchantillons des moyennes réalisées avec des tests t de Fisher et de Mann-Whitney selon que la distribution des données est considérée comme paramétrique ou non.

La significativité des variations saisonnières des paramètres abiotiques ou biotiques a été étudiée en utilisant une ANOVA à un ou deux facteurs.

L'étude des relations linéaires entre les variables a été effectuée grâce à l'établissement de matrices de corrélation utilisant le coefficient de corrélation de Pearson ou de Spearman significatif à $p<0.05$. La comparaison entre deux relations linéaires (comparaison des pentes et des ordonnées à l'origine) a été réalisée par une ANCOVA ($p<0.05$)

Dans une approche multiparamètres, c'est l'analyse multivariée à composante principale qui est utilisée (ACP) pour visualiser les liens entre les variables et la répartition des individus dans le plan factoriel ainsi obtenu.

Tous les tests ont été réalisés avec le logiciel STATISTICA version 6.0 pour Windows.

PARTIE III :

RESULTATS - DISCUSSION

Introduction

La présentation des résultats s'articule autour de 4 chapitres.

Le premier chapitre concerne l'étude de la contamination métallique des compartiments abiotiques. Il comporte successivement :

- ✓ L'**identification des métaux** (Cu, Zn, Ni, Pb, Cd), leur **quantification** à partir de l'étude 2001.
- ✓ L'étude des **variations de la contamination** en cuivre et en zinc dans l'eau brute de janvier 2001 à mai 2003.
- ✓ Le **transport** et la **distribution** du cuivre et du zinc dans les compartiments abiotiques de la retenue du Mirgenbach.
- ✓ Le niveau de **contamination** en cuivre et en zinc induits dans les **sédiments** de la Moselle.

Le chapitre II est consacré principalement à l'étude de la **spéciation** du cuivre et du zinc dans les sédiments afin d'établir les liens entre la contamination en cuivre et en zinc des compartiments abiotiques de nos sites d'étude et la contamination des compartiments biotiques qui sera étudiée dans le chapitre III.

Le troisième chapitre traite de la **biodisponibilité** des métaux *via* l'étude de la **bioaccumulation des métaux par des organismes autochtones** (biosurveillance passive) **et transférés** (biosurveillance active). La contamination en cuivre et en zinc des compartiments biotiques de la retenue du Mirgenbach et de la rivière Moselle ainsi que les variations spatio-temporelles seront mis en relation avec les niveaux de pollution du milieu, l'espèce, la stratégie d'accumulation ou régulation des métaux et le rythme d'activité des organismes.

Le quatrième chapitre est voué à l'étude de la répartition et des **transferts du cuivre dans la chaîne trophique** dans l'objectif de mettre en évidence d'éventuels effets toxiques de ce métal à long terme sur la biocœnose.

I. Chapitre I. Etude de la contamination métallique des compartiments abiotiques

I.1. Identification des métaux rejetés par la centrale de Cattenom et évaluation des niveaux de contamination de l'eau brute lors du suivi de l'année 2001

Parmi les métaux étudiés en 2001, le cuivre, le zinc, le plomb, le cadmium et le nickel ont été choisis parce qu'ils sont des éléments constitutifs, en proportions plus ou moins importantes, de la structure métallique du circuit de refroidissement (cf. partie II, & I.1.3).

I.1.1. Résultats et discussion

I.1.1.1. Comparaison des concentrations métalliques en Cu, Zn, Pb, Ni et Cd dans l'eau brute entre les différentes stations en Moselle (Mos1 amont, Mos2 rejet et Mos3 aval) et dans le Mirgenbach (Mir M : station centrale) au cours de l'année 2001

Le **tableau III-1** présente les concentrations en Ni, Pb, Cd, Zn et Cu en µg/l et en chlorures en mg/l mesurées dans l'eau brute au cours de l'année 2001 sur les stations Moselle (Mos1, Mos2 et Mos3) et Mirgenbach (Mir M). Les chlorures sont retenus comme indicateurs de la concentration des sels au niveau des aéroréfrigérants. La station Mir M de la retenue du Mirgenbach a été choisie pour évaluer l'impact après dilution du rejet des eaux de purge des aéroréfrigérants dans le lac.

Tableau III-1 : Comparaison des concentrations moyennes en Ni, Pb, Cd, Zn et Cu dans l'eau brute en µg/l et Cl^- en mg/l entre les stations Moselle (Mos1, Mos2, Mos3) et Mirgenbach (Mir M) au cours de l'année 2001. F.C. : Facteur de Concentration.

	Nickel µg/l	Plomb µg/l	Cadmium µg/l	Zinc µg/l	Cuivre µg/l	Cl^- mg/l (n=12)
Mos 1 (n=10)	1.2 +/- 0.4	3.0 +/- 1.4	0.12 +/- 0.03	15.6 +/- 4.8	2.7 +/- 0.8	258
Mir M (n=12)	1.8 +/- 0.3	1.9 +/- 0.5	0.15 +/- 0.02	22.8 +/- 4.9	36.5 +/- 12.6	386
Mos 2 (n=10)	1.7 +/- 0.3	3.1 +/- 1.2	0.14 +/- 0.05	22.1 +/- 3.7	22.6 +/- 7.2	332
Mos 3 (n=10)	1.4 +/- 0.5	3.0 +/- 0.9	0.13 +/- 0.04	16.0 +/- 4.3	3.4 +/- 1.0	263
F.C. Mos3/Mos1	1.17 ^{ns}	1 ^{ns}	1.08 ^{ns}	1.02 ^{ns}	1.3 ^{ns}	1.02
F.C. MirM/Mos1	1.50 **	0.63 **	1.25 **	1.46 **	13.52 ***	1.50
F.C. Mos2/Mos1	1.44 ^{ns}	1.06 ^{ns}	1.23 ^{ns}	1.42 **	8.47 ***	1.28
F.C. Mos2/MirM	0.94 ^{ns}	1.63 **	0.93 ^{ns}	0.97 ^{ns}	0.62 **	0.86

*La significativité des différences intergroupes a été testée avec le test t de Fisher, $p<0.05$. *** : différence significative avec $p<0.01$; ** : différence significative avec $p<0.05$; ns : différence non significative.*

La **figure III-1 (A à E)** fournit une représentation graphique (Boites à moustache) des concentrations en Ni, Pb, Cd, Zn et Cu mesurées dans l'eau brute au cours de l'année 2001 au niveau des stations Moselle (Mos1, Mos2 et Mos3) et Mirgenbach (Mir M).

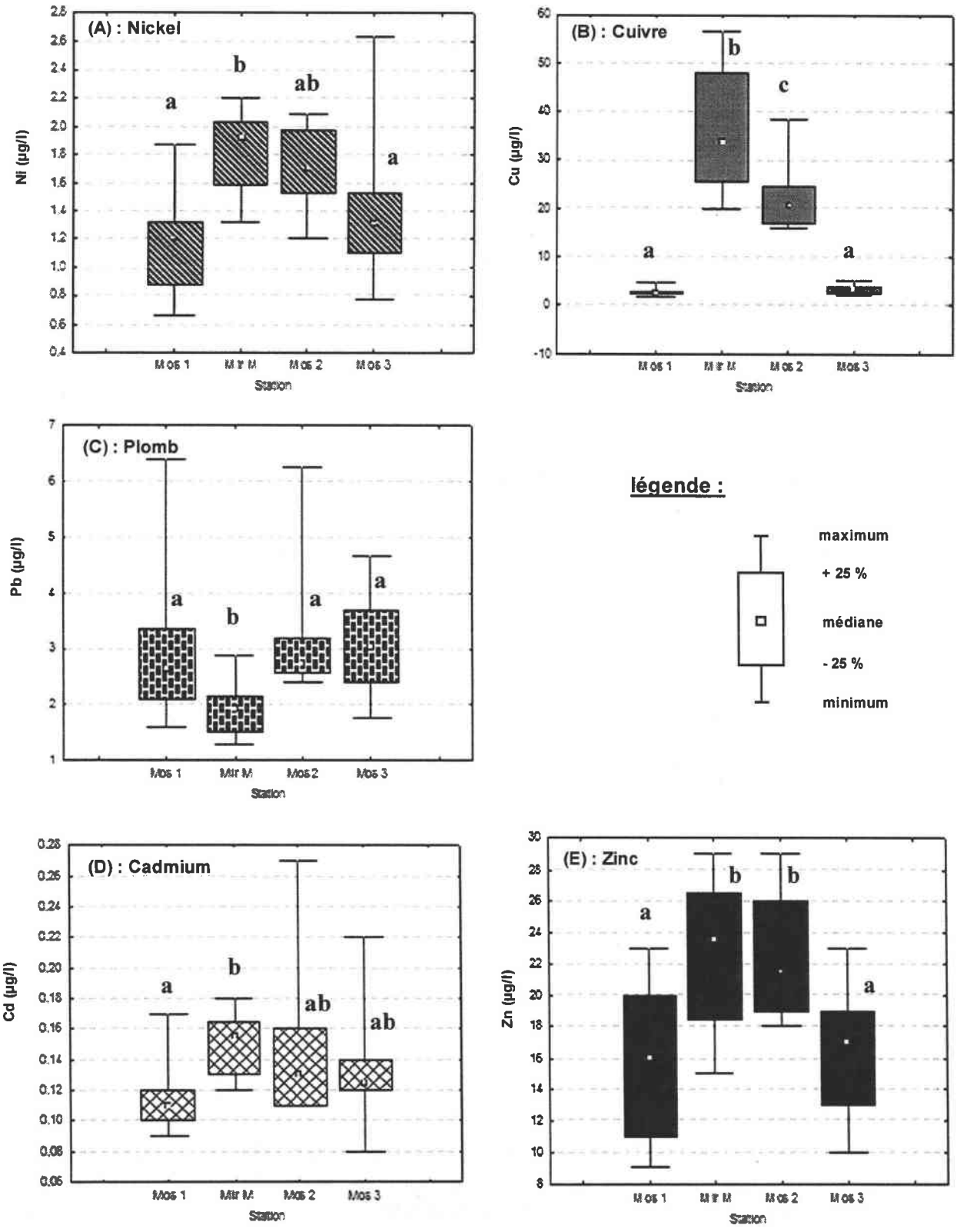


Figure III-1 : Comparaison interstation des concentrations moyennes en Ni (A), Cu (B), Pb (C), Cd (D), et Zn (E) au cours de l'année 2001. Les différences significatives sont symbolisées par des lettres différentes ($p<0.05$, Test t de Fisher).

I.1.1.1.a Comparaison entre Mos 1 et Mir M

Pour tous les métaux étudiés, la différence de concentration mesurée est significative à $p<0.05$ entre Mos1 et Mir M. (**Figure III-1A à III-1E**).

Les facteurs de concentration pour le Ni, le Zn et le Cd entre Mos1 et Mir M sont respectivement de 1.50, 1.46 et 1.25, et sont inférieurs ou égaux au facteur de concentration habituellement mesuré pour les chlorures (FC=1.5) entre ces deux stations du fait de l'évaporation de l'eau au niveau des aéroréfrigérants. Il faut remarquer toutefois que la station Mir M est située dans la zone centrale du lac, à mi-distance entre la zone d'injection des eaux de purge du CRF et la zone de reprise de l'eau vers la rivière Moselle, c'est à dire après dilution des eaux de purge dans le lac et un temps de séjour moyen d'environ 5 jours. Par conséquent, une fraction plus ou moins importante des différents métaux a pu être transférée de la colonne d'eau vers le compartiment sédimentaire *via* des mécanismes d'adsorption, absorption ou de précipitation.

Les concentrations en cuivre en µg/l sont respectivement en station Mos1 et Mir M de 2.7 +/- 0.8 et 36.5 +/- 12.6 µg/l avec une différence hautement significative (Test t, $p<0.01$). Le facteur d'augmentation de la concentration en cuivre dans l'eau brute entre ces deux stations est de 13.52.

Dans la retenue du Mirgenbach, le plomb (1.9 +/- 0.5 µg/l) présente une évolution singulière. En effet, les concentrations dans l'eau brute sont inférieures à celles mesurées en station Mos1 (3.0 +/- 1.4). Cette diminution est significative au seuil de 5% (**Figure III-1C**) et ne s'explique qu'en émettant l'hypothèse d'un piégeage du plomb dans les boues des aéroréfrigérants ou/et dans les sédiments de la retenue, hypothèse qui demeure à vérifier.

I.1.1.1.b. Comparaison entre Mir M et Mos 2

Une diminution significative ($p<0.05$) de la concentration en cuivre est mesurée entre Mir M (36.5 µg Cu/l) et Mos2 (22.6 µg Cu/l). La station Mir M se trouvant au milieu du lac, c'est à dire à mi-distance entre la zone d'injection et la zone de reprise vers la rivière Moselle, les concentrations en cuivre dans l'eau brute peuvent évoluer avant le rejet en Moselle. De plus, il existe une faible dilution des eaux du Mirgenbach dans le rejet général en Moselle par mélange avec les eaux provenant des circuits annexes, de la STEP et périodiquement par les effluents radioactifs (conformément à l'arrêté des rejets) (**Figure III-2**).

Concernant le plomb, l'augmentation de la concentration moyenne annuelle dans l'eau brute est significative au seuil 5% entre la retenue du Mirgenbach et la station Mos2 rejet. La concentration en plomb varie de 1.9 +/- 0.5 dans la retenue à 3.1 +/- 1.2 au niveau de Mos2 rejet, ce qui correspond à un FC de 1.63. Ceci ne s'explique qu'en émettant l'hypothèse de l'existence d'une autre source de plomb entre la retenue du Mirgenbach et le rejet général en Moselle, par exemple les rejets de la STEP ou des circuits annexes. Toutefois ces concentrations en plomb restent faibles et correspondent selon la grille de qualité des eaux de

surface du SEQ-eau (agence de l'eau, 1998) et pour la fonction potentialité biologique à une classe de qualité bleue (niveau 1/5).

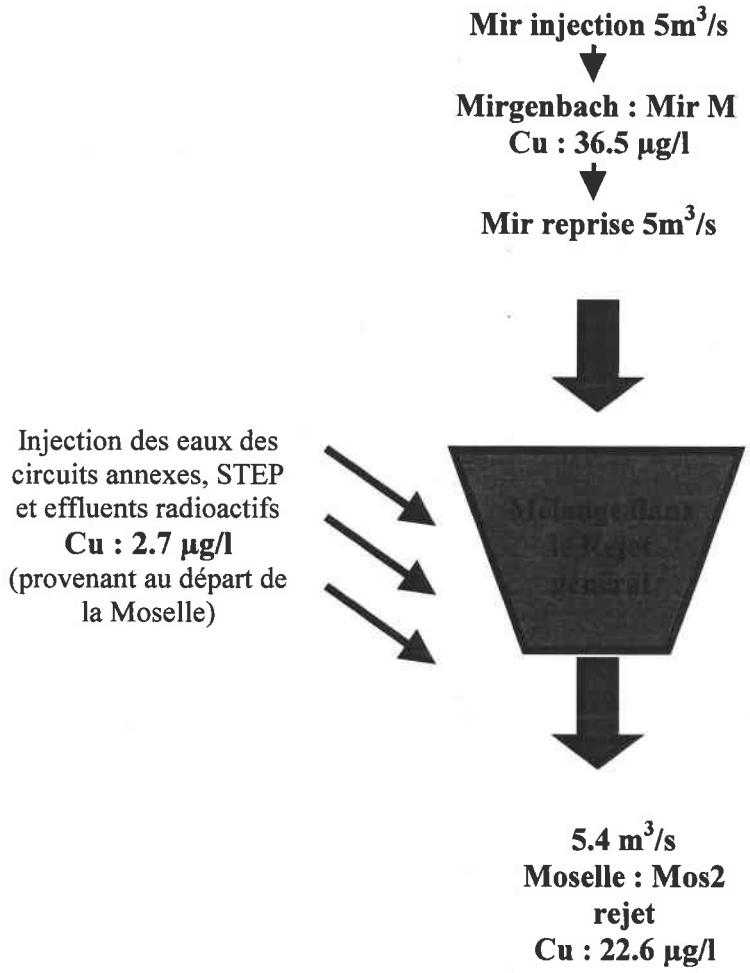


Figure III-2 : Schéma simplifié de l'origine de la concentration en cuivre au rejet général situé en station Mos2-rejet.

Concernant le Zn, le Cd et le Ni la différence de concentration entre les stations Mir M et Mos2 est non significative au seuil 5%. Pour ces trois métaux la concentration a tendance à diminuer entre Mir M et Mos2 et cette diminution correspond au facteur de dilution mesuré pour les chlorures, c'est à dire 0.86.

I.1.1.1.c. Comparaison entre Mos 1 et Mos 2

La concentration en cuivre augmente très significativement ($p<0.01$) de 2.7 +/- 0.8 µg Cu/l à 22.6 +/- 7.2 µg Cu/l entre la station Mos1 et la station Mos2, ce qui correspond à un facteur multiplicatif de 8.47.

Pour le zinc (**figure III-1E),** la différence de concentration observée entre les deux stations est significative au seuil 5% et correspond à un facteur de 1.42. Le cas du zinc est différent de celui du cuivre car l'activité sidérurgique de la Vallée est la source d'une contamination historique différente. Les origines possibles du zinc seront envisagées ultérieurement.

Pour le plomb (**figure III-1C**), le nickel (**Figure III-1A**) et le Cadmium (**figure III-1D**), les différences de concentrations sont non significatives ($p<0.05$) entre Mos1 amont et Mos2 rejet en Moselle.

I.1.1.1.d. Comparaison entre Mos 1 et Mos 3

Pour tous les métaux, il n'existe pas de différence significative au seuil 5 % entre les concentrations mesurées en station Mos1 amont et celles mesurées en station Mos3 située en aval éloigné du rejet (**Figure III-1A à III-1E**). Il apparaît donc qu'aucun impact de la centrale sur les concentrations en Cu, Zn, Pb, Cd et Ni dans l'eau brute de Moselle n'est mesurable en aval éloigné, c'est à dire après dilution du rejet des eaux du Mirgenbach dans les eaux de la rivière.

I.1.1.2. Première évaluation des niveaux de contamination des stations en Moselle (Mos1, Mos2 et Mos3) et Mirgenbach (Mir M)

Le niveau de contamination des stations d'étude est évalué selon la grille du SEQ-eau (agence de l'eau, 1998) pour la fonction « potentialité biologique » et pour une dureté de l'eau en $CaCO_3$ > 200 mg /l (cf. Partie II).

Concernant le cuivre, le niveau de qualité de l'eau passe d'une classe verte en amont de la centrale, à une classe orange dans la retenue du Mirgenbach avec des risques d'effets létaux sur les espèces les plus sensibles et diminution d'abondance puis à une classe jaune au niveau du rejet général en Moselle avec des risques d'effets chroniques (subléthaux), possible réduction de l'abondance et prédominance d'espèces tolérantes (**Tableau III-2**).

Il est donc nécessaire d'estimer l'impact réel de l'apport en cuivre par la centrale sur l'ensemble des milieux récepteurs, la retenue du Mirgenbach et la rivière Moselle. Dans cet optique, il est important, dans un premier temps, de mieux comprendre l'évolution des apports en cuivre dans ces milieux et le devenir des métaux dans les différents compartiments de l'écosystème.

Du fait de l'activité sidérurgique, les concentrations en zinc mesurées en rivière Moselle, en amont de la centrale, sont déjà susceptibles d'exercer des effets chroniques (subléthaux) pour les espèces les plus sensibles, ou certains stades, notamment les juvéniles. Bien que le niveau de contamination en zinc, correspondant à une classe verte de qualité, n'évolue pas de l'amont vers l'aval et afin de prendre en compte la fraction provenant des circuits de la centrale (Zn_{CRF} : 96 µg/l en moyenne), le zinc fera l'objet d'un suivi régulier.

Le plomb, le nickel et le cadmium sont présents à des concentrations faibles, avec des risques d'effets néfastes négligeables sur toutes les espèces et ce, quelle que soit la station considérée. Ces métaux n'ont, par conséquent, pas fait l'objet d'un suivi plus approfondi.

Tableau III-2 : Détermination des classes de qualité de l'eau brute pour les métaux selon la grille fixée par le SEQ-eau pour la fonction « potentialité biologique ».

	Nickel µg/l	Plomb µg/l	Cadmium µg/l	Zinc µg/l	Cuivre µg/l
Mos 1 (n=10)				15.6 +/- 4.8	2.7 +/- 0.8
Mir M (n=12)				22.8 +/- 4.9	36.5 +/- 12.6
Mos 2 (n=10)				22.1 +/- 3.7	22.6 +/- 7.2
Mos 3 (n=10)				16.0 +/- 4.3	3.4 +/- 1.0

Signification des classes d'aptitude

Risque négligeable d'effets néfastes sur toutes les espèces.

Risque d'effets chroniques (sublétaux) pour les espèces les plus sensibles, notamment pour les juvéniles.

Risque d'effet chroniques (sublétaux); possible réduction de l'abondance; prédominances d'espèces tolérantes.

Risques d'effets létaux sur les espèces les plus sensibles; diminution d'abondance.

Très grands risques d'effets létaux sur plusieurs espèces; diminution de l'abondance et de la variétés des espèces.

I.1.1.3. Caractérisation du rejet de cuivre par le circuit de refroidissement de la centrale et mise en évidence du rejet de zinc. (Station C1 et C2)

Les **tableaux III-3** et **III-4** présentent les variations des concentrations en cuivre et en zinc en µg/l dans l'eau brute de la conduite d'eau d'appoint du circuit de refroidissement (C1) et en sortie des condenseurs en laiton (C2).

I.1.1.3.a. Les concentrations métalliques dans l'eau d'appoint du circuit de refroidissement (C1)

Les **figures III-3** et **III-4** présentent les variations journalières des concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute avant injection dans le circuit des aéroréfrigérants (station C1) au mois de juin 2001 et décembre 2001. Ces représentations permettent de mettre en évidence la forte variabilité journalière des concentrations en cuivre et zinc dans l'eau brute de la station C1, qui correspond également à la qualité de l'eau en station Mos1, puisqu'elle est située sur la canalisation d'eau d'appoint au circuit de refroidissement.

Tableau III-3 : Concentrations moyennes en cuivre et en zinc mesurées dans l'eau brute de la conduite d'eau d'appoint du circuit de refroidissement de la centrale (station C1) au cours des mois de juin et décembre 2001.

	Cuivre		Zinc	
	juin-01	déc-01	juin-01	déc-01
moyenne	**3,2**	**2,8**	**18,6**	**18,0**
ecartype	2,5	2,7	5,8	11,4
min	0,4	1,1	7,9	6,9
max	11,0	14,3	33,2	51,6
N	29	30	29	30

Tableau III-4 : Concentrations moyennes en cuivre et en zinc mesurées dans l'eau brute de la station C2 (sortie des condenseurs) du circuit de refroidissement de la centrale au cours des mois de juin et décembre 2001.

	Cuivre		Zinc	
	juin-01	déc-01	juin-01	déc-01
moyenne	**207**	**181**	**96**	**97**
ecartype	140	57	77	44
min	83	114	30	55
max	727	389	364	217
N	29	30	29	30

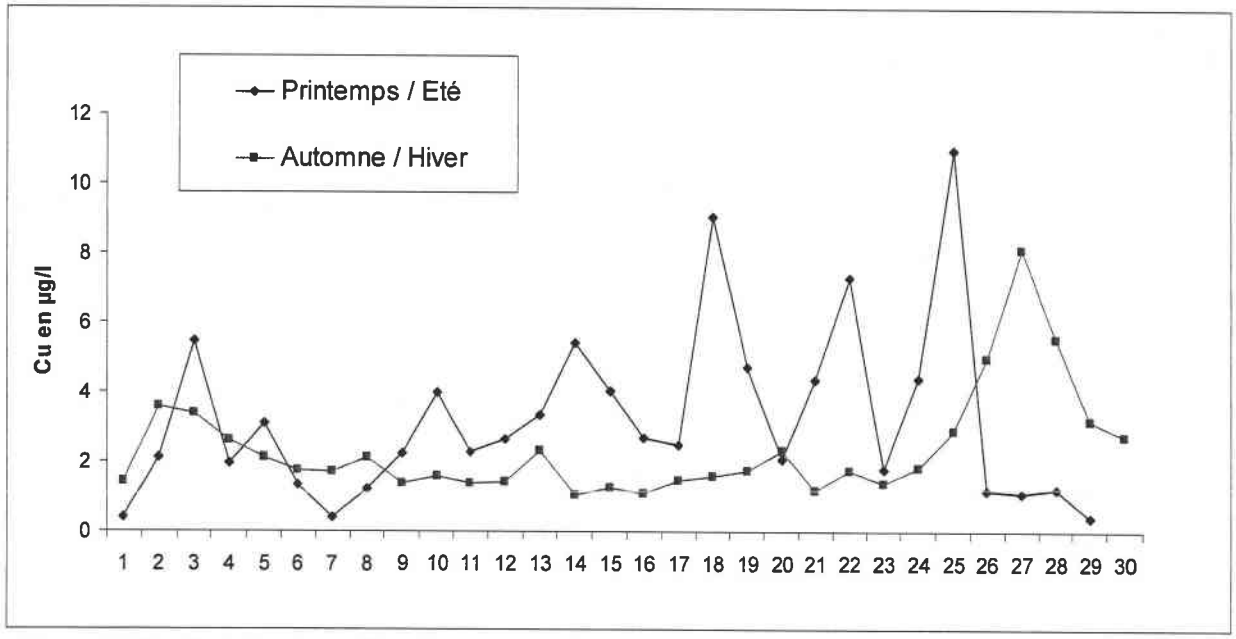


Figure III-3 : Variation journalière des concentrations en cuivre mesurées durant un mois en juin et décembre 2001 en station C1 (amont du CRF).

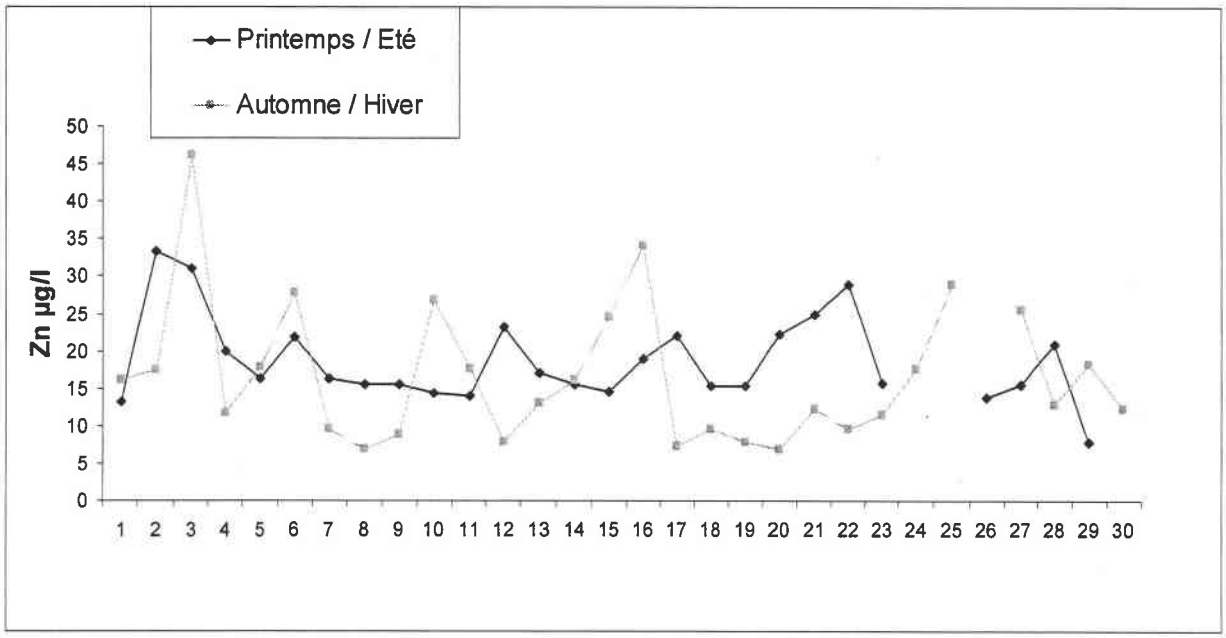


Figure III-4 : Variation journalière des concentrations en zinc mesurées durant un mois en juin et décembre 2001 en station C1 (amont du CRF).

En effet en réalisant un échantillonnage journalier, les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute au mois de juin 2001, peuvent varier respectivement de 0.40 µg Cu/l à 11µg Cu/l et de 8 µg Zn/l à 33 µg Zn/l (**Tableau III-3** et **Figure III-4**) selon la date de prélèvement.

L'hétérogénéité des valeurs peut être attribuée aux variations des rejets urbains, agricoles et industriels que reçoit la rivière en amont du pompage de la centrale. Néanmoins pour le cuivre, les concentrations restent très faibles avec des valeurs moyennes de 3.2 µg Cu/l en juin et 2.8 µg Cu/l en décembre. La différence étant non significative (test t, $p<0.05$) (**Tableau III-3**).

La différence est également non significative (test t, $p<0.05$) entre les concentrations en zinc mesurées dans l'eau brute en juin et en décembre 2001, avec respectivement 18.6 +/- 5.8 µg Zn/l et 18 +/- 11 µg Zn/l (**Tableau III-3**).

I.1.1.3.b. Les concentrations métalliques en sortie des condenseurs en laiton - station C2

La **Figure III-5** illustre la variabilité journalière des concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute de la station C2 en juin 2001.

Les gammes des concentrations en cuivre et en zinc sont très vastes et s'étendent respectivement de 83 à 727 µg Cu/l et de 30 à 364 µg Zn/l en juin 2001. Trois pics de concentrations en cuivre et en zinc peuvent être observés avec des valeurs respectives de 727, 435, 541 µg Cu/l et 364, 225, 292 µg Zn/l. Ces pics de métaux mesurés sur une journée

seulement sont probablement liés à des vaccinations acides effectuées par l'industriel pour lutter contre l'entartrage. En décembre 2001, les gammes des concentrations en cuivre et en zinc s'étendent respectivement, en dehors d'un pic de métaux à 389µg Cu/l et 217 µg Zn/l, entre 114 et 242 µg Cu/l et entre 55 et 194 µg Zn/l . Ces résultats pourraient signifier que les vaccinations acides sont moins fréquentes en décembre, par rapport à juin.

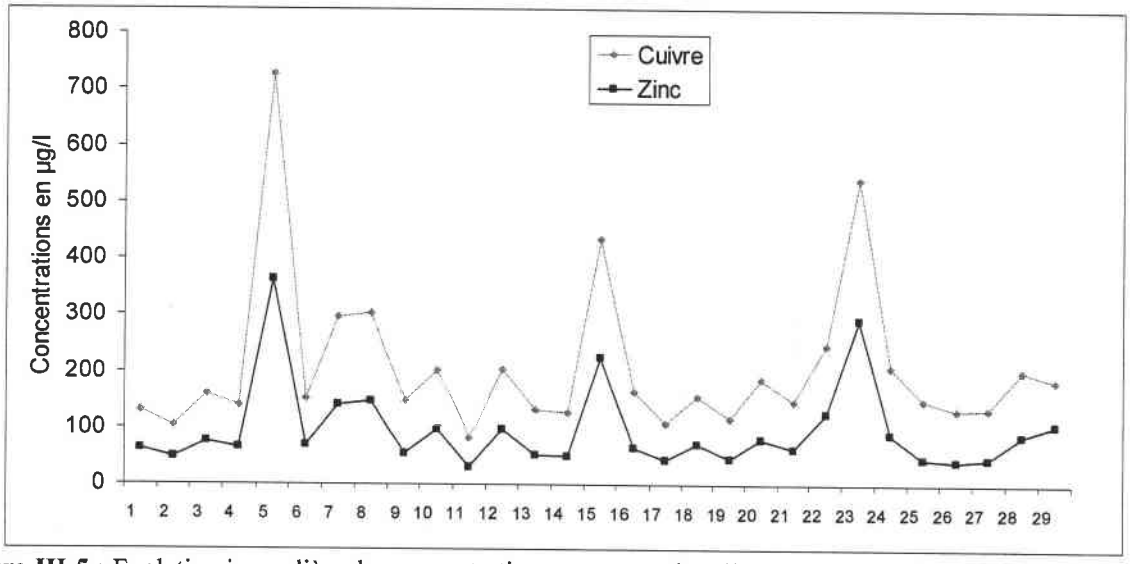


Figure III-5 : Evolution journalière des concentrations moyennes (n=59) en cuivre et en zinc en µg/l dans l'eau brute de la station C2 en juin 2001

Toutefois, il n'existe aucune différence significative (test t, $p<0.05$) entre les concentrations moyennes en cuivre et en zinc (**Tableau III-4**) de juin et décembre 2001. Par conséquent, il est possible de calculer une moyenne des concentrations en cuivre et en zinc en regroupant les mois de juin et décembre 2001. En intégrant les pics de métaux liés aux vaccinations acides, les moyennes sont respectivement de 194 +/- 106 µg Cu/l et 96 +/- 62 µg Zn/l et ces valeurs correspondent à la quantité de métaux qui est injectée dans la retenue *via* le débit de purge de $5m^3/s$.

En excluant les pics de libération de métaux, les valeurs obtenues sont respectivement pour le Cu et le Zn de 170 +/- 47 µg Cu / l et de 83 +/- 35 µg Zn/l. Les concentrations moyennes correspondent alors à la libération des métaux par corrosion, en condition normale (hors vaccination). La corrosion des condenseurs apparaît de fait être un processus plus constant dans le temps puisque les écarts-types sont plus faibles.

Entre la station C1 et la station C2, c'est à dire après passage de l'eau au contact des condenseurs en laiton du CRF de la centrale, la concentration en cuivre dans l'eau brute est multipliée en moyenne par 69, et la concentration en zinc par 5.5 (**Tableau III-3** et **Tableau III-4**).

I.1.1.3.c. Etude de la relation cuivre - zinc dans l'eau brute de la station C2

La **Figure III-6** illustre la relation linéaire entre les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute de la station C2. Il existe entre la concentration en cuivre et la concentration en zinc dans l'eau brute de la station C2, une très forte relation linéaire avec des coefficients de corrélation r de Pearson significatifs à $p<0.01$, de 0.993 en été et 0.844 en hiver (**Tableau I-5**). Cette relation ne peut être attribuée qu'à une origine commune des métaux.

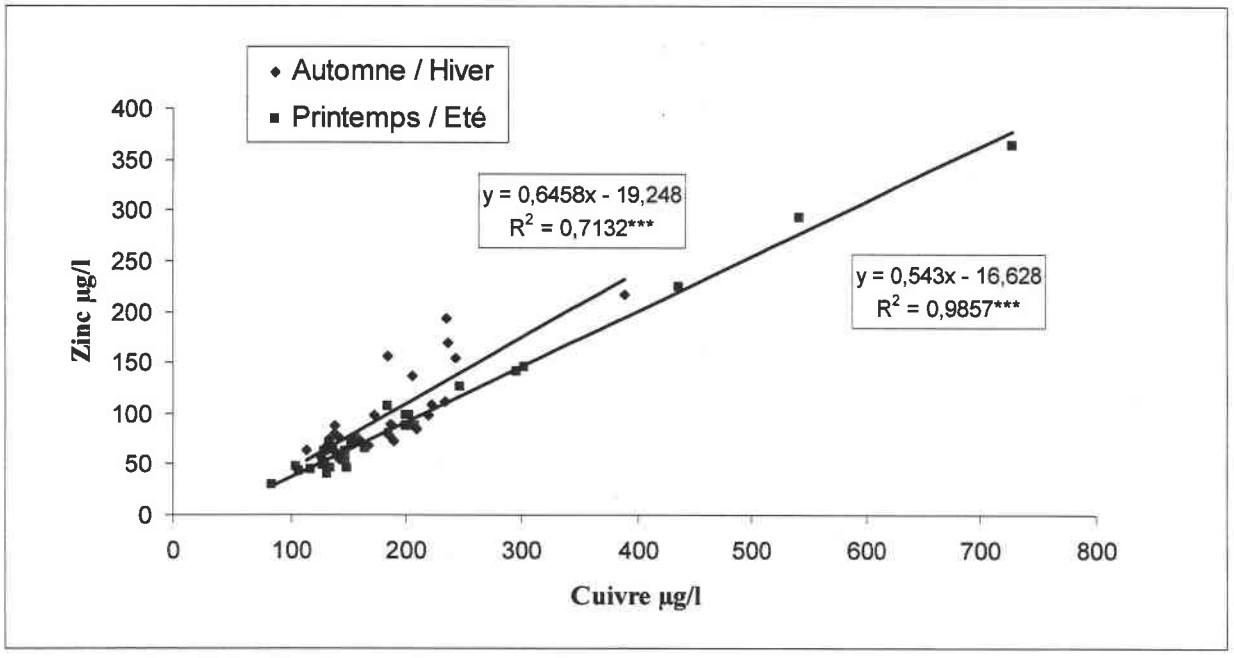


Figure III-6 : Relation linéaire entre les concentrations en cuivre et les concentrations en zinc mesurées dans l'eau brute de la station C2 au cours des mois de juin et décembre 2001.

Tableau III-5 : Paramètres de la régression. Ordonnée à l'origine et pentes identiques au seuil 5%.

	C2 été	C2 hiver
Pente	0.543	0.646
Ordonnée à l'origine	-16.628	-19.248
r	0.993	0.844
r^2	0.986	0.713

La comparaison interstation de la relation entre les variables cuivre et zinc est réalisée par une ANCOVA. L'hypothèse Ho se référant au parallélisme des lignes de régression entre les deux saisons, été et hiver, est acceptée au seuil 5%. L'hypothèse HO concernant les ordonnées à l'origine est également acceptée au seuil 5%, il y a égalité des ordonnées à l'origine.

La relation entre les variables cuivre et zinc n'est donc pas modifiée par la saison. La libération de cuivre et de zinc par corrosion se fait toujours selon les mêmes proportions.

Sachant que le laiton des condenseurs est constitué de 70% de cuivre et 30% de zinc, il doit être possible de mettre en évidence une relation présentant les mêmes coefficients entre les rejets de cuivre et de zinc. Le **Tableau III-6** synthétise les résultats du calcul des proportions respectives en cuivre et en zinc dans l'eau brute de la station C2. Les résultats obtenus correspondent exactement aux proportions du laiton, c'est à dire 70% de cuivre et 30% de zinc dans l'eau brute en sortie du condenseur (station C2)

Tableau III-6 : Tableau synthétisant les résultats du calcul des proportions relatives du cuivre et du zinc dans l'eau brute de la station C2.

	juin-01		déc-01	
	C1	C2	C1	C2
moyenne	**70**	**30**	**70**	**30**
ecartype	3	3	3	3
min	63	23	63	23
max	77	37	77	37
N	29	29	30	30

Compte tenu de la forte corrélation existant entre les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute de la station C2 et des proportions en Cu, et en Zn mesurées dans l'eau brute, nous pouvons confirmer qu'il y a bien une libération de zinc concomitante à celle du cuivre dans les condenseurs en laiton. Le maintien des proportions 70-30 pour le cuivre et le zinc dans l'eau brute de la station C2, montre que le zinc apporté par la rivière Moselle n'est pas présent en quantité suffisamment importante pour modifier la relation.

Ces résultats confirment sans équivoque que la contamination en cuivre et en zinc de la retenue du Mirgenbach et de la rivière Moselle au rejet a pour origine la corrosion des échangeurs en laiton.

I.1.1.3.d. Estimation des gammes de concentration en cuivre et en zinc attendues au niveau de la station Mir inj

Il est possible de réaliser une estimation, à partir des concentrations en cuivre et en zinc mesurées dans le circuit de refroidissement (station C2), des gammes de concentration en cuivre et en zinc attendues au niveau de la station Mir inj. Ceci est réalisable en tenant compte du fait que les 4 tranches de la centrale ne sont pas en fonctionnement toute l'année. Il existe 4 cas de figure qui sont les suivants, une tranche en fonctionnement, deux tranches en fonctionnement, trois tranches en fonctionnement et quatre tranches en fonctionnement ; en sachant que lorsque une tranche ne fonctionne pas, l'alimentation en eau de refroidissement est maintenue (sans passer au contact des échangeurs) et que le débit d'injection des eaux de purge est constant ($5m^3/s$ pour 4 tranches).

Dans l'hypothèse où, lorsqu'une tranche ne fonctionne pas (arrêt maintenance), l'eau de refroidissement ne se charge pas en cuivre et en zinc, la concentration en cuivre et en zinc dans l'eau brute d'une tranche en fonctionnement peut être estimée à partir des concentrations moyennes sur un mois mesurées en juin 2001 dans le CRF (station C2) de la centrale et pour une tour en arrêt, ce sont les moyennes de concentrations mesurées en station C1 sur la même période qui sont utilisées.

Les gammes de concentration en cuivre et en zinc attendues en station Mir inj pour les 4 cas de figure de fonctionnement seraient celles présentées dans les **Tableaux III-7 et III-8**.

Tableau III-7 : Estimation des concentrations en cuivre attendues dans l'eau brute au niveau de la station Mir inj selon le nombre de tranches nucléaires en fonctionnement.

	Cas n°1	Cas n°2	Cas n°3	Cas n°4
Tranche 1: [Cu] en µg/l	3,24	3,24	3,24	207
Tranche 2 : [Cu] en µg/l	3,24	3,24	207	207
Tranche 3: [Cu] en µg/l	3,24	207	207	207
Tranche 4: [Cu] en µg/l	207	207	207	207
Concentration en cuivre attendue dans les eaux de purge (en µg/l)	54	105	156	207

Tableau III-8 : Estimation des concentrations en zinc attendues dans l'eau brute au niveau de la station Mir inj selon le nombre de tranches nucléaires en fonctionnement.

	Cas n°1	Cas n°2	Cas n°3	Cas n°4
Tranche 1 : [Zn] en µg/l	19, 7, 52	19, 7, 52	19, 7, 52	96
Tranche 2: [Zn] en µg/l	19, 7, 52	19, 7, 52	96	96
Tranche 3: [Zn] en µg/l	19, 7, 52	96	96	96
Tranche 4: [Zn] en µg/l	96	96	96	96
Concentration en zinc attendue dans les eaux de purge :				
C1 (19 µg/l)	**38**	**58**	**77**	**96**
Mos1 minimale (7 µg/l)	**29**	**52**	**74**	**96**
Mos1 maximale (52 µg/l)	**63**	**74**	**85**	**96**

Concernant le zinc, le niveau de contamination étant déjà élevé au niveau de la station amont Moselle, une estimation des concentrations en zinc attendues au niveau de la station Mir inj est également réalisée à partir des concentrations en zinc minimale et maximale mesurées au niveau de la station Mos1 (**Tableau III-7**). Ces calculs permettent de mettre en évidence l'influence de la contamination en zinc de la rivière Moselle sur la variabilité des concentrations en zinc mesurées dans l'eau brute de la station Mir inj et ce principalement lorsque des tranches ne fonctionnent pas (**Tableau III-8**). En effet l'apport en zinc de la rivière Moselle modifie l'impact de la dilution de l'eau de refroidissement des tranches en fonctionnement dans l'eau du CRF des tranches en arrêt.

La dilution des concentrations en zinc sera de fait moins importante que celle des concentrations en cuivre dans le cas d'arrêt de tranche.

I.1.2. Conclusion partielle

Le suivi métallique effectué en rivière Moselle (Mos1, Mos2 et Mos3) et dans la retenue du Mirgenbach (Mir M) a permis d'identifier les métaux dont les concentrations sont modifiées en aval du CRF de la centrale de Cattenom.

La première constatation est qu'aucun impact de la centrale de Cattenom sur les concentrations métalliques mesurées dans l'eau brute n'est observable en Moselle aval éloigné (Mos3), c'est à dire après dilution du rejet des eaux de la retenue du Mirgenbach dans la rivière.

Concernant les métaux Ni, Pb et Cd, les concentrations mesurées dans l'eau brute sont faibles (SEQ : classe de qualité bleue, 1/5) sur toutes les stations d'étude et aucune augmentation n'est observée en dehors du facteur de concentration lié à l'évaporation de l'eau au niveau des aéroréfrigérants (F.C. : 1.5 à 1.6).

Les seuls métaux qui montrent une augmentation significative (test t, $p<0.05$) de leur concentration dans la retenue du Mirgenbach et dans la rivière Moselle au rejet (Mos2) par rapport à la station amont Mos1, sont le cuivre et le zinc.

Les concentrations en cuivre atteignent en référence au SEQ-eau des valeurs critiques dans la retenue du Mirgenbach (classe orange, 4/5) et à la station Mos2 (classe jaune, 3/5), avec des risques de dommages sur la biocœnose. Les teneurs en cuivre dans l'eau sont multipliées par rapport à la station Mos1, par 13.5 dans la retenue du Mirgenbach (Mir M) et par 8.5 au rejet en Moselle (Mos2).

Le facteur d'augmentation de la concentration en zinc, bien que significatif (test t, $p<0.05$), n'est pas aussi important que celui du cuivre ; d'ailleurs la classe de qualité de l'eau pour le zinc, classe 2-verte (SEQ : 2/5), reste la même dans tout le circuit de l'eau de refroidissement. De plus, les rapports des concentrations en zinc entre Mir M / Mos1 (1.46) et Mos2/Mos1 (1.42) sont très proches des facteurs de concentration des chlorures, respectivement 1.50 et 1.28 entre les mêmes couples de stations.

Néanmoins, si un apport en cuivre par la centrale de Cattenom, et plus précisément par le CRF, est observé, celui-ci tient son origine de la corrosion des condenseurs en laiton. L'étude des concentrations en cuivre et en zinc en sortie des échangeurs en laiton, dans le CRF, a permis de mettre en évidence d'une part une relation linéaire très forte entre les deux variables et d'autre part l'apport de cuivre et de zinc dans des proportions relatives de 70 et 30%, correspondant à celles du laiton (70Cu/30Zn).

Les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute sont respectivement multipliées par 67 et 5.5 dans le CRF, entre C1 et C2. La corrosion des échangeurs en laiton est à l'origine de la libération des métaux, mais il a été montré que le rythme d'activité de la centrale, et plus exactement le nombre de tranches nucléaires en fonctionnement, est un

paramètre déterminant de la quantité de cuivre et de zinc qui est injectée dans la retenue du Mirgenbach.

Les concentrations, dans l'eau brute, en cuivre principalement et à un moindre degré en zinc sont modifiées et tendent à diminuer entre la station C2 (196 +/- 106 µg Cu/l et 96 +/- 62 µg Zn/l) et la station Mir M (36.5 +/- 12.6 µg Cu/l et 22.8 +/- 4.9 µg Zn/l), puis Mos2 (22.6 +/- 7.2 µg Cu/l et 22.1 +/- 3.7 µg Zn/l). Cette diminution est d'une part liée à la dilution du débit de purge (5m3/s) des aéroréfrigérants (C2) dans la retenue du Mirgenbach, et à la dilution des eaux de la retenue du Mirgenbach avec les eaux des circuits annexes dans le rejet général en Moselle, bien que cette dilution soit faible compte tenu des faibles débits des rejets des circuits annexes.

En dehors de la dilution, une fraction des métaux a pu être transférée de la colonne d'eau vers d'autres compartiments biotiques (organismes) et abiotiques (sédiments) entre Mir M et Mos 2, et certainement entre la zone d'injection des eaux de purges des aéroréfrigérants dans le lac (Mir inj) et Mir M. Ceci peut être la conséquence des modifications de la spéciation des métaux Cu, Zn, qui peuvent conduire à un transfert des métaux vers les sédiments sous l'influence de facteurs abiotiques (pH, présence de ligands…) ou de facteurs biotiques (adsorption, absorption …) ou tout simplement par décantation de la phase particulaire de la colonne d'eau (particules minérales et organiques).

En définitive, l'ensemble de ces processus a conduit à une diminution de 81% de la concentration en cuivre dans l'eau brute et de 76 % de la concentration en zinc au niveau de la station Mir M, par rapport à la station C2. Pour comprendre l'évolution des concentrations métalliques dans le système et tenter d'évaluer l'impact du rejet, il est nécessaire d'appréhender les mécanismes qui régissent la distribution et le transfert des métaux dans l'écosystème du Mirgenbach.

Les principaux résultats peuvent être listés ainsi :

- Une pollution, en cuivre et en zinc, détectée dans le lac et au rejet en Moselle.
- Il n'y a pas d'impact du rejet en Moselle en aval éloigné de la centrale.
- Le cuivre et le zinc sont libérés dans des proportions relatives de 70% et 30% (qui sont celle du laiton) par corrosion des échangeurs en laiton.
- La concentration en cuivre est multipliée par 67 à la station C2, et par 13.5 à la station Mir M. Le rejet de cuivre dans la retenue n'est influencé que par l'activité de la centrale. Le cuivre est susceptible de générer des effets létaux sur les espèces les plus sensibles en station Mir M et des risques d'effets chroniques à la station Mos2.
- La concentration en zinc est multipliée par 5.5 à la station C2, et par 1.46 à la station Mir M. Le risque d'effet sur la biocœnose reste inchangé par rapport à l'amont. Le rejet de zinc dans le lac dépend de l'activité de la centrale et du niveau de contamination de la Moselle amont.
- Il existe une relation linéaire très forte dans l'évolution des concentrations en cuivre et en zinc à la station C2.

I.2. Etude des variations de la contamination en cuivre et en zinc dans l'eau brute, de janvier 2001 à mai 2003

I.2.1. Résultats et discussion

Ce paragraphe concerne le suivi des concentrations en cuivre et en zinc dans l'objectif de mettre en évidence les fluctuations saisonnières puis spatiales des niveaux de contamination dans l'eau brute. Une comparaison de l'évolution des concentrations des deux métaux a pour but d'établir une éventuelle relation entre les deux variables, preuve d'une répartition similaire dans l'écosystème. Pour finir, les résultats du suivi réalisé en 2001 seront comparés à ceux de 2002 pour contrôler l'existence ou non de la constance du rejet métallique et mettre en évidence une éventuelle augmentation à long terme de celui-ci.

I.2.1.1. Variation spatio-temporelle des concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute. Suivi métallique de janvier 2001 à mai 2003

I.2.1.1.a. Variation saisonnière des concentrations en cuivre et en zinc

Les **Figures III-7** et **III-8** présentent une comparaison interstation de l'évolution des profils de concentrations en cuivre et en zinc (µg/l) dans l'eau brute au cours du temps, de janvier 2001 à mai 2003.

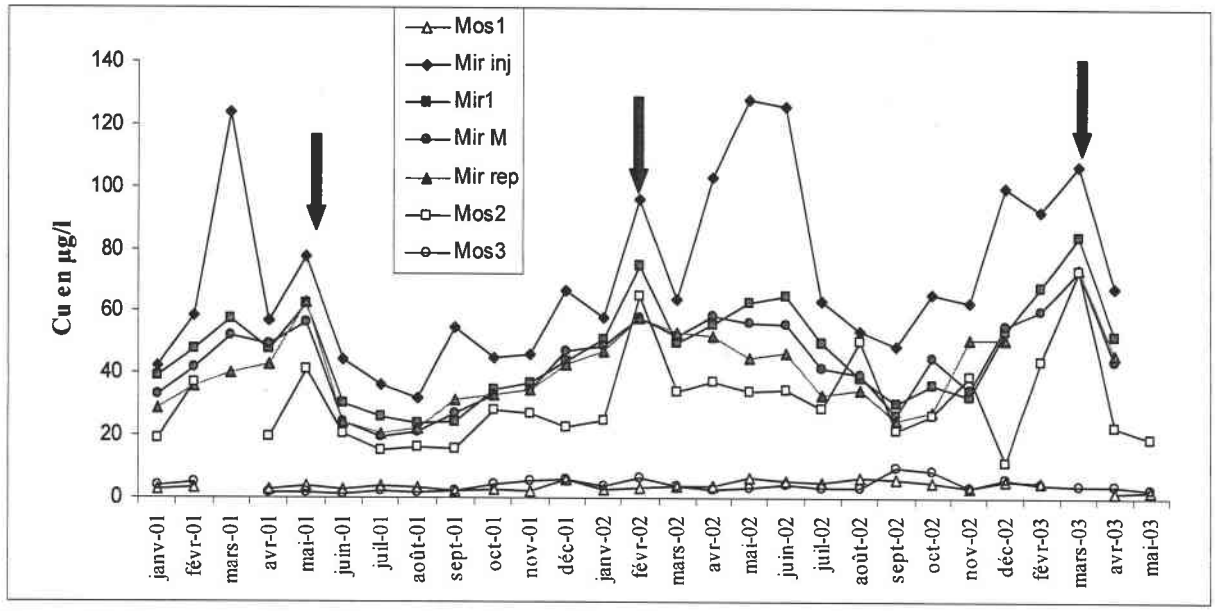


Figure III-7 : Comparaison interstations des profils d'évolution mensuelle des concentrations en cuivre exprimées en µg/l dans l'eau brute de janvier 2001 à mai 2003. Les stations sont classées dans la légende de l'amont vers l'aval du circuit de l'eau de refroidissement.

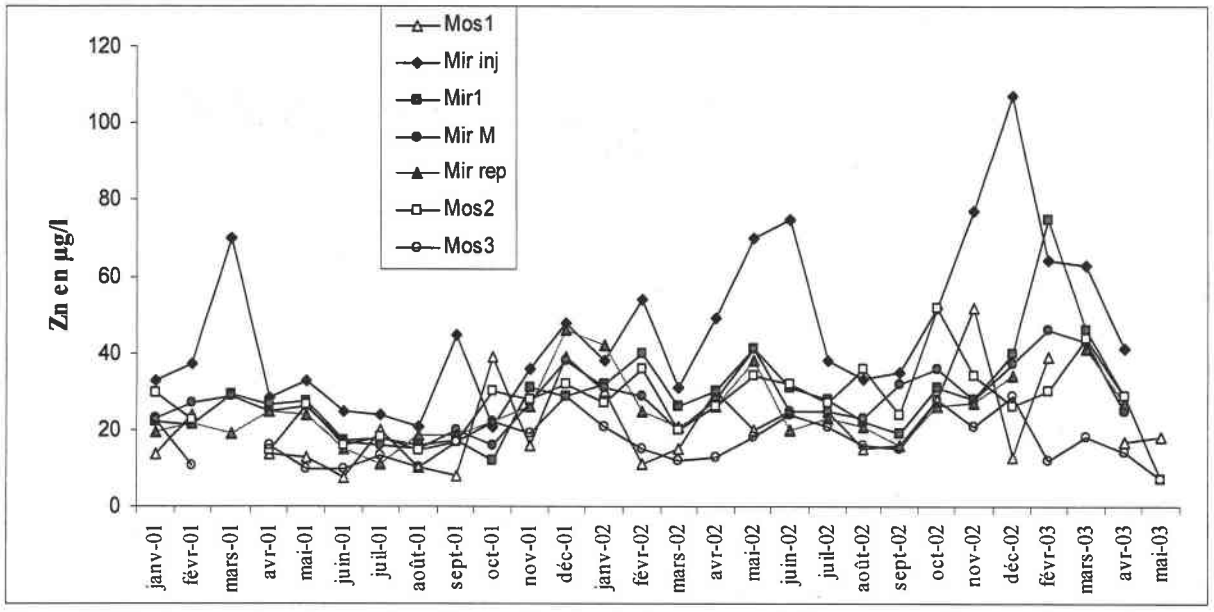


Figure III-8 : Comparaison interstations des profils d'évolution mensuelle des concentrations en zinc exprimées en µg/l dans l'eau brute de janvier 2001 à mai 2003. Les stations sont classées dans la légende de l'amont vers l'aval du circuit de l'eau de refroidissement.

a. Les concentrations en cuivre dans l'eau brute

Concernant le cuivre, deux constatations peuvent être faites. D'une part, les concentrations dans l'eau brute mesurées aux stations Mos1 et Mos3 sont très faibles par rapport à celles mesurées aux stations Mirgenbach et Mos2 et sont toutes inférieures à 10µg/l, ce qui confirme les résultats obtenus dans le sous chapitre I.1. D'autre part, les concentrations en cuivre des stations Mirgenbach varient dans une gamme de concentration très large, entre 13 et 128 µg Cu/l en fonction de la station et du mois d'échantillonnage.

Les concentrations les plus basses en 2001 et en 2002 au niveau de la station d'injection et des station Mir 1, Mir M et Mir rep, sont observées en été (juillet, août et septembre) (**Figure III-7**).

Les concentrations en cuivre les plus élevées pour les stations Mirgenbach sont toujours observées à partir du mois de février, quelle que soit l'année considérée et elles le restent jusqu'en mai 2001, juin 2002 et avril 2003 (**Figure III-7**). Les maxima de concentration en cuivre de janvier 2001 à mai 2003, sont mesurés à la station Mir inj en mars 01, mai et juin 2002 avec respectivement 124, 128 et 125 µg Cu/l. Toutes les valeurs de concentrations en cuivre supérieures à 100µg/l au niveau de la station injection sont mesurées en mars 2001, d'avril à juin 2002, en décembre 2002 et mars 2003 ; ce qui correspond à la période hiver, printemps.

Aux mois de mai 2001, février 2002 et mars 2003, les pics de concentration en cuivre sont concomitants sur toutes les stations Mirgenbach et sur la station Mos2. Le temps de séjour moyen étant d'environ 10 jours entre la station Mir inj et la station Mos2, il est possible d'estimer que ces pics perdurent depuis au moins 10 jours et ne sont pas épisodiques. Pour ces

mêmes mois, les pics de concentration en cuivre sont faiblement atténués entre la station d'injection et la station Mos2, contrairement aux pics de concentration observée au niveau de la station Mir inj en février 2001, mai et juin 2002 et décembre 2003.

b. Les concentrations en zinc dans l'eau brute

Concernant le zinc, aucun gradient amont/aval n'est visible sur la **figure III-8**, seule la station Mir inj présente des concentrations en zinc très supérieures à celles des autres stations. Les concentrations en zinc les plus basses en 2001 et en 2002 au niveau des stations Mirgenbach sont observées en été. Les concentrations en zinc les plus élevées à la station Mir inj sont mesurées en mars 2001, en mai et juin 2002 et en décembre 2002, avec respectivement 70 µg Zn/l, 70 et 75 µg Zn/l et 107 µg Zn/l, ce qui correspond, comme pour le cuivre, à la période hiver-printemps.

Les concentrations en zinc pour les autres stations sont trop proches pour réaliser un constat à partir de cette représentation graphique et, dès la station Mos1, les variations de concentration sont importantes, ce qui a pour conséquence une superposition des courbes.

En effet, les gammes de variations de concentration en zinc pour la station Mos 1, Mir M, Mir rep et Mos 2 sont respectivement de 8 à 52 µg Zn/l, 15 à 46 µg Zn/l, 11 à 46 µg Zn/l et 7 à 52 µg Zn/l (**Tableau III-9**)

Tableau III-9 : Concentrations métalliques mesurées sur toutes les stations "Mirgenbach" et "Moselle" (moyenne, écart-type, minimum, maximum) entre janvier 2001 et mai 2003 (N=28). Les stations sont classées de l'amont vers l'aval du CRF de la centrale de Cattenom.

		N	Moyenne	Ecart-type	Minimum	Maximum
Cuivre en µg/l	Mos1	26	**3,8**	1,4	1,5	6,4
	Mir inj	27	**71**	28	32	128
	Mir 1	27	**47**	16	24	84
	Mir M	27	**44**	14	20	73
	Mir rep	26	**41**	13	21	74
	Mos2	27	**31**	15	11	73
	Mos3	27	**4,0**	2,0	1,3	9,8
Zinc en µg/l	Mos1	26	**21**	11	8	52
	Mir inj	27	**46**	21	21	107
	Mir 1	27	**29**	12	12	75
	Mir M	27	**28**	8	15	46
	Mir rep	26	**25**	9	11	46
	Mos2	27	**27**	10	7	52
	Mos3	27	**17**	6	7	29

La **Figure III-9**, montre l'évolution en dents de scie des concentrations en zinc en rivière Moselle et ce, dès l'amont (station Mos1). L'origine de la contamination en zinc dans la rivière Moselle, en plus de la contamination de fond conséquente au passé sidérurgique de la région, peut être multiple (pollution urbaine, agricole et industrielle).

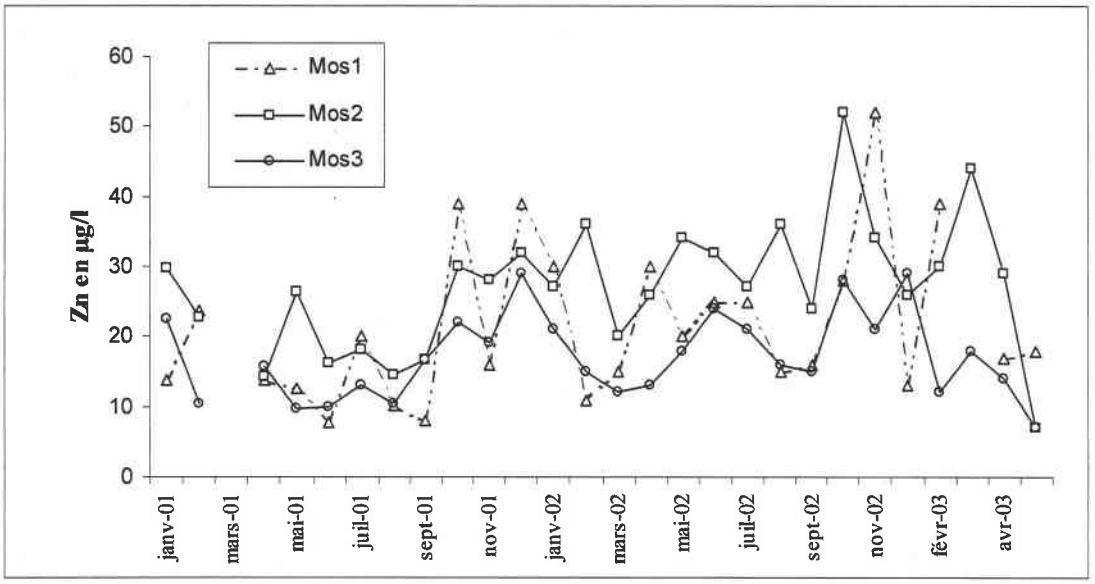


Figure III-9 : Comparaison des profils d'évolution mensuelle des concentrations en zinc (µg/l) dans l'eau brute aux stations Mos1, Mos2 et Mos3, de janvier 2001 à mai 2003. Les stations sont classées dans la légende de l'amont vers l'aval du circuit de l'eau de refroidissement.

Les profils d'évolution des concentrations en zinc des stations Mos2 et Mos3 semblent plus concordants.

La gamme de concentration en zinc dans l'eau brute (de 7 à 52 µg de Zn /l) est la même pour les stations Mos1 (amont) et Mos2 (rejet général), malgré le passage de l'eau par le circuit de refroidissement de la centrale, le rejet de zinc par le CRF et le passage de l'eau dans la retenue du Mirgenbach. On peut émettre l'hypothèse qu'une fraction du zinc prélevé avec l'eau de la Moselle (Mos1) est soustraite du circuit de refroidissement (Tambours filtrant des OARs – Décantation dans les différents ouvrages) et remplacée par du zinc provenant de la corrosion des tubes des échangeurs.

La station Mos3 est la station qui présente les plus faibles concentrations en zinc, avec une valeur moyenne de 17 +/- 6 µg Zn/l.

I.2.1.1.b. Evolution spatiale des concentrations en cuivre et en zinc

Les **Figures III-10** et **III-11** présentent l'évolution stationnelle des concentrations moyennes (n=28) en cuivre et en zinc de janvier 2001 à mai 2003. Les stations Mirgenbach sont positionnées selon une distance croissante par rapport à la station Mir inj.

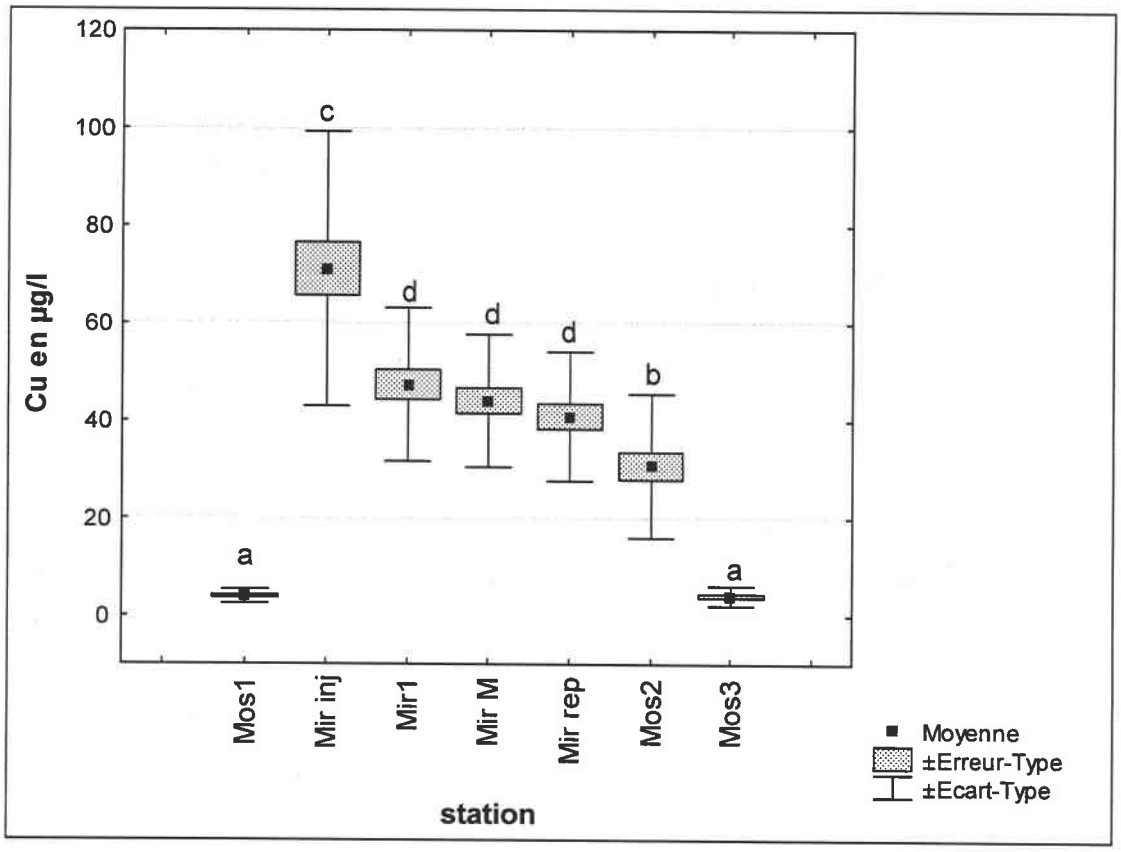


Figure III-10 : Comparaison interstations des concentrations moyennes en cuivre (n=28) exprimées en µg/l. La significativité des différences (test t, $p<0.05$) est illustrée par des lettres arabes différentes.

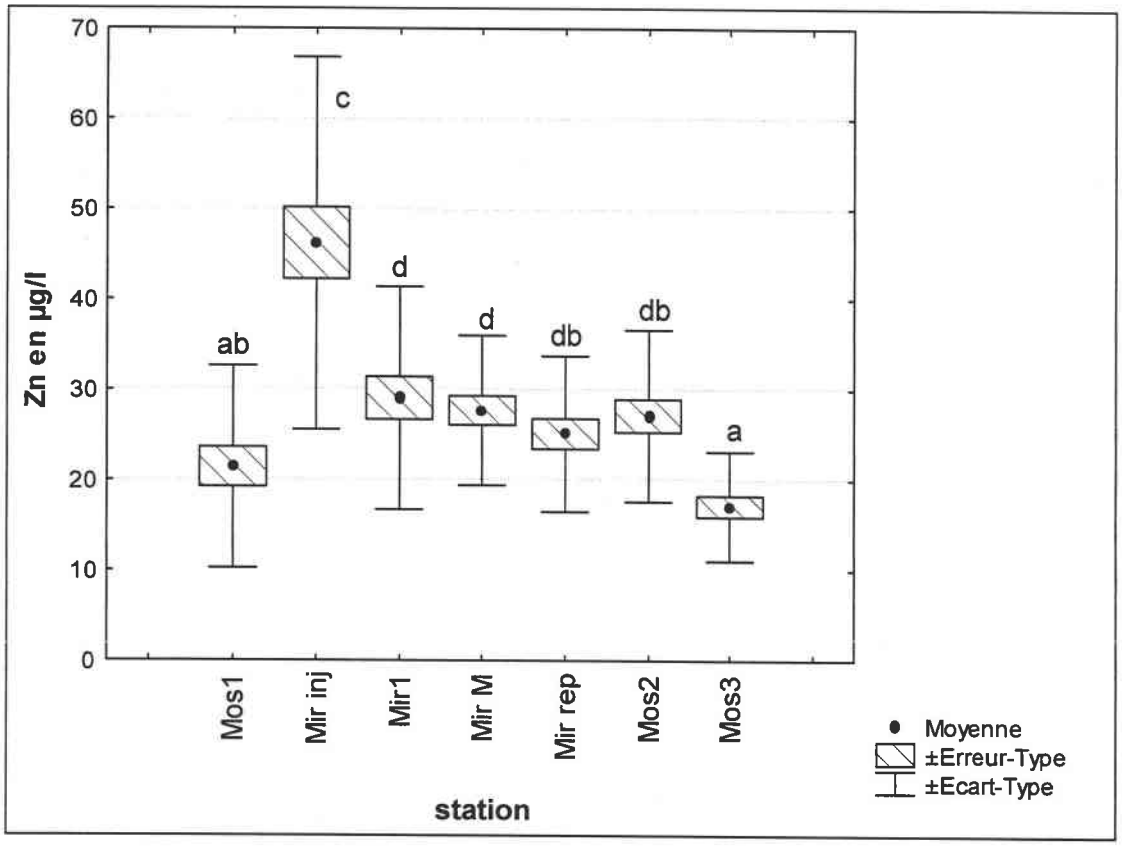


Figure III-11 : Comparaison interstations des concentrations moyennes en zinc (n=28) exprimées en µg/l. La significativité des différences (test t, $p<0.05$) est illustrée par des lettres arabes différentes.

Deux remarques peuvent être faites concernant l'évolution des concentrations en cuivre dans l'eau brute : d'une part, il existe une diminution à mesure que la distance par rapport à la station Mir inj s'accroît et d'autre part, la restauration de la qualité d'eau pour le cuivre, avec un retour au niveau de l'amont Mos1, ne s'opère qu'entre les stations Mos2 et Mos3.

Concernant les teneurs en zinc dans l'eau brute (µg/l), la restauration du système, jusqu'à un niveau de contamination équivalent à celui de la station amont Mos1, s'opère à partir de la station Mir rep, c'est à dire rapidement par rapport au cuivre. Cette différence est liée au fait que la pollution en zinc de la rivière Moselle est déjà élevée (cf. Chapitre I).

La station Mos2 présente une concentration moyenne (n=28) en cuivre inférieure à celle de la station Mir rep (test t de Fisher, $p<0.05$), mais une concentration moyenne (n=28) en zinc équivalente (test t de Fisher, $p<0.05$). Normalement la qualité d'eau observée au niveau de la station Mir rep devrait être la même que celle mesurée au niveau de la station Mos 2, puisqu'il s'agit de la même eau ; la seule différence étant l'apport, au niveau du rejet général, d'eau des circuits annexes provenant à l'origine de la rivière Moselle (cf. Chapitre I). Si l'eau de la station Mir rep est diluée avec de l'eau provenant des circuits annexes alimentés par de l'eau de Moselle (contamination en zinc et non en cuivre), ceci explique la diminution de la concentration en cuivre et la stabilité de la concentration en zinc entre Mir rep et Mos2.

Pour le cuivre, comme pour le zinc, un gradient de dilution est visible de la station Mir inj à la station Mir rep bien que, entre Mir 1, Mir M et Mir rep, les différences de concentration en métaux ne soient pas significatives. Cependant, l'apport de zinc par la centrale étant moins important que celui du cuivre, l'atténuation du rejet de zinc par dilution est plus rapide.

Il est possible de quantifier les métaux éliminés de la colonne d'eau entre Mir inj et Mir rep en effectuant le rapport des concentrations moyennes entre ces deux stations.

Pour le cuivre le facteur de diminution de la concentration dans l'eau brute est de 1.73 entre Mir inj et Mir rep, ce qui correspond à la perte dans la colonne d'eau de 30µg de Cu/l en moyenne. Pour le zinc, le facteur est de 1.84, ce qui correspond à la perte de 21 µg de Zn/l.

Ces métaux Cu et Zn ne sont pas éliminés du système mais ils se sont répartis entre des compartiments abiotiques (sédiments), *via* des processus de décantation et de précipitation, et des compartiments biotiques *via* des processus de bioaccumulation.

I.2.1.1.c. Relation entre l'évolution des concentrations en cuivre et en zinc

Lors de l'étude de la provenance du cuivre et du zinc par corrosion des tubes des condenseurs en laiton (cf : sous chapitre I-3), une corrélation hautement significative entre les deux métaux ($r=0.993$ en juin et $r=0.844$ en décembre), preuve d'une origine commune, a pu être mise en évidence.

Une corrélation significative (coefficient de corrélation r de Pearson) est également mise en évidence au niveau des stations "Mirgenbach" (**Figure III-12**) et des stations Mos2 et Mos3 (**Figure III-13**). Le **Tableau III-10** présente les valeurs des coefficients de corrélation pour chaque station.

Tableau III-10 : Récapitulatif des valeurs des coefficients de corrélation r de Pearson entre les concentrations en cuivre et en zinc (n=28) pour chaque station (ns : non significatif à p>0.05 ; *** : significatif à p<0.01).

	r^2	r de Pearson
Mos1	0.034	0.185 ^{ns}
Mir inj	0.841	0.917 ***
Mir 1	0.680	0.825 ***
Mir M	0.559	0.748 ***
Mir rep	0.398	0.631 ***
Mos2	0.523	0.723 ***
Mos3	0.250	0.500 ***

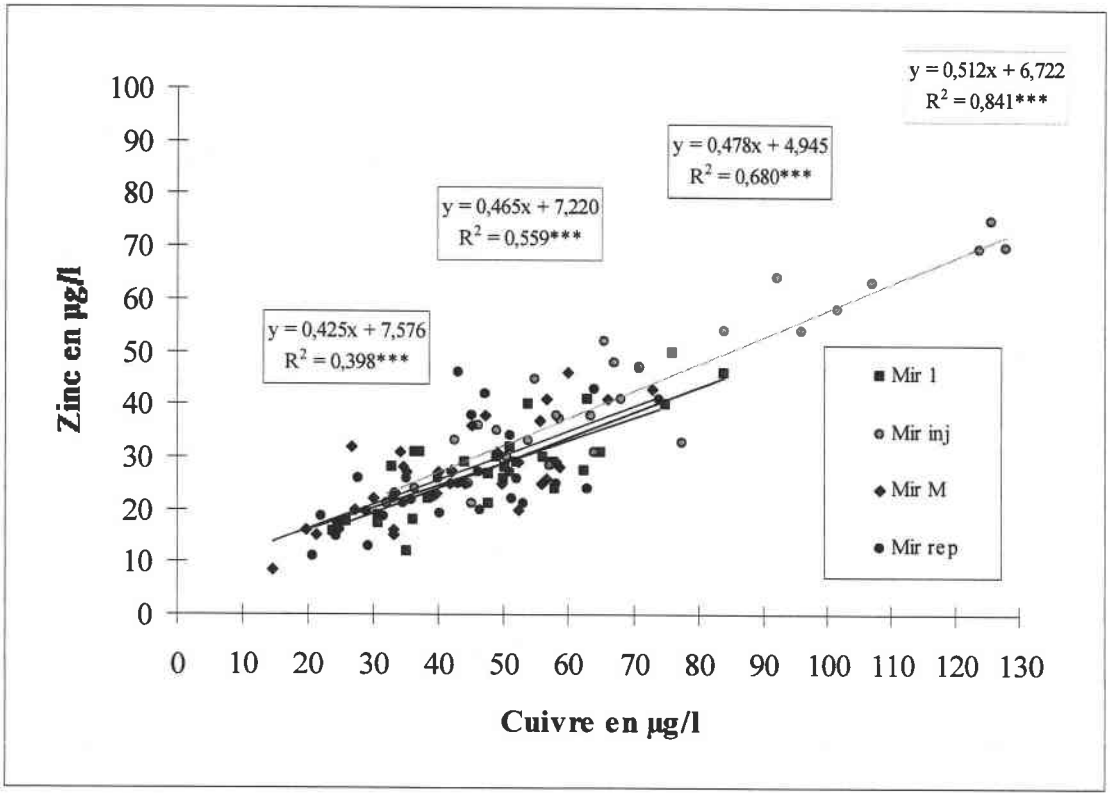


Figure III-12 : Comparaison de la relation linéaire (coefficient de corrélation r de Pearson) entre les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute (µg/l) aux stations Mirgenbach (Mir 1, Mir inj, Mir M et Mir rep).

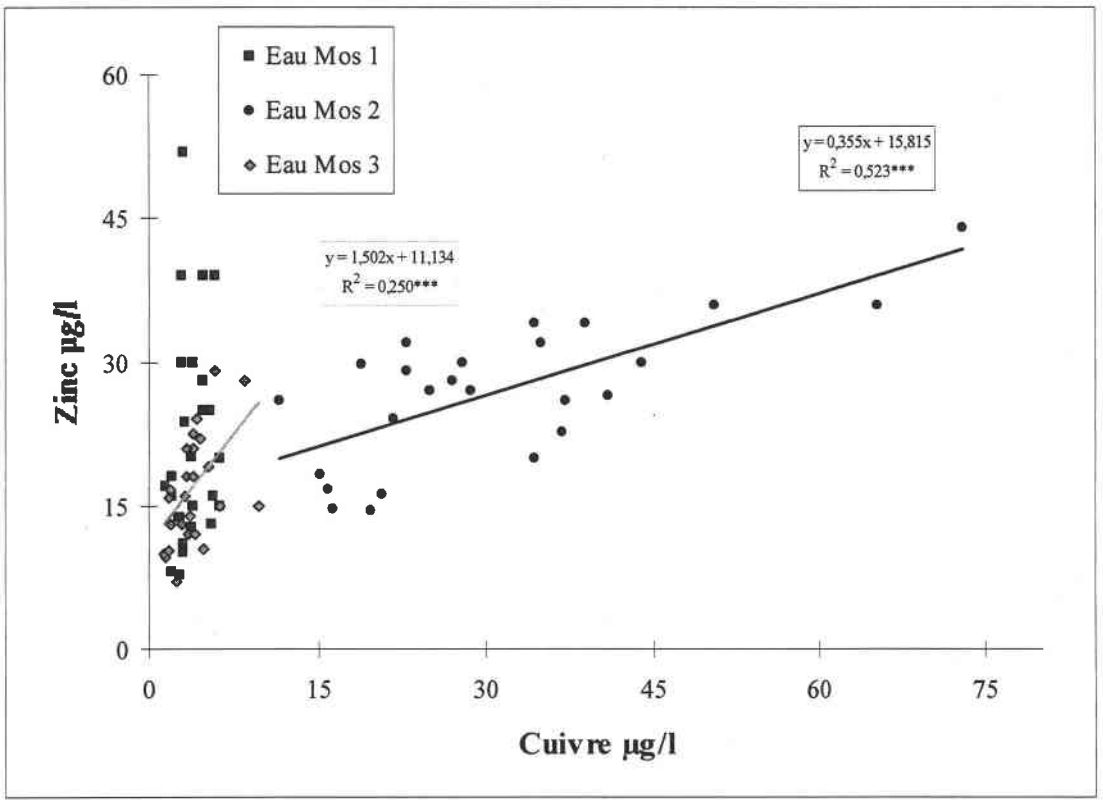


Figure III-13 : Comparaison de la relation linéaire (coefficient de corrélation r de Pearson) des concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute (µg/l) aux stations Moselle (Mos1, Mos2 et Mos3).

L'obtention d'une corrélation significative entre les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute des stations Mirgenbach signifie que ces deux métaux varient de façon concomitante dans le lac. La corrélation entre les deux métaux est significative pour toutes les stations Mirgenbach, mais la valeur du coefficient r diminue à mesure que la distance s'accroît par rapport à la station injection (**Figure III-12**). Toutefois au niveau de la station Mos2, la valeur du coefficient de corrélation augmente (**Tableau III-10**).

La comparaison interstations de la relation linéaire entre les variables cuivre et zinc est réalisée par une ANCOVA. L'hypothèse Ho se référant au parallélisme des lignes de régression entre les stations Mir inj, Mir 1, Mir M et Mir rep, est acceptée au seuil 5%. L'hypothèse HO concernant les ordonnées à l'origine est également acceptée au seuil 5%, il y a égalité des ordonnées à l'origine. La relation entre les variables cuivre et zinc n'est pas modifiée par le paramètre station dans la retenue du Mirgenbach.

Au niveau de la rivière Moselle, la corrélation entre les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute n'apparaît qu'à partir de la station Mos2.

La **Figure III-13**, représente la relation linéaire existant entre les concentrations en cuivre et en zinc au niveau des stations Mos2 et Mos3. La relation entre les deux métaux est visiblement différente entre les stations Mos2 et Mos3 et une ANCOVA a permis de mettre en évidence une différence significative à $p<0.05$ entre les pentes des deux droites de régression.

I.2.1.1.d. Variation interannuelle des concentrations en cuivre et en zinc

Il a été démontré que la source principale du cuivre et partielle du zinc dans la retenue du Mirgenbach résidait dans la corrosion des condenseurs en laiton du circuit tertiaire de refroidissement.

La corrosion des échangeurs en laiton n'est pas forcément un processus stable et il est possible que la libération des métaux soit croissante dans le temps.

Toutefois, il est important de remarquer qu'une augmentation de la quantité de métaux injectés dans le lac peut également être le fait d'un accroissement de la productivité de la centrale nucléaire entre 2001 et 2002, puisque les deux paramètres, corrosion et activité de la centrale, contrôlent la quantité de métaux injectés dans le lac.

Pour mettre en évidence une évolution temporelle des concentrations métalliques due à un apport supplémentaire de la centrale, il est nécessaire de travailler sur un pas de temps suffisamment long. Le suivi métallique mensuel des concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute ayant été réalisé de janvier 2001 à mai 2003, nous disposons de deux années entières de mesure (2001 et 2002), avec la possibilité de comparer les concentrations annuelles de cuivre et zinc.

Les **Figures III-14** et **III-15** présentent les concentrations moyennes (n=12) en cuivre et en zinc pour chaque station en 2001 et en 2002.

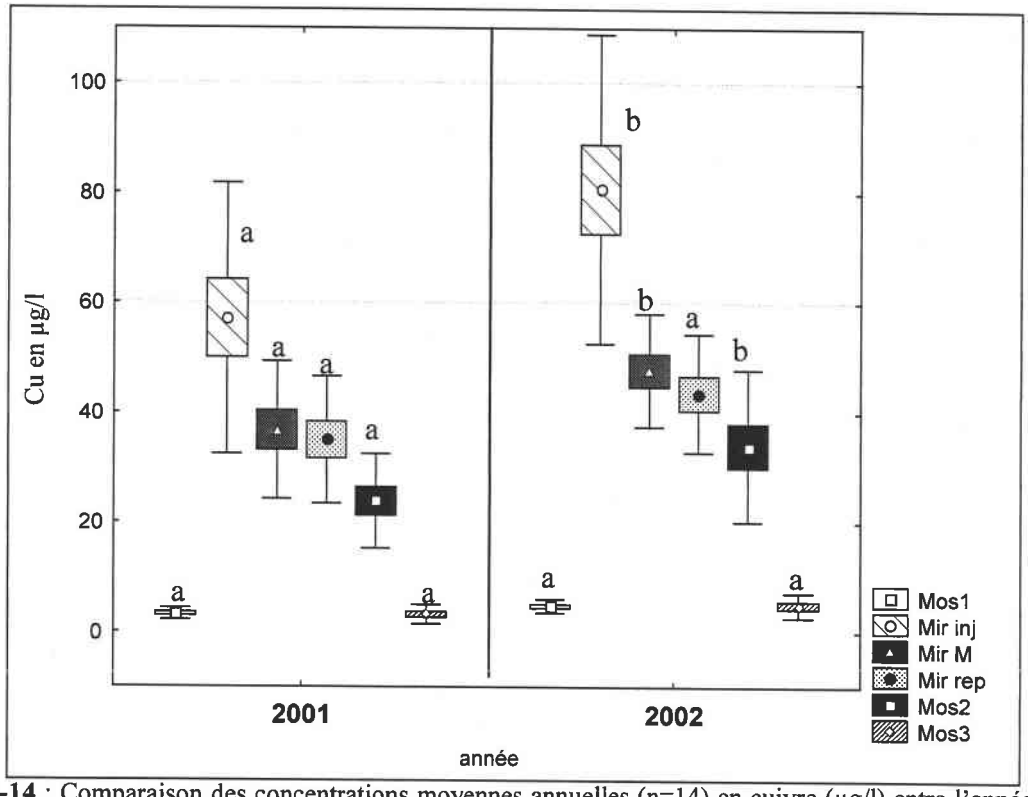


Figure III-14 : Comparaison des concentrations moyennes annuelles (n=14) en cuivre (µg/l) entre l'année 2001 et 2002 pour chaque station (positionnées de l'amont vers l'aval le long du circuit de l'eau de refroidissement). Les lettres arabes illustrent la différence significative ou non entre l'année 2001 et l'année 2002 pour une même station.

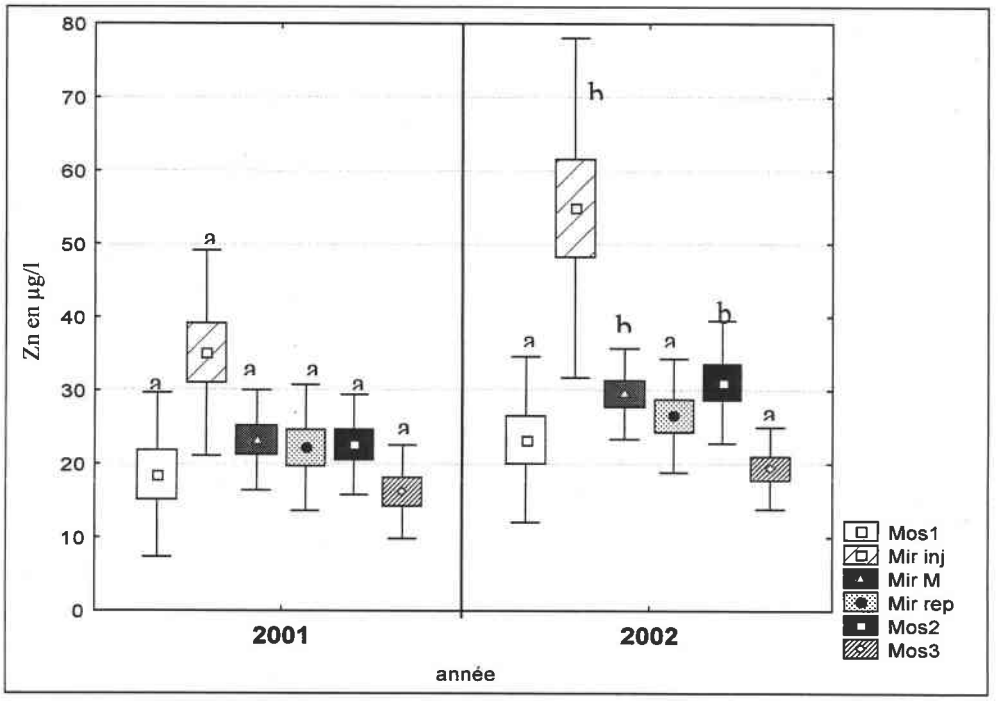


Figure III-15 : Comparaison des concentrations moyennes annuelles (n=14) en zinc (µg/l) entre l'année 2001 et 2002 pour chaque station (positionnées de l'amont vers l'aval le long du circuit de l'eau de refroidissement). Les lettres arabes illustrent la différence significative ou non entre l'année 2001 et l'année 2002 pour une même station.

La comparaison des moyennes annuelles en cuivre et en zinc est réalisée grâce à un test t de Fisher et la significativité des différences ($p<0.05$) pour une même station entre l'année 2001 et l'année 2002 est illustrée par des lettres arabes différentes.

La première constatation est que les concentrations en cuivre et les concentrations en zinc évoluent de la même manière de la station Mos1 à la station Mos3 en 2001 et en 2002.

La différence de concentration en cuivre est significative à $p<0.05$ entre 2001 et 2002 pour les stations Mir inj, Mir 1 (non représenté), Mir M et Mos2. Pour la station Mir rep, bien que la moyenne tende à être supérieure en 2002, la différence est non significative.

L'observation de l'évolution des concentrations en zinc entre 2001 et 2002, permet de faire le même constat que pour le cuivre, c'est à dire que la différence est significative entre les deux années pour les stations Mir inj, Mir 1 (non représentée), Mir M et Mos 2.

Par conséquent nous pouvons conclure que la quantité de métaux rejetée par la centrale de Cattenom s'est accrue entre 2001 et 2002.

Cette augmentation peut être quantifiée en calculant le rapport des concentrations moyennes en cuivre et en zinc pour 2001 et 2002. Pour la station Mir inj le facteur d'augmentation des teneurs en cuivre et en zinc est respectivement de 1.27 et 1.56. La différence observée est liée à la forte variabilité des concentrations métalliques au niveau de cette station reflétant la variabilité des concentrations mesurées dans le CRF (station C2). Pour les stations Mir 1, Mir M et Mos2, le facteur d'augmentation des concentrations est équivalent pour le cuivre et le zinc avec respectivement pour chaque station et dans l'ordre Cu, Zn : 1.38, 1.38 ; 1.25, 1.20 ; 1.48 et 1.38.

La **Figure III-16** montre également que l'augmentation des concentrations en cuivre et en zinc a lieu en conservant la même relation linéaire entre les variables cuivre et zinc. La différence entre les pentes des deux droites de régression est non significative au seuil 5% (ANCOVA).

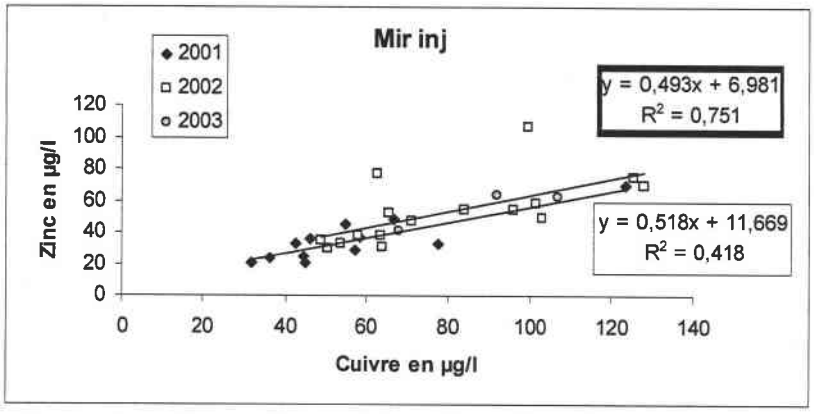


Figure III-16 : Comparaison de la relation linéaire (coefficient de corrélation r de Pearson) entre les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute (µg/l) de la station Mir inj en 2001 et 2002.

I.2.2. Conclusion partielle

Les résultats obtenus pour les stations Mos1 et Mos3 confirment les tendances observées dans le paragraphe précédent, à savoir un niveau de contamination en cuivre de l'eau brute qui n'excède jamais 10µg Cu/l et une pollution en zinc importante en Moselle dés l'amont.

Dans la retenue du Mirgenbach, l'ajout de stations supplémentaires, Mir 1, Mir inj et Mir rep a permis de mettre en évidence l'hétérogénéité spatiale de la répartition du cuivre dans le lac selon un gradient de concentration décroissant de la station d'injection vers la station de reprise dans le lac.

Les concentrations les plus élevées sont observées au niveau de la station Mir inj (station située à l'aplomb de l'ouvrage d'injection des eaux de purge dans le lac) et peuvent atteindre des valeurs de 128µg Cu/l. Les maxima des concentrations en cuivre correspondent systématiquement aux périodes hivernale et printanière et les minima à la période estivale. Comme nous l'avons remarqué au chapitre I.1, le rythme d'activité de la centrale et le processus de corrosion des condenseurs sont les paramètres déterminant la concentration en cuivre au niveau de la station d'injection. La libération de cuivre par corrosion n'étant pas différente en juin et en décembre 2001, c'est principalement le rythme d'activité de la centrale (nombre de tranches en fonctionnement) qui modifie la quantité de cuivre injectée dans le lac au cours de l'année.

La diminution des concentrations en cuivre et en zinc dans la colonne d'eau entre la station Mir inj et la station Mir rep peut être quantifiée et se traduit par une perte en moyenne de 30µg/l de cuivre et de 21 µg/l de zinc. Cette fraction métallique n'est pas éliminée du système lac, mais elle a été transférée soit vers un autre compartiment abiotique tel que les

sédiments, soit vers les compartiments biotiques. Remarquons cependant que malgré des concentrations en zinc dans l'eau inférieures à celles du cuivre à la station Mir inj, la proportion de zinc qui disparaît de la colonne d'eau est équivalente à celle du cuivre. Ces résultats ont orienté les recherches vers une étude de la répartition des métaux dans les différents compartiments biotiques et abiotiques du lac. De plus, compte tenu de l'impact des paramètres du milieu sur la répartition des métaux (cf. Bibliographie), il est très probable que la variation saisonnière des caractéristiques physico-chimiques du milieu (salinité, conductivité, turbidité...) et biologiques (plancton plus ou moins abondant) influencent le transfert des métaux entre les différents compartiments du système.

La zone de restauration de la qualité d'eau après le rejet des eaux de purge de la centrale dans le lac puis en Moselle est située, entre les stations Mos2 et Mos3 dans le cas du cuivre et entre les stations Mir M et Mir rep dans le cas du zinc. Par conséquent, à la différence du cuivre, l'impact du rejet de zinc sur la rivière Moselle est négligeable.

Une relation linéaire hautement significative a pu être mise en évidence entre les variables cuivre et zinc dans la retenue du Mirgenbach et cette relation n'est pas modifiée dans l'espace (pentes et ordonnées à l'origine non différentes), ce qui signifie que les proportions relatives de cuivre et de zinc dans le lac restent inchangées au cours du temps et de l'espace. Cependant le coefficient de corrélation entre les deux variables diminue dans le même sens que le gradient de contamination dans le lac. Ces observations sous-entendent, par conséquent, que les voies de transfert des deux métaux dans le lac sont proches. Au niveau de la station Mos2, la relation linéaire, bien que toujours significative, est encore plus atténuée.

Entre 2001 et 2002, une augmentation significative (d'un facteur 1.2 à 1.5 selon la station) du niveau de contamination en cuivre et en zinc dans l'eau brute est mesurée dans le lac et cela, dans des proportions similaires pour les deux métaux. L'augmentation de la quantité de cuivre et de zinc rejetée dans le lac peut avoir deux origines, d'une part l'accroissement de la productivité de la centrale entre 2001 et 2002, d'autres part une intensification avec le temps de la libération de métaux par corrosion.

Les apports significatifs de ce sous-chapitre sont :

- La mise en évidence d'un gradient de contamination décroissant dans le lac, de l'injection vers la reprise avec une perte de 30µg/l de Cu et de 21 µg/l de zinc entre les deux stations.
- L'existence de variation saisonnière du niveau de contamination dans le lac (maximum en hiver et au printemps ; minimum en été).
- La restauration d'un niveau de cuivre et de zinc dans l'eau équivalent à l'amont se situant entre Mos2 et Mos3 pour le cuivre et entre Mir M et Mir rep pour le zinc.
- L'existence d'une corrélation [Cu]*[Zn] dans l'eau brute (observée en station C2) restant significative dans le lac et jusqu'en station Mos2.

I.2.1.2. Evolution de la répartition du cuivre et du zinc entre les phases soluble et particulaire au niveau des différentes stations

Le sous-chapitre précédent a principalement permis de mettre en évidence, par rapport à la rivière Moselle amont, la forte contamination en cuivre et à un moindre degré en zinc de l'eau brute de la retenue du Mirgenbach.

Les informations fournies ne concernaient que des concentrations métalliques totales dans l'eau. Il convient alors d'étudier la répartition du cuivre et du zinc entre les phases solubles et particulaires sachant que cette répartition influence la biodisponibilité pour les organismes et le transfert des métaux vers les sédiments. Les fractions métalliques particulaires sont par exemple habituellement considérées comme non assimilables pour les bactéries et le phytoplancton (Muller, 1996).

L'étude de la répartition des métaux dans l'eau brute au niveau du circuit tertiaire de refroidissement n'a pu être réalisée. Toutefois, considérant que le temps de séjour de l'eau dans le circuit de refroidissement de la centrale est d'environ 10h, avec une forte agitation, l'hypothèse émise est qu'il est possible de considérer qu'après 10h l'état d'équilibre est atteint et que par conséquent la répartition des métaux entre les deux phases est la même lors de l'injection dans la retenue du Mirgenbach.

Ultérieurement, la spéciation du cuivre et du zinc peut être modifiée dans la retenue sous l'influence de facteurs abiotiques et de facteurs biotiques *via* des processus d'adsorption et d'absorption (bactéries, plancton, autres organismes).

Il est un fait établi, que les métaux introduits dans un écosystème interagissent avec le milieu et cela en fonction de ses caractéristiques physico-chimiques (pH, MES, conductivité, ions présents…), et que par conséquent la répartition des métaux peut être modifiée.

Les facteurs contrôlant la distribution des métaux sont complexes. Outre la nature du rejet, un ensemble de processus chimiques et physiques régulent l'adsorption sur des particules telles que les argiles, les oxydes et les matières organiques. Le taux de métal dans une eau naturelle est contrôlé par la sélectivité des liaisons établies par le métal avec d'autres composés et par la dynamique des particules elles-mêmes. L'ensemble détermine d'une part la répartition du cuivre entre la phase soluble et particulaire, puis la spéciation du cuivre et du zinc dans les sédiments.

Pour estimer l'impact des métaux sur les organismes, c'est de la concentration en métaux biodisponibles, donc de la spéciation du métal dans le milieu, que dépend la toxicité envers les organismes.

I.3.1. Résultats

Les résultats permettent d'aborder deux aspects, d'une part la répartition des métaux entre la phase soluble et particulaire (en pourcentage) et d'autre part l'estimation de la fraction métallique en µg/l présente dans la phase soluble.

Les **Figures III-17** et **III-18** présentent la comparaison interstations de la répartition dans l'eau du cuivre et du zinc entre la phase soluble (<0.45µm) et la phase particulaire (>0.45µm). Les valeurs correspondent à la moyenne des résultats obtenus lors de 8 campagnes en rivière Moselle et 9 dans la retenue du Mirgenbach (1 prélèvement tous les trois mois) effectuées entre janvier 2001 et mai 2003.

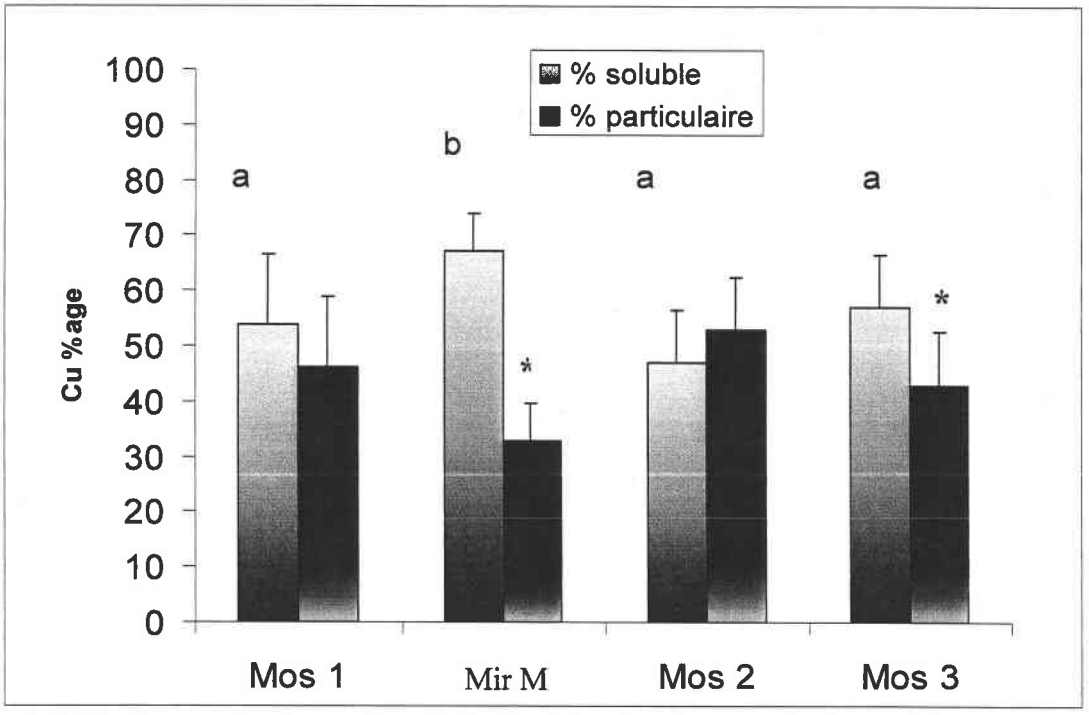


Figure III-17 : Comparaison interstations de la répartition du cuivre entre la phase soluble (<0.45µm) et la phase particulaire (>0.45µm) dans la colonne d'eau. a, b : significativité de la différence interstations dans la répartition des phases soluble et particulaire ($p<0.05$). * : significativité de la différence entre phase soluble et particulaire pour une station donnée ($p<0.05$).

Dans la Moselle, la répartition du cuivre à la station Mos1 est dans la phase soluble et particulaire respectivement de 54% et 46% ; ce qui correspond également à ce qui est mesuré à la station Mos 3 (57% de cuivre dissous, 43% de cuivre particulaire). La station Mos2 est la seule station pour laquelle la fraction de cuivre particulaire (53%) est supérieure à la fraction de cuivre soluble (47%). Toutefois la différence observée entre fraction soluble et particulaire n'est significative que pour les stations Mos3 et Mir M.

Dans la retenue du Mirgenbach, la fraction de cuivre dissous augmente significativement (test t de Fisher, $p<0.05$) jusqu'à 67%. La répartition du cuivre est significativement (test t de Fisher, $p<0.05$) différente dans la retenue du Mirgenbach par rapport aux stations Mos1, Mos2 et Mos3.

La répartition du zinc est différente de celle qui est observée pour le cuivre, puisque la fraction particulaire est significativement dominante par rapport à la phase soluble pour toutes les stations. Cette fraction particulaire du zinc est d'ailleurs significativement supérieure à celle du cuivre pour toutes les stations.

Les fractions particulaires et solubles du zinc au niveau de la station Mos1 représentent respectivement 63 % et 37%. Ce qui est équivalent à ce qui est mesuré pour la station Mos3 (63% de zinc particulaire et 37% de zinc dissous) et pour la station Mos2 (69% de zinc particulaire et 31% de zinc dissous). Il n'y a pas de différence significative (test t de Fisher, $p<0.05$) dans la répartition du zinc entre ces trois stations.

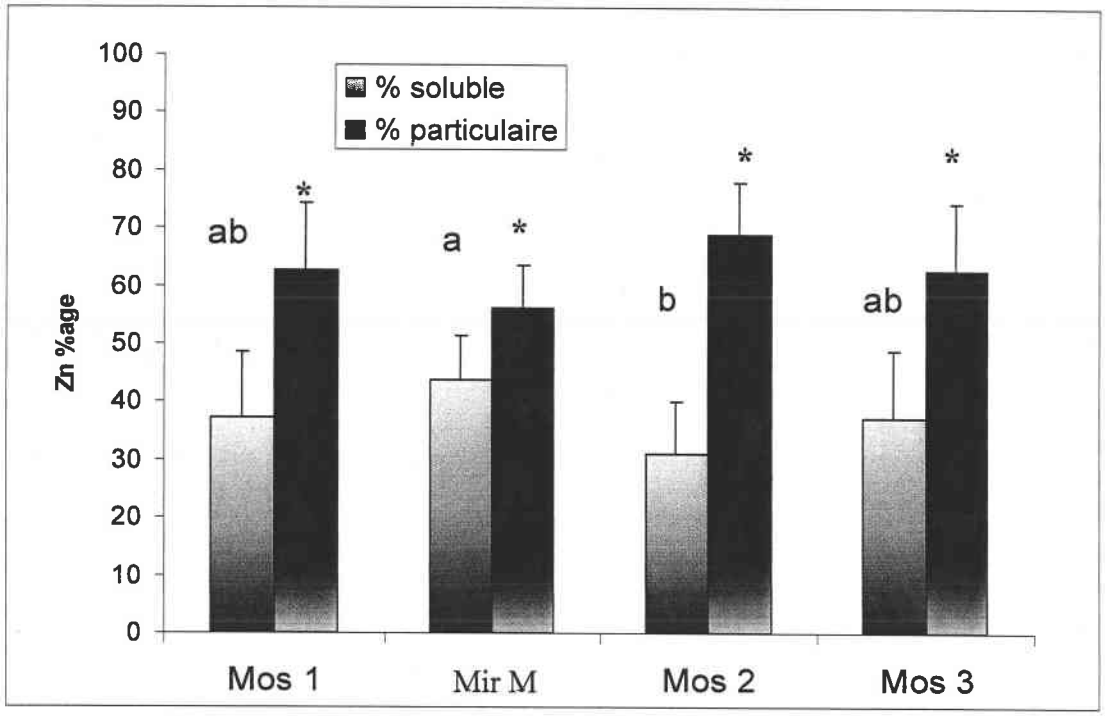


Figure III-18 : Comparaison interstations de la répartition du zinc entre la phase soluble (<0.45µm) et la phase particulaire (>0.45µm) dans la colonne d'eau. a, b : significativité de la différence interstation dans la répartition des phases soluble et particulaire ($p<0.05$). * : significativité de la différence entre phase soluble et particulaire pour une station donnée ($p<0.05$).

Dans la retenue du Mirgenbach le zinc se répartit à raison de 44% dans la phase soluble et 56% dans la phase particulaire, ce qui correspond à un transfert de zinc de la phase particulaire vers la phase dissoute en comparaison avec les stations Mos1, Mos2 et Mos3. Toutefois en raison des écart-types importants sur les moyennes calculées aux stations Mos1 (+/- 11.6) et Mos3 (+/- 11.5), la répartition du zinc n'est significativement différente qu'entre Mir M et Mos2.

Les résultats mettent en évidence une répartition préférentielle du cuivre dans la phase dissoute. Ceci est particulièrement net dans la retenue du Mirgenbach (Mir M) et en station Mos3, avec une proportion de cuivre dans la phase dissoute significativement supérieure à

celle de la phase particulaire. Dans la retenue du Mirgenbach la proportion de cuivre dans la phase dissoute augmente significativement par rapport aux autres stations.

La répartition préférentielle du zinc dans la phase particulaire est significative ($p<0.05$) pour toutes les stations. La fraction de zinc dans la phase dissoute tend à augmenter dans la retenue du Mirgenbach mais cette augmentation n'est pas suffisante pour être significative. Par contre l'augmentation de la fraction de zinc incluse dans la phase particulaire est significativement plus élevée en station Mos2 par rapport à Mir M.

L'étude de la répartition des métaux entre les phases soluble et particulaire permet également d'estimer en termes de concentration les fractions de cuivre et de zinc présentes dans la phase soluble.

Concernant le cuivre, la concentration mesurée dans la phase soluble (**Figure III-19**) correspond respectivement pour les stations Mos1, Mir M, Mos2 et Mos3 à 2.2 +/- 1.4 µg Cu/l, 29 +/- 8 µg Cu/l, 14 +/- 5 µg Cu/l et 2.2 +/- 0.9 µg Cu/l. Alors que dans le cas du zinc ces concentrations sont respectivement pour les stations Mos1, Mir M, Mos2 et Mos3 de 8 +/- 3 µg Zn/l, 12 +/- 3 µg Zn/l, 9 +/- 4 µg Zn/l et 7 +/- 3µg Zn/l **(Figure III-20)**.

En conséquence, seules les stations Mir M et Mos2 présentent des concentrations en cuivre soluble supérieure à 10µg/l et seule la station Mir M présente une concentration en zinc soluble supérieure à 10µg/l.

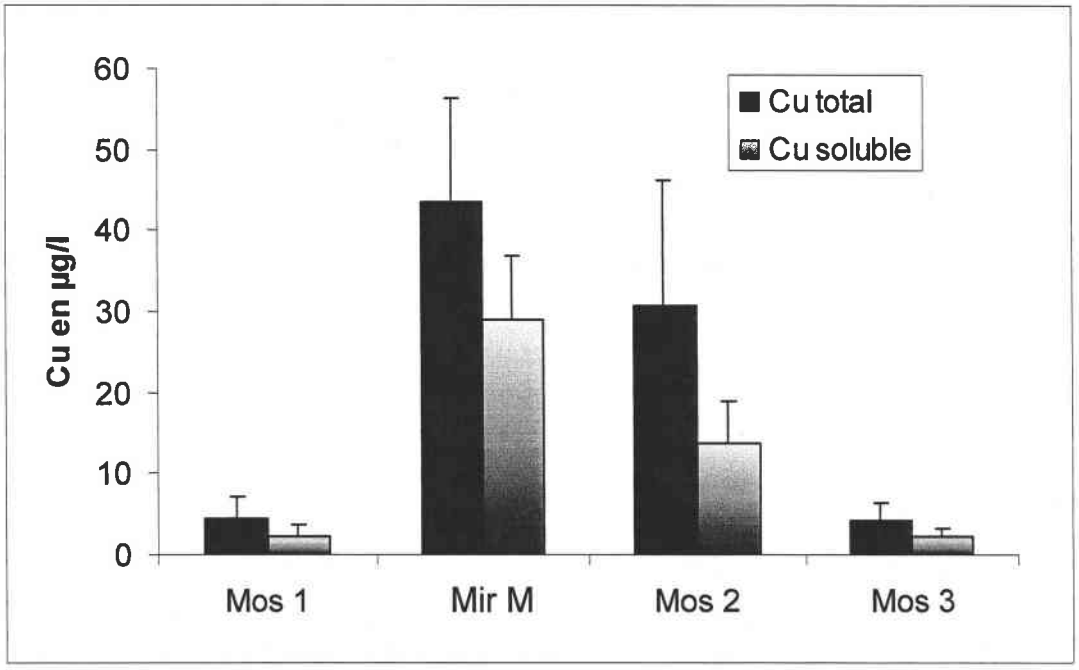


Figure III-19 : Comparaison interstations des concentrations en cuivre exprimées en µg/l mesurées dans les échantillons d'eau brute (Cu total) et d'eau filtrée (Cu soluble, <0.45µm).

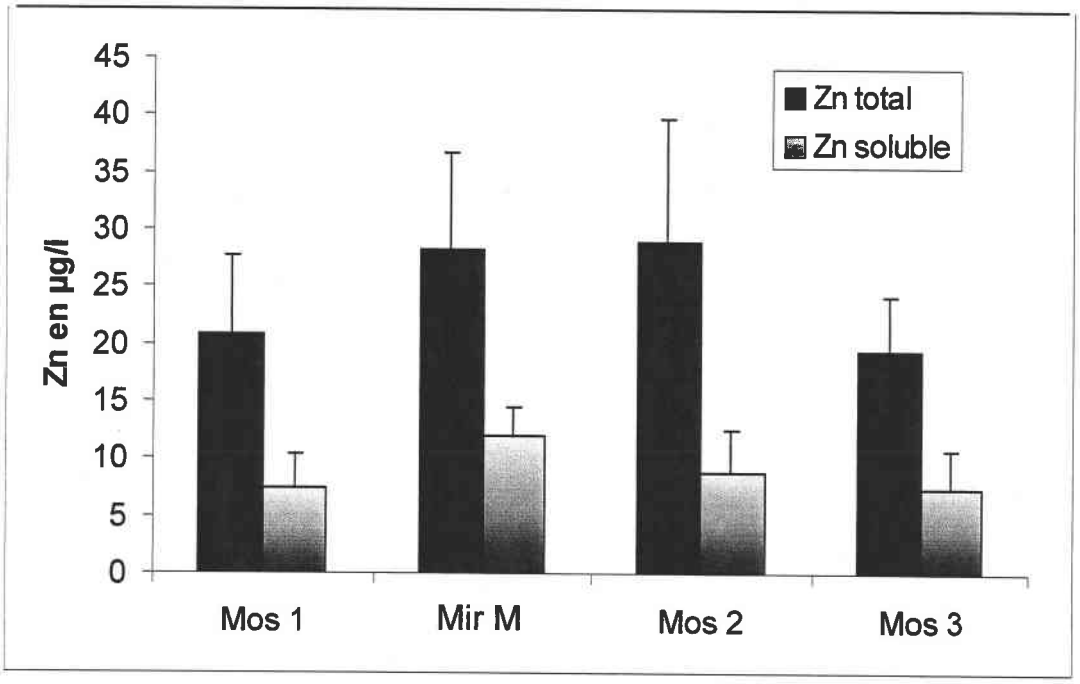


Figure III-20 : Comparaison interstations des concentrations en Zn exprimées en µg/l mesurées dans les échantillons d'eau brute (Zn total) et d'eau filtrée (Zn soluble, <0.45µm).

I.3.2. Discussion et conclusion partielle

Bien que la technique standard de séparation des phases soluble et particulaire par filtration sur une membrane de 0.40µm ou 0.45µm soit encore fréquemment utilisée (Owens *et al.*, 1997; Shafer *et al.*, 1999; Pempkowiak *et al.*, 2000; Szarek-Gwiazda & Mazurkiewick-Boroń, 2002; Achterberg *et al.*, 2002), les résultats obtenus sont toujours considérés comme étant insatisfaisants ; d'une part parce que cette technique ne permet pas de séparer les formes colloïdales des métaux, d'autre part parce qu'au sein des formes dites « dissoutes », la distinction entre formes organiques et inorganiques des métaux ne peut être faite. En tout état de cause, la biodisponibilité des métaux est difficilement estimable. Dans la phase dissoute, le cuivre et le zinc ne sont pas forcément sous une forme ionique, ils peuvent être liés à des matières organiques ou inorganiques.

La préférence du cuivre pour la phase dissoute a déjà été mise en évidence dans d'autres systèmes tels que le lac de Constance (Sigg *et al.*, 1982) ou le lac eutrophe de Greifen (Sigg *et al.*, 1995). Les résultats des études de Van den Berg *et al.* (1987), Verweij *et al.* (1989), Cao *et al.* (1995), Xue *et al.* (1995) indiquent que cette préférence est principalement causée par une forte affinité du cuivre pour les ligands organiques présents naturellement dans l'eau et plus particulièrement pour la formation de complexes organiques solubles dans l'eau. De tels complexes ont une forte constante de stabilité et restent longtemps en solution ((Szarek-Gwiazda & Mazurkiewick-Boroń, 2002). De nombreux auteurs ont montré qu'une majorité du cuivre présent dans les eaux naturelles était complexée avec de la matière organique à raison de 80-96% Donat *et al.*, 1994), 96-99% (Donat, 1995), 95-99,99% (Muller, 1996a), 99-99,99% (Kozelka & Bruland, 1998 ; Achterberg *et al.*, 2002), 76-96% (Muller, 1998), 77% (Szarek-Gwiazda & Mazurkiewick-Boroń, 2002)

D'après Van den Berg *et al.* (1987) et Szarek-Gwiazda & Mazurkiewick-Boroń (2002), l'interaction avec les ligands organiques dissous détermine le devenir géochimique du cuivre. Ces ligands naturels pourraient être des ligands spécifiques émis par les organismes ou des produits de dégradation de matériaux biologiques (Sigg *et al.*, 1995) tels que les acides humiques et fulviques.

Les résultats obtenus par Lu & Allen (2001, 2002) impliquent que les sites de liaison de la MO jouent le rôle le plus important dans la répartition du cuivre et ce, non seulement dans la phase aqueuse mais également dans la phase particulaire.

Les ligands organiques exerceraient également un contrôle dominant de la spéciation du zinc (44 à 97%) en phase dissoute (Wells *et al.*, 1998). Shafer *et al.* (1999) ont mis en évidence une corrélation positive entre le carbone organique dissous et la fraction de zinc dissous, ce qui indique que le COD peut se lier au métal et le garder en solution.

Cependant, les ligands du cuivre et du zinc seraient différents. Muller *et al.* (2001) ont isolé 2 types de ligands pour le cuivre qui apparaissent surtout dans la phase soluble. Les ligands forts seraient produits *in situ* en réponse à une concentration en cuivre, alors que les ligands plus faibles apparaissent comme étant dérivés d'une source terrestre et/ou des sédiments réduits eux-mêmes. Pour le zinc, une seule classe de ligands est isolée, et ils sont répartis plus uniformément entre les phases dissoutes et particulaires. Les plus forts ligands ont montré une forte corrélation avec les particules en suspension. L'hypothèse émise par les auteurs est que ces ligands seraient produits *in situ* par les bactéries dégradant la matière organique particulaire, d'où une plus forte proportion du zinc dans la fraction particulaire.

Dans la phase dissoute (<0.45µm) est incluse la fraction des métaux associée aux colloïdes organiques et inorganiques (Cf. analyse bibliographique ; Chapitre I.4.1). La fraction colloïdale est un mélange complexe de matériel macromoléculaire en solution et de microparticules. Il est de plus en plus évident, d'après les approches théoriques et les études en laboratoire et *in situ,* que les colloïdes jouent un rôle clef en tant que médiateurs du transfert des éléments traces entre la phase dissoute et la phase macroparticulaire, laquelle est influencée par le dépôt des particules vers les sédiments et donc joue un rôle important dans le transport vertical des éléments associés (Muller, 1996).

Les résultats obtenus mettent en évidence le rôle primordial de la phase particulaire dans le transport vertical des métaux Cu et surtout Zn. La fraction de cuivre associée aux particules dans la colonne d'eau varie de 43 à 53% en fonction des stations d'étude en Moselle et elle est de 33% dans la retenue du Mirgenbach. Concernant le zinc, la fraction particulaire varie de 63 à 69 % en rivière Moselle et elle est de 56% dans la retenue du Mirgenbach. Cette fraction métallique particulaire est susceptible de rejoindre le compartiment sédimentaire par décantation.

Windom *et al.* (1991) rapportent que, en moyenne, 40 et 80% respectivement de Cu et Zn sont liés à des solides en suspension dans les rivières de la côte Est des Etats-Unis (US East Coast river). Ce qui est équivalent à ce qui est mesuré par Shafer *et al.* (1999) dans des rivières sur 15 sites calcaires (Etats-Unis) dont le pH varie de 7.3 à 8.4 et la conductivité de 300 à 710 µS/cm. Ces résultats sont du même ordre de grandeur que ce qui est mesuré sur les

stations Moselle pour le cuivre mais bien supérieurs à la fraction de zinc particulaire observée en Moselle et dans la retenue du Mirgenbach. Toutefois, les résultats fournis par Shafer *et al.* (1999) correspondent à une seule campagne de prélèvement par site qui s'étend de fin août à octobre, ce qui correspond en général à des périodes de pluviosité plus importante (période de crues ou de hautes eaux en rivière). Or les fractions particulaires de zinc varient en rivière Moselle respectivement pour Mos1, Mos2 et Mos3 de 44 à 80%, de 58 à 83% et de 50 à 80% et dans la retenue du Mirgenbach de 46 à 70% ; soit des maxima qui correspondent bien aux valeurs observées par Shafer *et al.* (1999).

Les fractions de cuivre particulaire varient pour les stations Moselle respectivement pour Mos1, Mos2 et Mos3 de 30 à 69%, de 40 à 66% et de 30 à 62% et dans la retenue du Mirgenbach de 19 à 40%, soit une diminution significative de la fraction particulaire dans la retenue par rapport aux stations Moselle. Cette diminution peut être liée en partie à la décantation d'une partie des matières en suspension dans le lac. En effet, le lac représente une zone d'interruption du transport des métaux traces par rapport au système fluvial en raison d'un temps de séjour plus long (10 à 15 jours). D'autre part, une partie des métaux particulaires décante dans les bassins chaud et froid des aéroréfrigérants. Cette diminution de la fraction particulaire est également observée pour le zinc.

Toutefois, au niveau de la station Mos2, cette diminution de la fraction particulaire n'est plus visible. Nous avons vu dans le chapitre I.1, que la concentration en cuivre total diminue entre l'entrée des eaux de purge dans le lac et la reprise de l'eau vers la rivière Moselle. Par conséquent il existe bien une perte de métaux dans la colonne d'eau.

L'hypothèse est que la fraction particulaire des métaux diminue principalement par décantation des particules en suspension au niveau de la station Mir M (station située au centre du lac) et secondairement, une part de la fraction dissoute pourrait rejoindre le compartiment sédimentaire sous l'influence de phénomène d'adsorption, d'absorption et précipitation, mécanismes qui seraient plus lents que la sédimentation des particules. Une fois arrivée au niveau de la station Mos2, une diminution équivalente de la fraction dissoute et particulaire serait réalisée, d'où un retour à une partition du cuivre et du zinc équivalente à celle observée en rivière Moselle amont et aval avec une diminution de la charge totale en métaux dans l'eau brute. Ces hypothèses pourront être vérifiées lors de l'étude de la circulation du cuivre dans la retenue du Mirgenbach et de la spéciation du cuivre et du zinc dans le compartiment sédimentaire.

L'estimation de la toxicité du cuivre réalisée dans le chapitre I.1 en référence au SEQ-eau peut être améliorée à ce stade de l'étude en utilisant, non pas la concentration en métal total dans l'eau brute, mais la concentration en métal soluble. Sachant que la fraction métallique de la phase soluble ne correspond pas forcément à la fraction de cuivre biodisponible, puisque, dans la phase soluble (<0.45µm) une partie du cuivre est liée à des ligands organiques et inorganiques.

En tenant compte de la phase soluble du cuivre, l'aptitude en référence à la grille du SEQ-eau et pour la fonction « potentialités biologiques » relève de la classe 1/5 (bleue) pour

les stations Mos1 et Mos3, 2/5 (verte) pour la station Mos2 et 3/5 (jaune) pour la station Mir M, ce qui correspond par rapport aux résultats fournis au chapitre I.1 à une amélioration d'une classe de qualité pour chaque station. Par conséquent, les risques d'effets néfastes sont négligeables pour toutes les espèces aux stations Mos1 et Mos3, mais il existe des risques d'effets chroniques pour les espèces les plus sensibles et notamment pour les juvéniles à la station Mos2 et il existe des risques d'effet chronique avec possibilité de diminution de l'abondance et prédominances des espèces tolérantes à la station Mir M.

Dans le cas du zinc, toutes les stations relèvent de la classe 1/5 (bleue), ce qui signifie que les risques d'effet néfaste sont négligeables pour toutes les espèces.

Les apports principaux de ce sous chapitre concernent :

- La répartition préférentielle du cuivre dans la phase soluble et du zinc dans la phase particulaire
- Une modification, par rapport à l'amont, de la répartition du cuivre dans la retenue du Mirgenbach en faveur de la phase soluble alors que celle du zinc ne l'est pas.
- L'absence d'évolution dans la répartition des métaux entre phase dissoute et particulaire en rivière Moselle (Mos1 et Mos3).
- L'estimation de la toxicité à partir des concentrations en cuivre et en zinc soluble dans l'eau avec des effets négligeables du zinc sur les organismes et des risques d'effets chroniques dans le cas du cuivre.

I.4. Transport et distribution du cuivre et du zinc dans les compartiments abiotiques de la retenue du Mirgenbach

Les modalités d'action d'un contaminant métallique sur un écosystème sont multiples et dépendantes des caractéristiques physico-chimiques du milieu récepteur. D'une part, les paramètres physico-chimiques ou facteurs abiotiques tels que le pH, la charge en matière en suspension, la conductivité et la salinité entre autres ainsi que les facteurs biotiques du milieu, vont influencer la répartition des métaux dans les différents compartiments abiotiques du système. D'autre part, la toxicité dépend de la biodisponibilité des métaux pour les organismes, sachant que le premier compartiment de transfert des métaux vers les organismes est toujours un compartiment abiotique (eau, matières en suspension, sédiments). Par conséquent, il est crucial avant de tenter d'estimer l'impact des métaux sur la biocœnose, de comprendre la distribution, la circulation et les transferts des métaux dans les compartiments abiotiques du milieu récepteur.

I.4.1. Répartition et circulation du cuivre dans les compartiments abiotiques de la retenue du Mirgenbach

Cette partie a fait l'objet d'une publication soumise à la revue « Environmental pollution » (juin 2003) (en cours de révision en Nov 2003)

I.4.1.1. Abstract

In a freshwater dammed reservoir, the distribution of copper released by a nuclear power plant has been studied in the abiotic compartments (water, decanted matter, sediments) to understand the main factors controlling this distribution. Copper was analyzed by spectrophotometer furnace and flame. The copper burden in the water and in sediments was distributed in the lake in accordance with a concentration gradient between the point of input of overheated water and the point at which cooling water flowed out to the Moselle River. Copper inputs in Mirgenbach lake are distributed throughout the entire site, but with different levels depending on the compartment and the spatial localization.

The most contaminated compartments were decanted matter (DM) (Mir M: 973 mg Cu/kg d..w) and bottom sediments (Mir M: 925 mg Cu/kg d.w.). The level of pollution of inert compartments (water, DM, sediments) was estimated and it has increased by a factor of 1.5 to 2 between 1993 and 2003. Total copper inputs in the lake were estimated at 30,590 kg Cu/year, of which 29,993 kg Cu/year was released by the tertiary cooling system of the power plant. This amount of copper, which decants in the lake, was evaluated as being 11,256 kg/year ten years ago (Mersh *et al.*, 1993), or 1.6 times less than in 2003.. However, the amount of copper released in the Moselle was estimated by Mersch *et al.* (1993) as being equal to 5,400 kg/year, or the same value as in 2003. Thus, even if copper concentrations have increased in the inputs of the power plant, the copper-binding capacity of the middle has compensated the difference, thence the limit of copper-binding capacity of the middle was not reach. The difference between the amount of copper trapped in lake sediments and the amount of decanted copper has permitted to assess the copper distributed in the biotic compartment of the lake as being 7,315 kg Cu/year. The quantity of copper, which decants in the lake, was estimated to 70% of the total copper inputs. However, in filtered water, 68% of dissolved copper (<0.45µm) was measured, thus the decrease must occur in passage from the dissolved phase towards the decanted matter.

In Mirgenbach lake, which is a system with very high pH, hardness, conductivity and salinity, the presence of suspended matter, mainly organic, is the key factor influencing the transport of copper towards the sediments. In March and April when the level of the Moselle is rising, high fluxes of copper were concomitant with a high amount of suspended matter from the Moselle and high copper concentrations in the water, but with lower copper concentrations in DM in March. In August, the high flux of copper towards sediments corresponds to a high plankton biomass, though copper concentrations in the water are low. Thus the plankton biomass seems to have a higher copper-binding capacity than the suspended particulate matter (SPM) coming from the Moselle. The high amount of suspended particulate matter increases the copper flux, but it is the nature of these particles that influences the copper concentration in the decanted matter. Controlling factors (suspended particulate matter and biotic factors)

will successively or simultaneously play a role in determining the amount of copper in water and sediments at different seasonal periods.

I.4.1.2. Introduction

Metals enter the aquatic environment from a variety of sources, although most metals are naturally present in the biogeochemical cycle (Garrett, 2000). Copper is released in water as a result of natural weathering and discharges from industrial and sewage treatment plants. Cu is used as catalyst in many industrial processes, leading to large anthropogenic Cu inputs in the aquatic environment. Cu is also an efficient biocide, and can be used in antifouling paint for boats or in the cooling water systems of certain industries (Jenner *et al.*, 1998). In natural water, trace metals are found in a free ionic form, complexed by organic or inorganic ligands and associated with suspended particulate matter (SPM) (Achterberg *et al.*, 2002). Because copper is a transition metal (Cu^{2+}) or a class B metal depending on the degree of oxidation (Nieboer & Richardson, 1980); copper (II) binds preferentially *via* oxygen to inorganic ligands such as H_2O, OH^-, CO_3^{2-}, SO_4^{2-} and to organic ligands *via* phenolic and carboxylic groups (Cotton & Wilkinson, 1989). Often in natural samples, almost all of the copper is complexed with organic compounds (Neubeker & Allen, 1983; Nor, 1987; Allen & Hansen, 199, see also Bell *et al.*, 2002). So, a large fraction (until >90%) of Cu in freshwater (Windom *et al.*, 1991; Xue & Sigg, 1993) and seawater (Mofett, 1995) is complexed by organic ligands in the dissolved or in the particulate phase.

Thence, sediments are finally the metal sink in freshwater and marine environments (Louma, 1989; An & Kampbell, 2002). Total concentrations of most metals in sediments are higher than aqueous concentrations by several orders of magnitude (Louma, 1989). Processes controlling the partitioning between solid and aqueous phases have been reviewed by O'Connor (1988), Mc Bride (1989) and Evans (1989) and include, adsorption and desorption processes, as well as precipitation of copper compounds (Temminghoff *et al.*, 1994; Stumm & Morgan (1996). Copper adsorption processes can be affected by several factors such as concentration of adsorbents, pH of the solution (Stumm & Morgan, 1996; Gundersen & Steinnes, 2003), copper concentration, major solutes present in the system (Na^+, Cl^-, Ca^{2+}...) and surface properties of the adsorbent (Rose & Bianchi-Mosquera, 1993). Organic matter binding sites play a key role in controlling copper partitioning in both the aqueous and solid phases (Gerringa *et al.*, 1996; Muller, 1996; Lu & Hallen, 2001; Achterberg *et al.*, 2002). Particles in natural water are characterized by great diversity in composition; generally they are comprised of minerals, clays, organic particles including organisms, biological fragments, humus and inorganic particles coated with organic matter (Stumm & Morgan, 1996). The ability of phytoplankton including Cyanobacteria (Kretschmer *et al.*, 2002) and algae (Tien, 2002) to bind copper is well known.

Binding onto particles can determine the bioavailability and thus the toxicity of copper for living organisms. In aquatic environments, the concentration of copper and its bioavailability depend on factors such as water hardness (Jayarad & al., 1992), salinity (Pagenkopf *et al.*,1973), ionic strength and pH (Sharma & Millero, 1988), redox potential, complexing

ligands (Gardner & Ravenscroft, 1991), suspended particulate matter (Stiff,1971) and carbon (Giesy *et al.*, 1986), and the interactions between sediments and water (EHC 200, 1998). In fact, reactivity, thus distribution, will depend on both the chemical and physical environment in which Cu is introduced (Helland & Bakke, 2002). The physicochemical characteristics of Mirgenbach lake are determined by the way in which it is exploited (Table 1): on the one hand, permanent mixing of the water (with the air cooling the half-closed circuit, with pumping and discharge by a nuclear power plant); in addition, evaporation of water in the cooling towers, leading to a phenomenon of concentration in water containing salts already found in high concentrations in the Moselle (discharge of CaCl2 by saltworks - NaCl et CO_3Na_2 upstream). Thirdly, the overheating of water on contact with the condensers means that the temperature in Mirgenbach lake never drops below 9°C, and that ice never forms in winter.

Copper, the major pollutant in Mirgenbach lake, is the result of synergy among three factors: (1) a very small metal contribution from the Moselle (which drains most of the Lorraine iron and steel basin); (2) more importantly, an additional release of metals due to corrosion in the cooling system (brass exchangers Cu, Zn: 70/30) of the Cattenom power plant (Mersch *et al.*, 1993). This phenomenon is amplified by the high salt load in Moselle water and by acid injection. (3) Evaporation (average CF = 1.6) in the cooling system.

The objectives of the present study are: (1) to examine the copper distribution in the abiotic compartments of the lake; (2) to study the main factors controlling this distribution of copper; (3) to evaluate copper enrichment in sediments using the appropriate level of reference; (4) to assess the amount of copper available for potential bioaccumulation by organisms.

I.4.1.2. Materials and methods

I.4.1.2.a. Study area

Mirgenbach reservoir is a freshwater dammed reservoir (80 ha; 7.3 x 10^6 m^3) located near the Cattenom nuclear power plant (four 1300-MW reactors) in northeastern France. It is used first as a backup cooling reservoir for the blowdown from the tertiary cooling system of the power plant and secondly as a thermal buffer (**Figure III-21**). The lake is devoid of radioactive contamination (Mersch *et al.*, 1992). Water (8 m3/s) is directly pumped from the Moselle River at an EDF pumping station and is then conveyed to an recovery and redistribution system where it is cleaned on a rotary filter.

Once cleaned, water enters the power plant cooling system, which is a half-closed circuit with flow of 50 m^3/s for each cooling tower, where it is used as makeup. The water drawn from the bottom of the cool lake crosses the brass exchangers in the tertiary cooling system before being directed toward the cooling tower, where it evaporates at a rate of 3m3/s. Water is cooled in the outside cold air by pulverization on horizontal plastic slats during the transfer of warm water from a first tank (called warm tank: WT, **Figure III-21**) to a second tank (called cold tank: CT, **Figure III-21**). Some of this cooled water is then returned to Mirgenbach lake ($5m^3/s$), at a velocity corresponding to the input flow ($8m^3/s$) minus evaporation ($3m^3/s$). After an average of 10 to 20 days, depending on the plant output (two or four reactors in operation), the water is conveyed from the lake back into the Moselle.

Thus, the water in Mirgenbach lake comes from the Moselle river so that all modifications in water quality in the Moselle are subsequently observed in the lake about fifteen days later. The Moselle is the source of several pollutants in the lake (conductivity, suspended matter (organic matter and clays) and nutrients: N, P, and silica).

I.4.1.2.b. Sampling points and sites

The sampling sites are shown in **Figure III-21.**
Site "Mos 1" is located in the upstream Moselle above the point where water is pumped by the nuclear power plant. To collect water in the tertiary cooling system, two bypasses have been installed inside Cattenom power plant corresponding to two sampling points. The first, before entry of water into the tertiary cooling system (point C1) and the second, inside the tertiary cooling system (point C2).
Site "Mir inj" is located on the surface above the outlet of the cooling water from the power plant (depth 10 m). Site "Mir M" is located in the middle of the lake (depth 15 m). Site "Mir rep" is located above the outlet to the Moselle river (depth 10 m). Site "Mir 1" is located in the northeastern corner of the lake, at the same distance from "Mir inj" as "Mir M" (depth 5m). Sites "Mir L 1" to "Mir L18"are littoral sites on the lake.

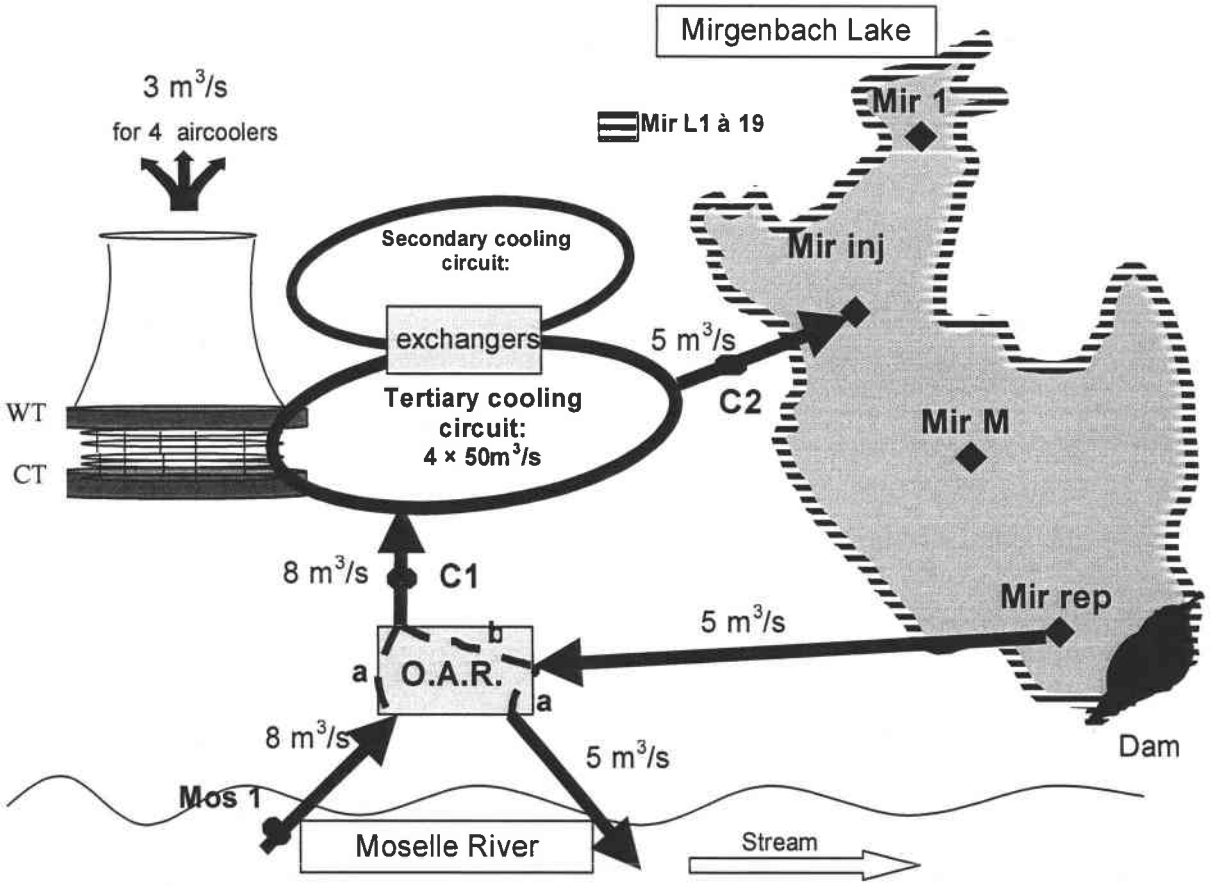


Figure III-21 : A localisation map of sampling stations and points in the cooling water circuit of the powerplant of Cattenom (France). (a): Normal functioning – (b): Safety functioning.

I.4.1.2.c. Sampling and sample preparation

During each sampling period at the middle-lake site (Mir M), temperature, hardness (Ca, Mg), conductivity, transparency (Secchi disc) and dissolved oxygen were measured and Cl^-, Na^+, K^+, NH_4^+, PO_4^{2-}, NO_3^-, SiO2 and Chlorophyll a were analyzed. These results are shown in **Table III-11**. A quantitative evaluation of Albazod (Algae + bacteria + zooplankton + phytoplankton) was also performed.

Table III-11 : The main physicochemical parameters in the Mirgenbach Lake.

	Means	Min value	Max value
Temperature (°C)	17.4	11.1	25.2
pH	8.5	8.2	9.3
Oxygen (mg/l)	9.2	7.2	11.3
NH^{4+} (mg N/l)	0.07	0.02	0.13
PO_4^{3-} (mg P/l)	0.20	0.11	0.31
NO_3^- (mg N/l)	3.04	2.26	3.90
SiO_2	9.77	6.13	12.71
Conductivity at 20°C (µS/cm)	1686	1050	2140
Transparency (m)	0.90	0.40	1.30
Hardness (mg CaCO3 /l)	566	410	720
Chloride (mg/l)	344	181	500
Sodium (mg/l)	120	67	181
Potassium (mg/l)	7	5	11
Chlorophyll a (mg/l)	2.4	0.1	6
Albazod (g dry weight/m3)	0.17	0.01	0.46

Samples of water from the cooling system were collected daily for one month. This sampling survey was carried out twice, in summer (June 2001) and in winter (December 2001).
Samples of surface water from the four sites (Mir 1, Mir inj, Mir M, Mir rep and Mos1) were collected at a monthly frequency, 25 cm below the surface to avoid floating matter.

At site Mir M, additional water samples were collected to measure the particulate fraction of copper and total copper. For that, subsamples of water (500 ml) were transferred after collection to polypropylene containers and filtered through a 0.45µm membrane filter, previously washed with acidified water (1% HNO_3) and nanopure water, then dried to a constant weight (40° C). This procedure was repeated every three months between January 2001 and December 2001. Soluble copper concentrations were analyzed in the filtrate (µg/l). In the same sample, total copper was also analyzed.
All water samples were placed in polypropylene bottles, acidified to 1% (HNO_3 36%) and stored at 4° C until the time of metal analysis (Mersch *et al.*, 1993). Copper concentrations in the water were expressed in µg Cu/l.

Decanted matter (**DM**) was collected through a cone-shaped funnel (0.093 m^2) placed on the top of a collector. This was placed on the bottom of the lake at the Mir M site. Each month, the collector was picked up with the decanted matter and replaced with an empty, clean collector. Field sampling covered twelve months from October 2000 to November 2001, corresponding to eleven samples because the months of May and June 2001 were clustered.

Samples of sediments, which correspond to a mixture of four samples, were collected twice a year between 2000 and 2002 at each site (Mir 1, Mir inj, Mir M, Mir rep) using a grab sampler. Each sample was homogenized and stored in a polyethylene bottle at 4° C. Sediments were oven-dried (40° C) to a constant weight. Samples were ground in a mortar and sieved through a 2-mm nylon mesh to remove larger debris. Total copper concentrations were determined in digested sediments (NF T 31-151). Metal concentrations in sediments are expressed as mg Cu/kg dry weight. During a period when the water level in the lake was lowered by two meters, a supplementary field sampling of sediments in the littoral area was conducted and 18 sediment samples were collected to test the homogeneity of the sedimentary and copper deposits (Fig 1). One substratum sample was collected at the Mir L18 littoral site in 1999 and in 2001 to assess the background level of copper in the lake.

Samples of Albazod (Algae, Bacteria, Zooplankton, Detritus) were collected every month at site Mir M by towing a 20 µm mesh size Clark-bumpus sampler for several minutes. They were placed in a polyethylene bottle and filtered (0.45µm) in the laboratory to isolate total plankton. The filter was dried at 40° C to a constant weight; biomass was expressed in g of dry weight / m^3.

I.4.1.2.d. Analytical technique

Extreme care was taken to avoid contamination during all collection and preparation of samples. All materials used were polypropylene, washed before use with acidified water (5% HNO_3) and nanopure water. Cu was analyzed by flame (Perkin-Elmer – Analyst 100; NF T 90-119) or furnace (Varian – SpectrAA-300; NF T 90-112) atomic adsorption spectrophotometer. Quality control procedures included analysis of procedural blanks, blank spikes, a matrix spike and sample duplicates. To verify our analytical results, certified standards were analyzed (SPS-SW1, NIST) in the same way as the water samples.

I.4.1.2.e. Statistical analysis

The distribution of variables was tested with a Shapiro-Wilks W test. The Fisher t-test or the Mann-Whitney non-parametric equivalent tests were used to compare two independent samples. A simple regression was used to study some simple linear relationships. Relationships between variables were studied by means of a Pearson correlation matrix. Principal component analysis (PCA), a multivariate statistical technique, was used to reduce the dimensionality of data sets while attempting to preserve the relationships present in the original data. All tests were performed with STATISTICA version 6.0 for Windows.

I.4.1.3. Results and discussion

I.4.1.3.a. Copper concentrations in water

The mean background copper concentration (n=20) in the Moselle river and upstream of the power plant (Mos 1) was 2.8+/- 0.8 µg/l.

a. Total copper concentrations in water from the Moselle river and from the tertiary cooling system

Total copper concentrations in water from the cooling circuit (µg/l) are shown in **Table III-12**. The copper concentration after passing across the brass exchangers (C2) was on average 52 (June) to 62 (December) times higher than before entrance into the plant. In the "SEQ-eau"[1] (water quality grid) classification (CaCO3 > 200 mg/l), copper concentrations in water from C1 and C2 correspond respectively, to a level 1 (blue class) of copper contamination and a level 4 (orange class), with some maxima at level 5 (red class) contamination. [1]The highest values measured inside the tertiary cooling circuit have not been integrated in the average, being most probably the consequence of an acid injection in the circuit to eliminate carbonate deposits. These high values were, however, considered in the analysis of results.

Table III-12 : Copper concentrations in water (µg Cu/l) from the tertiary cooling circuit of the power plant (C2), in comparison with the copper rate in water before entry into the cooling circuit (C1). Values no integrated in the means determination are also indicated. (Sd: Standard deviation).

	C1 (µg/l)		C2 (µg/l)	
	jun-01	déc-01	jun-01	déc-01
Mean (n=30)	**3.2**	**2.8**	**165**	**174**
Sd	2.5	2.7	54	41
Min value	0.4	1.1	83	114
Max value	11.0	14.3	302	242
values non integrated in the average			**727** 435 541	**389**

b. Spatial and temporal variations in total copper concentrations in the water from Mirgenbach lake

The distribution of copper in water at each site is shown in **Figures III-22 and III-23,** while **Table III-13** gives the mean Cu concentrations in water at each site. The Pearson correlation matrix for copper concentrations in water at each site is shown in **Table III-14**.

[1] "SEQ-eau" is a grid for evaluating the quality of water as a function of its use (biological potential, drinking water, swimming, etc.). This grid was established by the French Water Board in partnership with the Environment Ministry.

The difference observed between copper concentrations measured at C2 (83 – 302 µg Cu/l) and at Mir inj (32 – 124 µg Cu/l) is due to the dilution between the input of water pumped at the bottom of the lake and the surface of the lake.
The mean copper content in water (n=20) was not significantly different between Mir 1, Mir M and Mir rep (33 – 38µg Cu/l), while the content at Mir inj was significantly higher (54 µg Cu/l). However, copper concentrations were more widely distributed (ranging from 32µg/l to 124µg/l) in water from Mir inj than at the other sites.

Tableau III-13 : Means of copper concentrations (n = 15) in water for each station of the Mirgenbach Lake. (Sd: Standard deviation).

	Mir inj	Mir 1	Mir M	Mir rep
Means	54	38	35	33
Sd	23	12	12	11
Range	32 -124	24 -62	20 - 57	21 - 63

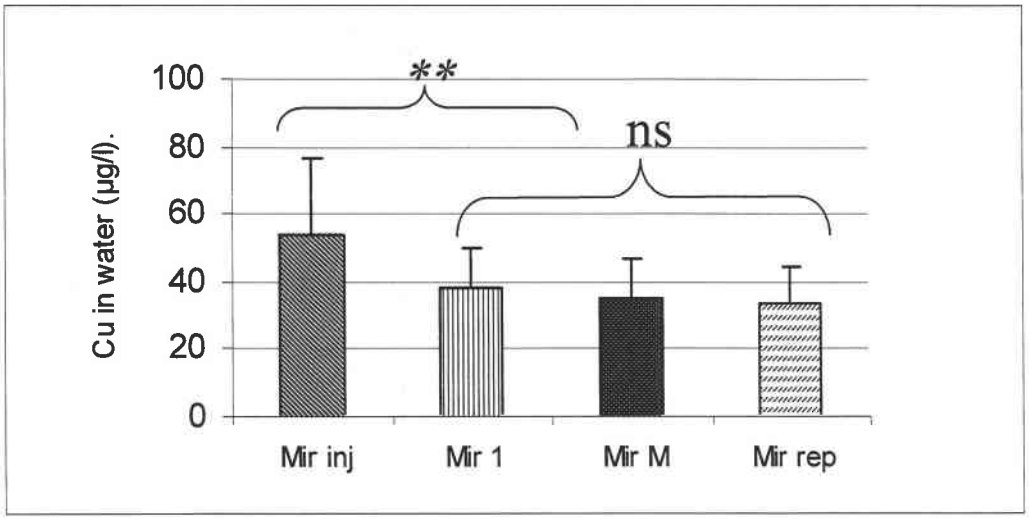


Figure III-22 : Means of total copper concentrations in water from stations Mir inj, Mir 1, Mir M and Mir rep in the Mirgenbach dam. ** Significantly difference (p= 0.05), ns: non significantly.

The dilution of copper in the water of the lake can be observed by correlation factors between copper concentrations at different stations. The best copper concentration correlations were obtained between Mir M and Mir 1 (**Table III-14**), equidistant from Mir inj, between Mir M and Mir rep and between Mir 1 and Mir rep. A lower though significant correlation was obtained between sites Mir inj and Mir 1 and between sites Mir inj and Mir M. The copper concentration was also correlated, though to a lesser extent, between Mir inj and Mir rep.

Tableau III-14 : Pearson correlation's matrix for copper concentrations in surface water and each station (Mir 1, Mir inj, Mir 3, and Mir rep). All correlation is significant at $p < 0.05$ (N=15).

	$Cu_{Mir\ 1}$	$Cu_{Mir\ inj}$	$Cu_{Mir\ M}$
Cu_{inj}	0.77 $p < 0.001$		
$Cu_{Mir\ M}$	0.96 $p < 0.001$	0.72 $p = 0.001$	
$Cu_{Mir\ rep}$	0.87 $p < 0.001$	0.56 $p = 0.013$	0.91 $p < 0.001$

Thence, the heterogeneous distribution of copper level in water was observed in Mirgenbach lake with:

(1) a spatial gradation of the concentrations from high values (in water from Mir inj) to low values (in water from Mir rep); (2) a range of copper levels more widely distributed at the site nearest the outlet from the plant (Mir inj: 32 to 124 µg/l) in comparison with Mir rep (21 to 63 µg/l); (3) a decrease in the degree of correlation between site Mir inj and the other sites as residence time increased. Seasonal variations were also reflected in higher copper values from January to May 2001 and in 2002 for all sites (**Figure III-23**). Total copper concentrations in surface water from Mir inj vary greatly from month to month and season to season, most probably in proportion to power plant activity.

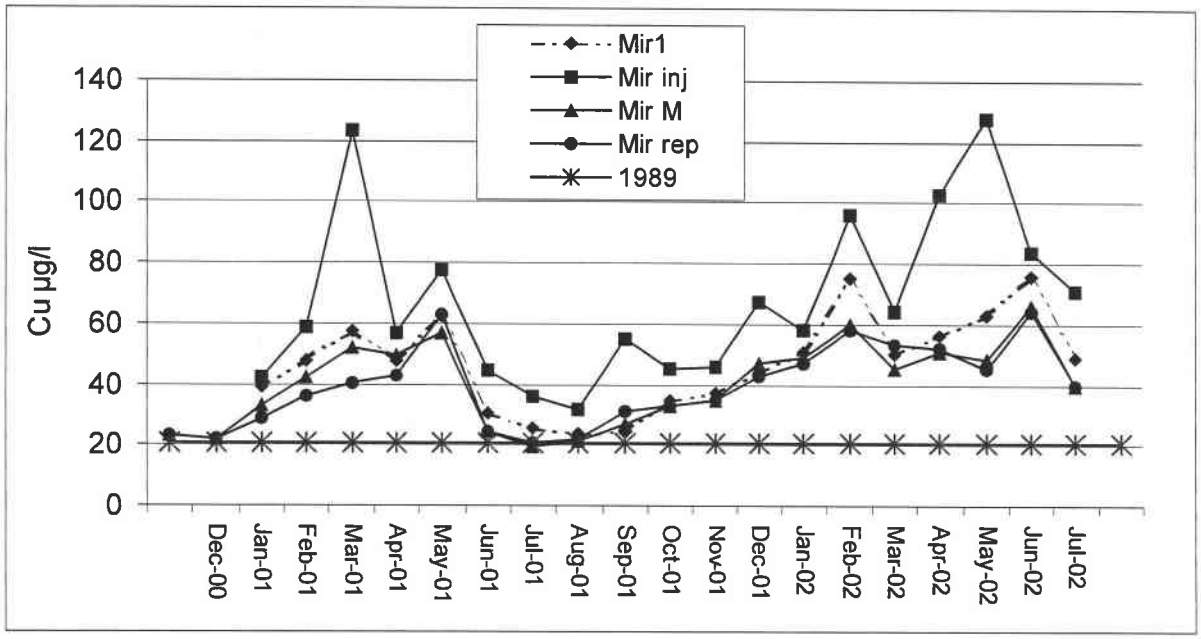


Figure III-23 : Total copper concentrations in water (µg/l) for each station (Mir 1, Mir inj, Mi M and Mir rep) with a monthly frequency between November 2000 and July 2002. (Broken line) Concentrations mean of copper in water from Mir M in 1989.

A rise in copper concentrations was also observed in proportion to the background values for the reservoir. The mean level of copper in surface water from Mir M was two times higher than the levels reported at the same site ten years earlier (Mersch *et al.*, 1993), revealing an temporal increase in the copper concentration in water.

c. Dissolved and particulate copper in water from Mirgenbach lake (Table I-15)

The physicochemical characteristics of Mirgenbach lake, shown in **Table III-11**, can influence the distribution of copper in the system. For example, with a pH in the range of 8.2 to 9.3, copper is in complex forms and the most important inorganic ligands are hydroxides and carbonates; in saline waters (conductivity), they are rather chlorides (Bodek *et al.*, 1988). The range of calcic hardness in the lake corresponds to a high level of salt pollution (SEQ-eau, French water board, 1998) and according to Jayarad *et al.* (1992), hardness should be the best parameter to monitor copper levels in the aqueous environment. Organic matter (urban and agricultural pollution) and clays (geological substratum) adsorb copper in water so that a large proportion is in particulate form and tends to settle out, and precipitate out or be adsorbed in the sediment or water column (EHC 200, 1998). Particle-bound and organic complex-bound Cu reduce the reactivity and hence the toxicity of Cu (Gardner & Ravenscroft, 1991). On the other hand, Mirgenbach lake temperatures increase the toxicity of copper (see Centeno *et al.*, 1993; Snell *et al.*, 1991). Temperature and NaCl were found to be key environmental variables influencing trace metal partitioning (see Warren *et al.*, 1994).

The percentage of soluble (<0.45µm) and particulate copper in water from Mir M is shown in **Table III-15**. This result agrees with those of Mersch *et al.* (1993). Whatever the period of sampling of water, the partitioning of copper between soluble and particulate phases was the same, despite a difference in copper concentration. Between 63 and 71% of the copper was included in the particulate fraction.

Table III-15 : Percentage of soluble (<0.45µm) and particulate copper measured in water from Mir M station.

	Soluble copper (µg/l)	Total Cu (µg/l)	Soluble copper (%)	Particulate copper (%)
Feb-01	30	42	71	29
Apr-01	32	50	63	37
July-01	14	20	68	33
Oct-01	32	46	69	31
Mean	27 +/- 9	40 +/- 13	68 +/- 3	32 +/- 3

I.4.1.3.b. Copper concentrations in decanted matter (DM) and fluxes of copper towards the sediments

a. Copper concentrations in DM

Copper concentrations in decanted matter samples from site Mir M, compared with the monthly copper concentrations in water, are shown in **Figure III-24,** while **Table III-16** presents the concentration of copper in each sample of decanted matter.

Two periods can be distinguished: first, between October 2000 and April 2001, with some variations of concentrations of copper in the decanted matter which follow the same trend as in surface water. Second, between April and October 2001, the copper level in the decanted matter decreases progressively and slowly while the total copper concentration in water drops sharply (from 50 to 20 µg Cu/l) between April and July, and increases again from 20 to 35 µg Cu/l from July to November 2001.

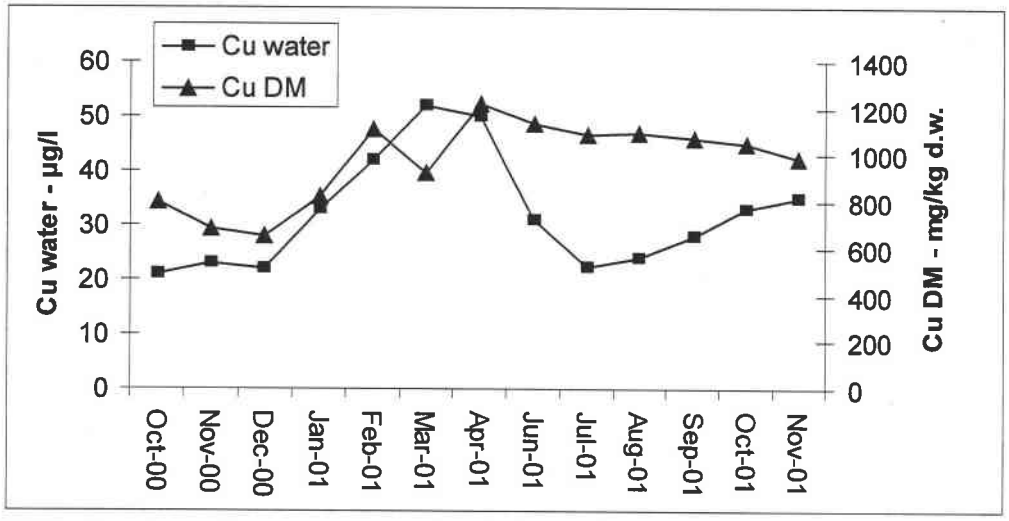


Figure III-24 : Variations of copper concentrations in decanted matters (Cu_{DM} - mg/kg de MS) and in surface water (Cu_{water} - µg/l) from the station Mir M.

Tableau III-16 : Evolution of the means copper flux at the station Mir M (mg Cu/day/m^2) in function of the season (N: number of sample) and comparison with the means copper concentrations in water from Mir M. (Sd: Standard deviation).

Date	Cu flux (mgCu/day/m^2)	Cu DM (mg Cu/kg d.w.)
Oct-2000	66	801
Nov-2000	34	681
Déc-2000	52	656
Jan-2001	19	821
Féb-2001	72	1109
Mar-2001	158	923
Apr-2001	171	1223
Jun-2001	59	1138
Jul-2001	46	1090
Aug-2001	142	1094
Sep-2001	50	1075
Oct-2001	59	1053
Nov-2001	27	990

In April 2001, the concentration of copper in DM was the highest in the year; this value suggests that several factors increase the copper concentration in DM: (1) high discharge and a high level of suspended particulate matter in the Moselle river (2) the high copper concentration in water (50µg Cu/l); (3) the increase in plankton biomass during this period.
The highest copper level in decanted matter was measured from April to November 2001, during the planktonic bloom, while the level in water was at its lowest. These results suggest that the higher copper-binding capacity of the DM may be due to the plankton development at this period. This observation is confirmed in the literature (Mackey & Higgins, 1988, Moffett & Brand, 1996, Zhou *et al.*, 1998).

The mean copper concentration in decanted matter was 47 to 49 times higher than the level estimated as being the regional standard in sediments (20 mg Cu/kg of dry weight) by the Rhin-Meuse Water Board. Similarly, the median copper concentration measured in 87 lake sediments from around the world was 45 mg Cu/kg of dry weight (Fôrstner & Witmann, 1981); this is 25 times lower than the median copper concentration in decanted matter from Mirgenbach lake and proves the high contamination of the lake.
The mean copper content in decanted matter collected from October 2000 to November 2001 was 1.5 times higher than ten years earlier (Mersch *et al.*, 1993: 687 mg/kg of dry weight).

b. Copper fluxes

Tables III-16 and III-17 present respectively the evolution of copper fluxes for each month of collection and per season on average, and **Figure III-25** shows the variation in the copper flux towards sediments in comparison with the copper concentration in surface water. Daily fluxes of copper towards the sediments (mg Cu/day/m^2) were calculated from the copper level in dry decanted matter (mg Cu/kg of dry weight), the dry mass of matter (kg of dry weight) decanted in the collector, the number of days of sampling and the surface area of the collector (0.093m^2).

Table III-17 : Evolution of the means copper flux at the station Mir M (mg Cu/day/m^2) in function of the season (N: number of sample) and comparison with the means copper concentrations in water from Mir M. (Sd: Standard deviation).

	Copper fluxes (mg Cu/day/m^2)				Copper in water (µg/l)			
	Spring	Summer	Autumn	Winter	Spring	Summer	Autumn	Winter
means	115	80	48	83	41	25	27	42
Sd	79	55	17	70	13	3	7	10
Range value	59-171	46-142	27-66	19-158	31-50	22-28	21-35	33-52
N	3	3	5	4	3	3	5	4

In March, April and August 2001, three maximum copper fluxes can be observed. However, if we consider the copper flux as a function of season, there are no significant ($p<0.05$) differences (**Table III-17**) because of the very important deviation in the means; in autumn, however (27<Cu flux (mg Cu/day/m^2)<66) copper flux values are less widely distributed than for the other seasons. In autumn and summer, the mean concentration of copper in water was about the same but fluxes of copper towards sediments were different, with respectively 48 +/- 17 mg Cu/day/m^2 and 80 +/- 55 mg Cu/day/m^2. The mean concentration of copper in water in winter and spring was more or less equivalent and in both periods, twice the value found in autumn and in summer, while fluxes of copper towards sediments were of the same order of magnitude in spring and in winter, though a little lower in winter.

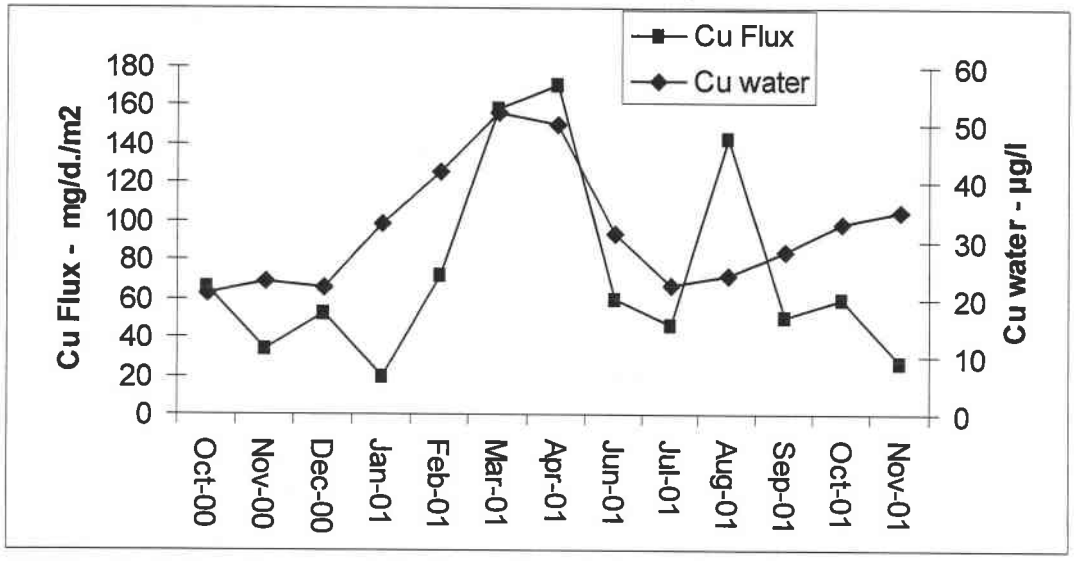


Figure III-25 : Evolution of copper daily fluxes (Cu $_{flux}$) (mg Cu/day/m^2) in function of periods and in comparison with the copper concentration in water (Cu $_{water}$). These entire samples have been collected at the station Mir M.

All these results suggest that the copper-binding capacity of DM was not the same for these periods. It is necessary to understand changes in the copper-binding capacity of DM in the middle of the lake to predict and estimate fluxes of copper towards sediments.

To explain the copper concentration in DM and the copper flux towards sediments, parameters that may influence the copper distribution have been taken into account. These include hardness, conductivity, chlorophyll a and Albazod, transparency, suspended matter, Cl^-, Na^+, SiO_2, NH_4^+, NO_3 and $PO4^{3-}$ level in water.

I.4.1.3.c. Principal component analysis (PCA) and Pearson correlation matrix analysis

Principal component analysis (**Figures III-26 A** and **III-26 B**) shows the projection of analytical individuals on the factorial plane, **Table III-18** presents correlations between extracted factors and analytical variables and **Table III-19** presents the Pearson correlation matrix. The codes used are: Cu $_{DM}$ (concentrations of copper in decanted matter); Cu $_{water}$ (concentrations of total copper in water) and Cu flux (fluxes of copper towards sediments).

In this study, three components (PC) can be extracted (Table 8), which account for some 83.22% of the total variance. PC1 and PC2 account for 71.96 % of the total variance (see

Table III-18). Mineral constituents (Cl-), hardness and conductivity, NH_4^+ and NO_3 constitute a firmly related group (PC1), while the second group is mainly composed of ALBAZOD, Chlorophyll a, SiO_2, Na^+ and PO_4 (PC2). The third group of variables includes fluxes of decanted matter and transparency (PC3). To understand the relationships between the physicochemical parameters and copper in water and sediment, the variables Cu $_{DM}$, Cu $_{Flux}$ and Cu $_{water}$ were projected on the factorial plane as supplementary variables.

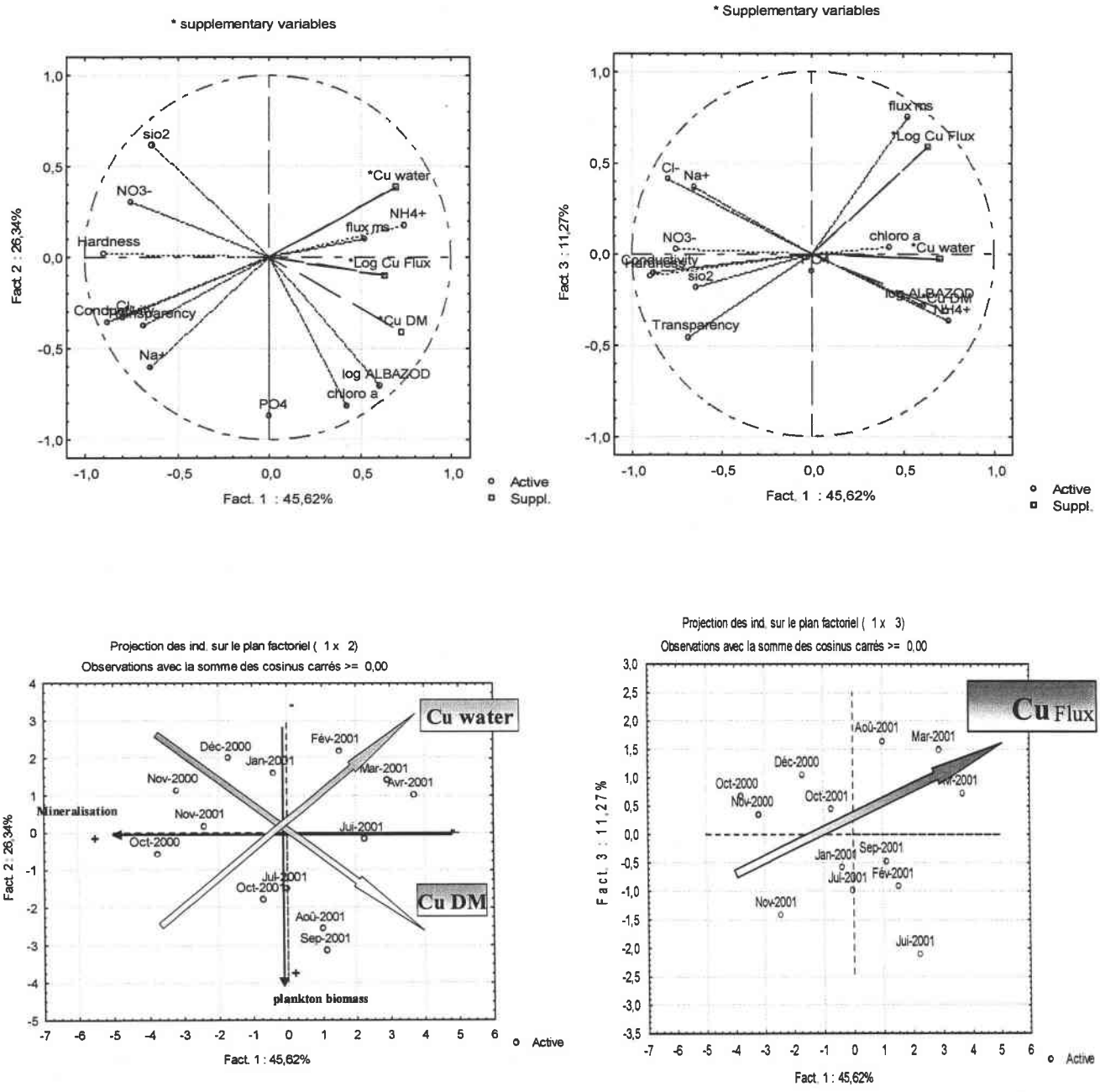


Figure III-26 : Principal component loading of physicochemical parameters properties.

Principal factors: Hardness (mg $CaCO_3$), Conductivity (C) (µS/cm); flux DM: daily flux of decanted matter (mg dry weight/ day/m^2) towards sediments, SiO2 level (mg/l) (SiO2), Transparency of water or 'Secchi' disk (meter), NH_4^+ (mg N/l), PO_4^{2-} (mg P/l), Na^+, Cl^-, K^+ (mg/l), Albazod (log (g d.w./m3)), Chlorophyll a en µg/l (Chloro a).

* Supplementary factors: copper concentrations in water (Cu water), copper fluxes towards sediments (Cu flux), and copper concentrations in decanted matters (Cu DM) were projected on the factorial plan, which was defined by physico-chemicals parameters.

Table III-18 : Principal component (PC) loading of physicochemical parameters, copper concentrations in water, in decanted matter and flux of copper properties.

	PC 1	PC 2	PC 3
Hardness	-0,90	0,02	-0,12
Conductivity	-0,88	-0,36	-0,10
Chlorophyll a	0,42	-0,81	0,04
Albazod	0,60	-0,71	-0,28
Transparency	-0,69	-0,37	-0,45
Flux DM	0,52	0,10	0,75
SiO_2	-0,64	0,61	-0,19
NH_4^+	0,74	0,17	-0,37
NO_3	-0,76	0,30	0,03
PO_4^{2-}	0,00	-0,87	-0,09
Na^+	-0,65	-0,60	0,37
Cl^-	-0,80	-0,33	0,41
*Cu water	0,69	0,38	-0,03
*Cu Flux	0,63	-0,10	0,59
*Cu DM	0,72	-0,41	-0,31

Table III-19 : Pearson's correlation matrix for copper concentrations in Water, in SD, in sediments and for physico-chemical and nutrient parameters.
* $p<0.05$ - N=14.

	Cu water Mir M (µg/l)	Cu flux (mgCu/day/m^2)	Cu DM (mg/kg d.w.)
pH	-0,13	0,05	-0,49
Hardness (mg $CaCO_3$/l)	-0,64*	-0,55	-0,69*
Conductivity (µS/cm)	-0,79*	-0,53	-0,51
Transparency (m)	-0,68*	-0,53	-0,12
chlorophyll a (mg/l)	0,08	0,35	0,66*
Albazod (g d.w./m3)	0,11	0,28	0,82*
sio2 (mg/l)	-0,13	-0,64*	-0,62*
Cu water (Mir inj) (µg/l)	0,73*	0,44	0,23
Flux DM (mg d.w./day/m^2)	0,41	0,92*	0,16
NO_3 (mg N/l)	-0,13	-0,46	-0,56*
NH_4^+ (mg N/l)	0,76*	0,35	0,60*
PO_4^{2-} (mg P/l)	-0,18	0,00	0,41
Sodium (mg/l)	-0,62*	-0,16	-0,32
Potassium (mg/l)	-0,57*	-0,18	-0,46
Chloride (mg/l)	-0,75*	-0,26	-0,58*

PC1 was 69% correlated with the concentration of copper in water, 63% with the copper flux towards sediments and 72% with the copper concentration in the decanted matter (**Table III-18**). PC1 varies as a function of concentration and dilution phenomena in water (**Figure III-26B**). This corresponds mainly to the winter and spring high-flow period in the Moselle, diluting water constituents, to the low summer discharge with some evaporation, and to the effects of the power plant that concentrate the constituents of water. This shows that the copper level in Mirgenbach lake water is mainly conditioned by the amount of metal dissolution by corrosion inside the brass pipes of the tertiary cooling system. Similarly, we have observed a variation in the copper concentration in water in accordance with power plant activity. The highest values of copper fluxes were observed in March concurrent with the lowest values of conductivity and hardness, and a lower value of copper concentration in DM. These results should be du to the higher inputs of particulate matters from Moselle (very high flow), which dilute concentrations of copper in DM. In April, copper flux was high, however, it was concurrent with a high copper concentration in water.

PC 2 was 41% (negatively) correlated with the concentration of copper in decanted matter and 38% with the concentration of total copper in water. In summer, the copper concentration in water was low, but the plankton had adsorbed, absorbed or chelated this copper; thus during and following the plankton development, copper decanted towards sediments. Plankton may affect the residence time of copper in the water column. Following metal assimilation, small zooplankton can release metals into the dissolved phase at very high rates and may lengthen the residence times of metals in surface water (Wang & Fisher, 1998). In addition, the copper which is adsorbed or absorbed by plankton will be released in the system only with the death of the organisms, and therefore in the sediments. The copper content in decanted matter was partially dependent on phytoplanktonic development (Chlorophyll a and SiO2) since Chlorophyll a rates, silica rates and albazod were correlated with the copper concentrations in DM. The drop in the silica concentration indicates a diatom development, and an increase in the chlorophyll a concentration indicates a Chlorophycea and diatom development. The increase in Albazod provides information on the phytoplanktonic, bacterial, and zooplanktonic development. A simultaneous study has shown that the capacity for copper concentration by the phytoplankton and the zooplankton can vary respectively between ×3043 and ×5869 and between ×4826 and ×5652, depending on the species considered. The high capacity of plankton to bind copper has also been related, mainly with respect to algae (Tien, 2002; Rijstenbil & Gerringa, 2002), cyanobacteria (Moffett & Brand, 1996) and bacteria (Kretschmer *et al.*, 2002). Little is known about the exact nature of metal-complexing ligands in natural waters, but they are thought to include humic substances (Stuijfzand *et al.*, 1999; Hamilton-Taylor *et al.*, 2002), bacterial and algal exudates (including thiols such as glutathione or cysteine (Leal *et al.*, 1999) and the breakdown products of these organisms (Buffle, 1988).

The 3rd factor (PC3) was 59 % correlated with the flux of copper towards sediments and 31% (negatively) with the concentration of copper in decanted matter (Figures 6a and 6b).

These results are in agreement with the Pearson correlation matrix (**Table III-19**), which may indicate the factors controlling copper concentrations in all compartments. The highest copper fluxes towards sediments were observed in February and March-April (when the river is rising) and in August 2001 (increase of planktonic biomass). In February and in spring, i.e. high-flow periods, the contribution of suspended matter (mainly organic matters and clays) from the Moselle increases the flux of copper towards the sediments.
Achterberg *et al.* (2002) have also shown the importance of organically complexed Cu in freshwater, and the dominant role of the interaction between organically complexed Cu and suspended particulate matter (SPM) in SPM-rich water. The key role of suspended matter in partitioning of copper has often been related (Lu & Allen, 2001; Janssen *et al.*, 2003, Stumm & Morgan, 1996; Gundersen & Steinnes, 2003). However, the specific nature of the organic matter and its Cu complexing ligands, rather than the total concentration, are important in defining complexing capacities (Achterberg *et al.*, 2002). As demonstrated, an input of particulate matter from Moselle river or an increase of planktonic biomass can influenced the copper binding capacity of the middle, and thence, affected the distribution of copper. Similarly, even if copper concentrations in water and SPM have high rates in March, it is in summer, particularly in August, in spite of lower copper concentrations in water, that copper concentrations in DM are the highest. Thus, two similar copper concentrations released in the same middle may have some different effects in according to the periods of the year considered.

I.4.1.3.d. Bottom sediments

Copper concentrations in bottom sediments are shown in **Figure III-27**, while **Table III-20** presents concentrations of copper in sediments from 19 littoral sites. The highest copper levels for each site were found in the sediments collected in 2002 (**Table III-20**).

The copper content in bottom sediments from Mir M was always higher than at other sites (Mir M > Mir inj > Mir rep > Mir 1). Site Mir inj was unique because the overheated discharge water from the cooling towers is injected under pressure into the lake at the bottom of this site and disturbs sedimentation processes. A study of the copper concentration profiles in the sediments collected at each site over several years (2000, 2001 and 2002) can provide a pattern of temporal and spatial variations (**Figure III-27**). The same gradation of the copper concentration was found in the sediment samples and in water. These copper levels in sediments were 1.48 to 1.61 times higher in 2002 than in 2000. Copper levels in littoral samples of sediments were always considerably lower than at Mir inj, Mir rep, Mir 1 and Mir M, perhaps because of the undertow on the bank and the relief of the lake bottom. The amount of copper released by the power plant increased for several years because of the successive startup of the four reactors between 1985 and 1995. However, for the last two years, a definite increase in the copper level in sediments has been measured for all sites and a follow-up is recommended.

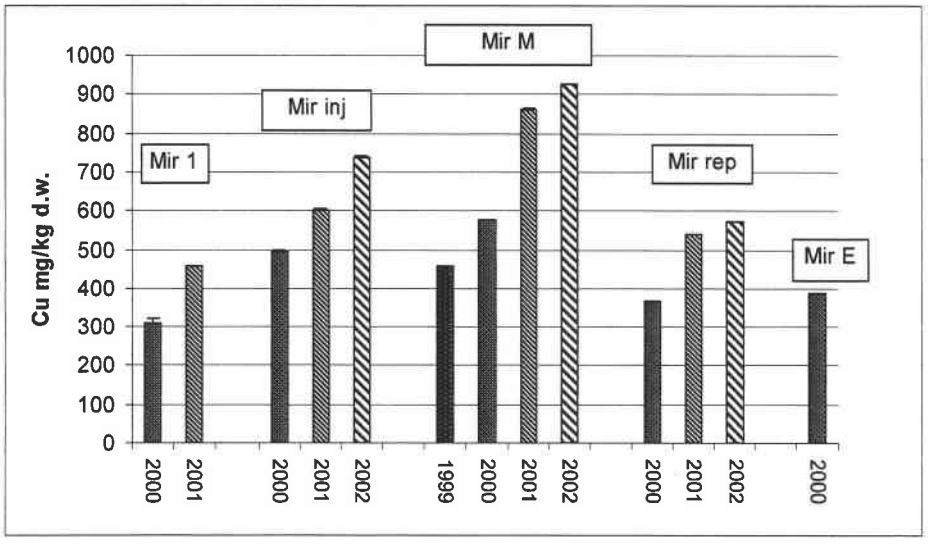


Figure III-27 : Concentrations of copper into sediments (mg/kg Cu dry weight) collected from each station: Mir 1, Mir 3, Mir inj and Mir rep (n=4).

Table III-20 : Means copper rates (N=2) in bottom sediments (mg Cu/kg of dry weight) for each station (Mir 1, Mir inj, Mir M, Mir rep, Mir L27) in function of sampling years.

	Mir 1	Mir inj	Mir M	Mir rep	Mir L 27
1999			458		47.2
2000	310 +/- 10	495 +/- 3	575 +/- 2	364 +/- 2	
2001	455 +/-3	601+/-12	860 +/- 4	537 +/- 7	42
2002		735 +/- 5	925 +/-9	571 +/-14	

The copper content in bottom sediments from Mir M was always higher than at other sites (Mir M > Mir inj > Mir rep > Mir 1). Site Mir inj was unique because the overheated discharge water from the cooling towers is injected under pressure into the lake at the bottom of this site and disturbs sedimentation processes. A study of the copper concentration profiles in the sediments collected at each site over several years (2000, 2001 and 2002) can provide a pattern of temporal and spatial variations (**Figure III-27**). The same gradation of the copper concentration was found in the sediment samples and in water. These copper levels in sediments were 1.48 to 1.61 times higher in 2002 than in 2000. Copper levels in littoral samples of sediments were always considerably lower than at Mir inj, Mir rep, Mir 1 and Mir M, perhaps because of the undertow on the bank and the relief of the lake bottom. The amount of copper released by the power plant increased for several years because of the successive startup of the four reactors between 1985 and 1995. However, for the last two

years, a definite increase in the copper level in sediments has been measured for all sites and a follow-up is recommended.

The littoral homogeneity of the copper distribution in lake sediments (or lack thereof) was tested during a field sampling survey at 18 littoral sites (about one meter in depth) (**Figure III-28**). The results of this field sampling show that the copper concentrations in various sediments range from 45 to 345 mg Cu/kg dry weight. The heterogeneity of deposit sediments and of their copper burden was thus proved in situ. The lowest rate was observed at a site characterized by the absence of lake sediments and corresponded to the geological background level. This agrees with our early results in 1999 (47.2 mg Cu/kg dry weight).

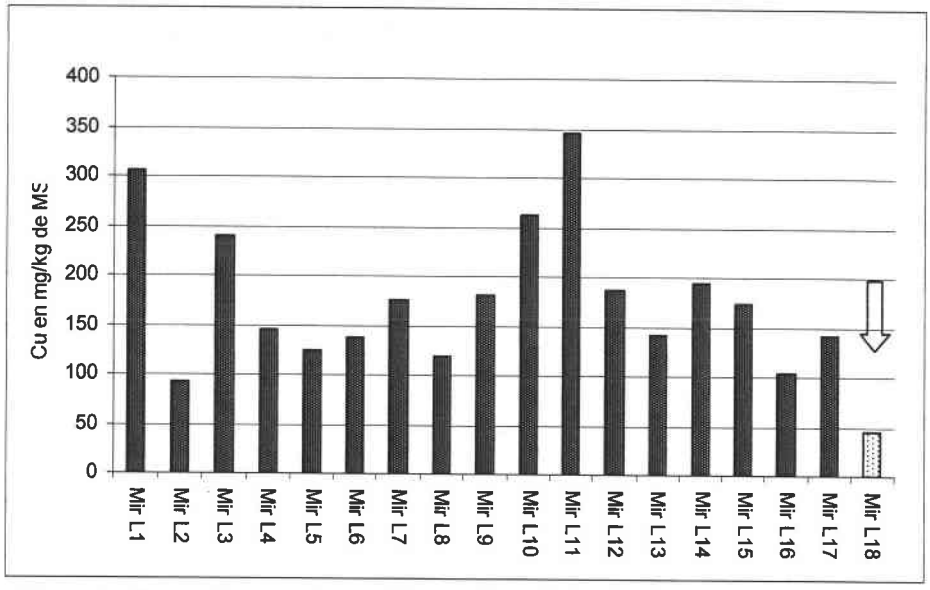


Figure III-28 : Concentrations of copper into sediments (mg Cu/kg d.w.) collected from 18 littoral stations, during October 2001. ⇓: Absence of sedimentary deposits

I.4.1.3.e. Estimation of copper fluxes (kg of Cu per day) in the entire lake

An approximation of annual copper fluxes in the lake has been established on the basis of: (1) the copper concentration in water (a) from the tertiary cooling circuit (C2) in December and June 2001, (b) from the upstream Moselle (Mos 1), (c) from sites Mir inj and Mir rep in Mirgenbach lake; (2) fluxes of copper towards sediments in the lake during this period; (3) the copper concentration in decanted matter. The inputs of copper expressed in kg Cu/year were also calculated on the basis of the surface of the lake (80 ha), the discharge entering the lake ($5m^3/s$), the equivalent discharge out of the lake ($5m^3/s$). A comparison between sites (1) C2: copper inputs into the cooling system (30,590 kg Cu/year) and (2) Mir rep: copper outputs towards the downstream Moselle (5,046 kg Cu/year), allows us to assess the total copper burden in Mirgenbach lake, i.e. 25,545 kg Cu/year. A comparison between sites C2 and Mos 1 (water from the Moselle before it enters the cooling system) can provide the amount of copper released in the lake by the power plant alone (29,993 kg Cu/year). The average copper flux measured at the Mir M site indicated the amount of decanted copper throughout the entire lake: 18,229 kg Cu/year. This amount of copper, which decants in the

lake, was evaluated ten years ago by Mersh and al. (1993) as being 11,256 kg/year, or 1.6 times less than in 2003. However, the amount of copper released in the Moselle was estimated by Mersch and al. (1993) as being equal to 5,400 kg/year, or the same value as in 2003. Thus, even if copper concentrations have increased in the inputs of the power plant, the copper-binding capacity of the middle has compensated the difference, thence the limit of copper-binding capacity of the middle was not reach.

The difference between total copper burden in Mirgenbach lake (25,545 kg Cu/year) and the amount of decanted copper throughout the entire lake (18,229 kg Cu/year), was 7.316 kg Cu/year. This difference could be explained by the settle out of some of copper in the cooling system (between the CRF and the water input system: OAR, WT, CT). Copper concentration in decantable matter of CRF water was ranged from 900 to 2122 mg/kg MS. In the same way, copper concentration in sediment samples collected in WT and CT during 2001 were 494 mg/kg MS and were 514 mg/kg MS (Vinot, 2004) respectively. Therefore, the amount of copper released in the Mirgenbach lake seems to have been over-estimated. Note that a decreased of copper concentration in water from 194 to 154 µg/l after the crosses of the cooling system could explain a reduction of the amount of copper released in the lake reaching 6.3 t/year. Such diminution of copper concentration in water should be coherent with copper concentrations in WT and CT sediments. Therefore, the total copper burden in the Mirgenbach lake could be estimated at 24, 283 kg/year-copper instead of 30,590 kg/year. As a result, if 7.316 tones Cu/year was settled out in the cooling system, so only 23, 275 kg Cu/year were released in the lake, and if 18,229 kg Cu/year have decanted throughout the entire lake, it means that 84% of the copper release by the CRF was trapped before the discharge in Moselle river (24 % in the cooling system and 60 % in the lake). Thus, the amount of decanted copper in the lake represents 75% of the total copper inputs; this was in accordance with the results of Mersch *et al.* (1993). Note that these results are lower than the real figure because of the high spring and autumn copper concentrations in water and the high copper flux values in spring and at the end of summer are not included.

In the filtered water, however, 68% of dissolved copper (<0.45µm) was measured; the difference could be due to the transfer of copper from the dissolved phase towards the decanted matter. This transfer may be attributed to biotic factors such as bacteria, and various organisms as zooplankton: animal organisms, which can excrete some ingested copper in the feces and bioaccumulate the copper; or vegetal organisms, which can bioconcentrate, chelate (the complexing capacity of exudates) or adsorb the copper.

I.4.1.4. Conclusion

The copper inputs in Mirgenbach lake were distributed through the entire site, but in different concentrations according to the compartment. The copper content in water was distributed in the lake as a function of a concentration gradient between the entrance of overheated water and the outflow of water towards the Moselle river. Similarly, the same gradual copper contamination was observed in sediments and littoral sediments were found as less polluted than those in the middle of the lake. The most contaminated compartments were DM (Mir M: 973 mg Cu/kg d.w) and bottom sediments (Mir M: 925 mg Cu/kg d.w.). These levels of pollution of inert compartments (water, DM, sediments) have increased by a factor of 1.5 to 2

between 1993 and 2003. However, between 2000 and 2002, the concentration of copper in sediments increased by a factor of between 1.48 and 1.6. In 2001, copper inputs into the tertiary cooling circuit of the power plant was estimated at 29, 930 kg Cu/year, of which 24, 283 kg/year were released in the lake. In Mirgenbach lake, which is a system with very high pH, hardness, conductivity and salinity, the presence of suspended matter, mainly organic matter, is the key factor influencing the transport of copper towards sediments. In March and April when the Moselle is rising, high fluxes of copper were associated with a large amount of suspended matter from the Moselle and significant concentrations of copper in the water, but also with lower copper concentrations in DM in March. In August, the strong flux of copper towards sediments corresponds to a high plankton biomass, but concentrations of copper in water are low. Thus, the plankton biomass seems to have a higher copper-binding capacity than the suspended particulate matter coming from the Moselle. The large amount of suspended particulate matter increases the copper flux, but it is the quality of these particles (bacteria, plankton and organic matter coming from the lake, together with clay and organic matter coming from the Moselle in March and April) that influences the concentration of copper in the decanted matter. The increase in the plankton biomass raises the copper-binding capacity of DM and thus the copper concentration in DM, including the plankton. These factors (suspended particulate matter and biotic factors), which control the amount of copper in water successively or simultaneously, play a role in different seasonal periods. The amount of copper, which decants in the lake was estimated at 75% of the total copper inputs. So, 84 % of the amount of copper released by brass exchangers of the tertiary cooling circuit was trapped by the cooling system of the tertiary cooling circuit (tertiary cooling circuit and cooling tower) and the Mirgenbach lake

Les études de répartition et circulation du cuivre dans les compartiments abiotiques de la retenue du Mirgenbach mettent en évidence :

- L'existence d'un gradient décroissant de contamination en cuivre dans l'eau brute et dans les sédiments entre la zone d'injection et celle de reprise. La station Mir inj semble peu propice à la décantation des particules liant le cuivre. La zone littorale du lac est également moins contaminée avec dans certaines stations, un niveau de cuivre égal au bruit de fond géochimique local.
- Un transport vertical du cuivre représentant 70% du cuivre entrant dans le lac et fonction de la quantité de MES dans le milieu
- Le rôle majeur du plancton dans la décantation du cuivre ; notamment en augmentant la capacité des MD à lier le cuivre.
- Un niveau de pollution en cuivre augmentant au cours des années dans l'eau et les sédiments.
- Une quantité de cuivre libérée par le CRF estimé à 29 930 kg Cu/an alors que seulement 5046 kg Cu/an sont rejetés en Moselle.
- Le système de refroidissement de la centrale de Cattenom et la retenue du Mirgenbach piège 84 % du cuivre libéré par les échangeurs en laiton du circuit tertiaire de refroidissement, ce qui réduit considérablement l'impact de la centrale de Cattenom sur la rivière Moselle. .

I.4.1.5. Bibliography

Achterberg, E. P., van, E. J. T. et Kolar, Z. I. (2002) - Species kinetics and heterogeneous reactivity of dissolved Cu in natural freshwaters - *Environmental Science & Technology*, **36:** 914-920.

Agence de l'eau, 1999. Système d'évaluation de la qualité des eaux de surface., Agence de l'eau.

Agence de l'eau Rhin-Meuse, 1991. Indicateurs de qualité des eaux superficielles: valeurs de référence pour divers métaux et micropolluants organiques.

Allen, H. et Hansen, D. (1996) - The importance of trace metal speciation to water quality criteria. - *Water Environ Res*, **68:** 42-54.

An, Y.-J. et Kampbell, D. H. (2003) - Total, dissolved, and bioavailable metals at Lake Texoma marinas - *Environmental Pollution*, **122:** 253-259.

Bell, R. A., Ogden, N. et Kramer, J. R. (2002) - The biotic ligand model and a cellular approach to class B metal aquatic toxicity - *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **133:** 175-188.

Bodek, I., Lyman, W. J., Reehl, W. F. et Rosenblatt, D. H. (1988) - Environmental inorganic chemistry: properties, processes and estimation methods - Pergamon press, New York, pp.

Buffle, J. (1988) - Complexation reactions on aquatic systems: an analytical approach. - In: Horwood, E. (ed.): - Chicester, pp.

Centeno, M., Brendonck, L. et Persoone, G. (1993) - Acute toxicity tests with *Streptocephalus proboscideus* (Crustacea: Brachiopoda: Anostraca): influence of selected environmental conditions. - *Chemosphere*, **27:** 2213-2224.

Cotton, F. et Wilinson, G. (1989) - Advanced inorganic chemistry. - In: Ltd, J. W. S. (ed.): - New york, pp. 755-775.

Evans, L. J. (1989) - Chemistry of metal retention by soils. - *Environ sci Technol*, **23:** 1046-1056.

Förstner, U. et Wittmann, G. (1981) - Metal pollution in the aquatic environment, 2nde ed. - Basel, New-York, pp.

Gardner, M. et Ravenscroft, J. (1991) - The behaviour of copper complexation in rivers and estuaries: two studies in North-East England - *Chemosphere*, **23:** 695-713.

Garrett, R. G. (2000) - Natural sources to the environment - *Hum. Ecol. Risk. Assess.*, **6:** 945-963.

Gerringa, L. J. A., T.C.W., P. et Hummel, H. (1996) - Comparison of Chemical Speciation of Copper in the Oosterschelde and Westerschelde Estuaries, The Netherlands - *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **42:** 629-643.

Giesy, J., Alberts, J. et Evans, D. (1986) - Conditional stability constants and binding capacities for copper (II) by dissolved organic carbon isolated from surface waters of the southeastern United States. - *Environ Toxicol Chem*, **5:** 139-154.

Gundersen, P. et Steinnes, E. (2003) - Influence of pH and TOC concentration on Cu, Zn, Cd, and Al speciation in rivers - *Water Research*, **37:** 307-318.

Hamilton-Taylor, J., Postill, A. S., Tipping, E. et Harper, M. P. (2002) - Laboratory measurements and modeling of metal-humic interactions under estuarine conditions - *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **66:** 403-415.

Helland, A. et Bakke, T. (2002) - Transport and sedimentation of Cu in a microtidal estuary, SE Norway - *Marine Pollution Bulletin*, **44:** 149-155.

Janssen, C., Heijerick, D., De Schamphelaere, K. et Allen, H. (2003) - Environmental risk assessment of metals: tools for incorporating bioavailability - *Environment International*, **28:** 793-800.

Jayaraj et al. (1992) - of heavy metal toxicity on primary productivity of aquatic ecosystems by calcium, magnesium and iron - *Environ and Ecology*, **10:** 667-674.

Jenner, H. A., Whitehouse, J. W., Taylor, C. J. et Khalanski, M. (1998) - Cooling water management in European power stations. Biology and control of fouling. - In: France, E. d. (ed.): *Hydroecologie appliquee - Tome 10* - EDF,Volume 1-2, pp. 83-89.

Kretschmer, X. C., Gardea-Torresdey, J., Chianelli, R. et Webb, R. (2002) - Determination of copper binding in Anabaena flos-aquae purified cell walls and whole cells by X-ray absorption spectroscopy - *Microchemical Journal*, **71:** 295-304.

Leal, M. F. C., Vasconcelos, M. T. S. D. et van den Berg, C. M. G. (1999) - Copper-induced release of complexing ligands similar to thiols by Emiliania huxleyi in seawater cultures - *Limnol. Oceanogr.*, **44:** 1750-1762.

Lu, Y. et Allen, H. E. (2001) - Partitioning of copper onto suspended particulate matter in river waters - *The Science of The Total Environment*, **277:** 119-132.

Luoma, S. N. (1989) - Can we determine the biological availability of sediment-bound trace elements? - *Sediment/water interactions. Proc 4th symposium, Melbourne, 1987, Published by Kluwer; Developments in Hydrobiology, 50, Editors Sly P.G. and Hart B.T.*, 379-396.

Mackey, D. et Higgins, H. (1988) - The copper-complexing capacity of seawater. - *Sci Total Environ*, **75:** 151-167.

Mersch, J., Jeanjean et Pihan, J. C. (1992) - The freshwater mussel Dreissena polymorpha as bioindicator for trace metals, organochlorines and radionucleides. - In: Verlag., L. A. G. F. (ed.): *The zebra mussel Dreissena polymorpha* - Stuttgart, Germany, 4, pp. 227-244.

Mersch, J., Dubost, N. et Pihan, J. (1993) - Comparaison de plusieurs supports analytique inertes et biologiques pour apprécier la contamination de la retenue du site électronucléaire de Cattenom, France - *Annls Limnol*, **29:** 325-337.

Moffett, J. W. (1995) - Temporal and spatial variability of copper complexation by strong chelators in the Sargasso Sea - *Deep-Sea Research, Part I: Oceanographic Research Papers*, **42:** 1273-95.

Moffett, J. W. et Brand, L. E. (1996) - Production of strong, extracellular Cu chelators by marine cyanobacteria in response to Cu stress - *Limnology and Oceanography*, **41:** 388-395.

Muller, F. L. L. (1996) - Interactions of copper, lead and cadmium with the dissolved, colloidal and particulate components of estuarine and coastal waters - *Marine Chemistry*, **52:** 245-268.

Neubecker, T. et Allen, H. (1983) - The measurement of complexation capacity and conditional stability constants for ligands in natural waters - A review. - *Water Research*, **17:** 1-14.

Nieboer, E. et Richardson, D. H. (1980) - Replacement of the monodescript term 'Heavy metals' by a biologically and chemically significant classification of metal ions. - *Environmental Pollution, Series B: Chemical and Physical*, **1:** 3-26.

Nor, Y. (1987) - Ecotoxicity of copper to aquatic biota: a review. - *Environ Res*, **43:** 274-282.

O'Connor, D. J. (1988) - Models of sorptive toxic substances in freshwater sytems. I. Basic equations. - *Environ Engrg*, **114:** 507-532.

Pagenkopf, G. K. (1983) - Gill surface interaction model for trace-metal toxicity to fishes: role of complexation, pH, and water hardness (Cd Cu Zn). - *Environmental Science & Technology*, **17:** 342-347.

Rijstenbil, J. W. et Gerringa, L. J. A. (2002) - Interactions of algal ligands, metal complexation and availability, and cell responses of the diatom Ditylum brightwellii with a gradual increase in copper - *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, **56:** 115-131.

Rose, A. W. et Bianchi-Mosquera, G. C. (1993) - Adsorption of Cu, Pb, Zn, Co, Ni and Ag on geothite and hematite: A control on metal mobilization from Red Beds into Stratiform Copper deposits. - *Econ. Geol.*, **88:** 1226-1236.

Sharma, V. et Millero, F. (1988) - Oxidation of copper (I) in seawater. - *Environ sci Technol*, **22:** 768-771.

Snell, T., Moffat, D., Janssen, C. et Personne, G. (1991) - Acute toxicity tests using rotifers: IV. Effect of cyst age, temperature, and salinity on the sensitivity of *Brachinus calyciflorus*. - *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **21:** 308-317.

Stiff, M. (1971) - The chemical states of copper in polluted freshwater and a scheme of analysis to differential them. - *Water Research*, **5:** 585-599.

Stuijfzand, S. C., Helms, M., Kraak, M. H. S. et Admiraal, W. (1999a) - Interacting effects of toxicants and organic matter on the midge Chironomus riparius in polluted river water. - *Environmental Pollution*, **106:** 115-121.

Stumm, W. et Morgan, J. (1996) - Aquatic-Chemical equilibria and rates in natural waters. - In: Sons, J. W. (ed.): - New-York, pp. 1-1022.

Temminghoff, E. J. M., Van der Zee, S. E. A. T. M. et Keiser, M. G. (1994) - THe influence of pH on the adsorption and speciation of copper in a sandy soil. - *Soil Sci.*, **158:** 398-408.

Tien, C.-J. (2002) - Biosorption of metal ions by freshwater algae with different surface characteristics - *Process Biochemistry*, **38:** 605-613.

Wang, W.-X. et Fisher, N. S. (1998) - Excretion of trace metal elements in marine copepods and its bioavailability to diatoms. - *Mar. res.*, **56:** 713-729.

Warren, L. A. et Zimmerman, A. P. (1994) - Influence of temperature and NaCl on cadmium, copper and zinc partitioning among suspended particulate and dissolved phases in an urban river - *Water Research*, **28:** 1921-1931.

Windom, H. L., Byrd, T., Smith, R. G. et Huan, F. (1991) - Inadequacy of NASQUAN data for assessing metal trends in the nation's rivers. - *Environ. Sci. Technol.*, **25:** 1137-1142.

World Health Organization, 1998. Environmental health criteria 200 - Copper. safety, I. p. o. c., (ed.), Geneve.

Xue, H. et Sigg, L. (1993) - Free cupric ion concentration and copper(II) speciation in a eutrophic lake - *Limnology and Oceanography*, **38:** 1200-13.

Zhou, J. L., Huang, P. L. et Lin, R. G. (1998) - Sorption and desorption of Cu and Cd by macroalgae and microalgae - *Environmental Pollution*, **101:** 67-75.

I.4.2. Répartition et circulation du zinc dans les compartiments abiotiques de la retenue du Mirgenbach

Le chapitre I.2. a permis de mettre en évidence la relation linéaire existant entre les concentrations en cuivre et les concentrations en zinc dans l'eau brute. Il convient donc de rechercher l'existence de cette relation dans les compartiments sédimentaires (matières décantées et sédiments). Si cette relation est conservée, cela signifierait que les voies de transfert du cuivre et du zinc sont proches et que ces deux métaux s'incorporent aux sédiments de la retenue du Mirgenbach dans les mêmes proportions et de façon concomitante.

I.4.2.1. Résultats

L'étude porte successivement sur les matières décantées et sur les sédiments.

I.4.2.1.a. Etude des concentrations en zinc dans les matières décantées et comparaison avec les concentrations en cuivre

La **figure III-29** présente les concentrations en zinc et en cuivre mesurées tous les mois dans les matières décantées (MD) collectées dans le sédimentomètre placé en station Mir M. Chaque valeur est la moyenne de deux réplicats.

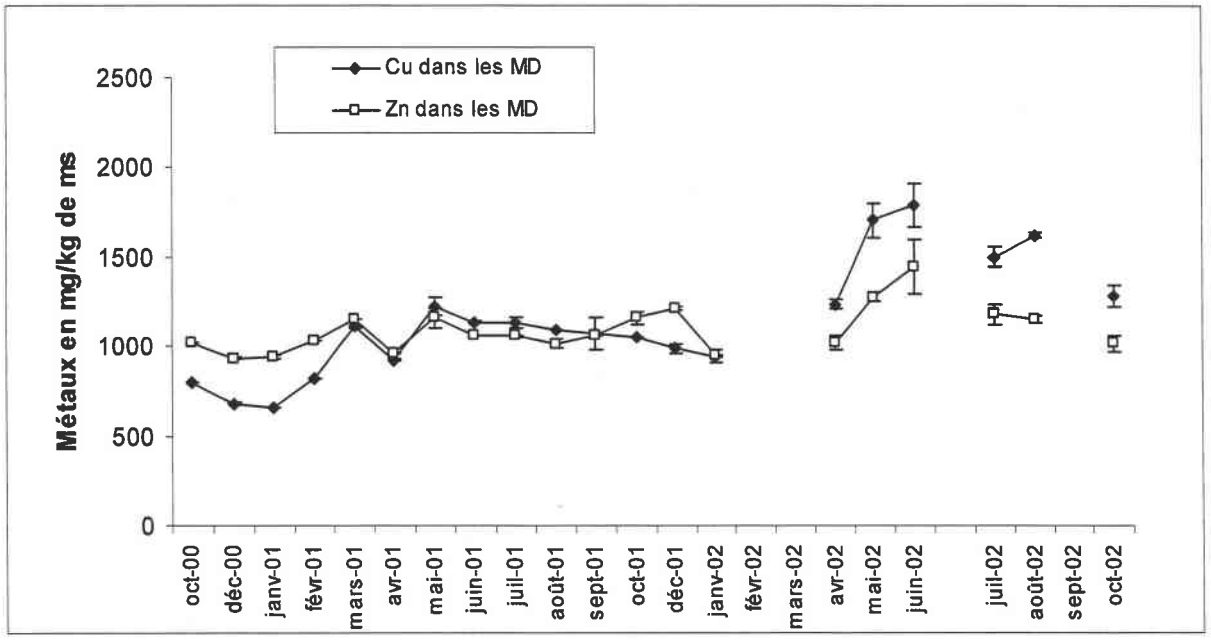


Figure III-29 : Evolution mensuelle des concentrations en cuivre et en zinc exprimés en mg/kg de ms dans les matières décantées (MD) prélevées à la station Mir M de la retenue du Mirgenbach. En février et mars 2002, le collecteur endommagé a été sorti de l'eau pour réparation.

La **figure III-29** met en évidence une plus faible amplitude de variation des concentrations en zinc dans les MD au cours du temps par rapport aux concentrations en cuivre. La concentration moyenne de zinc dans les MD est de 1092 +/- 129 mg Zn/kg de ms (n=20) et varie de 932 à 1448 mg Zn/kg de ms selon les mois de collecte. La concentration

moyenne en cuivre dans les MD est de 1139 +/- 319 mg Cu/kg de ms (n=20) et varie de 656 à 1790 mg Cu/kg de ms. Toutefois la différence entre la concentration moyenne (n=20) en cuivre et en zinc n'est pas significative (test t de Fisher, $p<0.05$).

Les plus faibles concentrations en zinc sont observées en décembre, janvier 2001 et janvier 2002 avec respectivement 932, 943 mg Zn/kg de ms et 950 mg Zn/kg de ms.

La valeur maximale est observée en juin 2002 avec 1448 mg Zn/kg de ms et un écart-type important de +/- 148. Les autres valeurs sont très homogènes et varient de 1014 à 1280 mg Zn/kg de ms.

Les concentrations en cuivre et en zinc suivent la même évolution au cours du temps et il existe une relation linéaire entre les deux variables avec un coefficient de corrélation de Pearson $r=0.84$, significatif à $p<0.01$.

L'équation reliant les variables concentrations en cuivre et en zinc dans les matières décantées (MD) est la suivante :

$$[Zn]_{\text{dans les MD en mg/kg de ms}} = 695{,}67 + (0{,}36 \times [Cu]_{\text{dans les MD en mg/kg de ms}})$$

I.4.2.1.b. Etude des facteurs influençant la décantation du zinc vers les sédiments

Pour tenter de mieux comprendre les mécanismes qui régissent l'incorporation du zinc dans les sédiments, des corrélations sont recherchées entre l'évolution des paramètres physico-chimiques et biologiques de la retenue du Mirgenbach et l'évolution des concentrations en zinc dans les matières décantées, avec évaluation des flux de zinc vers les sédiments.

A partir des concentrations en zinc dans les MD, du temps de pose et de la surface de collecte du sédimentomètre, de la hauteur de la colonne d'eau, il est possible, comme cela a été fait pour le cuivre, de calculer les flux de zinc vers les sédiments. Ces flux sont représentés sur la **Figure III-30** en fonction de la date de collecte des MD et en comparaison avec les concentrations en zinc dans l'eau sur la même période.

Le flux moyen de zinc vers les sédiments est de 77 +/- 44 mg $Zn/m^2/jr$ et varie de 24 à 164 mg $Zn/m^2/jr$ entre octobre 2000 et août 2002.

Les pics de flux de zinc vers les sédiments ne sont pas concomitants des pics de concentrations dans l'eau brute (**Figure III-30**). Ces pics sont observés en mars, avril et août 2001 puis en avril et août 2002 avec des valeurs respectives de 164, 162, 132 et 93, 131 mg $Zn/m^2/jr$. Les minima des flux de zinc sont constatés en novembre 2000, janvier, juillet, septembre, novembre 2001 puis janvier, juin 2002 avec des valeurs respectives de 47, 24, 45, 49, 33, et 29, 32 mg $Zn/m^2/jr$.

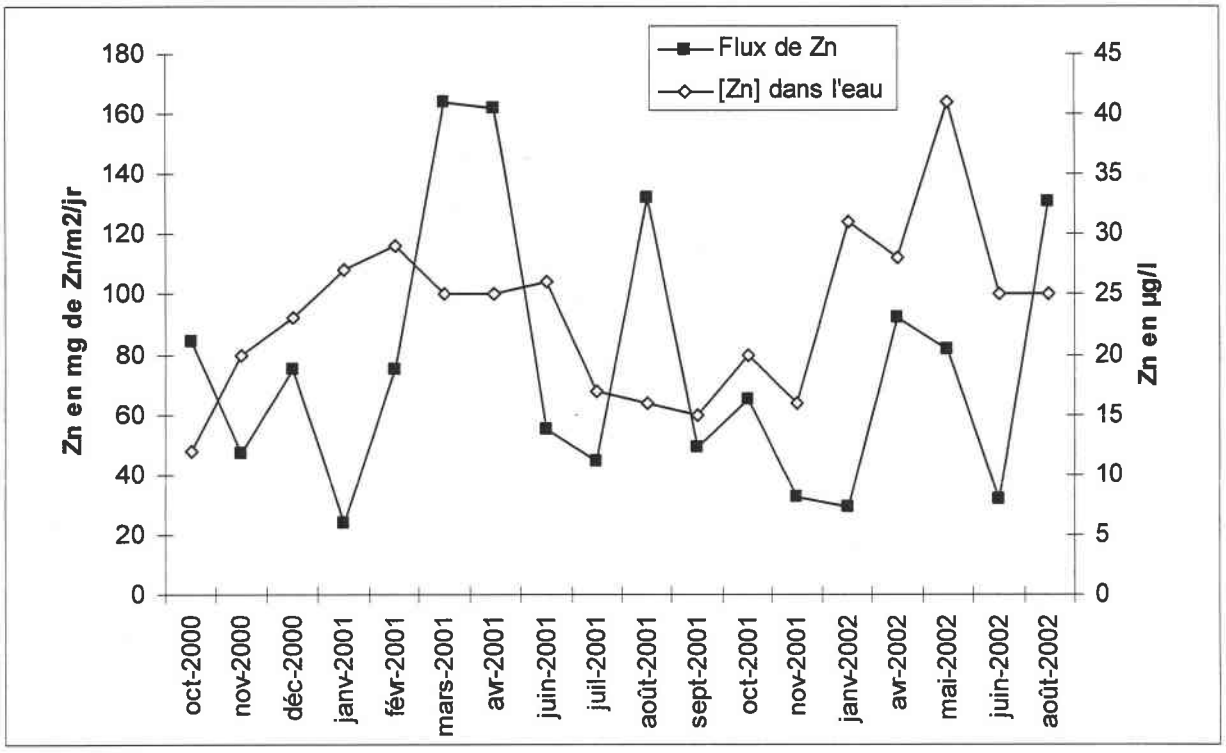


Figure III-30 : Evolution des flux de zinc (mg Zn/m^2/jr) en fonction du temps entre octobre 2000 et août 2002 en comparaison avec les concentrations en zinc dans l'eau (µg/l).

Il existe une relation linéaire très forte entre les flux de cuivre et de zinc (**Figure III-31**) au niveau de la station Mir M avec un coefficient r de Pearson r=0.96, significatif à p<0.01. L'équation reliant les deux variables s'écrit :

$$\text{Flux de zinc (mg Zn/m}^2\text{/jr)} = 0.85 \times \text{Flux de cuivre (mg Cu/m}^2\text{/jr)} + 10.68$$

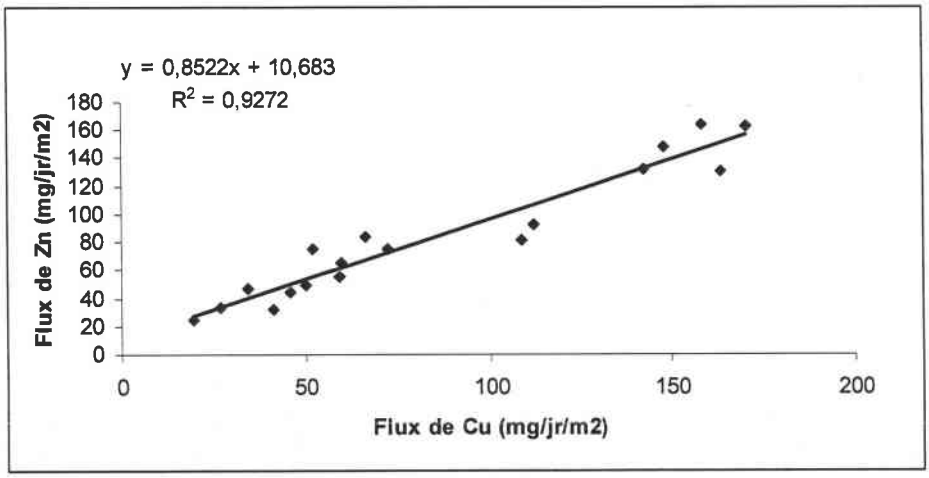


Figure III-31 : Représentation graphique de la relation linéaire entre les flux de cuivre et de zinc exprimés en mg/m^2/jour.

Le **Tableau III-21** présente les coefficients de corrélation entre certaines variables physico-chimiques et biologiques de la retenue du Mirgenbach et les concentrations en zinc dans les MD, de même que les flux de zinc vers les sédiments.

Tableau III-21 : Matrice de corrélation de Pearson comparant l'évolution des paramètres physico-chimiques et biologiques de la retenue du Mirgenbach avec celle des concentrations en zinc dans les matières décantées (mg Zn/kg de ms) et des flux de zinc vers les sédiments (mg $Zn/m^2/jr$). ** : corrélation significative à $p<0.05$.

	[Zn] dans les MD	Flux de Zn	Zn EB
pH	-0,59**	0,07	-0,24
Conductivité (µS/cm)	0,14	-0,33	-0,41
Chlorophylle a (µg/l)	0,31	0,00	-0,04
ALBAZOD (g de poids sec/m^3)	0,58**	0,05	0,18
[Cu] dans l'eau (µg/l)	0,46	0,37	0,73**
Secchi (m)	0,50**	-0,65**	-0,43
O2 dissous (mg/l)	-0,46	-0,04	0,34
[Cu] dans les MD (mg/kg de ms)	0,84**	0,04	0,47
Flux de MES	-0,13	0,94**	0,02
SiO2 en mg/l	-0,57**	-0,15	-0,36
Phéopigments en mg/l	0,32	-0,02	0,30
NH_4 (mg N/l)	0,67**	0,05	0,68**
NO_3 (mg N/l)	-0,25	-0,16	-0,11
PO_4 (mg P/l)	-0,07	-0,05	-0,73**
P_{tot} (mg P/l)	-0,11	0,10	-0,35
Sodium (mg/l)	0,25	-0,13	-0,38
Potassium (mg/l)	0,26	-0,08	-0,30
Chlorure (mg/l)	0,30	-0,13	-0,20

Ce tableau permet de constater qu'il existe une corrélation négative ($r=-0.65$) et significative à $p<0.05$ entre le flux de zinc et le disque de Secchi (m) qui est un indicateur de la charge en MES du milieu. D'ailleurs les flux de zinc sont également corrélés avec le flux de MES vers les sédiments ($r=0.94$, $p<0.05$).

Les mois de mars, avril 2001 et avril 2002, correspondant aux pics de flux de zinc, présentent des valeurs de secchi inférieures à 0.7m, indiquant une forte charge en MES dans le milieu. Par contre les mois d'août 2001 et août 2002 dont les flux de zinc sont de 131 et 132 mg $Zn/m^2/jr$, présentent des valeurs de secchi de 0.90 et 1m, soit une meilleure transparence de l'eau. Ces mois correspondent à la fin du plus important bloom de plancton de l'année (fleur d'eau à *Ceratium hirundinella*, Vinot & Pihan, 2001 ; 2002).

Parmi les mois présentant des flux de zinc faibles, les mois de juin-juillet 2001 et juin 2002 correspondent pour la période de collecte des MD à la phase des eaux claires (Vinot & Pihan, 2001 ; 2002). En dehors des mois de janvier 2001 (Secchi : 0.9m) et 2002 (Secchi : 0.85m), pour tous les mois présentant des flux de zinc faibles, le Secchi est supérieur à un mètre et atteint 1m70 en juin 2002, ce qui signifie que la charge en MES du milieu est faible pendant ces périodes.

La concentration en zinc dans les MD ne présente pas de corrélation forte avec l'un des facteurs retenus, sauf avec les concentrations en cuivre dans les MD. Toutefois il existe une corrélation positive et significative à $p<0.05$ entre la concentration en zinc dans les MD et

l'ALBAZOD (r=0.58), le secchi (r=0.50), la concentration en NH4 (r=0.67) ainsi qu'une corrélation négative ($p<0.05$) entre la concentration en zinc dans les MD et le pH (r=-0.59), et la concentration en SiO2 (r=-0.57).

Aucune relation n'a pu être établie entre les concentrations en zinc dans les MD, les flux de zinc et les concentrations en zinc dans l'eau brute.

I.4.2.1.c. Etude des concentrations en zinc dans les sédiments et mise en relation avec l'évolution des concentrations en cuivre

La **Figure III-32** présente l'évolution des concentrations en zinc (mg Zn/kg de ms) et en cuivre (mg Cu/kg de ms) dans les sédiments en fonction de la station d'étude (Mir 1, Mir inj, Mir M et Mir rep) et de la date de prélèvement.

Contrairement aux observations faites lors de l'étude des concentrations en cuivre et en zinc dans les MD, il existe une différence nette de la répartition des concentrations en cuivre et en zinc dans les sédiments.

La différence de concentration en cuivre et zinc est significative (test t de Fisher, $p<0.05$) pour toutes les stations, même dans le cas de Mir M si on considère uniquement les prélèvements de 2001 et 2002.

Les stations Mir 1, Mir inj, Mir M et Mir rep présentent des concentrations en zinc, respectivement 2, 4, 1.5 et 2.5 fois plus élevées que les concentrations en cuivre. Alors que le ratio cuivre/zinc des concentrations dans l'eau brute (µg/l) varie de 1.52 à 1.64 selon les stations.

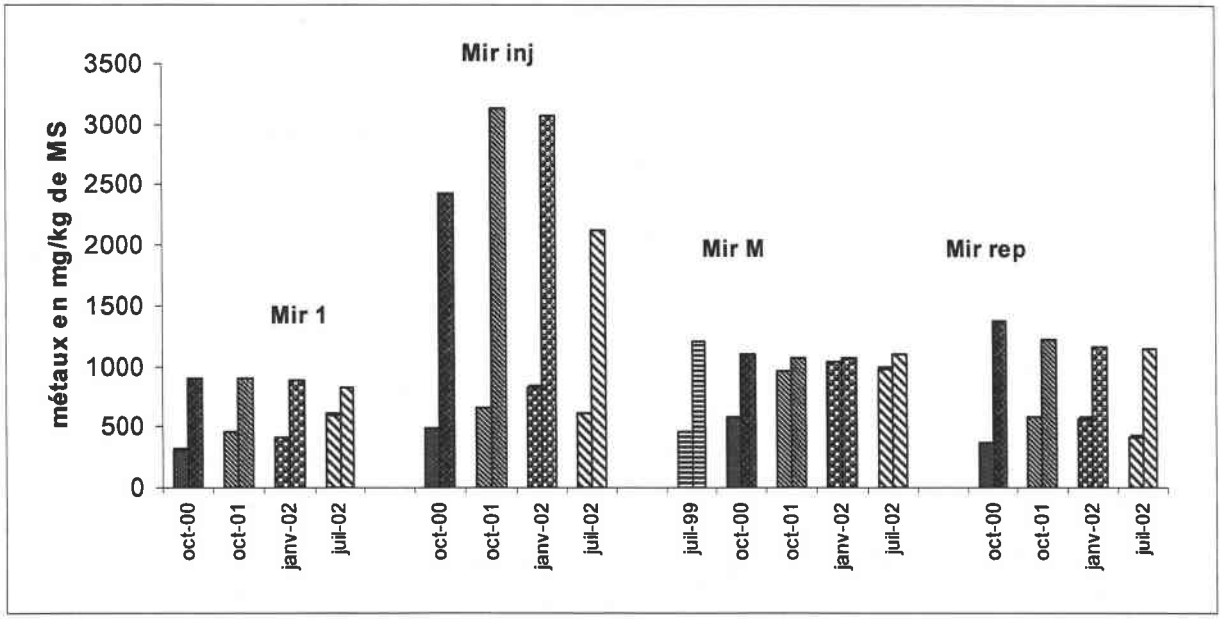


Figure III-32 : Evolution des concentrations en zinc (histogramme rouge) dans les sédiments anciens exprimées en mg Zn/kg de ms en fonction de la station d'étude (Mir 1, Mir inj, Mir M et Mir rep) et de la date de prélèvement. Comparaison avec l'évolution des concentrations en cuivre (histogramme noir) dans les mêmes échantillons.

Concernant le cuivre, les concentrations dans les sédiments sont les plus élevées au niveau de la station Mir M (800 mg Cu/kg de ms) mais la seule différence significative (test t, $p<0.05$) entre les stations est observée entre Mir 1 et Mir M. Toutefois, si seules les concentrations en cuivre mesurées en 2001 et 2002 sont considérées pour la station Mir M, la concentration moyenne est alors de 989 mg Cu/kg de ms et cette valeur est significativement supérieure (test t, $p<0.05$) à celle de toutes les autres stations.

Dans le cas du zinc, la station d'injection est la zone préférentielle de sédimentation avec une concentration moyenne de 2694 mg Zn/kg de ms significativement supérieure (test t, $p<0.05$) à celle des autres stations ; en effet le taux de zinc mesuré au niveau de la station Mir inj représente respectivement 3.1, 2.4 et 2.2 fois les concentrations des stations Mir 1, Mir M et Mir rep.

La **Figure III-33** présente les concentrations en zinc (mg Zn/kg de ms) en comparaison avec les concentrations en cuivre (mg Cu/kg de ms) dans les sédiments des zones littorales du lac.

La moyenne des concentrations en zinc mesurées dans les sédiments des zones littorales est de 492 +/- 122 mg Zn/kg de ms et varie de 319 à 807 mg Zn/kg de ms, soit une moyenne 3 fois supérieure à celle des concentrations en cuivre (169 +/- 69 Mg Cu/kg de ms), alors que le ratio cuivre/zinc des concentrations dans l'eau brute varie de 1.52 à 1.64 selon les stations.

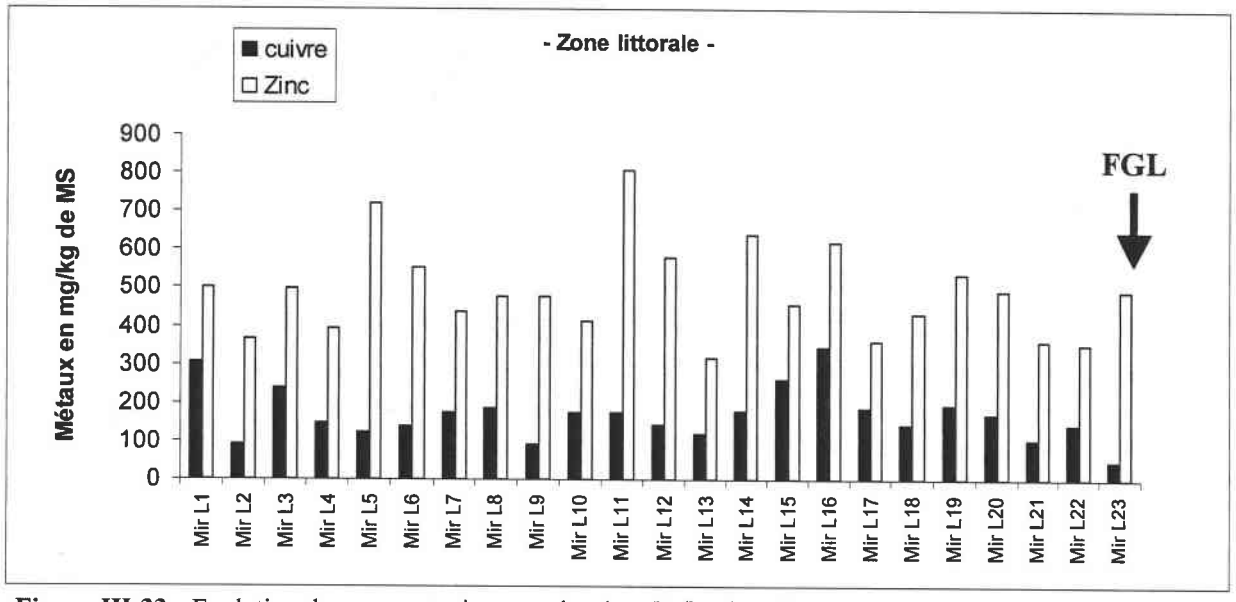


Figure III-33 : Evolution des concentrations en zinc (mg Zn/kg de ms) en comparaison avec les concentrations en cuivre (mg Cu/kg de ms) dans les sédiments des zones littorales du lac. **FGL** : Fond géochimique local.

Il n'y a pas d'évolution concomitante des concentrations en cuivre et en zinc dans les sédiments des zones littorales. D'ailleurs il n'existe pas de relation linéaire entre les deux variables ($r=0.23$).

L'origine géochimique du zinc dans la zone littorale sera traitée dans la discussion du chapitre.

Aucune relation n'a pu être mise en évidence pour expliquer la répartition du zinc dans les zones littorales, que ce soit en considérant la présence/absence de végétation rivulaire, le type de substrat, le relief ou la distance par rapport à la zone d'injection (résultats non présentés).

I.4.2.1.d. Estimation des flux globaux de zinc dans la retenue du Mirgenbach

Une estimation du flux annuel de zinc dans le lac (bilan entrée/sortie) peut être faite sur la base des concentrations en zinc dans l'eau mesurées en décembre et en juin 2001dans le circuit de refroidissement (C1 et C2), et de celles à la station Mir rep. Par ailleurs la prise en compte des flux de zinc vers les sédiments du lac en décembre et en juin 2001 permet d'évaluer la quantité de zinc qui s'incorpore, par année, dans les sédiments.

La surface du lac a été choisie en fonction de la courbe de remplissage du lac et elle est au maximum de 63 ha. Les apports de zinc exprimés en kg par an sont calculés sur la base de la surface du lac (63ha), du débit d'eau entrant dans le lac ($5m^3/s$), du débit d'eau équivalent sortant du lac ($5m^3/s$).

Trois estimations des flux globaux de zinc dans la retenue du Mirgenbach peuvent être réalisées, deux à partir des mesures effectuées en juin 2001 et en décembre 2001 et une à partir des moyennes annuelles des concentrations en zinc et flux de zinc.

En juin 2001, la comparaison entre les sites C2 (zinc entrant mesuré au sein du circuit de refroidissement : 15 932 kg/an) et Mir rep (zinc sortant de la retenue vers la rivière Moselle en aval : 2 340 kg/an), fournit la quantité de zinc restée dans le lac du Mirgenbach : 13 392 kg/an. Le flux de zinc vers les sédiments est de 12 680 kg/an, ce qui signifie que parmi les 15 932 kg de zinc entrant dans le lac par an, 79.6% décantent vers les sédiments. Cependant, un flux sortant au niveau de la station Mir rep de 2 340 kg de Zn/an est mesuré, soit un surplus de zinc de 912 kg par an dans le bilan, qui est réparti entre les différents compartiments biotiques de la retenue.

En décembre 2001, la comparaison entre les sites : C2 (zinc entrant estimé au sein du circuit de refroidissement : 15 932 kg de Zn/an) et Mir rep (zinc sortant de la retenue vers la rivière Moselle en aval : 6 623 kg de Zn /an), fournit la quantité de zinc restée dans le lac du Mirgenbach : 9 309 kg de Zn/an. Le flux de zinc vers les sédiments est de 6 729 kg de Zn/an, ce qui signifie que parmi les 15 932 kg de zinc entrant dans le lac par an, 43% décantent vers les sédiments. Le flux sortant au niveau de la station Mir rep est de 6 623 kg de Zn/an, soit un surplus de 2 580 kg de zinc par an dans le bilan, qui correspondent à ce qui est transféré dans les compartiments biotiques de la retenue. Surplus qui peut être soit intégré à des compartiments biotiques, soit rester en solution dans la colonne d'eau.

Si on considère à présent que le flux d'entrée du zinc (C2) est constant au cours de l'année et que les moyennes annuelles des concentrations en zinc dans l'eau brute au niveau de Mir rep (23 µg/l) et des flux de zinc (77 +/- 44 mg $Zn/m^2/jr$) vers les sédiments sont

utilisés pour effectuer le calcul des flux globaux de zinc dans la retenue, alors le flux d'entrée est de 15 932 kg de Zn/an, le flux de sortie (Mir rep) est de 3 627 kg de Zn/an, le flux de décantation du zinc est de 17 706 kg de Zn/an, soit un déficit de 5 401 kg de Zn/an dans le bilan. Ces résultats signifient que la quantité de zinc qui décante est très supérieure à la quantité de zinc qui entre *via* les eaux de purge dans la retenue. Cependant toutes ces estimations reposent d'une part, sur le fait que le zinc sédimente de façon homogène sur l'ensemble de la retenue, or ce n'est pas le cas, d'où une surestimation du flux de zinc ; d'autre part sur un apport constant de métaux par la centrale. Cependant, dans le lac, les mesures de concentrations en cuivre dans l'eau brute ont mis en évidence des maxima pendant la période hivernal et printanière alors que les analyses de concentrations en cuivre à la station C2 ont été réalisées en juin et décembre, au moment où la contamination métallique du lac est plus faible. Il est par conséquent probable que l'apport de métaux dans le lac par la centrale ne soit pas constant au cours de l'année et de fait que l'on sous estime le flux de métaux à l'entrée du lac.

Une variation saisonnière de l'apport de métaux dans le lac, indépendante de l'activité de la centrale, est également probable et ce, en relation avec la variation saisonnière de la physico-chimie des eaux de la rivière Moselle amont (crue, étiage, développement planctonique) qui peut potentiellement influer sur la libération de métaux en exacerbant ou non les phénomènes de corrosion ou encore modifier la spéciation des métaux et le flux de décantation dans les bassins chaud et froid de la centrale avant l'entrée dans le lac.

Le calcul des flux de décantation du zinc en kg/an, mois par mois, a mis en évidence des flux de 37 772, 37 286 et 30 363 kg de Zn/an respectivement en mars, avril et août 2001 et de 21 286, 18 728 et 30 054kg de Zn/an respectivement en avril, mai et août 2002. Tous ces mois présentent des flux de matières fraîches (mf) compris entre 46 et 90g de mf par jour alors que la valeur moyenne est de 38 g de mf /jr.

En dehors des mois présentant des flux exceptionnels de décantation du zinc, le flux de décantation en kg de Zn/an est de 10 430 et correspond à la quantité de zinc restant dans le lac soit 12 502 (flux d'entrée : 15 932 kg de Zn/an - flux de sortie : 3 430 kg de Zn/an), d'où un flux de décantation du zinc dans le lac correspondant à 83% du flux entrant.

I.4.2.2. Discussion

L'existence d'une corrélation entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les MD, ainsi que les valeurs équivalentes de concentration, laisseraient supposer des voies de transfert vers les sédiments similaires ou proches pour les deux métaux. Cependant la différence d'affinité pour la phase soluble et la phase particulaire respectivement pour le cuivre et le zinc prête à discussion. L'étude de l'influence des facteurs biotiques et abiotiques interagissant dans la retenue du Mirgenbach sur la décantation du zinc a été entreprise en vue d'apporter des éléments de réponse.

La répartition des métaux dans un écosystème, donc leur spéciation et leur biodisponibilité, est dépendante des caractéristiques physico-chimique du milieu (Heijerick et al., 2002c). Par conséquent il est possible d'établir des relations entre celle-ci et la chimie du milieu.

Contrairement au cuivre, aucune corrélation significative n'est observée entre les concentrations en zinc dans les MD et la concentration en chlorophylle a. Knauer *et al.* (1995) ont montré que le cuivre et le zinc pouvaient être en compétition pour les sites de liaison des parois cellulaires des algues d'eau douce. Xue *et al.* (1995) ont observé un effet similaire en lac, à savoir, un rejet de zinc à partir des formes électro-chimiquement inertes après addition de cuivre.

Il existe une corrélation entre la quantité d'ALBAZOD et la concentration en zinc des MD (L'ALBAZOD étant un mélange d'algues, de bactéries, de zooplancton et de détritus). L'absence de relation avec la chlorophylle a, suggérerait que les concentrations en zinc dans les MD ne soient pas influencées par le phytoplancton, mais par une autre composante de l'ALBAZOD. Muller *et al.* (2001) ont émis l'hypothèse selon laquelle les ligands forts du zinc seraient produits *in situ* par les bactéries dégradant la matière organique particulaire.

Les concentrations en NH4 et Nkj qui sont corrélées à la concentration en zinc dans les MD sont des indicateurs de présence de MO dans l'eau, or la matière organique joue un rôle déterminant dans la spéciation des métaux cuivre et zinc (Chapitre 1.2.1.2) et la présence d'ions ammonium dans une eau révèle souvent une dégradation incomplète des substances organiques due à une pollution ou non.

Le flux moyen calculé de zinc vers les sédiments est de 77 +/- 44 mg $Zn/m^2/jr$ et varie de 24 à 164 mg $Zn/m^2/jr$ entre octobre 2000 et août 2002. Il existe une relation linéaire hautement significative entre les flux de cuivre et de zinc ($r=0.96$, $p<0.01$). D'après les résultats fournis par Mersh *et al.* (1993), les flux de zinc mesurés entre juillet et décembre 1991 étaient en moyenne de 59 +/- 27 mg $Zn/m^2/jr$; ce flux de zinc est 1.3 fois inférieur à celui de 2001-2002.

L'importance des flux de zinc vers les sédiments est liée significativement ($p<0.05$) à la présence de matières en suspension dans le milieu

L'étude des concentrations en zinc des sédiments de la zone centrale a mis en évidence un dépôt préférentiel au niveau de la zone d'injection, avec un facteur multiplicatif de 4 entre la concentration en zinc des sédiments prélevés au niveau de Mir M et ceux de Mir inj. Par conséquent, le flux de zinc mesuré au niveau de la station Mir M sous-estime la fraction de zinc qui décante dès la zone d'injection en négligeant la différence interstation. L'étude de la répartition des métaux entre les phases soluble et particulaire de la colonne d'eau ayant permis de mettre en évidence la préférence du zinc pour la phase particulaire et celle du cuivre pour la phase soluble, ceci pourrait expliquer la décantation importante du zinc (fixé sur des particules de taille supérieure à celle du cuivre), dès son entrée dans la retenue du Mirgenbach au niveau de la station d'injection et celle du cuivre plus loin dans le lac au niveau de la station Mir M sous l'influence de facteurs biotiques (plancton) comme cela a été

mis en évidence dans le chapitre 1.3.1, et abiotiques *via* des mécanismes de précipitation, adsorption, décantation.

Si la fraction particulaire du zinc a déjà décanté de façon conséquente au niveau de la station d'injection alors cela peut expliquer les similitudes de comportement des deux métaux au niveau de la station Mir M (corrélation des flux et des concentrations dans les MD, équivalence des taux de cuivre et zinc dans les MD). D'ailleurs, au niveau de la station Mir M, en 2001 et 2002, la différence entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les sédiments est, bien que significative ($p<0.05$), beaucoup moins nette que pour les autres stations.

Dans les sédiments, il a également été montré que la zone littorale présentait un niveau de contamination en zinc plus faible que celui des zones profondes et ceci, indépendamment de la contamination en cuivre. Cette absence de relation peut être expliquée par une divergence d'une part dans l'origine des deux métaux dans le lac, d'autre part dans le transport qui pourrait influencer la répartition spatiale du cuivre et du zinc dans la couche sédimentaire. La contamination en cuivre dans le lac est le traceur spécifique du rejet de la centrale EDF dans le lac, par conséquent la contamination en zinc de la zone littorale du lac est en partie, tout au moins, indépendante du rejet de la centrale (absence de corrélation cuivre/zinc). D'ailleurs l'échantillon prélevé dans une zone absente de dépôt sédimentaire d'origine lacustre, correspondant au substratum géochimique (Mir L23), présente une concentration en cuivre faible (46 mg Cu/kg de ms) alors que la concentration en zinc est de 494 mg Zn/kg de ms, soit une valeur équivalente à la concentration moyenne de zinc dans la totalité des échantillons (n=23) 492 +/- 122 mg Zn/kg de ms.

Le calcul des flux de décantation globaux de zinc, mois par mois, a montré des flux exceptionnellement élevés et supérieurs à la quantité de zinc entrant dans le lac en mars, avril, août 2001 et en avril, mai et août 2002. Il est possible d'expliquer les flux de décantation du zinc en mars, avril 2001 et avril 2002 par un apport extérieur de zinc dans le lac. Trois arguments viennent étayer cette hypothèse. Les mois de mars et avril 2001 et avril 2002 correspondent à des valeurs de Secchi très faibles et minimales (<à 0.7m) durant la période d'étude. Ces périodes sont marquées par une conductivité plus faible (< à 1400µS/cm) du fait de précipitations importantes ; le lessivage du bassin versant a pu être le facteur d'apport supplémentaire en zinc dans le lac, d'autant plus que l'étude de la répartition des concentrations en zinc dans les sédiments de la zone littorale met en évidence un apport terrestre de zinc.

Le mois de mai 2002, dont la valeur de Secchi est intermédiaire (0.85m), est surtout caractérisé par une concentration minimale en SiO_2, indicatrice du développent des diatomées dans le lac. Le développement du phytoplancton influence la concentration en métal dans l'eau ainsi que sa répartition entre phase soluble et phase particulaire. En outre il est connu que le zinc est un facteur essentiel pour le développement des diatomées étant donné son rôle dans la fixation de la silice (De La Rocha *et al.*, 2000).

Les mois d'août 2001 et 2002 sont caractérisés également par une production primaire maximale avec le développement d'une fleur d'eau à *Ceratium*. Dans ce cas, bien qu'il existe une compétition entre le cuivre et le zinc au niveau des sites de liaison des parois cellulaires des algues (Knauer *et al.*, 1995) en faveur du cuivre, il est possible que le plancton concentre le zinc sans l'adsorber ou l'absorber. En effet, la production de ligands forts pour les métaux par les algues durant les périodes de production primaire (Coale & Bruland, 1988 ; Moffett *et al.*, 1990 ; Bruland *et al.*, 1991) est responsable du transfert d'une partie du zinc vers les sédiments. Toutefois, ni les flux de zinc en mg $Zn/m^2/jr$, ni les concentrations en zinc dans les MD ne sont corrélés avec la concentration en chlorophylle a dans l'eau. L'excrétion de composés complexant les métaux n'est pas une spécificité du phytoplancton ou des macroalgues, car elle a aussi été observée chez certaines bactéries marines (Schreiber *et al.*, 1990 ; Gordon *et al.*, 1994) et champignons marins (Sunda & Gessner, 1989). D'après Muller *et al.* (2001), les bactéries seraient responsables de la dégradation de la MO particulaire et productrices de ligands forts pour le zinc ; ceci expliquerait la « non sélectivité » du zinc pour un type de MO et la corrélation entre la concentration en zinc dans les MD et l'Albazod.

Dans la littérature, il apparaît que le zinc, comme le cuivre, se lierait principalement à la MO dans la phase dissoute et dans la phase particulaire. Cependant, d'après Helland (2001), le zinc, contrairement au cuivre, ne semble pas avoir de préférence pour un type de MO. Ceci signifierait que le zinc se fixe sur la matière organique quelle que soit son origine (terrestre, lacustre et/ou planctonique).

Le flux de décantation global du zinc dans la retenue du Mirgenbach est estimé en moyenne à 17 941 kg de Zn/an, ce qui est équivalent au calcul réalisé par Mersch *et al.* (1993) pour l'année 1991 (20 674 kg de Zn/an), mais supérieur à la quantité de zinc entrant dans le lac (15 932 kg de Zn/an).

Le chapitre I.2 a mis en évidence une répartition préférentielle du zinc dans la phase particulaire de la colonne d'eau avec un taux de 56 +/- 8 % qui varie de 46 à 70%. En sachant que la fraction de zinc particulaire est sous-estimée puisque la mesure est effectuée au niveau de la station Mir M et que la concentration en zinc est maximale dans les sédiments de la station Mir inj. Les calculs des flux globaux de zinc en kg de Zn/an, ont montré que le flux de décantation du zinc correspondait à 80% et 42% du zinc entrant respectivement en juin et en décembre 2001 et était supérieur à 100% du zinc entrant en moyenne.

En dehors des mois présentant des flux exceptionnels de décantation du zinc, expliqués par un apport extérieur, probablement terrestre, le flux de décantation du zinc dans le lac correspond à 83% du flux entrant. Le flux de décantation est par conséquent bien supérieur à celui attendu à partir de la répartition du zinc entre les phases solubles et particulaires de la colonne d'eau. Ce constat permet de dire qu'une fraction non négligeable du zinc présent dans la phase soluble a rejoint le compartiment sédimentaire et ceci *via* des processus de précipitation, d'adsorption sur des particules organiques ou inorganiques et d'absorption par les organismes vivants (fèces et pseudoféces, Wang & Ficher, 1995, 1998b, 1999b).

Même si, en raison d'une origine multiple de la contamination en zinc, le calcul des flux globaux dans la retenue est difficile à établir de façon précise, il est possible de conclure que la majorité du zinc entrant est transférée vers le compartiment sédimentaire *via* des mécanismes d'adsorption, d'absorption, de précipitation et de décantation (EHC 221, 2001).

En milieu aquatique continental, les phases sédimentaires et particulaires présentent donc une forte affinité pour les métaux. Divers processus régissent la fixation du cuivre et du zinc sur les particules : réaction d'adsorption, précipitation avec différents composés... ainsi que la composition du sédiment qui peut varier considérablement d'un site à l'autre. La proportion des particules minérales (argiles, oxydes et hydroxydes de Fe et Mn, silice...) et des particules organiques influence notamment la circulation des métaux dans le milieu (Cf. analyse bibliographique). La spéciation des métaux dans les sédiments pourra donc apporter des éléments de réponse et confirmer ou non les hypothèses émises jusqu'à présent pour expliquer la répartition des métaux dans l'écosystème de la retenue.

Les points particuliers et suivant peuvent être soulignés :

- Il existe une corrélation très forte entre les flux de cuivre et de zinc, tous deux étant dépendant du flux de MES. Le transport vertical du zinc représente en moyenne de 83 % du zinc entrant.
- Les flux entrant de zinc sont plus difficiles à estimer en raison de sources multiples de contamination (notamment celles de Moselle amont). Le flux entrant de zinc est estimé à partir des mesures de juin et décembre 2001 à 17 941 kg Zn/an.
- La concentration en zinc dans les MD est corrélée à l'Albazod mais pas à la chlorophylle a. Le zinc semble se lier de façon moins spécifique que le cuivre aux particules.
- Le zinc est lié à des particules de plus grande masse, que celles liant le cuivre. Le zinc décante surtout au niveau de la zone d'injection.
- La zone littorale du lac est plus faiblement contaminée par le zinc que la zone centrale. Des apports terrigènes provenant du bassin versant et contenant du zinc augmente le taux de contamination du site, ce taux étant déjà élevé en raison d'un fond géochimique local.

I.5. Niveau de contamination en cuivre et en zinc dans les MES du circuit de refroidissement et dans des sédiments de la Moselle

Après avoir étudié la répartition des métaux dans l'eau en rivière Moselle et dans la retenue du Mirgenbach, ainsi que leur circulation dans les compartiments abiotiques de la retenue du Mirgenbach, le rôle des sédiments et des MES dans le piégeage des métaux a pu être mis en évidence. La retenue du Mirgenbach piège jusqu'à 70% du cuivre et presque la totalité du zinc entrant *via* les eaux de purge. Ces résultats suggèrent que l'impact de la contamination métallique sur la rivière Moselle sera moindre que dans le cas d'un rejet direct en rivière sans passage dans la retenue. Toutefois une hausse significative des concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute ayant été observée entre la station Mos1 et la station

Mos2, il convient de contrôler l'impact du rejet de la centrale sur le compartiment sédimentaire de la rivière Moselle. Le niveau de contamination des sédiments de la retenue du Mirgenbach ayant déjà été étudié dans le paragraphe précédent (cf. I.3), les résultats seront simplement rappelés dans ce paragraphe dans un récapitulatif afin de réaliser une comparaison interstations de l'état de contamination en cuivre et en zinc des sites « Moselle » par rapport au Mirgenbach.

I.5.1. Résultats

I.5.1.1. Etude de la contamination en cuivre et en zinc des sédiments en rivière Moselle

Les **Figures III-34** et **III-35** présentent une comparaison interstations des concentrations en cuivre et en zinc dans les sédiments entre les différentes stations de la Moselle.

La **Figure III-34** montre depuis novembre 2000 une nette amélioration des niveaux de contamination en cuivre dans les sédiments de Moselle. A partir de novembre 2001, la concentration en cuivre dans les sédiments est sensiblement identique entre la station Mos1 et la station Mos2 avec des valeurs respectivement comprises entre 43 - 64 mg Cu/kg de ms et 22 - 66 mg Cu/kg de ms. Il n'existe pas de différence significative (test de Mann-Whitney, $p<0.05$) entre la concentration moyenne en cuivre des sédiments de la station Mos1 et celles de la station Mos2. A la station Mos3, la concentration en cuivre des sédiments varie de 24 à 37 mg Cu/kg de ms, avec une moyenne de 33 +/- 8 mg Cu/kg de ms significativement inférieure à celle de la station Mos1 (test de Mann-Whitney, $p<0.05$).

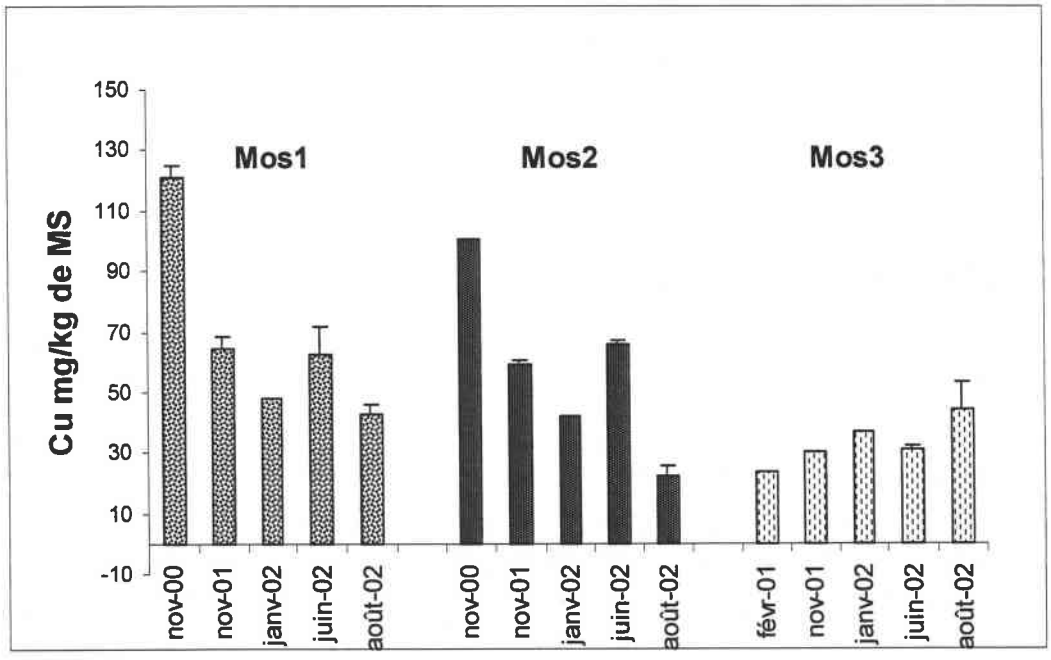


Figure III-34 : Comparaison interstations des teneurs en cuivre (mg Cu/kg de ms) des sédiments prélevés aux stations Mos1, Mos2 et Mos3.

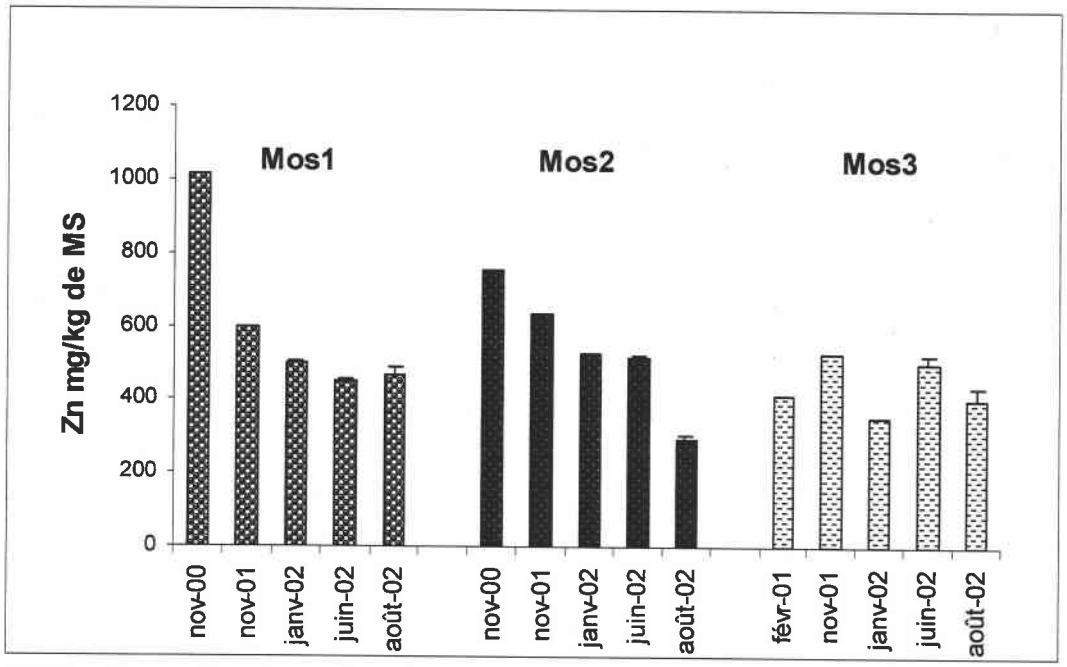


Figure III-35 : Comparaison interstations des teneurs en zinc (mg Zn/kg de ms) des sédiments prélevés aux stations Mos1, Mos2 et Mos3.

Concernant le zinc aucune différence significative des teneurs moyennes dans les sédiments n'est observée entre les stations Mos1, Mos2 et Mos3 (test de Mann-Whitney, $p<0.05$) avec respectivement en station Mos1 : 606 +/- 234, en Mos2 : 545 +/- 169 et en Mos3 : 438 +/- 73 mg Zn/kg de ms. Une amélioration de la qualité des sédiments vis-à-vis de la contamination en zinc est observée au niveau des stations Mos1 et Mos2 entre 2000 et 2001, puis 2001-2002.

I.5.1.2. Etude de la contamination en Cu et Zn des MES dans le circuit de refroidissement (C1 et C2)

La **Figure III-36** présente les concentrations en cuivre et en zinc (mg/kg de ms) dans les MES prélevées dans le circuit de refroidissement (Stations C1 et C2) en fonction de la période d'échantillonnage.

L'augmentation des concentrations en cuivre et en zinc est significative (Test de Mann-Whitney, $p<0.05$) entre la station C1 et la station C2. Pour chaque période de prélèvement, respectivement, juillet 2001, janvier 2002 et octobre 2002, les teneurs en cuivre sont multipliées par 13, 16 et 10 entre C1 et C2 et les teneurs en zinc par 2.8, 2.2 et 2.2.

La **Figure III-36** révèle une certaine homogénéité des concentrations en cuivre et en zinc dans les MES de la station C1 en été et en automne. Par contre en janvier ces concentrations, bien que du même ordre de grandeur, sont pour le cuivre respectivement 3 et 2 fois moins élevées et pour le zinc 1.3 et 1.5 fois moins élevées qu'en été et en automne.

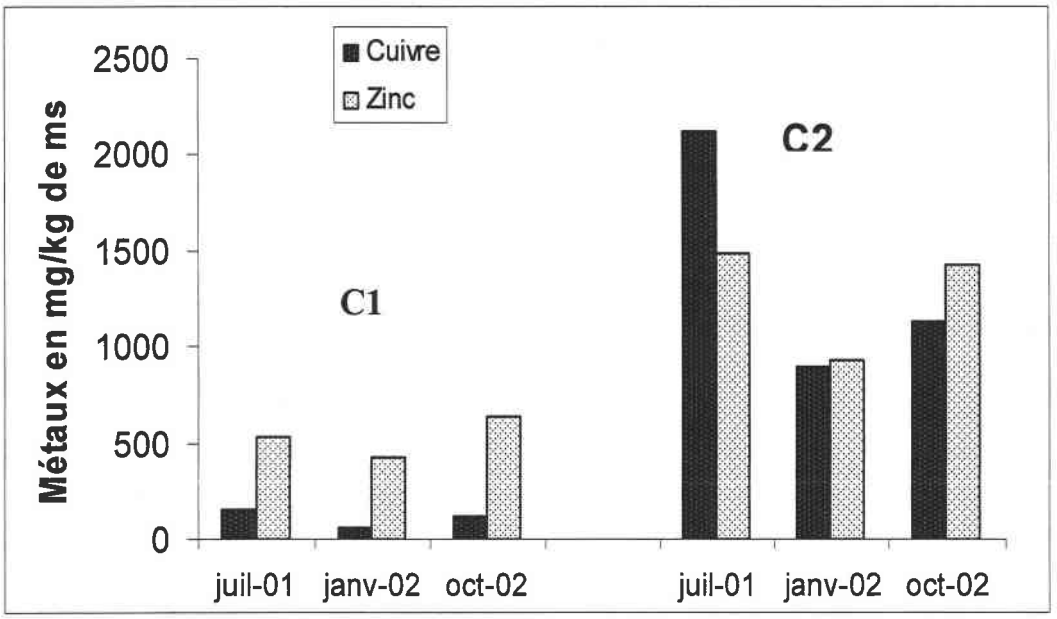


Figure III-36 : Comparaison des teneurs en cuivre et en zinc (mg/kg de ms) des MES du circuit de refroidissement en fonction de la station (C1 et C2) et de la période de prélèvement.

Au niveau de la station C2, les concentrations respectives en cuivre et en zinc sont maximales en été (2 122 mg Cu/kg de ms et 1491 mg Zn/kg de ms), moyennes en automne (1135mg Cu/kg de ms et 1425 mg Zn/kg de ms) et minimales en hiver (900 mg Cu/kg de ms et 933 mg Zn/kg de ms).

I.5.1.3. Synthèse des résultats relatifs aux teneurs en cuivre et zinc des sédiments et MES sur toutes les stations d'étude

La **Figure III-37** présente le résultat de l'analyse en composante principale (ACP) réalisée à partir des concentrations en cuivre et en zinc en mg/kg de ms dans les sédiments en fonction de la station et de la date de prélèvement.

Les axes F1 et F2 expliquent 100% de la variance puisque cette analyse est réalisée à deux dimensions seulement.

Selon cette figure, les sédiments des stations « Moselle » et des stations littorales (Mir L) de la retenue du Mirgenbach présentent des niveaux de contamination en zinc très proches, puisque si on se réfère à la direction du vecteur illustrant la contamination en zinc (cf. encadré de la **Figure III-37**), les stations Mir L et Mos sont situées sur la même droite perpendiculaire à ce vecteur. Alors que les niveaux de contaminations en cuivre sont supérieurs dans les sédiments des stations Mir L.

Ces tendances sont confirmées par l'existence d'une différence significative (test t, $p<0.05$) entre les teneurs moyennes en cuivre des sédiments des stations Mir L et Moselle et une différence non significative des teneurs en zinc (test t, $p<0.05$).

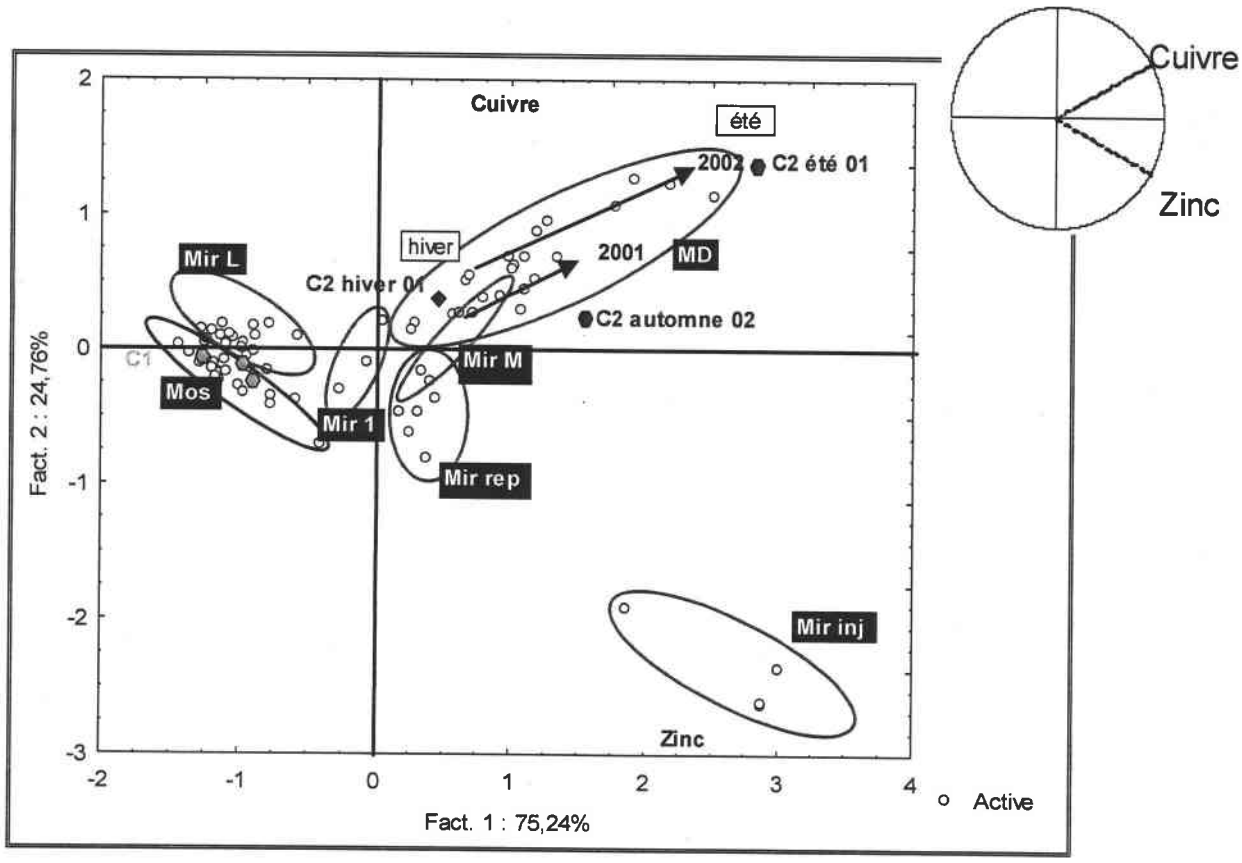


Figure III-37 : Analyse en composante principale réalisée à partir des concentrations en cuivre et en zinc en mg/kg de ms dans les sédiments en fonction de la station et de la date de prélèvement.

Il apparaît clairement que les sédiments fortement contaminés en cuivre (MD) et les sédiments fortement contaminés en zinc (Mir inj) sont bien distincts. Entre ces deux groupes, des stations intermédiaires semblent présenter des teneurs en cuivre et en zinc équivalentes dans les sédiments. Enfin, les stations Mos et Mir L dont les teneurs en zinc et en cuivre sont faibles par rapport aux autres stations sont regroupées.

Un gradient significatif de concentration en zinc (ANOVA à un facteur, $p<0.05$) dans les sédiments est observable avec dans l'ordre croissant le classement suivant : Mos=C1=Mir L < Mir 1< Mir M=MD ≤ Mir rep < Mir inj.

Un gradient de concentration en cuivre est également visible sur la **Figure III-37** et il est significatif (ANOVA à 1 facteur, $p<0.05$) avec l'ordre croissant suivant : Mos=C1 < Mir L < Mir 1= Mir rep < Mir inj < Mir M < MD.

Dans les MD récoltées dans le sédimentomètre posé à la station Mir M et dans le circuit de refroidissement (C2), un effet saison peut être observé et il est identique pour la station C2 et la station Mir M. Les concentrations en cuivre sont plus élevées dans les échantillons estivaux que dans les échantillons hivernaux.

Les concentrations en cuivre et en zinc des sédiments de la station C2 sont significativement différentes de celles de la station Mir inj (test t, $p<0.05$). Cependant alors que les teneurs en cuivre sont divisées par deux dans les sédiments entre C2 et Mir inj, les teneurs en zinc sont multipliées par deux.

Par contre entre la station Mir M et la station C2, aucune différence significative ($p<0.05$) de concentration en cuivre ou en zinc n'est observée.

1.5.2. Discussion et conclusion partielle

D'après nos résultats, aucun impact des rejets de cuivre et de zinc n'est visible en ce qui concerne les compartiments sédimentaires des stations Mos2 et Mos3 ($p<0.05$). Cependant il est important de signaler le problème de la dynamique des flux d'eau au niveau de la station Mos2 (cf. partie II, Figure I-5A et B). En effet, les sédiments sont prélevés au niveau de la rive et non dans le rejet général de la centrale, soit un niveau de contamination qui est le résultat de l'aspiration, du flux d'eau du rejet, par la centrale hydroélectrique se trouvant sur la rive opposée et par le barrage en aval proche, ainsi que du fort débit d'eau qui perturbe la sédimentation des particules.

Dans le chapitre I.3.2 était soulevé le problème de la contamination en zinc des sédiments de la zone littorale de la retenue du Mirgenbach dont l'origine était incertaine. Au vu des résultats, nous pouvons constater que la contamination en zinc des sédiments des stations Mir L est identique à celle des stations Moselle et qu'elle a la même origine (activité sidérurgique de la Vallée et apport terrigène du bassin versant). Par conséquent le zinc provenant de la corrosion des tubes en laiton des condenseurs du CRF de la centrale ne s'est pas ou peu ajouté au zinc des sédiments des stations Mir L, ce qui signifie que ce zinc n'a pas, ou peu, atteint cette zone du lac.

Les gradients de répartition du cuivre et du zinc sont différents comme nous l'avons vu au chapitre I.2.

Les résultats ci-dessus ont également montré que les concentrations en cuivre et en zinc dans les sédiments des stations C2 et Mir M ne sont pas différentes. Cependant dans l'eau brute, les concentrations en cuivre et en zinc sont respectivement divisées par 5 et par 3 entre C2 et Mir M ; ce qui signifie que les mécanismes (adsorption, absorption, précipitation ou décantation) qui interviennent dans le piégeage et la sédimentation du cuivre et du zinc au niveau de la station Mir M sont plus importants que ceux susceptibles d'avoir lieu en milieu totalement artificiel (C2).

Dans la retenue du Mirgenbach, l'augmentation de la population phytoplanctonique a pu être corrélée à l'augmentation de la concentration en cuivre dans les MD, malgré une diminution des concentrations métallique dans l'eau brute. Ce compartiment biotique est de fait, très efficace dans la capture des métaux présents dans la colonne d'eau. Dans le cas du zinc c'est l'augmentation de l'ALBAZOD qui influence la concentration en zinc dans les MD. Cependant bien que ces facteurs biotiques augmentent la concentration en cuivre et en zinc

des sédiments, ce ne sont pas les seuls intervenant au piégeage des métaux dans les sédiments du lac. D'ailleurs la charge en MES du milieu a également pu être été reliée à l'augmentation des flux de cuivre et de zinc vers les sédiments.

A la station C2, le taux de cuivre (surtout) et de zinc des MES est plus important en juin-juillet qu'en décembre-janvier et ce, malgré des concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute équivalentes ($p<0.05$) en juin et décembre 2001. Ces variations pourraient, comme dans la retenue du Mirgenbach, être le fait de l'augmentation de la production phytoplanctonique en Moselle, d'autant plus que dans le chapitre I.4.1.2, il a été montré que c'était principalement la teneur en cuivre des MES de la station C2 qui augmentait en été, alors que la teneur en zinc reste équivalente à celle observée en automne. En hiver, les concentrations en cuivre sont 1.3 et 2.4 deux fois moins élevées qu'en été et en automne et celles en zinc le sont 1.5 fois.

Dans le circuit de refroidissement, seule l'étude de la spéciation des métaux dans les MES pourra fournir des informations sur les mécanismes responsables de la capture du cuivre.

Nous avions mis en évidence dans le chapitre I.2.2. une sédimentation abondante du zinc au niveau de la station Mir inj et ceci avait été relié, contrairement au cuivre, à sa répartition préférentielle dans la phase particulaire de l'eau brute. Cependant l'augmentation brutale, d'un facteur 2, de la concentration en zinc dans les sédiments de la station Mir inj, c'est à dire dès l'entrée dans le lac, par rapport à celle de la station C2, pourrait également laisser supposer une modification des caractéristiques physico-chimiques du milieu. En effet, il est probable qu'en plus d'une différence de pression, température, les conditions d'oxygénation et de pH soient différentes entre le milieu fermé que constitue le circuit de refroidissement et le milieu ouvert des aéroréfrigérants et de la retenue du Mirgenbach.

Les points suivant résument les faits établis :

- Il existe une variation saisonnière des concentrations en cuivre dans les sédiments et les MD, avec des valeurs maximales en période estivale
- Les sédiments des stations Moselle ne sont pas affectés par les rejets en métaux de la centrale.
- Le gradient croissant de contamination en zinc dans les sédiments et les MD est le suivant Mos=C1=Mir L < Mir 1< Mir M=MD ≤ Mir rep < Mir inj.
- Le gradient croissant de contamination en cuivre dans les sédiments et les MD est le suivant Mos=C1 < Mir L < Mir 1= Mir rep < Mir inj < Mir M < MD
- Les teneurs en cuivre sont divisées par deux dans les sédiments entre C2 et Mir inj. les teneurs en zinc sont multipliées par deux.
- Les mécanismes qui interviennent dans le piégeage et la sédimentation du cuivre et du zinc au niveau de la station Mir M sont plus importants que ceux susceptibles d'avoir lieu en milieu totalement artificiel (C2).
- La zone littorale de la retenue présente un niveau de contamination en zinc dans les sédiments équivalent à celui de la rivière Moselle (origine commune : activité sidérurgique + apport terrigène du bassin versant de la retenue).

Chapitre II. Spéciation du cuivre en écosystème lacustre et modification de la spéciation de la prise d'eau au rejet (circuit de refroidissement tertiaire)

Il est un fait établi, que les métaux introduits dans un écosystème interagissent avec le milieu et cela en fonction de ses caractéristiques physico-chimiques (pH, MES, conductivité, ions présents…). La spéciation du cuivre et du zinc peut donc être modifiée le long du circuit de l'eau servant au refroidissement de la centrale, notamment dans le circuit des aéroréfrigérants et dans la retenue du Mirgenbach qui présentent des caractéristiques physico-chimiques bien différentes de celles de la rivière Moselle. Par exemple, dans la retenue du Mirgenbach, des modifications de la répartition des métaux ont été démontrées dans le chapitre I.3, sous l'influence de facteurs abiotiques et de facteurs biotiques *via* des processus d'adsorption et d'absorption (bactéries, plancton, organismes), ce qui suppose des modifications de la spéciation des métaux.

Les facteurs contrôlant la distribution des métaux sont complexes. En plus de la nature du rejet, un ensemble de processus chimiques et physiques régulent l'adsorption sur des particules telles que les argiles, les oxydes et les matières organiques. Le taux de métal dans une eau naturelle est contrôlé par la sélectivité des liaisons établies par le métal avec d'autres composés et par la dynamique des particules elles-mêmes. L'ensemble détermine la spéciation du cuivre et du zinc dans les sédiments.

Pour estimer l'impact des métaux sur les organismes, il est nécessaire de connaître la concentration en métaux biodisponibles ; celle ci dépend de la spéciation du métal dans le milieu et notamment dans les sédiment qui, comme nous l'avons démontré, représente le compartiment principal de piégeage et stockage des métaux. Par ailleurs, l'étude de la spéciation des métaux dans ce compartiment fournit également des informations quant à la potentialité d'une remobilisation du stock métallique qu'il referme.

II.1. Résultats

II.1.1. Caractéristiques granulométriques et physico-chimiques des sédiments étudiés

II.1.1.1. Caractéristiques granulométriques

La **Figure III-38** présente la composition granulométrique (en %) des différents échantillons de sédiments analysés.

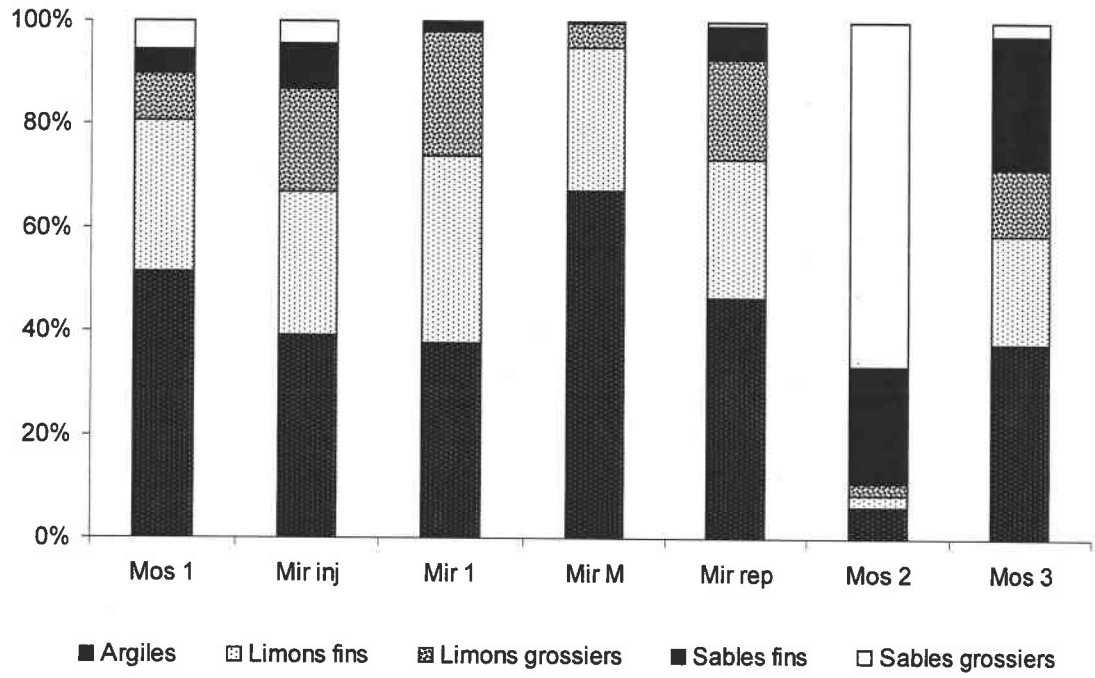


Figure III-38 : Composition granulométrique des différents échantillons de sédiments analysés.
Argiles (0 – 2 µm), limons fins (2 – 20 µm), limons grossiers (20 – 50 µm), sables fins (50 -200 µm), sables grossiers (200 – 2000µm).

Dans les échantillons analysés, les particules fines d'argiles et limons prédominent au niveau des stations Mirgenbach, Mos1 et Mos3. Le couple argiles – limons représente entre 72 et 100 % de la composition totale des sédiments dans tous les prélèvements (**Figure III-38**). En contrepartie, les sables ne constituent respectivement pour Mos1, Mir inj, Mir 1, Mir rep et Mos3 que 10, 13, 2, 7 et 28 % des sédiments et sont absents des sédiments de la station Mir M.

La station Mos2 présente des caractéristiques granulométriques particulières avec une faible fraction de particules fines (argiles, limons fins et grossiers) de 11%. Pour les stations Mos2 et Mos3, le pourcentage de sable atteint respectivement 89 et 28 %. La composition granulométrique des sédiments est fortement dépendante de la vitesse d'écoulement de l'eau et des courants. Ainsi au niveau de la station Mos2, l'arrivée du rejet de la centrale en rivière Moselle (5.4 m^3/s) génère des conditions s'opposant à la décantation des particules plus fines, d'ou une proportion plus importante de sable grossier. Concernant la station Mos3 qui est un bras mort de la rivière Moselle, le ralentissement des masses d'eau permet une sédimentation presque totale des particules en suspension dans la colonne d'eau, d'où une répartition plus équilibrée des différentes classes granulométriques (**Figure III-38**).

Dans la retenue, la part d'argile reste relativement stable et varie entre 39 et 47 %, sauf au niveau de la station Mir M où elle constitue 67% des sédiments. La proportion des argiles dans les sédiments est sans doute la conséquence de la courantologie et de la configuration

spatiale propre à chaque station. La station Mir M, située à mi-distance entre les zones d'injection et de reprise, ne subit pas les perturbations générées par les débits d'entrée et de sortie d'eau (5m3/s), d'où une sédimentation plus conséquente des particules fines. La hauteur de la colonne d'eau, maximale dans cette zone (15 m), joue un rôle supplémentaire.

Les caractéristiques granulométriques des stations Mos1 et Mir inj sont proches ; seule est à noter une part plus importante de limons grossiers et sables fins et moins élevée d'argile pour la station Mir inj.

A mesure que la distance s'accroît par rapport à Mir inj, vers Mir 1 et Mir M, les fractions de sables grossiers, de sables fins et de limons grossiers diminuent, ce qui correspond à un gradient de décantation. Cependant, au niveau de Mir rep, ce phénomène n'est plus observé. En effet les caractéristiques granulométriques de cette zone sont équivalentes à celles de la station Mir inj, la fraction de sables grossiers en moins. Mir rep, dont la profondeur est de 10 m, est une station intermédiaire entre la zone centrale du lac et la zone littorale. De plus, cette station est située du côté du lac qui subit la plus forte abrasion par effet de batillage, d'où un apport de matières d'origine terrestre. A cela peut s'ajouter l'érosion du sol au fond du lac en raison de l'aspiration d'eau par l'ouvrage de reprise. En effet, au niveau de cette station, la couche sédimentaire est fine par rapport aux stations centrales du lac et la couche argileuse qui constitue le substratum géologique est souvent prélevée dans la benne à sédiments.

II.1.1.2. Caractérisation chimique des sédiments

Les paramètres chimiques analysés, choisis pour leur pertinence dans la problématique de spéciation des métaux, sont synthétisés dans le **Tableau III-22**.

Une analyse multivariée (ACP) basée sur la chimie des sédiments est utilisée pour tenter de regrouper les stations en fonction de leurs caractéristiques et les résultats sont présentés en **Figure III-39**. Les variables redondantes sont éliminées pour simplifier l'approche et la lecture de l'ACP sans en modifier le résultat, les paramètres intégrés sont la capacité d'échange cationique (CEC), le taux de matière organique (MO), le taux de carbonates ($CaCO_3$), le rapport carbone-azote (C/N), la concentration en oxydes de fer mal cristallisés (Fe_O) et le rapport Fe_d/Fe_O. Sachant que la capacité d'échange cationique est logiquement corrélée (r de Pearson, $p<0.05$) avec Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^+, Na^+ ($0.80<r<0.98$) et Mn^{2+} ($r=0.73$). Le cations dominant de la CEC est le Ca^{2+} (+ de 80% environ).

Le graphique correspondant au plan "1-2" (83% de la variance expliquée) permet de distinguer 2 ensembles distincts (ou groupes) et une station plus isolée Mir 1. Le premier ensemble est constitué des points Mir inj, Mos1, C2, C1, MD, Mir rep et Mir M, alors que le second regroupe Mos2 et Mos3.

Tableau III-22 : Caractéristiques chimiques des sédiments en fonction des stations de prélèvement.

	(g/Kg)			(cmol+/Kg)									Tamm	Mehra-Jackson	
Station	**CaCO3**	**MO**	**C/N**	**CEC**	**Ca**	**Mg**	**K**	**Na**	**Al**	**Mn**	**H**	**Σ**	**Feo**	**Fed**	Fed/FeO
Mos1	110	57.0	9.68	20.9	22.05	1.81	0.60	1.03	0.03	0.051	<0,05	25.57	1.352	1.655	1.224
C1	70	61.9	10.14	25.4	23.88	2.28	0.62	1.29	<0,02	0.454	<0,05	28.52	1.004	1.558	1.552
C2	98	56.9	10.95	25.8	23.13	2.40	0.46	2.02	<0,02	0.230	<0,05	28.24	0.925	1.340	1.449
Mir inj	117	70.1	9.35	29.6	26.89	2.67	0.57	1.64	<0,02	0.337	<0,05	32.11	1.587	1.864	1.175
Mir 1	137	72.7	16.06	17.1	21.18	1.70	0.24	1.15	0.03	0.031	<0,05	24.33	1.329	1.820	1.369
Mir M	**39**	**51.0**	**8.70**	**38.2**	**35.33**	**4.03**	**0.91**	**2.42**	**0.02**	**0.244**	**<0,05**	**42.95**	**1.208**	**1.993**	1.650
MD	**42**	**55.7**	**9.39**	**33.7**	**34.01**	**2.85**	**0.70**	**1.82**	**<0,02**	**0.560**	**<0,05**	**39.94**	**0.968**	**1.876**	1.938
Mir rep	**78**	**46.7**	**9.23**	**30.6**	**31.44**	**3.28**	**0.80**	**3.07**	**<0,02**	**0.211**	**<0,05**	**38.80**	**1.164**	**1.645**	1.413
Mos2	126	19.4	12.38	6.9	9.86	0.51	0.20	0.29	0.03	0.008	<0,05	10.90	1.635	1.466	0.897
Mos3	96	29.6	13.04	10.7	12.34	0.79	0.27	0.33	0.04	0.011	<0,05	13.78	1.553	1.680	1.082

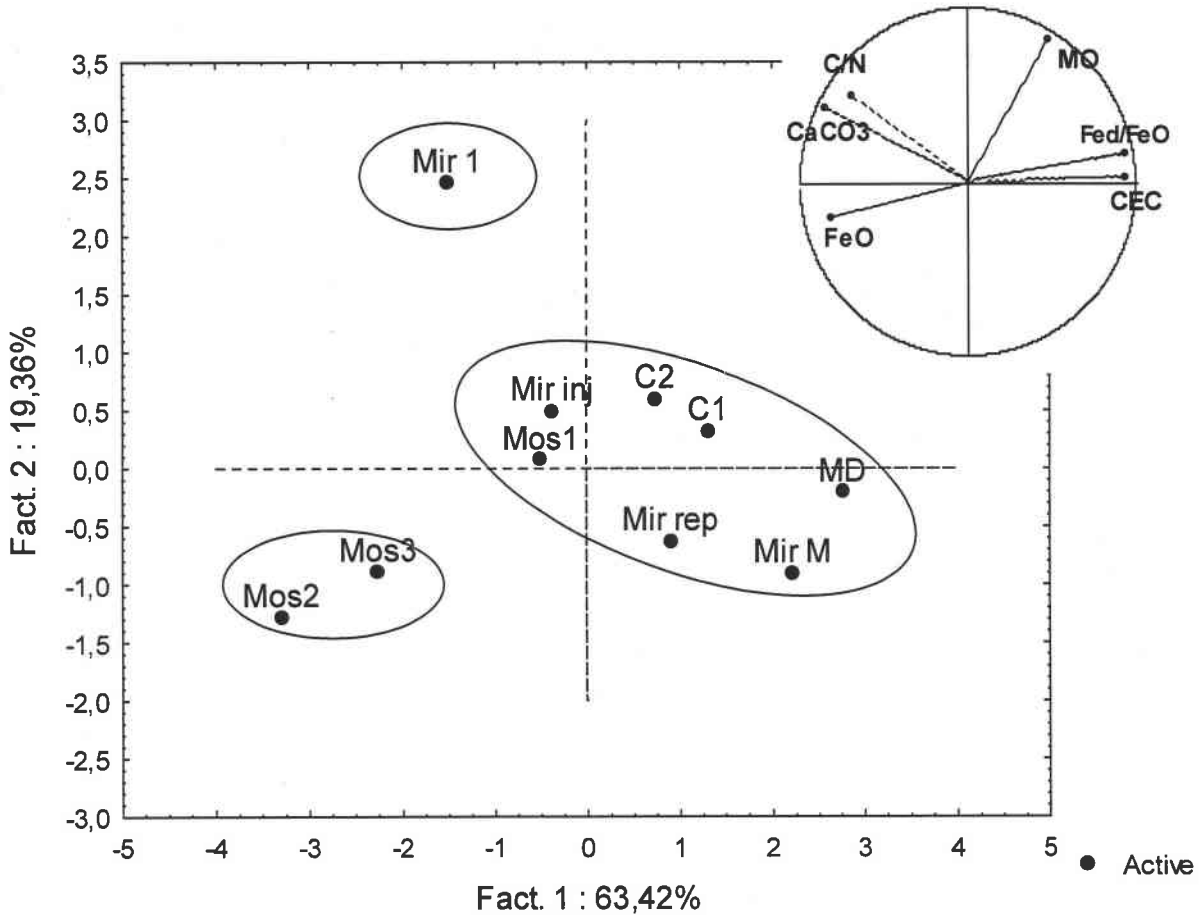


Figure III-39 : Analyse en composante principale réalisée à partir des paramètres chimiques des échantillons de sédiments et de matières décantées en fonction de la station de prélèvement (Mos1, Mos2, Mos3, Mir inj, Mir 1, Mir M et Mir rep pour les sédiments et C1, C2, Mir M pour les MD). Le plan factoriel "1-2" résume 83 % de la variance.

Groupe 1 : Les points MD et Mir M correspondent respectivement à des matières décantées et des sédiments profonds prélevés sur la même station, Mir M. Les caractéristiques de ces deux échantillons sont, de fait, similaires. Les sédiments de la station Mir rep sont également de composition chimique proche en dehors d'un taux de carbonates deux fois supérieur à ceux de Mir M et des MD. Ces 3 points correspondent à des stations éloignées de la zone d'injection, situées dans la partie orientale de la retenue et s'individualisent par une CEC maximale, un taux de MO moyen, ainsi qu'une concentration en carbonates minimale pour MD, Mir M et intermédiaire pour Mir rep. Les échantillons Mir M et MD renferment des concentrations en Fe_d ou oxydes de fer bien et mal cristallisés (oxyde + Fe complexé à la MO) très élevées avec respectivement 1.993 et 1.876 cmol/kg. Cependant, contrairement à l'échantillon Mir rep, ces Fe_d contiennent plus de 40% d'oxydes de fer bien cristallisés, alors que les sédiments de la station Mir rep n'en contiennent que 29%. Au niveau des stations C1 et C2, des proportions d'oxydes de fer bien cristallisés supérieures à 40% sont également observées.

En fait, les stations sont positionnées sur le plan dans l'ordre MD, Mir M, Mir rep, C1, C2, Mos1, Mir inj, ce qui correspond à un gradient croissant en carbonates et à un gradient décroissant de Fe_d/Fe_o.

La diminution du taux de carbonates dans les sédiments de la station C1 par rapport à Mos1 peut s'expliquer par l'injection d'acides (HCl) par l'exploitant pour lutter contre l'entartrage du CRF. Lors de cette «vaccination», le carbonate de calcium se dissocie en ions solubles Ca^{2+} et CO_3^{2-}. A cela s'ajoutent les réactions de précipitation des carbonates dans les bassins chaud et froid du circuit de refroidissement de la centrale qui contribuent à faire diminuer la teneur en $CaCO_3$. Ceci est appuyé par l'existence d'un gradient croissant de Ca^{2+} entre Mos1 et Mir inj du fait de la concentration des sels dissous au niveau des aéroréfrigérants. La concentration en carbonate est très faible dans les sédiments des stations orientales de la retenue, par conséquent les carbonates ne précipitent pas dans cette zone.

Ce groupe de stations s'individualise par rapport aux stations Moselle et à la station Mir 1 par une CEC élevée (comprise entre 20.9 et 38.2 $cmol^+/kg$) et un rapport C/N plus faible (compris entre 9.23 et 10.95). L'augmentation de la CEC dans le lac peut être en partie expliquée par le phénomène de concentration des éléments constitutifs de l'eau brute par évaporation dans les aéroréfrigérants.

L'augmentation du rapport Fe_d/Fe_o montre que la fraction d'oxydes de fer bien cristallisés augmente aux stations Mir M, C1 et C2 et dans les MD. Aux stations Mos1 et Mir inj, la fraction d'oxydes de fer bien cristallisés est inférieure à 20%.

Groupe 2: Les stations Mos2 rive et Mos3 sont les stations "aval du rejet général" en Moselle et "aval éloigné du rejet". Ces stations se caractérisent par une CEC et une charge en MO faibles et minimales par rapport aux autres stations, une concentration élevée en carbonates avec respectivement 126 et 96 g/kg et des taux de FeO parmi les plus élevés (1.63 et 1.55 g/100g), proches de ceux de la station Mir inj (1.59 g/100g) (**Tableau III-22**). Ces deux stations sont de faibles profondeurs (inférieure à 3m) et présentent une végétation abondante d'hydrophytes et des roselières en rives. Le fer des stations Mos2 et Mos3 est constitué d'oxydes de fer mal cristallisés puisque le rapport Fed/Feo est proche de 1 avec des valeurs respectives de 0.90 et 1.08. La même tendance est observée au niveau des stations Mir inj et Mos1.

La station Mir 1 : Les stations occidentales de la retenue, bien que de composition en $CaCO_3$ (117 et 137 k/kg) et MO (70 et 72 g/kg) singulières et similaires par rapport aux autres points du Mirgenbach, divergent entre elles de part leur CEC (deux fois moins importante pour Mir 1 (17 $cmol^+/kg$) que pour Mir inj (30 $cmol^+/kg$)). La station Mir 1 s'individualise par rapport aux autres stations de la retenue par les taux de Mn, Mg, Na plus proches de ceux de la station Mos1 et un rapport C/N plus proches de ceux de la station Mos3. La station Mir 1 par rapport aux autres stations est encaissée dans la corne nord-est de la retenue et de faible profondeur (5m). Elle se caractérise par une végétation d'hydrophytes abondante, la présence d'une typhaie de 2m en rive et de nombreuses souches submergées. Cette station reçoit également les eaux d'un ruisseau. Les matières organiques, bien qu'en proportions équivalentes dans les sédiments de Mir inj et Mir 1, n'ont sans doute pas la même origine.

II.1.2. Spéciation chimique du cuivre dans les sédiments : Résultats des procédures d'extractions séquentielles

La **Figure III-40** compare la somme des fractions extraites (fraction soluble à l'eau, échangeable, acido-soluble, oxydable, réductible) à la teneur en cuivre total des sédiments pour vérifier la cohérence des résultats. La somme des fractions extraites est bien en accord avec la teneur en cuivre total des sédiments.

Cette figure rappelle également les niveaux de contamination en cuivre des sédiments prélevés aux différentes stations d'étude et montre l'inégalité des concentrations en cuivre dans les matières décantées prélevées au niveau de la station C2 selon la date de collecte. Les teneurs en cuivre des MD de la station C2 sont pour les mois de juin, décembre 2001 et octobre 2002 respectivement de 2 122, 900 et 1 135 mg/kg de ms ; soit, pour une concentration en cuivre similaire dans l'eau brute (Chapitre I.1.13), une teneur en cuivre dans les MD divisée par 2.4 environ entre juin et décembre 2001.

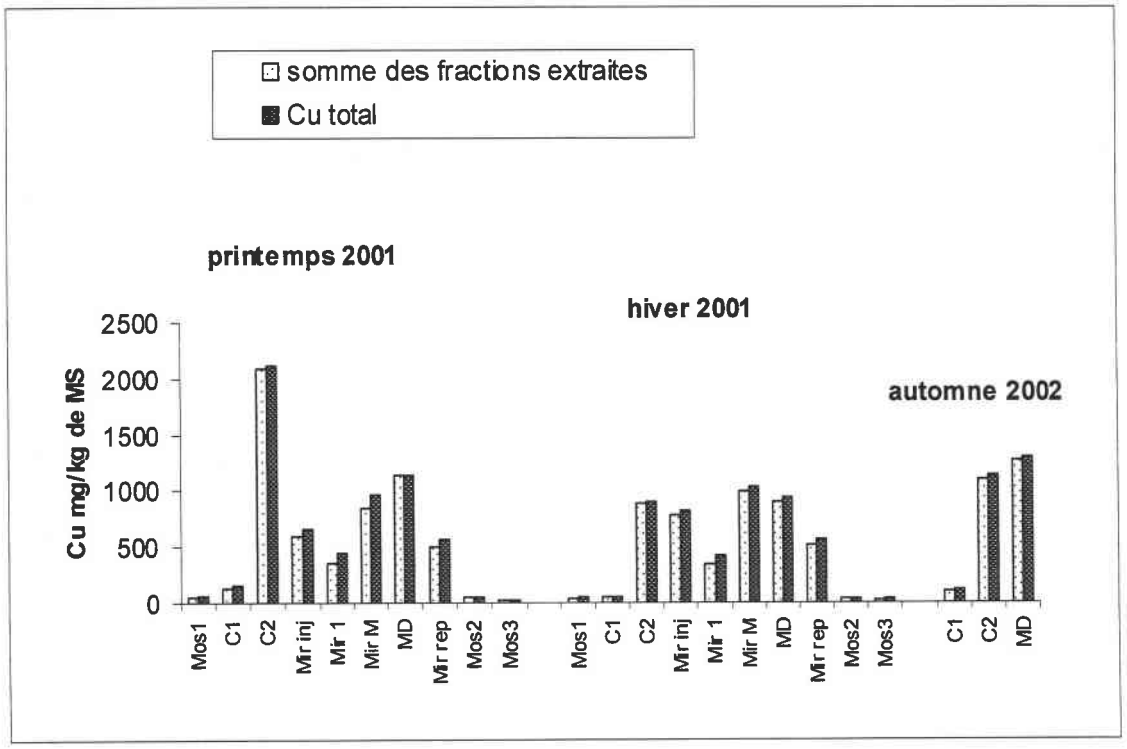


Figure III-40 : Comparaison de la somme des fractions de cuivre extraites par la procédure d'extraction séquentielle et de la concentration en métal total des sédiments (Attaque triacide).

La quantité de métal extrait à chaque étape de le procédure d'extraction séquentielle (fraction soluble à l'eau, échangeable, acido-soluble, oxydable et réductible) appliquée aux sédiments ou matières décantées des stations Mos1, Mos2, Mos3 et C1 est présentée en **Figure III-41**, tandis que les résultats des stations C2, Mir inj, Mir 1, Mir M et Mir rep sont visualisés par la **Figure III-42**.

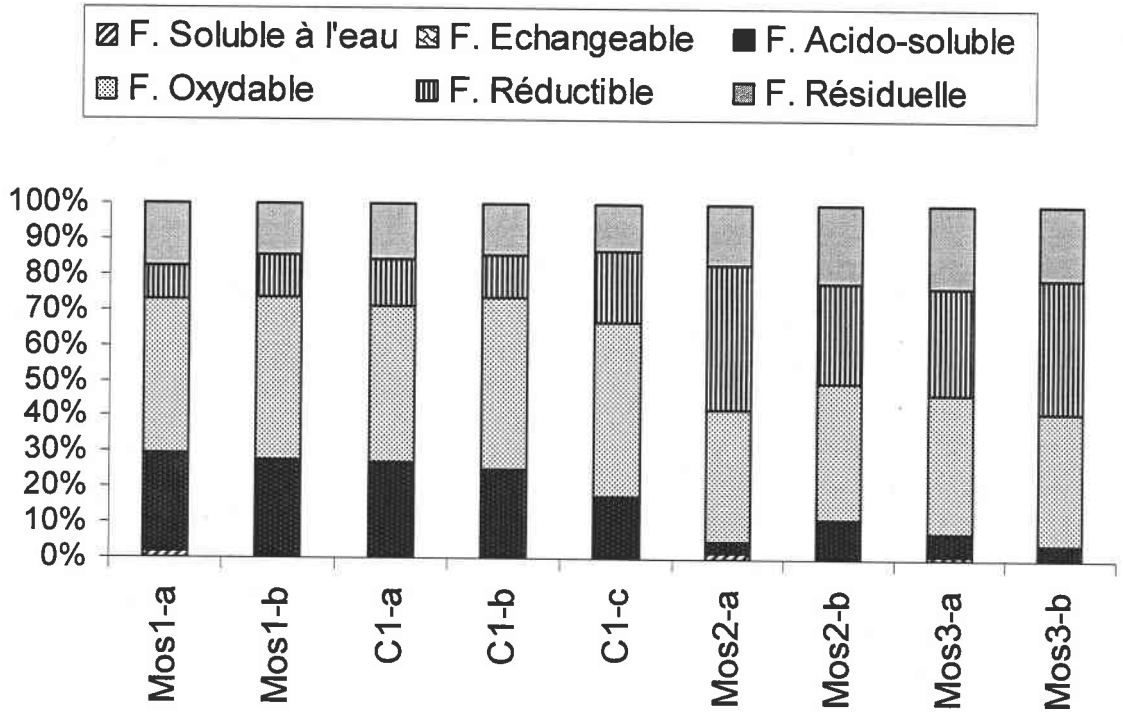


Figure III-41 : Spéciation chimique du cuivre dans les sédiments et matières décantées prélevées aux stations Mos1, C1, Mos2 et Mos3 au cours de 3 campagnes a (juillet 2001), b (janvier 2002), c (octobre 2002).

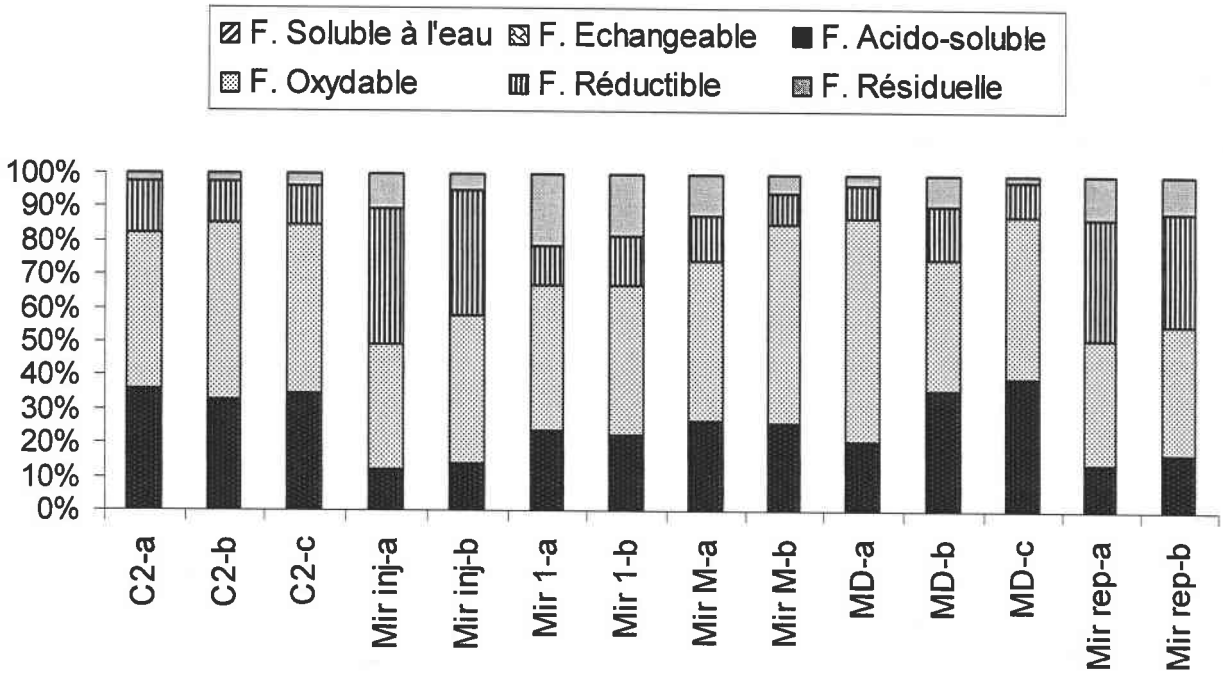


Figure III-42 : Spéciation chimique du cuivre dans les sédiments et matières décantées prélevées aux stations C2, Mir inj, Mir 1, Mir M et Mir rep au cours de 3 campagnes a (juillet 2001), b (janvier 2002), c (octobre 2002).

Les sédiments des stations Moselle et C1 se caractérisent en premier lieu par une fraction résiduelle supérieure à 15%. La station Mir 1, unique station de la retenue du Mirgenbach dont la fraction résiduelle est également supérieure à 15%, présentait déjà des caractéristiques chimiques plus proches de celles des stations Moselle.

La spéciation du cuivre dans les échantillons traités est dominée par trois fractions: oxydables, acido-soluble et réductible (**Figure III-41 et III-42**). Ces fractions sont présumées contenir respectivement, le cuivre lié à la matière organique (MO), aux carbonates et aux oxydes de fer et de manganèse.

Parmi les fractions extraites, la fraction oxydable est toujours dominante ou, codominante sauf pour trois échantillons. Cependant, au niveau des stations Mos1, C1, C2, Mir 1, Mir M et dans les MD cette fraction libère 43 à 66% du cuivre total, alors que dans les sédiments des stations Mir rep, Mos2 et Mos3 cette fraction ne renferme que 37 à 39% du cuivre total, la station Mir inj est intermédiaire avec 38 à 44% de cuivre lié à la MO.

La seconde fraction contenant du cuivre en quantité importante est, selon la station, soit la fraction liée aux carbonates (acido-soluble), soit la fraction liée aux oxydes de fer et manganèse (réductible). Dans les échantillons de sédiments prélevés aux stations Mir inj, Mir rep, Mos2 et Mos3, la spéciation du cuivre, bien que dominée par la fraction oxydable dans la plupart des cas, présente une relative co-dominance des fractions oxydable et réductible. La fraction réductible du cuivre dans ces échantillons représente 30 à 41% du cuivre total. Par contre, dans les sédiments des stations Mos 1, C1, C2, Mir 1, Mir M et dans les MD, la fraction oxydable (cuivre lié à la MO) est clairement majoritaire devant la fraction acido-soluble qui représente entre 24 et 39% du cuivre total, alors que la fraction réductible correspond à moins de 20% du cuivre total.

Pour tous les échantillons de sédiments étudiés, la fraction échangeable du cuivre est inférieure à 1% du cuivre total, de même que la fraction de cuivre soluble à l'eau.

Pour la plupart des stations, sauf pour les stations Mir inj, Mos 2 et surtout dans les MD, aucune différence de spéciation du cuivre n'est observée entre les campagnes a, b ou c même si les concentrations en cuivre total sont différentes. En effet, dans les matières décantées la variation saisonnière de la spéciation du cuivre est plus flagrante avec une fraction de cuivre lié à la matière organique qui varie de 66% en juillet 2001 à 39% en janvier 2002 et 48% en octobre 2002.

II.1.3. Résultats des analyses aux rayons X

Les minéraux et éléments liant le cuivre sont identifiées dans les échantillons de sédiments de fond et de matières décantées par microscopie électronique et analyse X. Le **Tableau III-23** récapitule les observations faites dans les sédiments en fonction de la station de prélèvement.

La colonne I permet de visualiser les minéraux et éléments identifiés dans la totalité des échantillons. Les cases colorées indiquent que les minéraux et éléments dont le nom figure en début de ligne ont été observés dans l'échantillon de la station correspondante. L'intensité de la couleur indique l'abondance du minéral ou de l'élément dans l'échantillon (gris clair pour indiquer la présence et gris foncé pour indiquer une forte abondance).

Pour chaque station la teneur en cuivre et en zinc des sédiments est variable, comme cela a été mis en évidence dans le chapitre précédent. Dans les échantillons de sédiments des stations faiblement contaminées, Mos1, C1, Mos2 et Mos3, le cuivre n'est pas détecté et le zinc n'est présent qu'en trace associé aux argiles et oxydes de fer de la station C1. Les sédiments des stations Mos1 et C1 contiennent des débris de phytoplancton, notamment des diatomées.

Dans le circuit de refroidissement en sortie des condenseurs (station C2) le cuivre est observé en grande quantité sous forme de sulfures de cuivre, lié à des sulfures de fer, des oxydes de fer, des argiles et des carbonates.

Ces oxydes de fer, argiles, sulfures de fer et carbonates sont déjà présents dans les sédiments des stations Mos1 et C1, mais sans présence de cuivre. Par contre, les sulfures de cuivre n'apparaissent dans les MD et les sédiments qu'à partir de la station C2. Parmi les sulfures, on observe des sulfures de cuivre (34% de Cu, 8% de Fe), des sulfures de Fe et Cu (29% Fe, 21% Cu), des sulfures de Fe liant du cuivre (32% Fe, 0.7% Cu) et toute une gamme d'associations intermédiaires. Le zinc n'est jamais détecté avec les sulfures.

Tous les sulfures et les oxydes associent du cuivre en proportion plus ou moins importante et la majorité des argiles également. Concernant les argiles, la présence de cuivre est toujours associée à la présence de calcium et dans les deux tiers des cas de soufre. Les argiles et les oxydes de fer lient également du zinc dans des proportions équivalentes ou légèrement supérieures à celles du cuivre (**Tableau III-23**).
Des carbonates sont observés sans association de cuivre ou seulement à l'état de traces. Quelques matières carbonées sont également observées, associées à une multitude d'éléments K, Ca, Mg, Si, Al, Cl, Cu, Zn, S, tous présents en faible proportion, entre 0.2 et 3%.

Tableau III-23 : Synthèse des résultats des analyses aux rayons X appliquées aux échantillons de sédiments des différentes stations d'étude et identification des composants des sédiments jouant un rôle dans le piégeage du cuivre.

	Mos1		SEN		Mir L		CRF		Mir inj		MD		Mir M		Mir Rep		Mos2		Mos3	
	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn
Carbonate					0,2 0,1		0,2 0,3 0,3	0 0,3 0,4			0,8 0,9				0,6					
Sulfure de Fe (Pyrite)							0,7 20,5 9,5 0,7				Mixtes 12,4 13,3	0,5 0,7	0,2	0,1		0,1				
Sulfure de Cu							34 25		Sur Argile 6,4 5,0 4,3											
Oxyde de Fe				0,2	0,2	0,2	0,3 0,8 0,3 0,4	0,2 1,4 0,3 1,5		0,3	0,3 0,4 0,5 0,6 0,6 5,0	0,1 0,3 0,7 0,4 1,2 0,2								
Argile				0,2			0,3 0,2 0,3 0,3 0,4 0,3 0,3 0,9 1,1	0,6 0,5 0,2 0,3 0,3 0,4 0,3 0,9	0,1 0,2 0,2 0,2 0,2	0 0,2 0,1 0 0	0,2	0,1	0,2 2 3,4		Trace	Trace				
Ceratium											0,2									
Diatomées																				
MO																				
Carbone																				
Phosphate de Fer																				
Calcite																				
Apatite																				
Magnésie											0,9 1									
Gypse																				
Sulfate																				
Phosphate													0,2							
Quartz															0,1	0				
Acier																				
Oxyde de Ti																				
Baryum																				

A la station Mir inj, certains composants sont identiques à ceux de la station C2, cependant une caractéristique de cette station est l'absence de sulfures de cuivre en tant qu'entités isolées. Les oxydes de fer et les argiles de la station Mir inj sont complexes ; on observe en effet chez les oxydes de fer la présence des éléments suivants : Si, Al > P, Ca, Mg, Ti, Mn, Zn et Cu tandis que chez les argiles (silicates d'alumine) dans 90% des cas : S, Fe et Cu sont également associés. Par contre des oxydes de Fe plus pur ne portent que des traces de Zn, de S et de Ca et les sulfures de fer purs ne lient ni cuivre, ni calcium.

Sur cette station, les échantillons de sédiment contiennent des carbonates mais non associés à du cuivre ou du zinc et également des débris de phytoplancton (diatomées sans présence de cuivre).

Dans les matières décantées de la station Mir M, les sulfures de cuivre et de fer ne sont pas observés comme composés à part entière et les oxydes de fer ne sont pas purs. Il s'agit principalement de composés mixtes d'oxydes de fer associés à des silicates d'alumine eux-mêmes liés soit à une multitude d'éléments tels que Mg, P, Ca, Mn, Cu, et parfois du zinc, soit associés aux même silicates d'alumines combinés avec des sulfures de fer et cuivre et du zinc.

Le cuivre est également lié à des composés mixtes d'oxydes de fer et sulfures dans lesquels les éléments O, S, Fe, Cu sont présents par exemple dans les proportions respectives suivantes 41%, 23%, 13%, 13% et ils sont associés à Si, Al, Ca et Zn (<1%).

Le cuivre est également associé aux carbonates dans des proportions plus importantes par rapport aux autres stations. Peu d'argiles comportent du cuivre et du zinc et ce, dans des proportions inférieures à 0.5%.
Dans les matières décantées le cuivre est également détecté sur les débris de phytoplancton (*Ceratium*).

Dans les sédiments profonds de la station Mir M, le cuivre est principalement associé à des argiles. Parmi la majorité de ces argiles (les trois quarts), il y a détection du soufre alors que le zinc est absent. Ces observations suggèrent que le cuivre est associé aux sulfures (comme au niveau des stations C2 et Mir inj) à la surface des argiles. Les oxydes de fer, sulfures de fer et phosphates de calcium entrent également dans la composition des sédiments. Par contre, le cuivre n'est pas lié aux oxydes de fer, et est, tout comme le zinc, détecté à l'état de traces avec les sulfures et les phosphates.

Dans les sédiments de la station reprise (Mir rep), les composants les plus abondants sont les argiles, puis les carbonates. Le cuivre est associé à des argiles (sans présence de soufre) et à des carbonates respectivement avec moins de 0.5% et moins de 1%. Des oxydes de fer et des sulfures de fer purs et sans cuivre sont également présents dans les sédiments.

Dans les sédiments de la station Mir L, le cuivre est détecté ponctuellement, lié aux carbonates et oxydes de fer.

II.2. Discussion

II.2.1. Relation entre la physico-chimie des sédiments et la spéciation du cuivre

Dans cette étude la phase oxydable est majoritaire et ceci est en accord avec la littérature puisque le cuivre est connu pour former des complexes forts avec la MO dans les matières en suspension (Ouddane *et al.*, 1992) et dans les sédiments (Zhou *et al.*, 1998, Scramel *et al.*, 2000; Dollar *et al.* 2001; Fan *et al.*, 2002b; Da Silva *et al.*, 2002). De

nombreux auteurs ont montré qu'une majorité du cuivre présent dans les eaux naturelles est complexée avec de la matière organique à raison de 80-96% (Donat *et al.*, 1994), 96-99% (Donat, 1995), 95-99,99% (Muller, 1996), 99-99,99% (Kozelka & Bruland, 1998 ; Achterberg *et al.*, 2002), 76-96% (Muller, 1998), 77% (Szarek-Gwiazda & Mazurkiewick-Boroń, 2002). Les résultats obtenus par Lu & Allen (2001) impliquent que les sites de liaison de la MO jouent le rôle le plus important dans la répartition du cuivre et ce, non seulement dans la phase aqueuse mais également dans la phase particulaire.

Cependant, dans un écosystème aquatique la matière organique est d'origine très diverses. Certains auteurs estiment que la sédimentation des détritus du plancton serait la voie la plus efficiente pour le transfert du cuivre vers les sédiments (Sigg, 1985). En plus d'être incorporé dans le matériel biologique, le cuivre pourrait également se lier à la surface des particules. En effet, Davis (1984) a démontré que le cuivre a une plus forte capacité d'adsorption sur les particules minérales lorsque celles-ci sont recouvertes de matière organique.

A partir d'association forte avec les ligands organiques, Regnier et Wollast (1993) ainsi que Gerringa *et al.* (1996) ont montré que le cuivre était principalement lié à de la matière organique d'origine fluviale et non terrestre. Moffet *et al.* (1990) ont précisé la nature de cette MO, en laboratoire, en révélant une relation entre les concentrations en chlorophylle a et en ligand fort pour le cuivre. L'importance des ligands produits par le plancton dans le contrôle du cuivre, comme montré dans le chap I.3.1, a souvent été relaté (Rijstenbil *et al.*, 1993; Gerringa *et al.*, 1996). Dans le cas étudié, cela est à mettre en relation avec l'augmentation de la fraction oxydable du cuivre constatée dans les MD de juillet 2002 (66%) et octobre 2001 (48%) par rapport à janvier 2002 (39%). La période allant de juillet à octobre 2001 coïncidant en effet avec une production primaire plus importante dans le lac (Vinot & Pihan, 2001; 2002).

Nous avons vu que la matière organique était le ligand préférentiel du cuivre dans les sédiments, toutefois lorsque la fraction oxydable n'est pas strictement dominante, elle est codominante avec la fraction réductible du cuivre. La fraction carbonatée quant à elle, n'atteint jamais des valeurs aussi élevées que celles de la fraction oxydable.

L'analyse bibliographique a permis de montrer qu'une grande partie du cuivre présent dans la colonne d'eau sous forme particulaire, tendait à se déposer, à précipiter ou à être adsorbé par de la MO, des oxydes de Fe ou Mn et des argiles dans les sédiments. Dans la retenue du Mirgenbach, le pH compris entre 8.2 et 9.3, favorise la précipitation du cuivre, principalement avec les oxydes de Fe (adsorption, coprécipitation). Les oxydes de Fe peuvent être en compétition avec les acides humiques pour lier les métaux ; par exemple à pH 9, le cuivre est déplacé des acides humiques vers les oxydes de Fe et cet effet augmente avec le pH (Förstner, 1987).

Une partie des métaux contenus dans la phase soluble de la colonne d'eau peut donc rejoindre le compartiment sédimentaire. Kraepiel *et al.*, 1997 ont isolé parmi la fraction colloïdale deux sous-fractions distinctes dont les comportements diffèrent : une fraction contenant des oxydes de fer qui peut intégrer la phase particulaire *via* des mécanismes de précipitation (en pouvant inclure du Mn) et une fraction contenant des macromolécules organiques qui restent en solution. Gundersen & Steinnes (2003) ont également mis en évidence la tendance du cuivre à l'adsorption sur des colloïdes d'oxydes et d'hydroxydes de fer.

Il pourrait également exister une compétition entre les différents cations des phases susceptibles de lier le cuivre dans les sédiments (pyrites, argiles, oxydes de fer et manganèse, matières organiques) et la cinétique des réactions pourrait jouer un rôle important dans la spéciation du cuivre en déterminant les associations définitives (Simpson *et al.*, 1998) .

La fraction réductible du cuivre dans les sédiments est corrélée à la concentration en oxydes de fer. Il semblerait que lorsque la concentration en oxydes de fer diminue dans les sédiments, ce soit à la faveur de la fraction carbonatée, ceci s'appuie sur l'existence d'une corrélation négative entre la quantité de cuivre lié à la fraction carbonatée et la concentration en oxydes de fer dans les sédiments. D'après la littérature, les espèces inorganiques du cuivre dans les eaux naturelles à pH basique et en absence de MO sont dominées par les hydroxydes et carbonates et la part de cuivre Cu^{2+} est moindre, comme cela a été observé au rejet en Moselle (Ciffroy & Charlatchka, 1998). De même, la modélisation de la spéciation du zinc en l'absence de MO au rejet (Mos2) et en aval du rejet de la centrale en Moselle (Mos3) a montré que le zinc était majoritairement sous la forme carbonatée (29 à 37%) et d'ions libres Zn^{2+} (31 à 49%) (Ciffroy & Charlatchka, 1998).

La fraction résiduelle du Cuivre est corrélée négativement à la concentration en cuivre total dans les sédiments. L'augmentation de la fraction résiduelle lorsque la concentration en cuivre total est faible a été noté par Li *et al.* (2001) et serait liée à une origine géologique et non anthropique du cuivre dans ces sédiments.

Da Silva *et al.* (2002) ont montré que la fraction résiduelle était équivalente à la fraction organique dans le cas d'une granulomètrie plus grossière (proportion de sable majoritaire), alors que dans le cas d'une dominance par les argiles et limons, ce sont toujours les fractions organiques puis réductibles et carbonatées du cuivre qui priment. Nos résultats confirment cette tendance puisque les stations présentant la granulomètrie la plus grossière, Mos2>Mos3 sont également celles qui présentent les fraction résiduelles les plus conséquentes. Dans le cas de la station Mos2 présentant une fraction de sable majoritaire, la fraction résiduelle atteint des valeurs proches de celles de la fraction organique.

Moins de 1% du cuivre total est associé dans les sédiments avec la phase échangeable, conformément aux observations de McKee (1990). L'extraction de la phase échangeable est présumé libérer les métaux adsorbés aux argiles, à la MO et autres minéraux présents (Tessier, 1979). La combinaison des résultats des extractions des phases échangeable et oxydable pourraient indiquer que le cuivre est principalement associé avec la MO dans les

sédiments, et que ce cuivre est un constituant de la MO contrairement au cuivre adsorbé ou lié à la surface des MO. Il en est de même dans le cas d'une codominance entre la phase oxydable et réductible ; le cuivre ne serait pas adsorbé à la surface des argiles mais intégré en tant que constituant, ce qui peut être réalisé par des mécanismes de substitution.

Une différence intercampagne de répartition du cuivre entre les différentes fractions est observée dans les sédiments des stations Mir inj, Mos 2 et dans les MD. Cette différence peut être expliquée par une grande hétérogénéité du dépôt de la couche sédimentaire qui se répartit essentiellement en fonction du courant généré par l'arrivée des eaux de purge de la centrale dans le lac et la sortie des eaux du lac vers la rivière Moselle. Dans les matières décantées la variation saisonnière de la spéciation du cuivre est plus nette avec une proportion de cuivre lié à la matière organique qui semble s'accroître avec le développement de la biomasse planctonique.

II.2.2. La spéciation du cuivre dans les particules sédimentaires

Le cuivre est principalement associé dans les sédiments à trois fractions: oxydable (MO), réductible (oxyde de Fe et Mn) et acido-soluble ($CaCO_3$) conformement aux observations de Usero *et al.* (1998), Mortimer & Rae (2000), Li *et al.* (2001). Ces résultats suggèrent que les principaux mécanismes d'accumulation du cuivre rejeté par la centrale dans les sédiments soient la complexation avec la MO, la précipitation et co-précipitation avec les oxydes de Fe et Mn et les carbonates.

Les résultats obtenus confirment l'association supposée du cuivre avec les oxydes de fer, les argiles et dans une moindre mesure avec les carbonates.

La technique employée pour la microananalyse des éléments et minéraux, bien que fournissant des résultats intéressants et complémentaires aux procédures d'extraction séquentielle classiques, présente des limites d'application. D'une part la fraction oxydable des métaux, mise en évidence par la procédure d'extraction séquentielle, n'est pas révélée par cette technique. D'autre part le cuivre n'apparaît pas dans les échantillons de concentration inférieure à 100 mg Cu/kg de ms.

Dans la procédure d'extraction séquentielle appliquée aux sédiments, l'extraction de la fraction de cuivre liée à la fraction oxydable était censée être spécifique à la matière organique, cependant étant donné l'abondante participation des sulfures dans la liaison du cuivre notamment dans les échantillons des stations C2, Mir inj et des MD et compte tenus de la faible fraction résiduelle observée dans les mêmes échantillons, il semblerait que le cuivre lié aux sulfures ait été vraisemblablement extrait dans une fraction et la plus probable est la fraction oxydable. D'autant plus que les sulfures, bien que stabilisés par la présence du cuivre, restent un complexe fragile et de petite taille face à un oxydant fort. Rappelons que, en général les sulfures formés en milieu anoxique s'oxydent très rapidement pour devenir des sulfates.

Les sulfures de fer, oxydes de fer, argiles et carbonates sont les constituants prédominants de tous les échantillons de sédiments étudiés. Par contre les sulfures de cuivre n'apparaissent dans les sédiments qu'à partir de la station C2 et disparaissent en tant que composé pur dès la station Mir inj. Ces composés sont donc produits à l'intérieur du circuit de refroidissement. La présence de sulfure de fer dans les sédiments des stations situées en amont de C2 et l'observation simultanée, dans les sédiments de la stations C2, de sulfures de fer, de sulfures de cuivre et de toute une gamme intermédiaire de sulfures mixtes de fer et cuivre contenant du cuivre et du fer en proportions variables, nous permet d'émettre l'hypothèse que les sulfures de cuivre résulteraient de la substitution du fer par du cuivre issu de la corrosion des tubes des échangeurs en laiton conformément aux observations de Casas & Crecelius 1994) et de Fernandes (1997). Casas & Crecelius (1994) rapportent également que la substitution du fer contenu dans les pyrites par du cuivre pour former un complexe insoluble MeS se produit rapidement (quelques minutes à quelques heures).

Les sulfures inorganiques et les thiols ne sont généralement pas considérés comme des ligands importants dans les systèmes aquatiques oxygénés en raison de l'instabilité des sulfures en présence de molécules d'oxygène (Millero *et al.*, 1987). L'existence de ces sulfures ou de leurs équivalents organiques, les thiols, stables en milieu oxygéné a cependant été rapportée dans une multitude d'écosystèmes marins et d'eau douce (Adams & Kramer, 1999 ; Tang *et al.*, 2000 ; Al-Farawati & Van den Berg, 2001) et leur présence est attribuée à une stabilisation par complexation avec du fer, du cuivre ou du zinc (Rozan *et al.*, 2000). Les sulfures sont des ligands doux et par conséquent, ils lient fortement les métaux de classe B tels que le Cu (I) et (II), mais ils lieraient également avec force les métaux intermédiaires tels que le Fe(II) et le Zn (II) (cf. analyse bibliographique). Toutefois, d'après nos observations seuls le cuivre et le fer se lieraient avec les atomes de soufre ; le cuivre établirait des liaisons plus fortes puisqu'en présence de cuivre, le fer est substitué.

Au niveau de la station C2, 100% des argiles observées présentent du cuivre lié dans des proportions inférieures à 1.2% et parmi elles, 80% sont également liées à du soufre alors que le cuivre et le soufre sont absents de la composition des argiles des stations amont. De même, dans les sédiments de la station Mir inj, toutes les argiles observées sont porteuses de cuivre (4 à 7% de Cu) et de soufre en des proportions équivalentes et beaucoup plus importantes que celles des argiles de la station C2. Ces argiles ressemblent, en fait, plus à des composés mixtes de silicates d'alumine, d'oxydes de fer (et/ou fer et cuivre) et de sulfures de cuivre (et/ou fer et cuivre). Parallèlement, les sulfures de cuivre ou de fer et cuivre n'existent plus en tant qu'entités isolées et seuls des sulfures de fer purs et sans cuivre sont visibles dans les échantillons de sédiments de la station Mir inj.

Du soufre et du cuivre sont également observés à la surface des phosphates de calcium et des grains de silice.

L'ensemble de ces observations nous fait supposer que dans les sédiments de la station Mir inj, les oxydes et les sulfures de cuivre ou de fer et cuivre se sont déposés certainement

via des mécanismes de précipitation, d'adsorption à la surface des argiles ou ont été intégrés aux argiles *via* des mécanismes de substitution ou de complexation.
Cette forte tendance des sulfures à s'adsorber sur différentes surfaces, dont les matières organiques naturelles et particulaires a déjà été rapportée (Voir Bianchini & Bowles, 2002a).

En ce qui concerne les oxydes de fer, ils existent en tant qu'entités isolées dans les sédiments de la station C2 et sont liés à des traces de silicates d'alumine, de cuivre (<0.9%), de zinc (<1.5%) et souvent de soufre. Dans les sédiments de la station Mir inj les oxydes de fer portant du soufre et du cuivre ne sont pas présents et seuls des oxydes de fer associés à une petite quantité de silicates d'alumine mais sans cuivre sont observés.

Par contre dans les MD de la station Mir M, les oxydes de fer sont très nombreux et apparaissent sous deux formes. Soit, il s'agit d'oxydes de fer associés à des silicates d'alumine, tous associés à du cuivre (12 à 14%) et du zinc et dans 50% des cas à du soufre ; soit ce sont des composés mixtes d'oxydes de fer et de sulfures de cuivre associés à des traces d'argiles. Par conséquent nous pouvons supposer que la spéciation du cuivre n'est pas modifiée, en fait ce sont les complexes Cu-ligands (souvent le S) qui se déplacent, comme c'est le cas, soit des sulfures de cuivre qui se fixent sur les argiles ou soit des oxydes de fer, ou des argiles portant du cuivre qui couvrent les oxydes de fer, soit enfin des oxydes de fer qui se lient avec les argiles et les sulfures.
Entre Mir inj et les MD de Mir M, la différence de répartition du cuivre peut également être liée à la taille des particules et au gradient de décantation.

Au niveau de Mir inj, les oxydes de fer, les sulfures de cuivre et les silicates d'alumine et un cortège d'ions (Ca, P, Cl, K, Mn, Mg) forment un complexe, alors qu'au niveau des MD, sont observés des oxydes de fer portant des traces d'argiles et de sulfures de cuivre, des composés mixtes d'oxydes de fer et sulfures de cuivre, et des argiles pures. Dans les sédiments de Mir M ne sont présents que des argiles pures sans cuivre ni soufre, des argiles avec des traces de sulfures de cuivre, des oxydes de fer purs sans cuivre, des sulfures de fer avec peu de cuivre, des phosphates de calcium avec et sans traces de sulfures de cuivre. Les différents constituants des complexes observés en Mir inj et dans les MD semblent s'être individualisés au cours du trajet entre C2 et Mir M. Il est possible que les sulfures très abondants dans les sédiments de Mir inj aient un rôle dans l'agglomération des composés, en raison de leur forte affinité pour l'oxygène, le cuivre et le fer. Il est également possible que dans le circuit de refroidissement qui est en grande partie un milieu fermé, des conditions réductrices et de forte variation de pH (vaccination acide) engendrent la dissociation de nombreuses molécules et que dès l'entrée dans la retenue du Mirgenbach, l'augmentation du pH favorise la précipitation rapide des composés, d'où des agglomérats mixtes.
Par ailleurs, les carbonates, abondants aux stations C2, Mir inj et Mir M, présentent une substitution du calcium par le cuivre avec la formation de carbonates de cuivre.

II.2.3. Relation entre la spéciation du cuivre et sa biodisponibilité

La fraction échangeable des métaux est toujours considérée comme étant *a priori* la plus toxique potentiellement, parce que les métaux adsorbés à la surface des MO et argiles sont facilement remobilisables. Or cette fraction est négligeable dans la présente étude, car nous avons vu qu'au niveau des argiles, le cuivre n'est pas substitué, mais présent sous la forme d'un complexe fort de sulfures de cuivre.

La fraction résiduelle du cuivre est la seule fraction qui puisse être considérée comme non remobilisable.

Les trois fractions dominant la spéciation du cuivre dans nos échantillons sont des fractions potentiellement remobilisables, mais cela uniquement dans le cas de modifications importantes des conditions du milieu.

Les fractions réductible et acido-soluble sont des fractions métalliques stables dans les conditions du milieu, toutefois dans le cas d'une modification des conditions de pH (diminution) ou l'augmentation du potentiel redox, susceptibles de se produire en cas d'anoxie, les métaux liés aux carbonates et aux oxydes de Fe et Mn pourraient être libérés. Cependant dans la retenue du Mirgenbach, le brassage de l'eau générée par les entrées et sorties d'eau assure une bonne oxygénation jusqu'en profondeur. D'ailleurs ce lac se caractérise par l'absence de stratification (Vinot & Pihan, 2001; 2002).

Par contre, la fraction oxydable peut être libérée lors de la dégradation de la matière organique, cependant la toxicité du cuivre est considérée comme étant fortement diminuée lorsqu'il est associé à cette fraction (Bartell *et al.*, 1992, Fernandes, 1997).

Pour que les éléments traces soient assimilés par les animaux à partir des sédiments ou des particules en suspension, il faut qu'ils soient désorbés des particules ingérées dans le tractus digestif (Reinfelder *et al.*, 1998). De nombreux facteurs pourraient alors affecter le taux de désorption des métaux mais le plus important serait probablement le pH du système digestif (Fisher & Teyssié, 1986 ; Wang *et al.*, 1996) et la concentration en ligands liant le cuivre (Mayer *et al.*, 1996) ou le zinc. Par exemple, des fluides digestifs riches en aminoacides provenant de deux invertébrés marins détritivores peuvent extraire des quantités significatives de cuivre lié aux sédiments, augmentant ainsi significativement leur potentiel d'assimilation vis à vis de ce métal (Mayer *et al.*, 1996). En effet, dans le cas d'ingestion des particules sédimentaires par les organismes, il est possible de supposer que la fraction acido-soluble du cuivre puisse être libérée par acidification du pH pendant la digestion, de même que la fraction oxydable sous l'effet des enzymes digestives.

La biodisponibilité des métaux des sédiments est également dépendante, chez la palourde, du type de particules ingérées (Bryan, 1980).

Plusieurs études ont également montré que les oxydes de fer hydratés diminuent la biodisponibilité du Cu et du Zn associés aux sédiments (Langston, 1980 ; Luoma & Bryan, 1978 ; Luoma & Jenne, 1977 ; Tessier *et al.*, 1994).

Les points singuliers mis en évidence dans ce sous-chapitre sont les suivants :

- La spéciation du cuivre est dominée par les fractions oxydable, réductible et acidosoluble selon l'ordre f. oxydable> f. réductible > f. acidosoluble ou f. oxydable> f. acidosoluble > f. réductible selon les échantillons.
- Les carbonates semblent décanter surtout dans le CRF et plus précisément dans les bassins chaud et froid des aéroréfrigérants.
- Le développement planctonique augmente la fraction de cuivre lié à la fraction oxydable.
- Les analyses X ont montré le rôle déterminant du soufre en tant que ligand du cuivre dans la spéciation et dans la mobilité du cuivre au sein du compartiment sédimentaire. Les sulfures de cuivre sont néoformés à la station C2, par substitution du cuivre avec le fer des pyrites. Le cuivre se lie également aux argiles, aux oxydes de fer et aux carbonates à la station C2.
- Dans les matières décantées les sulfures de cuivre existent encore en tant qu'entité isolée mais ils migrent vers les argiles pendant la diagenèse, de même que les oxydes mixtes de fer et cuivre.
- Le zinc n'est jamais lié à du soufre seul. Il se trouve en association avec les oxydes de fer, les argiles et les carbonates.

Chapitre III. Biodisponibilité du cuivre et du zinc

III.1. Biosurveillance passive

III.1.1. Les Mollusques benthiques bivalves

Cette partie du chapitre consacré à la biodisponibilité des métaux, s'intéresse à l'étude de la contamination par le cuivre et le zinc des mollusques bivalves autochtones. Les résultats relatifs au suivi des concentrations métalliques dans *Dreissena polymorpha* en rivière Moselle et dans la retenue du Mirgenbach seront présentés en premier. Les résultats de l'accumulation des métaux par *Corbicula fluminea* dans les différentes stations Moselle seront ensuite exposés, cette espèce étant absente de la retenue du Mirgenbach.

Pour mettre en évidence les variations des concentrations en cuivre, qui sont la conséquence d'un rythme saisonnier normal de l'activité de l'organisme, il est important de disposer d'une station de référence dont les caractéristiques physico-chimiques sont identiques ou très proches de celles des stations contaminées (station Mos1). De même, une contamination métallique correspondant au bruit de fond, qui n'est pas forcément constante, est souvent mesurée en rivière. Par conséquent, il est obligatoire d'effectuer un suivi identique en amont et en aval du rejet étudié pour évaluer l'impact d'une industrie sur l'écosystème fluvial.

III.1.1.1. Les dreissènes (Dreissena polymorpha)

III.1.1.1.a. Variation stationnelle des niveaux de contamination en cuivre et en zinc dans les dreissènes autochtones (DA)

Le **tableau III-24** et la **figure III-43** présentent respectivement les valeurs moyennes, minimales et maximales et la représentation graphique des concentrations (mg/kg de ms) en cuivre et en zinc dans les DA en fonction de la station de prélèvement.

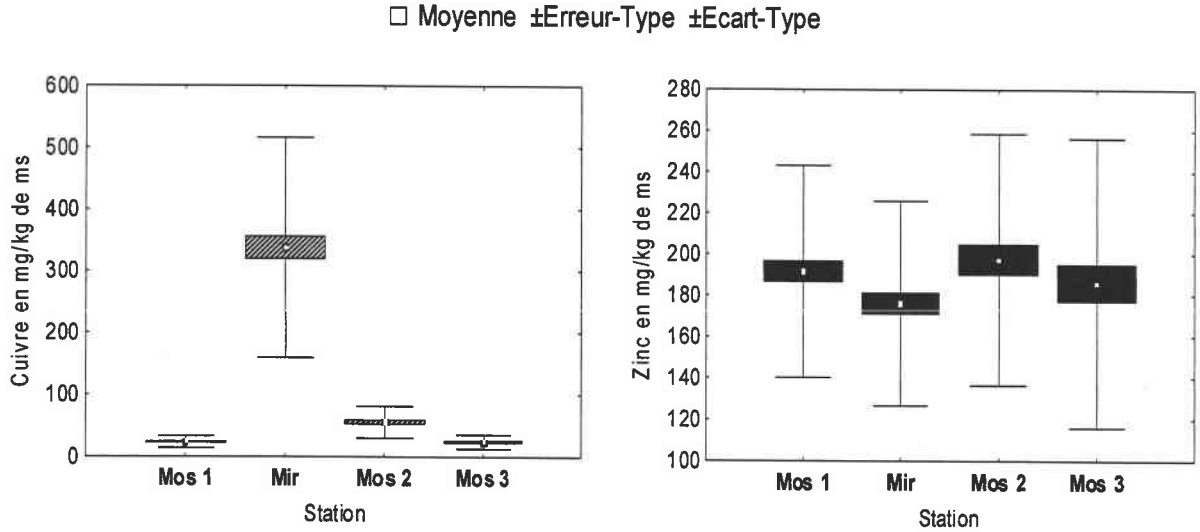


Figure III-43 : Variation stationnelle des concentrations moyennes en cuivre et en zinc (mg/kg de ms) dans les DA.

Tableau III-24 : Evolution des concentrations moyennes en cuivre et en zinc et leur amplitude de variation entre novembre 2002 et décembre 2002 dans les dreissènes autochtones en fonction de la station de prélèvement. La significativité des différences ($p<0.05$) entre les moyennes est illustrée dans la colonne « test t » par des lettres arabes différentes.

		Mos1	Mir	Mos2	Mos3
Cuivre mg/kg de ms	**moyenne**	21 +/- 7	340 +/- 180	62 +/- 17	23 +/- 10
	Min - Max	9 - 43	89 - 952	27 - 99	7 - 47
	N dosage	93	99	73	61
	N individu	861	807	510	538
	Test t ($p<0,05$)	a	b	c	a
Zinc mg/kg de ms	**moyenne**	201 +/- 50	173 +/- 44	195 +/- 61	178 +/- 45
	Min - Max	128 - 317	99 - 292	110 - 377	105 - 272
	N dosage	93	99	73	61
	N individu	861	807	510	538
	Test t ($p<0,05$)	a	a	a	a

Les concentrations en cuivre dans les DA aux stations Mos1 et Mos3, respectivement 21 +/- 7 mg Cu/kg de ms et 23 +/- 10 mg Cu/kg de ms, sont équivalentes ($p<0.05$), et sont significativement inférieures à la concentration en cuivre des DA de la station Mos2 qui est de 62 +/- 17 mg Cu/kg de ms. Dans la retenue du Mirgenbach la concentration moyenne en cuivre dans les DA, 340 +/- 180 mg Cu/kg de ms, est significativement supérieure à celle des DA des autres stations, représentant 5 fois la concentration en cuivre des DA de la station Mos2, et entre 15 et 16 fois celle des DA des stations Mos1 et Mos3.

La concentration en cuivre dans les DA de la retenue du Mirgenbach a la particularité, par rapport aux autres stations de subir une forte variation dans le temps, entre 89 et 952 mg Cu/kg de ms, soit une amplitude de 863 mg Cu/kg de ms. Aux stations Mos1, Mos3, Mos2, cette amplitude n'est respectivement que de 34, 40 et 72 mg Cu/kg de ms.

L'évolution interstation des concentrations en zinc dans les DA est très différente de celle du cuivre et il n'existe pas de différence significative ($p<0.05$) entre les concentrations moyennes en zinc dans les DA des différentes stations. Les concentrations moyennes en zinc dans les DA sont comprises entre 173 et 201 mg/kg de ms avec respectivement pour les stations Mos1, Mir, Mos2 et Mos3, des moyennes de 201 +/- 50, 173 +/- 44, 195 +/- 61 et 178 +/- 45 mg Zn/kg de ms.

III.1.1.1.b. Relation entre le niveau de contamination du milieu et celui de l'organisme

Les **Figures III-44 A à F** et les **Figures III-45 et III-46**, présentent l'évolution des concentrations en cuivre et en zinc respectivement, dans les DA des stations Moselle et de la retenue du Mirgenbach en fonction de la station, de la date de collecte et en comparaison avec les concentrations en cuivre et en zinc mesurées dans l'eau brute de la station correspondante.

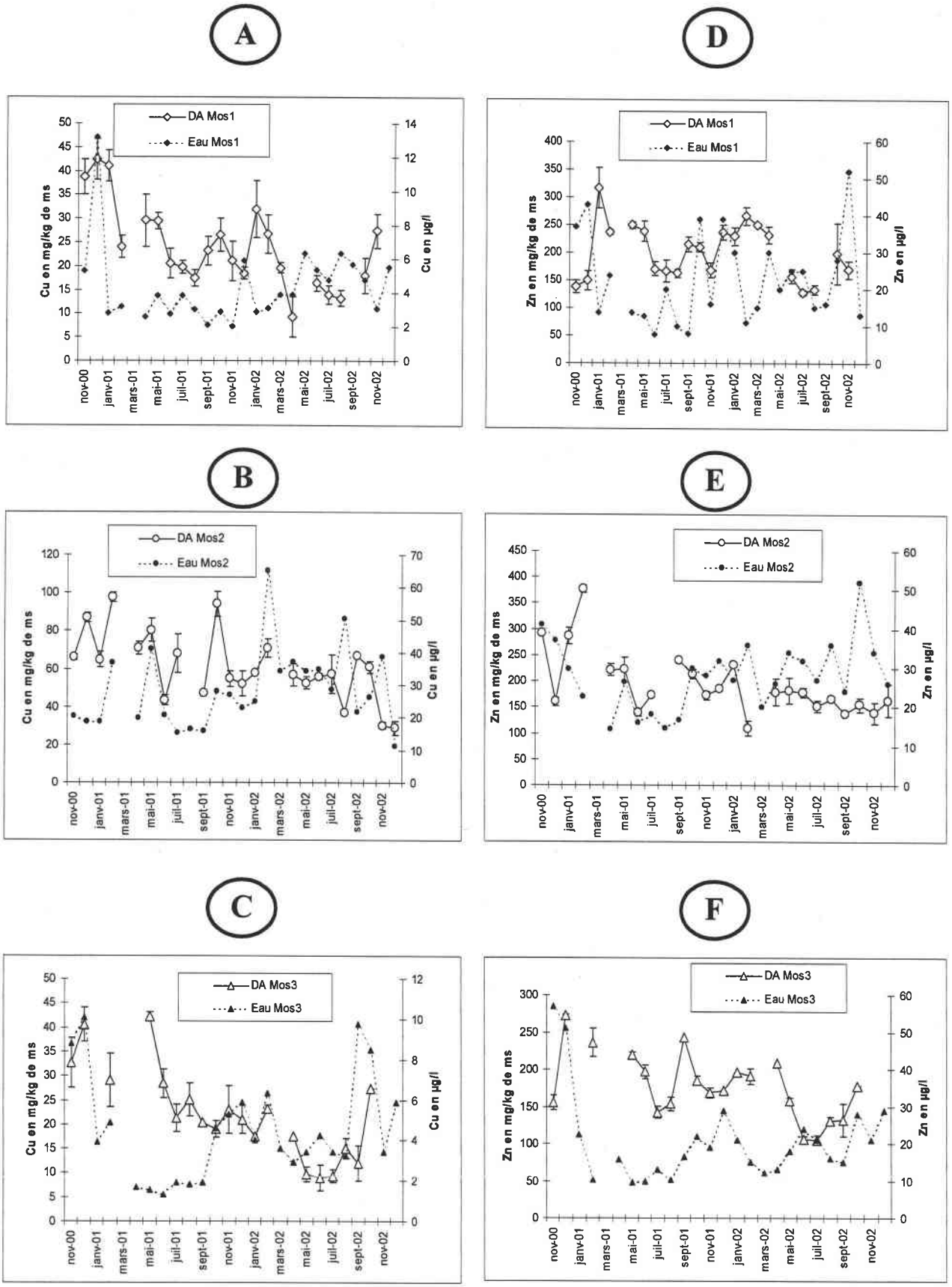


Figure III-44 A à F : Evolution des concentrations en cuivre (A, B, C) et en zinc (D, E, F) en mg/kg de ms dans les dreissènes autochtones de la rivière Moselle (DA) en fonction de la station (Mos1, Mos2 ou Mos3), de la date de prélèvement et en comparaison avec la concentration en cuivre et en zinc dans l'eau brute (µg/l).

Les **Figures III-44 A** à **F** ne semblent pas mettre en évidence pour l'ensemble de la période d'étude, de relation évidente entre les niveaux de bioaccumulation en cuivre ou en zinc dans les DA de la rivière Moselle et les concentrations ponctuelles en cuivre ou en zinc dans l'eau brute du milieu d'exposition, quelle que soit la station Moselle considérée. D'ailleurs cette observation est confirmée par l'absence de corrélations significatives entre les concentrations en cuivre ou en zinc des DA et celles dans l'eau brute (r de Pearson, significatif à $p<0.05$) à chaque station. Cependant en considérant l'ensemble des résultats de toutes les dates et de toutes les stations de collecte en Moselle, une corrélation significative ($r=0.69$, $p<0.01$) peut être mise en évidence (**Figure 44 G**).

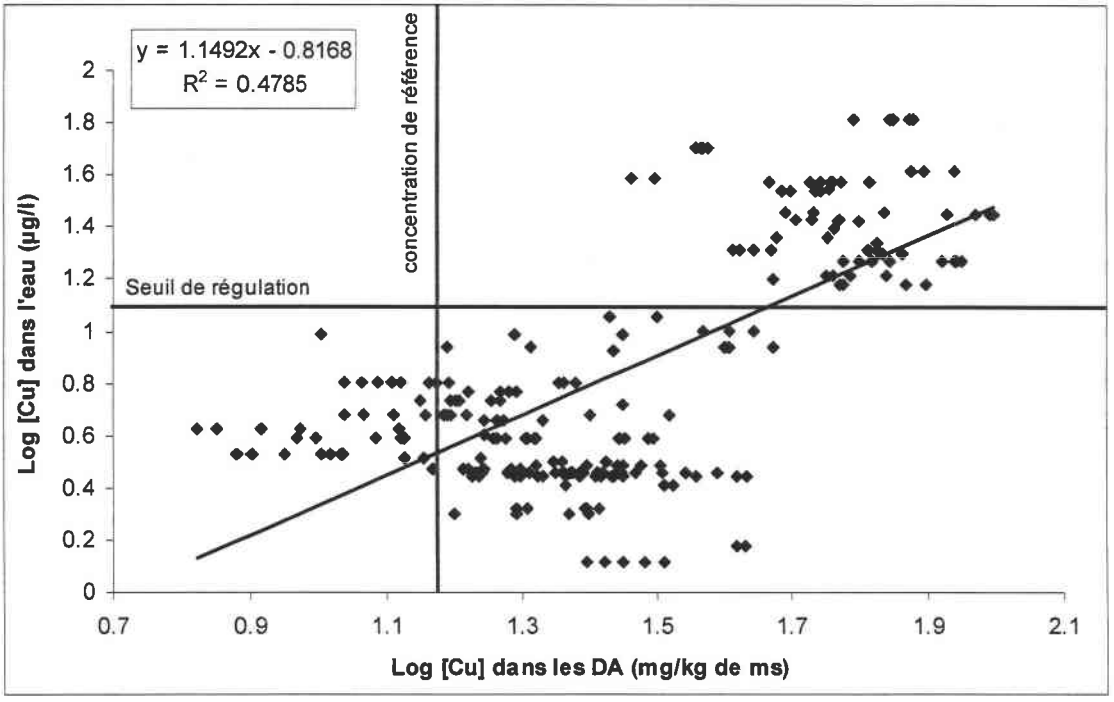


Figure 44-G : Relation entre les concentrations en cuivre dans l'eau brute en µg/l et celles mesurées dans les DA en mg Cu/kg de ms à toutes les stations Moselle. Le seuil de régulation correspond au seuil de concentration (13 µg/l d'après Kraak *et al.* (1992) à partir duquel la dreissène accumule le cuivre. La concentration en cuivre de référence dans les DA est celle fournie par Mersch *et al.* (1993) dans les dreissènes du lac de Madine (15 mg Cu/kg de ms).

Dans la retenue du Mirgenbach les concentrations en cuivre dans les DA sont significativement corrélées aux concentrations en cuivre dans l'eau brute de la station Mir rep ($r = 0.59$). La station Mir rep a été choisie pour établir la corrélation car elle est représentative du niveau de contamination de l'eau dans la zone du Barrage où sont prélevées les dreissènes autochtones dans le lac. Si seuls les prélèvements effectués avant l'encagement des organismes sont considérés, alors le degré de corrélation entre les concentrations en cuivre des DA et les concentrations en cuivre de l'eau brute augmente considérablement avec un r de 0.92, significatif à $p<0.01$. Il semblerait qu'après le transfert des organismes autochtones sur la station Mir M, un nouvel équilibre se mette en place entre les concentrations en cuivre dans les DA et celle du milieu, mais il n'est pas représentatif d'un état physiologiquement normal.

Sur les **Figures III-45** et **III-46**, on peut observer une rupture (matérialisée par une flèche noire) dans l'évolution des concentrations en cuivre et en zinc dans les DA de la

retenue en octobre 2001 par rapport à celle de la concentration dans l'eau. Ceci s'explique par le fait qu'au mois d'octobre 2001, des opérations de contrôle des installations ont nécessité de diminuer le niveau du lac de plus de 3m, d'où l'émersion des berges et des dreissènes pendant plus d'une semaine. Afin de préserver une population de dreissènes suffisante pour assurer la pérennité de l'étude, environ 3 000 organismes autochtones émergés ont été collectés sur les substrats rocheux du Barrage, puis encagés et transférés à la station Mir M de la retenue. A partir de novembre 2001, les DA sont donc des dreissènes autochtones transférées.

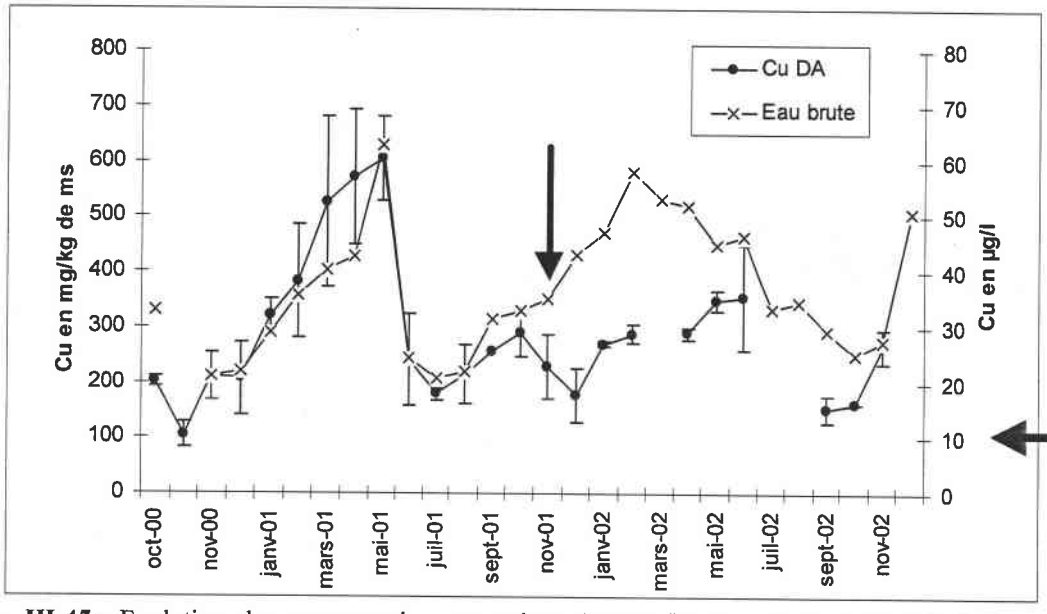


Figure III-45 : Evolution des concentrations en **cuivre** (mg Cu/kg de ms) dans les DA de la retenue du Mirgenbach en fonction de la date de prélèvement et en comparaison avec les concentrations en cuivre dans l'eau brute (µg/l) de la station Mir rep. ⟶ Date de transfert des DA du barrages sur la station Mir M.

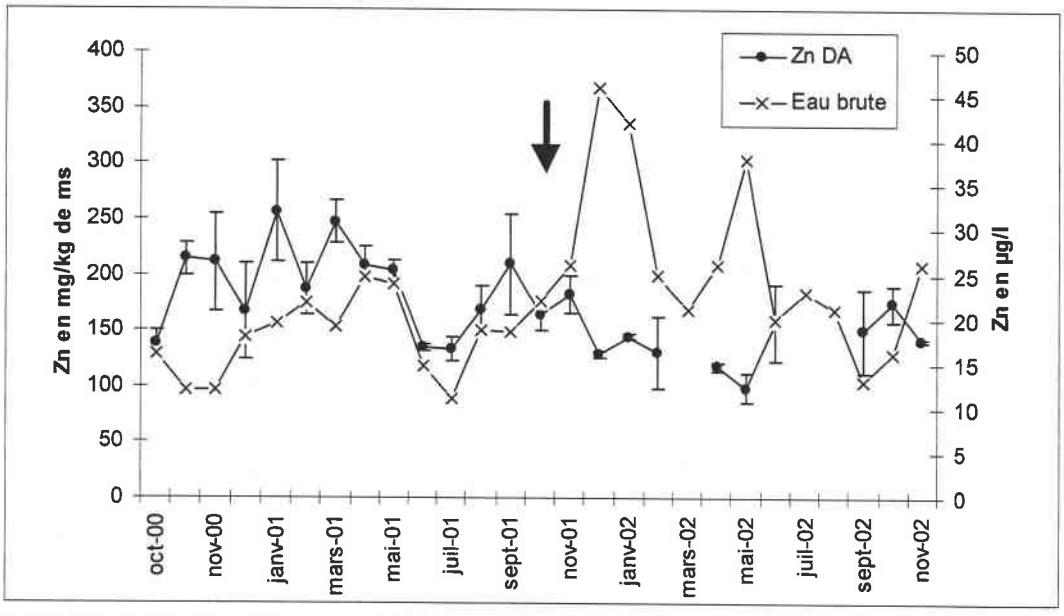


Figure III-46 : Evolution des concentrations en **zinc** (mg Zn/kg de ms) dans les DA de la retenue du Mirgenbach en fonction de la date de prélèvement et en comparaison avec les concentrations en zinc dans l'eau brute (µg/l) de la station Mir rep. ⟶ Date de transfert des DA du barrage sur la station Mir M.

Les dreissènes autochtones du barrage ont mal supporté le transfert et l'encagement, puisque dès les premiers mois une forte mortalité est constatée et au mois de juin 2002, elle est de 100%. A partir de septembre, les organismes sont à nouveau collectés sur le barrage.

La **figure III-45** met également en évidence une augmentation de la variabilité interindividuelle des concentrations en cuivre dans les DA pour une même date lorsque les niveaux de bioaccumulation sont très élevés.

Les concentrations en zinc dans les DA (**figure III-45)** ne sont pas corrélées à celles de l'eau brute, cependant entre mai 2001 et septembre 2001, le taux de zinc dans les DA semble varier en même temps que les concentrations en zinc dans le milieu. Toutefois la discontinuité des résultats obtenus en 2002 ne permet pas de confirmer cette tendance. De plus en 2002, après le transfert des organismes autochtones, la concentration en zinc dans les DA n'est certainement pas représentative d'un état physiologique normal.

III.1.1.1.c. Variation temporelle des niveaux de contamination en cuivre et en zinc dans les DA

Les **Figures III-47** et **III-48** montrent l'évolution des concentrations en cuivre et en zinc dans les DA pour chaque station en fonction de la date de prélèvement.

Les profils d'évolution temporelle des concentrations en cuivre et en zinc dans les DA aux différentes stations sont comparés à l'aide d'une matrice de corrélation de Pearson dont les coefficients r sont significatifs à $p<0.05$.

Les concentrations en cuivre dans les DA de la station Mos1 sont corrélées significativement à celles des DA de la station Mos3 ($r = 0.69$) et de la station Mos2 ($r = 0.53$). Il existe également une corrélation significative entre les concentrations en cuivre des DA des stations Mos2 et Mos3 ($r=0.49$). Par contre le profil des concentrations en cuivre dans les DA de la retenue du Mirgenbach ne présente aucune similitude avec celui des autres stations.

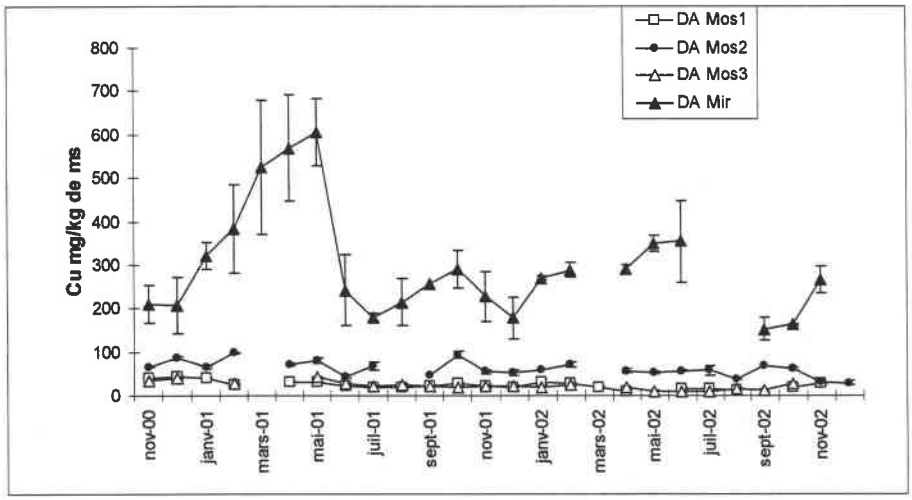


Figure III-47 : Comparaison interstations de l'évolution temporelle des concentrations en **cuivre** (mg/kg de ms) dans les dreissènes autochtones (DA) prélevées mensuellement de novembre 2000 à décembre 2002.

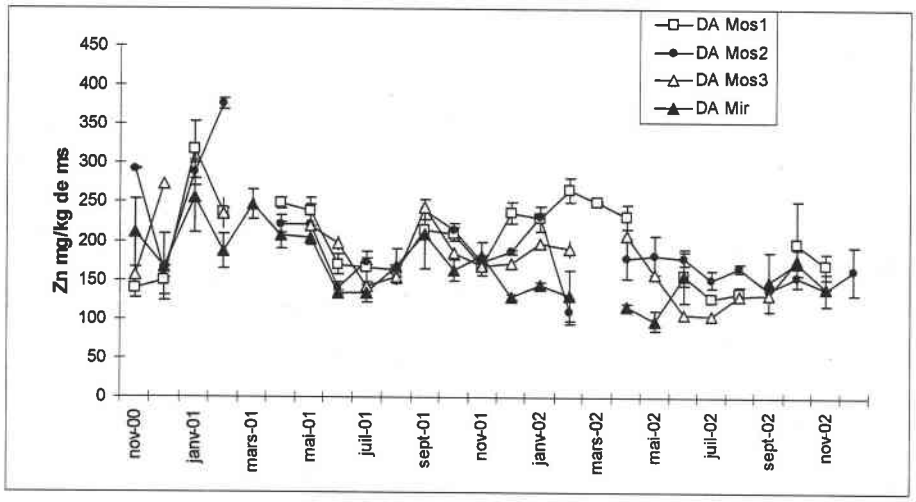


Figure III-48 : Comparaison interstations de l'évolution temporelle des concentrations en **zinc** (mg/kg de ms) dans les dreissènes autochtones (DA) prélevées mensuellement de novembre 2000 à décembre 2002.

Dans le cas du zinc, les profils de concentration sont similaires entre les stations Moselle Mos1, Mos2 et Mos3 et cette observation est confirmée par l'existence de corrélations significatives ($p<0.05$) entre les concentrations en zinc dans les DA de la station Mos1 et celles de la station Mos2 ($r = 0.51$) et de la station Mos3 ($r = 0.59$), également entre les concentrations en zinc des DA de la station Mos2 et celles de la station Mos3 ($r = 0.59$). Dans la retenue du Mirgenbach le profil d'évolution des concentrations en zinc dans les DA est corrélé significativement à celui de la station Mos2 ($r = 0.56$).

Une ANOVA à deux facteurs a permis de mettre en évidence une variation saisonnière significative ($p<0.0001$) et concomitante pour les trois stations Moselle (effet « station*saison » non significatif à $p<0.05$) des niveaux de bioaccumulation en cuivre, qui se traduit par des valeurs supérieures en automne et en hiver par rapport à l'été et au printemps (**Figure III-49**).

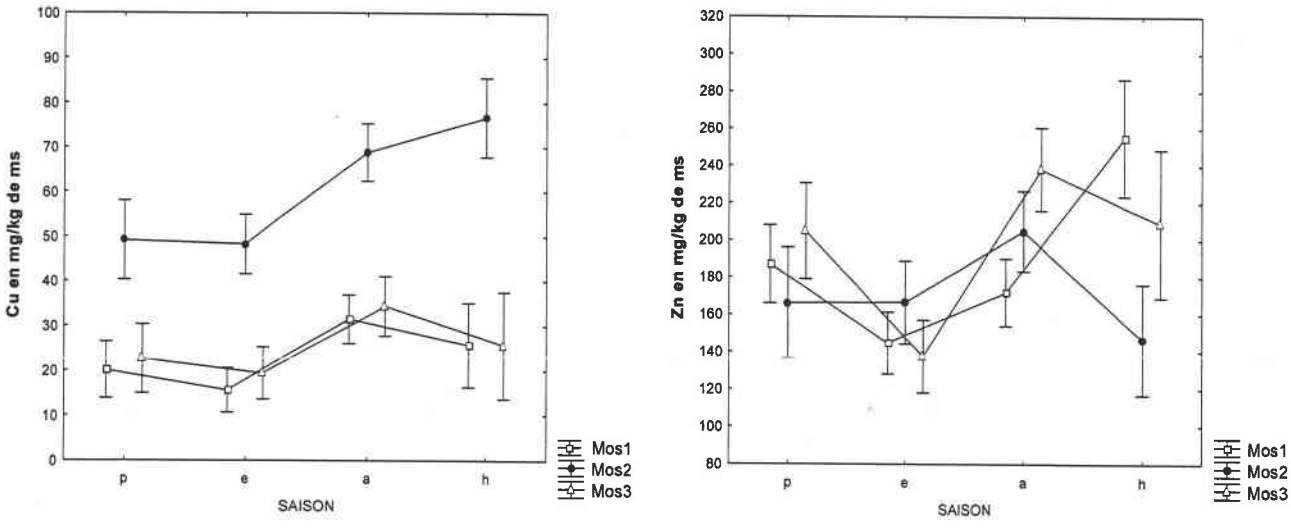


Figure III-49 : Variation saisonnière des concentrations en cuivre et en zinc dans les DA prélevées aux stations Mos1, Mos2 et Mos3 entre novembre 2000 et décembre 2002. Les barres verticales représentent les intervalles de confiance à 0,95.

Concernant les concentrations en zinc dans les DA, il existe également un effet saison significatif ($p<0.0001$), mais cet effet est significativement différent d'une station Moselle à l'autre (effet « station*saison » significatif ; $p<0.0001$) (**Figure III-49**).

Pour les stations Mos1 et Mos3, le niveau de bioaccumulation en zinc dans les DA est plus faible en été par rapport au printemps et à l'automne-hiver. La station Mos1 se caractérise, contrairement aux stations Mos2 et Mos3, par une augmentation significative de la concentration en zinc dans les DA en hiver.

III.1.1.1.d. Etude de la relation entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les DA dans un contexte de faible et de forte contamination en cuivre

La **Figure III-50**, visualise les relations entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les DA en fonction de la station d'étude. Une relation linéaire significative ($p<0.05$) entre les deux variables est mise en évidence dans les DA collectées aux stations Mos1, Mos3 et Mir avec des coefficients de corrélation respectifs de 0.714, 0.786 et 0.527.

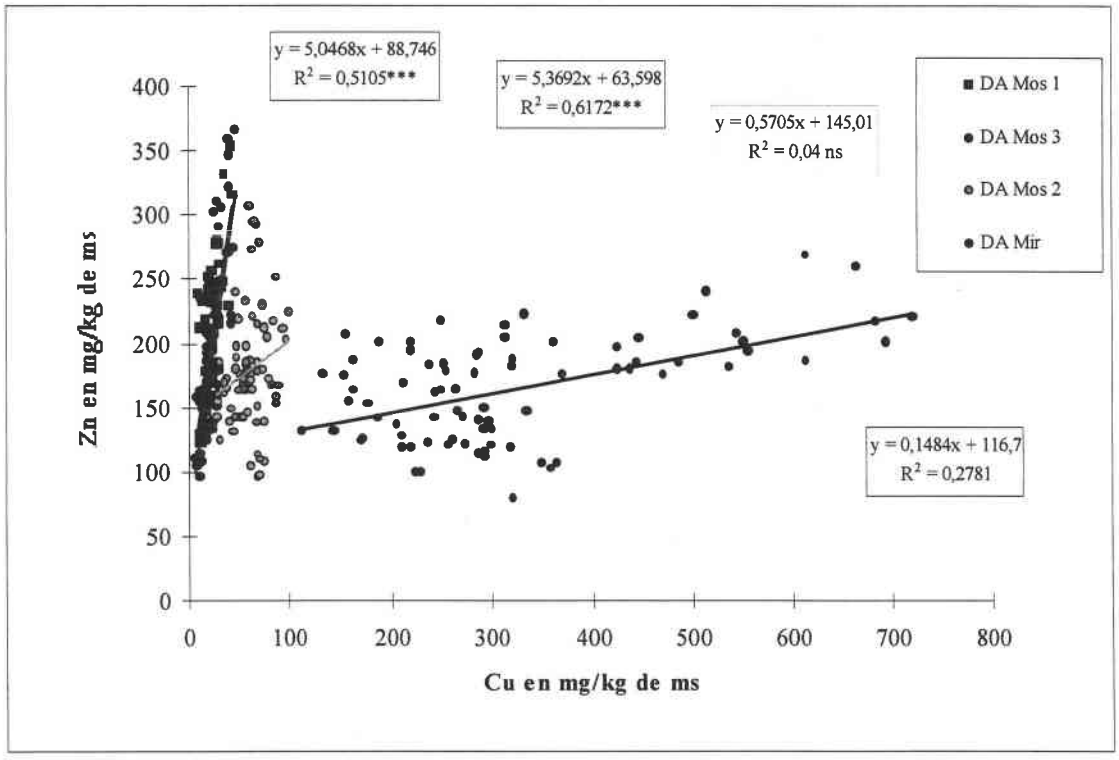


Figure III-50 : Relation entre les concentrations en cuivre et en zinc (mg/kg de ms) dans les DA en fonction de la station d'étude (Mos1, Mos2, Mos3 et Mir). La linéarité des relations est testée par une matrice de corrélation de Pearson, dont les coefficients sont considérés comme significatif à $p<0.05$. *** : Résultat significatif ($p<0.05$), ns : Résultat non significatif.

En ce qui concerne les stations Mos1 et Mos3, la relation linéaire entre les concentrations en cuivre et en zinc se traduit par les équations respectives et suivantes :

(Mos1) : $y = 5,0468x + 88,746$
(Mos3) : $y = 5,3692x + 63,598$

Une ANCOVA est utilisée pour tester le parallélisme des droites. L'hypothèse Ho concernant le parallélisme des droites est acceptée ($p<0.05$), c'est-à-dire que les pentes sont égales, mais l'hypothèse Ho concernant l'égalité des ordonnées à l'origine est rejetée. La droite correspondant à Mos1 est au-dessus de celle de Mos3 sur la **Figure III-50**. Par conséquent, les deux relations linéaires sont similaires, cependant les DA de la station Mos1 tendent à accumuler plus de zinc que celles de la station Mos3.

La relation linéaire observée entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les DA de la station Mir est significativement différente (ANCOVA, $p<0.05$) de celles des stations Mos1 et Mos3.
Dans les DA de la station Mos2, aucune relation linéaire n'a pu être mise en évidence entre les niveaux de bioaccumulation en cuivre et en zinc.

III.1.1.1.e. Discussion

a. Les niveaux de bioaccumulation des métaux dans les organismes

Les concentrations en cuivre et en zinc mesurées dans les DA des stations Mos1 et Mos3 en rivière Moselle sont dans la même gamme de valeur que celles rapportées par Camusso *et al.* (2001) dans des dreissènes provenant de lacs européens et américains (entre 14.6 +/- 4 et 27 mg Cu/kg de ms et entre 158 et 346 mg Zn/kg de ms) et par Busch & Schuchardt (1991) dans des DA de la rivière Moselle (entre 22 et 50 mg Cu/kg de ms et entre 120 et 240 mg Zn/kg de ms), avec dans ce dernier cas une grande variabilité.

D'après White & Rainbow (1985), les concentrations minimales en Cu et en Zn dans les moules (*Mytilus edulis*) correspondant aux besoins physiologiques sont respectivement de 9.5 mg Cu/kg de ms et 91 mg Zn/kg de ms. Ces résultats sont en accord avec ceux de Mersch *et al.* (1992) dans les dreissènes du lac de Madine (site de référence), à savoir 15 mg Cu/kg de ms et 101 mg Zn/kg de ms. Ces valeurs coïncident avec les concentrations en cuivre mesurées dans les DA des stations Mos1 et Mos3 dont les moyennes respectives sont de 21 +/- 7 mg Cu/kg de ms et 23 +/- 10 mg Cu/kg de ms. Par conséquent, il semblerait que les DA des stations Mos1 et Mos3 ne contiennent que la quantité de cuivre requise pour les besoins physiologiques. Par contre, concernant le zinc, les concentrations mesurées dans les DA de la rivière Moselle sont déjà bien supérieures à la quantité de zinc requise pour les besoins physiologiques, ce qui traduit une accumulation excédentaire dans l'organisme.

Dans la retenue du Mirgenbach, les DA accumulent entre 99 et 292 mg Zn/kg de ms, avec une moyenne de 173 +/- 44 mg de Zn/kg de ms. Les données antérieures fournies par Mersch *et al.* (1992) sur le même site sont du même ordre avec en moyenne 144 +/- 25 mg de Zn/kg de ms entre mars 1991 et février 1992. En 1991-1992, la moyenne des concentrations en zinc dans l'eau brute était de 32 µg Zn/l à la station Mir M (Mersch *et al.*, 1993), ce qui est équivalent à celle mesurée en 2001 et 2002, à savoir 28 +/- 8 µg Zn/l.

Par contre, le même auteur lors d'une étude réalisée entre 1989 et 1992 (Mersch *et al.*, 1993) relate des concentrations en cuivre pour les DA comprises entre 32 et 238 mg Cu/kg de

ms, très inférieures à celles de 2001 et 2002, à savoir entre 89 et 952 mg Cu/kg de ms. Ceci est conforme à l'augmentation significative des concentrations en cuivre dans l'eau brute mise en évidence entre 2001 et 2002, de même qu'entre 1993 et 2002 (Chapitre I).

b. Variations stationnelles des concentrations en cuivre et en zinc dans les DA

Un gradient de contamination en cuivre dans les dreissènes a pu être mis en évidence en fonction des stations, avec selon un ordre croissant Mos1=Mos3 < Mos2 < Mir ; et ce gradient coïncide avec le gradient de contamination observé dans l'eau brute (Chapitre I.1 et I.2).

Dans le cas du zinc il n'y a pas de différences significatives entre les niveaux de bioaccumulation des DA de chaque station, ce qui semble refléter une contamination en zinc équivalente dans l'eau brute de ces stations.

Aux différentes stations en Moselle, les DA accumulent beaucoup plus de zinc que de cuivre, alors que dans la retenue, le phénomène inverse est observé.

Les concentrations en cuivre dans les DA de la retenue du Mirgenbach sont fortement dépendantes des concentrations en cuivre dans l'eau brute, mais en rivière Moselle aucun lien entre les deux variables n'a pu être établi pour chaque station. Cependant, en considérant l'ensemble des données (toutes stations confondues), une corrélation significative entre les concentrations en cuivre dans l'eau et dans les dreissènes a été établie. Ces résultats montrent que la concentration en cuivre dans les DA est représentative du niveau de contamination de la station.

b.1. Le cas du cuivre

En rivière, les concentrations métalliques dans l'eau brute peuvent subir des variations rapides et importantes, comme montré au chapitre I, principalement causées par les fluctuations saisonnières des débits d'eau et les rejets intermittents des industries. Ces variations font que la concentration en métal mesurée dans l'eau brute à un instant t, n'est pas représentative du niveau de contamination subit par les organismes au cours du temps d'un mois.

De plus *D. polymorpha*, comme de nombreuses espèces de bivalves est capable, en présence de faibles niveaux de contamination ambiants, de réguler son taux de cuivre corporel conformément aux observations de Mersch *et al.* (1992), Kraak *et al.* (1994a et b), Klerck & Fraleigh (1997) et Gundacker (1999). Kraak *et al.* (1992) et Mersch *et al.* (1993) ont montré que pour des concentrations en cuivre dans le milieu de 9µg et 13 µg Cu/l, aucune accumulation par les dreissènes n'est observée et que par conséquent que la concentration interne de cuivre est régulée. Aux stations Mos1 et Mos3, les concentrations en cuivre mesurées dans l'eau brute sont toujours inférieures à 10.1 µg Cu/l et sont de fait inférieures au seuil limite de régulation (Kraak *et al.*, 1992). L'accumulation du cuivre dans le cadre de l'homéostasie de cet élément essentiel est régulée par des systèmes biologiques spécifiques (métalloprotéines). C'est ainsi que Yang & Thompson (1996), High *et al.* (1997) et De

Lafontaine *et al.* (2000) ont démontré que le cuivre et le zinc étaient les principaux éléments liés aux MT chez la moule zébrée. D'après Bremner (1987), dès la pénétration du cuivre dans les cellules, il se fixe aux MT en occupant des sites libres ou en déplaçant des atomes de zinc. Si le nombre de sites de fixation est insuffisant, une synthèse de MT est initiée, et les nouvelles protéines lieront le métal en excès. Le devenir du complexe Cu-MT dépendra des besoins cellulaires. Il peut être dégradé afin d'associer le métal à des métalloprotéines ou excrété. Dans le cas d'un apport excessif de cuivre, l'augmentation de la concentration en Cu-MT est compensée par un stockage du complexe dans les lysosomes et d'autres organites, sous forme d'agrégats insolubles après polymérisation.

La régulation du cuivre par les dreissènes pourrait ainsi expliquer pour une part l'absence de corrélation entre les concentrations en cuivre dans l'eau brute aux stations Mos1 et Mos3 et celles dans les dreissènes.

A la station Mos2, le niveau d'accumulation en cuivre dans les DA (62 +/- 17 mg Cu/kg de ms) est significativement supérieur à celui des DA des stations Mos1 et Mos3, mais n'est pas corrélé aux concentrations en cuivre dans l'eau brute. Deux arguments peuvent être avancés pour expliquer l'absence de corrélation. A la station Mos2 de prélèvement des organismes autochtones est située sur la rive, en aval proche du rejet général en Moselle et non dans le rejet, où sont effectués les prélèvements d'eau ; en conséquence, la contamination des DA de la station Mos2 rive, bien qu'influencée par le rejet, n'est pas représentative du niveau de contamination réel des eaux du rejet (cf. Chapitre I). D'autre part, à la station Mos2 rejet, les concentrations en cuivre dans l'eau brute varient entre 11.5 et 73µg Cu/l et il est probable qu'à la station Mos2 rive ces concentrations soient très inférieures. D'autre part, à la station Mos2 rive, les organismes doivent probablement pouvoir réguler leur taux interne de cuivre et épisodiquement, lorsque le rejet atteint la rive et que le seuil limite de régulation est dépassé, accumuler le métal. Ceci explique également que le taux d'accumulation des DA de Mos2 soit plus proche de celui des stations Moselle que de celui de la station Mir. Rappelons également que les profils d'évolution temporelle des taux de cuivre des DA des trois stations "Moselle" sont intercorrélés, ce qui montre que l'impact du rejet sur la station Mos2 rive est faible.

Dans la retenue du Mirgenbach, la concentration en cuivre dans les DA est en moyenne de 340 +/- 180 mg Cu/kg de ms et varie de 89 à 952 mg Cu/kg de ms avec une succession de phases d'accumulation et d'élimination du métal, dépendantes des concentrations dans l'eau brute (21 à 74 µg Cu/l). L'accumulation des métaux suppose une saturation des mécanismes de régulation contrairement à ce qui a été observé en rivière Moselle.

Dans la retenue, les DA accumulent le cuivre jusqu'à des valeurs très élevées (952 mg Cu/kg de ms) sans létalité, ce qui suppose une forme de stockage du cuivre métaboliquement inactive. Les métaux de la catégorie détoxiquée pourraient exister dans une variété de formes liées incluant les métallothionéines (MT) et/ou des concrétions insolubles (Viarengo, 1989 ; Roesijadi, 1992 ; Roesijadi & Robinson, 1994 ; Mason & Jenkins, 1995 ; Langston *et al.*, 1998 ; Blackmore & Wang, 2002 ; Baudrimont *et al.*, 2003). Les MT sont impliquées dans le stockage et l'inactivation des métaux sous forme de concrétions minérales (Bremner, 1987 ;

Viarengo, 1989). Il n'y a pas de limite théorique à la quantité de métaux qui peut être associée aux concrétions insolubles, car, étant détoxiqués, ils ne représentent aucun danger pour le métabolisme animal (Rainbow, 2002). Ceci pourrait expliquer les concentrations en cuivre très élevées dans les DA de la retenue et l'absence de seuil de saturation pour les niveaux de contamination mesurés dans le milieu.

Par conséquent, les mécanismes de détoxication des métaux ne semblent pas être saturés et l'accumulation du cuivre dans les dreissènes serait donc le résultat d'une non d'élimination d'autant plus que Wang *et al.* (1995) ont montré que la quantité de féces et pseudoféces produites par le bivalves restait toujours constante.

La succession de phases d'accroissement et de phases de diminution de la concentration en cuivre dans les DA, suppose l'intervention de mécanismes d'excrétion dans la régulation du cuivre. Les métaux peuvent être excrétés sous différentes formes. L'incorporation du cuivre dans des granules inertes éliminés via le tractus alimentaire dans les féces a été démontrée chez de nombreux mollusques (Rainbow, 1990 ; Wang *et al.*, 1995 ; Masala *et al.*, 2002). Par ailleurs, chez de nombreux bivalves, les reins contiennent des granules riches en métaux qui peuvent être excrétés via les urines (Bryan, 1984). Lorsque les métaux sont présents dans les tissus autres que ceux des systèmes excréteurs, la voie majeure d'élimination est la diapédèse, correspondant à la migration des hémocytes[3] directement vers le milieu extérieur au travers de l'épithélium. D'autres voies d'élimination des métaux ont été suggérées, tel que l'excrétion des surplus de cuivre et de zinc via le complexe du byssus (filaments et glandes) (Gundacker, 1999).

b.2. Le cas du zinc

Dans le cas du zinc, malgré des niveaux de bioaccumulation élevés dans les dreissènes (entre 173 +/- 44 et 201 +/- 50 mg Zn/kg de ms selon les stations), aucune différence significative interstation, ni de relation avec le niveau de contamination ambiant n'ont pu être révélés. Identiquement, dans l'eau brute, il n'existe pas de différence significative de concentration entre les stations Mos1 (23 +/- 12 µg Zn/l), Mir rep (28 +/- 8 µg Zn/l), Mos2 (28 +/- 10 µg Zn/l) et Mos3 (20 +/- 11 µg Zn/l).

Il est établi que même en présence de niveaux de contamination en zinc très élevés dans le milieu (Kraak *et al.*, 1994a), *D. polymorpha* comme *Mytilus edulis*, régule son niveau de zinc interne sur une courte période de temps (de l'ordre de la journée) (Amiard-Triquet *et al.*, 1986 ; Kraak *et al.*, 1994a et b).

D'après Belanger *et al.* (1989), la décontamination du zinc chez *Mytilus edulis* (contaminée en laboratoire) serait de 17 jours alors que Maarouf (1988) rapporte un temps de demi-vie du zinc chez *D. polymorpha* de 30 jours en automne conformément au résultat de 40 jours de Giguère *et al.* (2003). Ceci peut expliquer l'absence de corrélation entre les concentrations en zinc de l'organisme et celles de l'eau brute, conformément aux observations

[3] Cellules amiboïdes circulantes, participant au transport et à la détoxication des métaux chez les bivalves.

de Mersch *et al.* (1992, 1993 a), Busch *et al.* (1992), Kraak *et al.* (1994b) et Klerks & Fraleigh (1997). Cependant cette régulation n'est que partielle car les niveaux de bioaccumulation des dreissènes aux stations d'étude sont bien supérieurs aux besoins physiologiques.

Des expériences à court terme avec des radio-isotopes du zinc ont montré que la moule zébrée était capable de capter les métaux de la phase dissoute (<0.45µm) et de la phase particulaire de l'eau brute (Klerks & Fraleigh, 1997). Pour la plupart des métaux dissous, dont le cuivre et le zinc, l'entrée dans l'organisme se fait principalement via un transport passif ou facilité (Simkiss & Taylor, 1989b). Chez les bivalves, les métaux sous forme dissoute pénètrent dans le corps par les branchies et le manteau. George & Pirie (1980) estiment que chez *Mytilus edulis*, le métal contenu dans ces deux organes est rapidement acheminé vers le système excréteur, une partie étant stockée durablement dans le manteau et la masse musculaire. Les métaux sont, soit transportés vers le système excréteur par le sang (incorporés à l'hémolymphe ou aux hémocytes) soit liés directement par des ligands intracellulaires (ex : métallothionéines).

D'après les travaux de Maarouf (1988) et Fraysse (2001) sur *D. polymorpha*, le zinc dissous serait principalement adsorbé sur les structures inertes (coquille et byssus à 87%) et seul 13% serait accumulé dans les parties molles des organismes exposés par exemple à 250µg Zn/l. D'après Wang *et al.* (1996), l'absorption du zinc chez *Mytilus edulis* à partir de la phase dissoute est faible, et elle diminuerait avec l'augmentation du coefficient de répartition des métaux traces sur les particules en suspension. Klercks & Fraleigh (1997) et Chong & Wang (2001) ont en effet montré que l'accumulation des métaux à partir de la phase particulaire était prédominante uniquement en milieu turbide. Par conséquent, sur nos sites d'étude où le zinc est préférentiellement associé à la phase particulaire, la bioaccumulation du zinc est certainement dominée par l'ingestion des particules.

D'après Wang *et al.* (1995) et Wang & Fisher (1997b) le zinc, contrairement au cuivre, serait principalement régulé lors de l'assimilation par l'organisme car l'assimilation du zinc diminue quand le taux d'ingestion augmente et le zinc serait immédiatement excrété via les fèces et pseudofèces (Klerks & Fraleigh, 1997), d'où un système de régulation rapide. La réduction de l'assimilation du zinc pourrait être réalisée en partie par la production de mucus au niveau du tube digestif (Maarouf, 1988).

D'après Blackmore & Wang (2002), chez *Perna viridis*, la majorité du zinc stocké serait immobilisé dans des granules inertes, conformément aux observations de George & Pirie (1980) et Langston *et al.* (1998) chez *Mytilus edulis*. Fraysse (2001) rapporte que, dans le cas d'une contamination en zinc de *D. polymorpha*, la majorité du métal est contenue dans la fraction sub-cellulaire insoluble et que la contribution de cette fraction augmente avec la pression de contamination. Rappelons que dans la fraction insoluble, outre les débris membranaires, les noyaux cellulaires et les organites, se trouvent les concrétions de calcium ou magnésium contribuant au stockage des métaux. La contribution de la capacité de transport de ces cellules augmente suite à la prolifération et à l'accroissement de la densité cellulaire des concrétions qu'elles contiennent (Marigomez *et al.*, 1990). Chez *Hyridella depressa* et

Velesunio ambiguus (bivalves unionidés), Markrich *et al.* (2001) démontrent que les granules métallifères ou concrétions contiennent plus de 90% du zinc de l'organisme entier. Dans le système excréteur, les concrétions insolubles renferment la quasi-totalité du zinc. Klerks & Fraleigh (1997) estiment que plus de la moitié du zinc accumulé par *D. polymorpha* est excrété sous 24h dans les fèces et pseudofèces.

c. Variations saisonnières des concentrations en cuivre et en zinc dans les DA

Cette étude a mis en évidence des niveaux de bioaccumulation en cuivre et en zinc plus élevés en automne et en hiver par rapport au printemps et à l'été, ce indépendamment de la station d'étude en Moselle.

Les variations saisonnières significatives et concomitantes des niveaux de bioaccumulation en cuivre et en zinc dans les DA sur les trois stations Moselle ne sont pas liées au niveau de contamination du milieu et par conséquent elles ont certainement une autre origine. De nombreux facteurs peuvent influencer le taux de bioaccumulation des dreissènes, a savoir, le taux d'entrée des métaux dans l'organisme (filtration), l'efficacité de l'assimilation des métaux qui est fonction de la qualité et de la quantité de nourriture ingérée, la vitesse d'excrétion, les variations pondérales, la température, etc ...).

D'après Johns & Timmermans (1998) et Diggins (2001), la saison influence significativement le taux de filtration de *D. polymorpha* avec des taux hivernaux divisés par deux par rapport au reste de l'année ; or, contradictoirement ce sont les niveaux de bioaccumulation estivaux qui sont les plus bas dans la présente étude.

Les facteurs tels que la quantité de nourriture ingérée, le contenu en métaux des aliments et la composition de la nourriture peuvent aussi affecter l'assimilation du cuivre et du zinc par les dreissènes (Wang *et al.*, 1995 ; Wang & Fisher, 1996a et b, 1997b). L'absorption du zinc et l'accumulation dans les dreissènes sont augmentées dans une eau à haute turbidité (comme la Moselle et la retenue) et sont influencées par la composition du seston (Klerks & Fraleigh, 1997). Il est un fait démontré par Wang & Fisher (1997b), que les métaux ne sont pas assimilés de la même manière selon qu'ils sont ingérés via des algues, des sédiments ou des débris organiques. D'après Andres (1997) qui observe une augmentation du taux d'accumulation en métaux l'été, le plancton représenterait une source de transfert plus efficace à l'égard des mollusques que les particules sédimentaires. Toutefois, d'après Wang *et al.* (1996), chez *Mytilus edulis*, les différences de concentrations en chlorophylle a dans le seston naturel ingéré n'aurait pas d'influence sur l'assimilation du zinc. Le développement bactérien aurait également un rôle non négligeable dans l'accumulation des métaux par les bivalves (Gagnon & Fisher, 1997a).

D'autres facteurs tels que les variations de température peuvent influencer l'assimilation des métaux (Wang & Fisher, 1996b, 1997a ; Hutchins *et al.*, 1998). La température agit sur le métabolisme des individus, favorisant notamment la croissance et les échanges avec le milieu extérieur ; lorsque la croissance pondérale est supérieure à l'accroissement de l'accumulation des métaux, alors un phénomène de dilution est observé. De plus la synthèse de la coquille pourrait être une voie d'élimination des métaux (Lowe & Moore, 1979).

Dans le cas d'une contamination faible du milieu et d'une régulation des métaux par les organismes comme observé aux stations Mos1, Mos2 rive et Mos3, la croissance pondérale pourrait effectivement être a l'origine de phénomènes de dilution importants.

La période de juillet à septembre correspond en Moselle à la phase d'émission des gamètes par *D. polymorpha* (Giamberini, 2001). La présence d'un tissu reproducteur volumineux et non accumulateur de métaux peut justifier en partie la diminution des concentrations en métaux dans l'organisme par effet de dilution. Cependant la reproduction est également très consommatrice de métaux essentiels.

Le ralentissement du métabolisme l'hiver pourrait réduire la vitesse de régulation, donc l'excrétion des métaux d'où une augmentation du taux d'accumulation conformément aux observations de Borchardt (1983) et Dahlgaard (1986). D'après les travaux de Maarouf (1988) la durée de demi-vie du zinc dans l'organisme de *D. polymorpha* est très dépendante de la saison et augmente considérablement au printemps par rapport à l'automne. Dahlgaard (1986) suggère que l'hiver, le ralentissement du métabolisme associé à la faible disponibilité en nourriture plutôt qu'à une faible température, serait responsable du ralentissement de l'élimination des métaux et donc d'une concentration en métal dans l'organisme.

Il apparaît également, d'après Wang & Fiisher (1997b), que le taux d'excrétion est plus rapide lorsque les bivalves captent les métaux a partir de la nourriture plutôt que de la phase dissoute (Bjerregaard *et al.*, 1985 ; Borchardt, 1983), ce qui indique que la voie d'entrée, et par conséquent la répartition des métaux dans le milieu peut aussi influencer le taux d'élimination.

Cette forte dépendance de l'accumulation du zinc par rapport aux caractéristiques du milieu, pourrait également expliquer pourquoi en dépit de niveaux de bioaccumulation élevés et variables dans les moules, aucune corrélation entre la concentration en zinc total dans l'eau et celle mesurée dans les organismes n'est trouvée, conformément aux observations de Mersch *et al.* (1992, 1993), Busch *et al.* (1992), Kraak *et al.* (1994), Klerks & Fraleigh (1997).

d. La relation entre les concentrations en cuivre et en zinc dans l'organisme

Une relation linéaire significative a été observée entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les dreissènes des stations Mos1 et Mos3 ; de même que dans la retenue du Mirgenbach ; elle pourrait s'expliquer par une prise en charge commune, c'est à dire par les mêmes mécanismes, du cuivre et du zinc. Ceci pourrait signifier que les mécanismes de régulation interne du cuivre et du zinc sont proches et que malgré l'augmentation considérable de la concentration en cuivre dans les DA de la retenue du Mirgenbach, la prise en charge des métaux par l'organisme reste similaire.

Dans la retenue du Mirgenbach, la corrélation entre les concentrations en cuivre et en zinc des DA ($r=0.52$), bien que significative, est beaucoup moins forte que pour les stations

Mos1(r=0.71) et Mos3 (0.78). De même dans la retenue, pour des concentrations en cuivre et en zinc équivalentes dans l'eau brute, le niveau de bioaccumulation des DA est plus important pour le cuivre. Ce qui suppose une vitesse de régulation plus rapide pour le zinc que pour le cuivre. Markich *et al.* (2001) montrent, chez deux bivalves (unionidés), que les granules extracellulaires contiennent 92 à 97% du zinc de l'organisme entier et seulement 74 à 76% du cuivre. D'après ce même auteur, les métaux dit durs comme le zinc aurait une grande affinité pour les donneurs d'oxygène tels que les phosphates contenus dans les granules insolubles, alors que les métaux doux (Cu, Cd) auraient une plus forte affinité pour les ligands sulfures et azote (tel que les thiols et les MT). Par conséquent, le cuivre est moins abondant dans les granules que le zinc et les MT auraient un rôle plus important dans la prise en charge du cuivre. Ces affinités différentes pourraient en partie justifier une excrétion du zinc plus rapide que celle du cuivre.

Comme nous l'avons déjà mentionné, le cuivre et le zinc, dans le cadre de l'homéostasie de ces éléments essentiels, sont régulés par des systèmes biologiques spécifiques (métalloprotéines (MT)) et sont les principaux éléments liés aux MT chez la moule zébrée (Yang & Thompson, 1996 ; Lafontaine *et al.,* 2000)..L'association du cuivre et du zinc chez les invertébrés a, par ailleurs, souvent été rapportée (voir Roesijadi, 1992).

En ce qui concerne les stations Mos1 et Mos3, aucune accumulation, proportionnelle au niveau de contamination du milieu, n'est observée, ce qui sous entend que les dreissènes sont encore en phase de régulation du cuivre et du zinc et non en phase d'accumulation, d'où la relation linéaire entre les deux variables. D'après Kraak *et al.* (1999), les dreissènes accumuleraient le cuivre à partir de concentrations supérieures à 13µg/l et le zinc à partir de concentrations supérieures à 100µg/l l (Kraak *et al.*, 1999) en laboratoire, ce qui est à mettre en relation avec les besoins physiologiques de l'organisme beaucoup plus importants dans le cas du zinc.

e. Le seuil de toxicité des métaux dans l'organisme

Dans la retenue du Mirgenbach et à la station Mos2, les concentrations en cuivre dans l'eau brute pourraient atteindre des limites toxiques pour les moules zébrées puisque d'après Sloof *et al.* (1983), *D. polymorpha* modifierait son activité de filtration pour des concentrations en cuivre comprises entre 16 et 46 µg/l. Czembor (2001), en accord avec les résultats de Mouabad (1991), précise que la dreissène modifie son activité filtrante à une concentration en cuivre comprise entre 10 et 20µg/l et qu'elle adopte une activité discontinue caractéristique d'un état de stress. La dreissène se protège du milieu en diminuant son contact avec le composé toxique en fermant tout d'abord son siphon exhalant puis ses valves (Czembor, 2001). Le taux de filtration serait diminué de 50% en 48h dans une eau contenant 41µg Cu/l (Kraak *et al.*, 1992). Toutefois, ces résultats ont été obtenus en laboratoire alors que dans le milieu naturel la spéciation du cuivre et de fait, sa toxicité sont différentes.

Dans le cas du zinc, la concentration sans effet observé sur l'activité de filtration est estimée à 190 µg/l (Kraak *et al.*, 1994 a et b) soit une concentration bien supérieure aux concentrations de zinc mesurées dans l'eau brute aux stations d'étude. Le seuil de toxicité du zinc, en référence à la CL50 de 10 800 µg/l estimée par Maarouf (1988) pour une exposition des dreissènes pendant 28 jours, est très élevé.

Les métaux traces accumulés dans un organisme aquatique peuvent être interprétés en terme de deux pools, le premier constitué par les métaux sous une forme métaboliquement disponible, le second par les métaux qui ont été détoxiqués et donc non disponibles pour jouer un rôle, essentiel ou délétère, dans le métabolisme. Il s'en suit alors, que la toxicité se produit quand le taux de métaux absorbés excède le taux combiné de l'excrétion et de la détoxication des métaux métaboliquement disponibles (Rainbow, 2002).

Aussi longtemps que le taux combiné d'excrétion et de détoxication du métal métaboliquement disponible excède le taux d'absorption des métaux (potentiellement variable avec le temps si la biodisponibilité du métal dans le milieu ambiant change), alors la concentration de métal détoxiqué dans le corps et par conséquent la concentration en métal total accumulé pourra augmenter.

Dans la retenue du Mirgenbach les classes de taille des DA récoltées sont principalement celles de 10-14 et de 18-22mm et seuls quelques individus de plus de 22mm sont prélevés contrairement aux DA de la rivière Moselle dont les classes de taille sont principalement comprises entre 22-26mm et 26-30mm.

Des chercheurs ont signalé que la croissance de la moule était réduite suite à l'exposition à un polluant (Brown & Ahsanullah, 1971 ; Scott & Major, 1972 ; Phillips, 1976 ; Strömgren, 1982 ; Carajaville *et al.*, 1992a). Manley *et al.* (1984) ont trouvé que 3 jours d'exposition au cuivre (10ppb) avaient un effet inhibiteur significatif sur la croissance de la coquille, et que la récupération se produisait en 14 jours sous des conditions normales. Soto *et al.* (2000) ont également mis en évidence l'effet négatif d'une contamination en zinc sur le poids de la coquille des moules. Il est probable que l'énergie nécessaire à la régulation des métaux dans les DA de la retenue ne soit plus disponible pour la croissance d'ou une diminution de la taille des organismes suite à un stress métallique chronique.

D'autres part, comme nous l'avons mentionné lors de l'analyse des résultats, les DA de la retenue ont très mal supporté l'encagement en comparaison avec les DA prélevées sur les sites de référence et transférées dans le lac et en Moselle. Il est probable que les DA de la retenue déjà soumises à un stress plurimétallique important, soient beaucoup plus sensibles à un stress supplémentaire (encagement). L'argument selon lequel les organismes vivant dans des conditions proches des limites de leur capacité d'acclimatation soient plus sensibles à tout stress supplémentaire a déjà été retenu par Hummel *et al.* (1995, 1996) et Mouneyrac *et al.* (2002).

L'encadré ci-dessous présente les faits principaux constatés :

- Les concentrations en cuivre dans les DA de la station Mos1 correspondent au niveau métabolique.
- Le bioaccumulation du cuivre dans les DA est fonction du niveau de contamination du site, avec une concentration en cuivre qui est multipliée par 15 dans la retenue du Mirgenbach et par 5 en station Mos2 par rapport à Mos1.
- Il existe une régulation du cuivre et du zinc très efficace chez les DA. Cependant la dépense énergétique considérable, liée principalement à la contamination en cuivre pourrait être à l'origine de la fragilisation de la population de DA.
- Il existe une corrélation très forte entre les concentrations en cuivre dans les DA et celle de l'eau dans la retenue. L'absence de corrélation en Moselle est plutôt le fait d'un échantillonnage d'eau non représentatif.
- Il n'y a pas, de même que dans l'eau brute, de différence interstation dans les niveaux de bioaccumulation en zinc dans les DA.
- L'absence de corrélation entre les concentrations en zinc dans les DA et dans l'eau brute serait due au fait que l'absorption du zinc se fait principalement par voie trophique et qu'elle est fortement dépendante des conditions du milieu.
- Il existe une variation saisonnière des niveaux de bioaccumulation en cuivre et en zinc.
- Il existe une corrélation entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les DA.

III.1.1.2. Les corbicules (Corbicula fluminea)

III.1.1.2.a. Variation stationnelle des niveaux de contamination en cuivre et en zinc dans les corbicules autochtones (CoA)

Le **Tableau III-25** présente les moyennes et l'amplitude de variation des concentrations (mg/kg de ms) en cuivre et en zinc mesurées dans les corbicules autochtones (**CoA**) des stations Mos1, Mos2 et Mos3 de la rivière Moselle.

Les CoA accumulent le cuivre à hauteur de 42 +/- 12, 96 +/- 19 et 44 +/- 9 mg Cu/kg de ms, respectivement aux stations Mos1, Mos2 et Mos3.
Dans le cas du zinc les teneurs moyennes varient respectivement pour les stations Mos1, Mos2 et Mos3 de 261 +/- 99, à 303 +/- 111 et 256 +/- 94 mg Zn/kg de ms.

La différence de concentration en cuivre et en zinc entre les CoA des stations Mos1 et Mos3, n'est pas significative ($p<0.05$), alors que les CoA de la station Mos2 accumulent significativement plus de cuivre et de zinc que celles des stations Mos1 et Mos3. Toutefois, la concentration moyenne en cuivre mesurée dans les CoA de la station Mos2 représente 2.2 et 2.3 fois celle des CoA des stations Mos1 et Mos3 alors que pour le zinc le facteur n'est que de 1.2 entre Mos2 et Mos1-Mos3.

Tableau III-25 : Moyennes et amplitudes de variation des concentrations (mg/kg de ms) en cuivre et en zinc entre janvier 2001 et décembre 2002 dans les corbicules autochtones (**CoA**) de la rivière Moselle en fonction de la station de collecte.

		Mos1	Mos2	Mos3
Cu mg/kg de ms	Moyenne	42 +/- 12	96 +/- 19	44 +/- 9
	Min - Max	16 - 87	56 - 141	27 - 68
	Nind	612	663	442
	N dosage	196	236	176
	test t (p<0,05)	a	b	a
Zn mg/kg de ms	Moyenne	261 +/- 99	303 +/- 111	256 +/- 94
	Min - Max	105 - 551	81 - 649	78 - 461
	Nind	612	663	442
	N dosage	196	236	176
	test t (p<0,05)	a	b	a

II.1.1.1.b. Variation temporelle des niveaux de bioaccumulation dans les corbicules autochtones (CoA)

Les **Figures III-51** et **III-52** présentent les variations temporelles des concentrations en cuivre et en zinc (mg/kg de ms) dans les CoA entre janvier 2001 et décembre 2002 en fonction de la station de collecte (Mos1, Mos2 et Mos3).

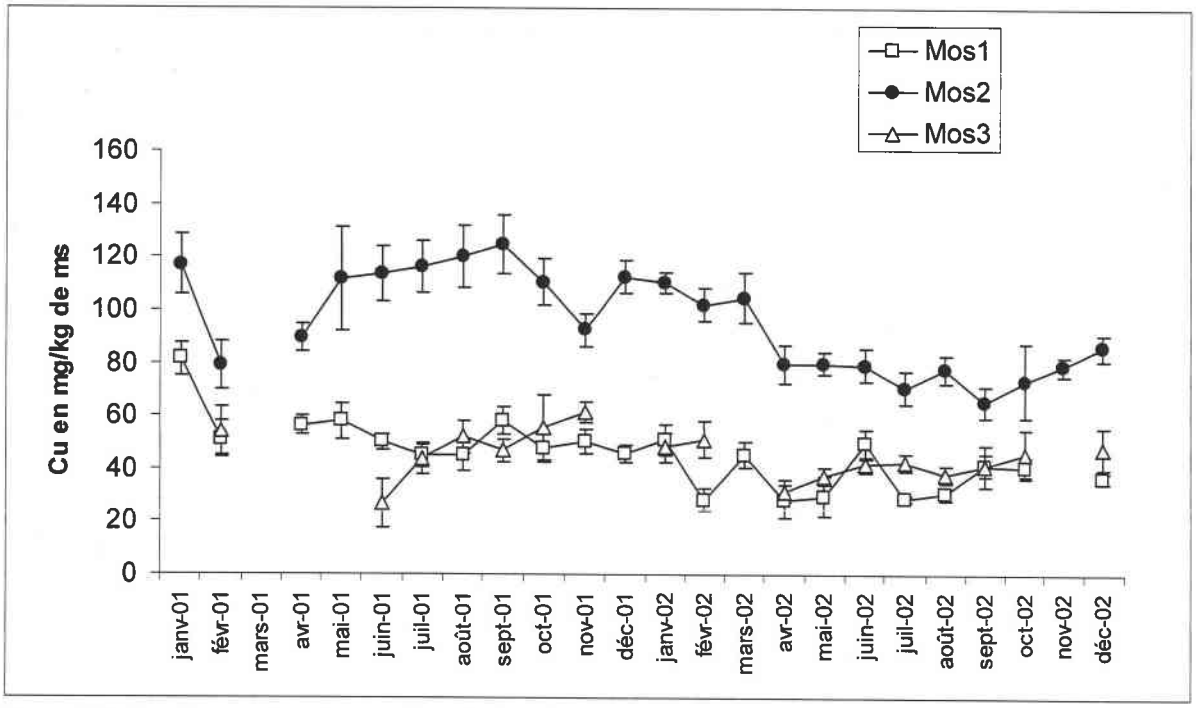


Figure III-51 : Comparaison interstations de l'évolution temporelle des concentrations en **cuivre** (mg/kg de ms) dans les corbicules autochtones (CoA) prélevées mensuellement de janvier 2001 à décembre 2002.

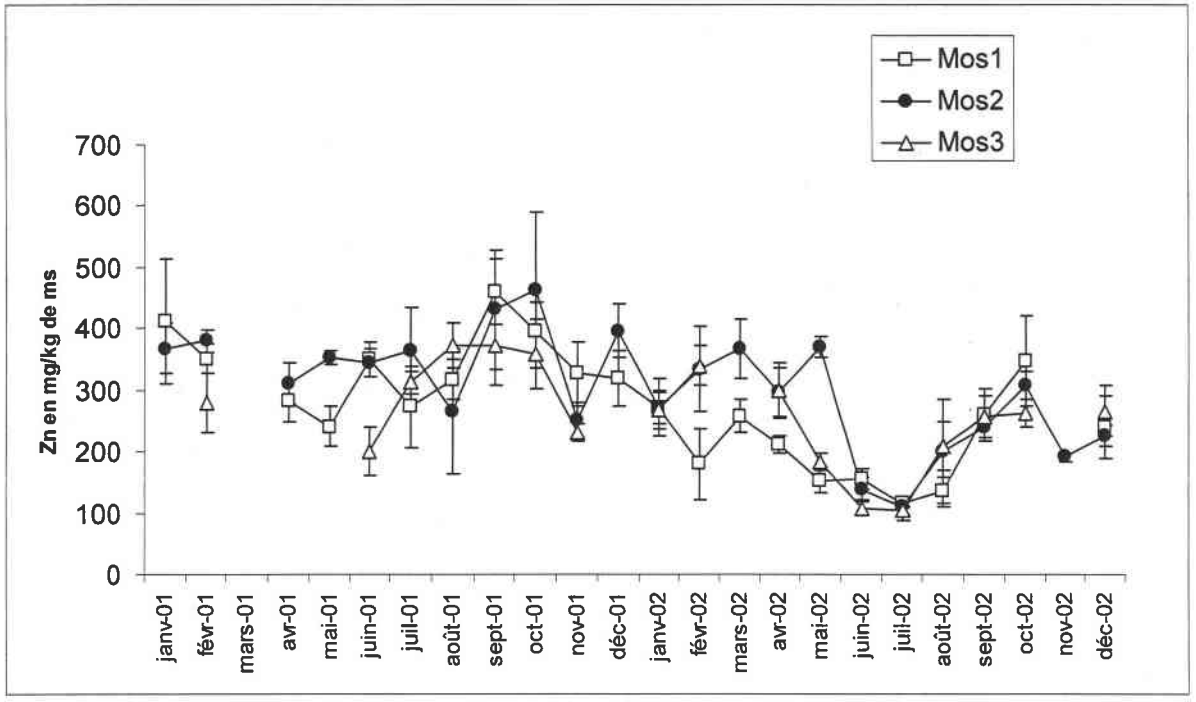


Figure III-52 : Comparaison interstations de l'évolution temporelle des concentrations en **zinc** (mg/kg de ms) dans les corbicules autochtones (CoA) prélevées mensuellement de janvier 2001 à décembre 2002.

L'évolution temporelle des concentrations en cuivre est corrélée significativement (r de Pearson, $p<0.05$) entre les CoA de la station Mos1 et celles de la station Mos2 ($r = 0.54$) mais aucune corrélation n'est observée entre les stations Mos1 et Mos3 ou entre Mos2 et Mos3.

Dans le cas du zinc, toutes les stations sont intercorrélées avec des coefficients significatifs et respectifs pour Mos1*Mos2, Mos1*Mos3 et Mos2*Mos3 de 0.69, 0.63 et 0.69.

Si, à présent, l'évolution des concentrations en cuivre et en zinc dans les CoA est considérée en fonction de la saison de collecte, il apparaît pour le cuivre que les niveaux de bioaccumulation dans les CoA sont supérieurs en automne-hiver par rapport à la période printemps-été.

Une ANOVA à deux facteurs à permis de mettre en évidence une différence station*saison ($p<0.05$) qui signifie qu'il existe des différences en fonction de la station considérée dans l'évolution saisonnière des niveaux de bioaccumulation en cuivre, et également en zinc (**Figure III-53 A et B**).

Dans le cas du cuivre cette différence réside principalement dans une augmentation significative des concentrations en cuivre dans les CoA de la station Mos2 en hiver par rapport à l'automne et en été par rapport au printemps. En dehors de cette différence significative, il existe sur toutes les stations une augmentation progressive et plus ou moins marquée des concentrations en cuivre dans les CoA au cours des saisons avec selon un ordre croissant printemps $\leq$ été $\leq$ automne $\leq$ hiver. Remarquons également que la pente d'augmentation des concentrations en cuivre jusqu'en automne est plus marquée dans les CoA des stations Mos2 et Mos3 qu'au niveau de la station Mos1.

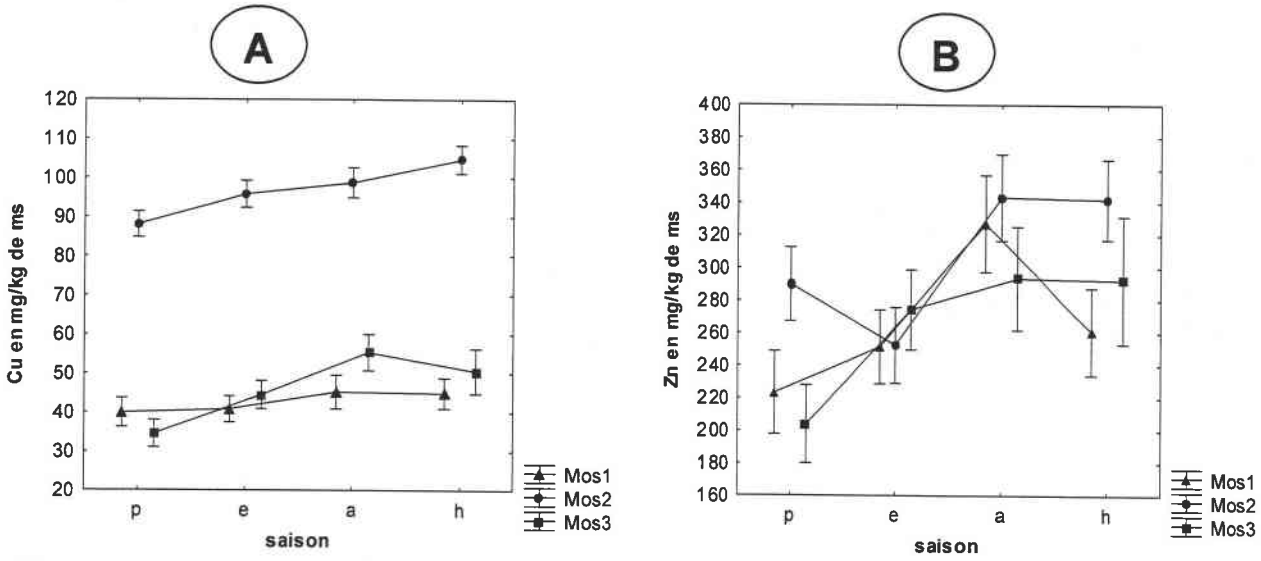


Figure III-53 A et B : Evolution saisonnière des concentrations (mg/kg de ms) en cuivre et en zinc dans les CoA en fonction de la station d'étude. p : printemps ; e : été ; a : automne ; h : hiver.

Concernant le zinc, les profils saisonniers des concentrations sont presque similaires entre les stations, à la différence près que les niveaux de bioaccumulation en zinc des CoA de la station Mos1 sont en hiver significativement inférieurs à ceux de l'automne (**Figure III-53 B**). Pour toutes les stations les niveaux de bioaccumulation en zinc des CoA sont significativement supérieurs (test t, $p<0.05$) en automne par rapport à l'été et au printemps. Dans le cas des CoA de Mos2, le niveau de bioaccumulation en zinc suit le schéma suivant : été = printemps < automne = hiver. Alors que pour les stations Mos1 et Mos3, il existe une augmentation progressive des niveaux de bioaccumulation en zinc du printemps vers l'automne, puis en hiver ce niveau se stabilise à la station Mos3 ou diminue à la station Mos1.

III.1.1.2.c. Relation entre le niveau de contamination du milieu et celui de l'organisme

Aucune corrélation significative n'a pu être mise en évidence entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les organismes et celles mesurées ponctuellement dans l'eau brute à chaque station.

III.1.1.2.d.. Etude de la relation entre les teneurs en cuivre et en zinc dans les CoA en fonction de la station d'étude

L'étude de la relation entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les CoA aux différentes stations d'étude est présentée en **Figure III-54**.

Des corrélations significatives entre les deux variables sont observées dans les CoA des stations Mos1 et Mos2 avec des coefficients de Pearson respectifs de 0.78 et 0.62, significatifs à $p<0.05$. Concernant la station Mos3, la corrélation entre les concentrations en cuivre et en zinc est non significative.

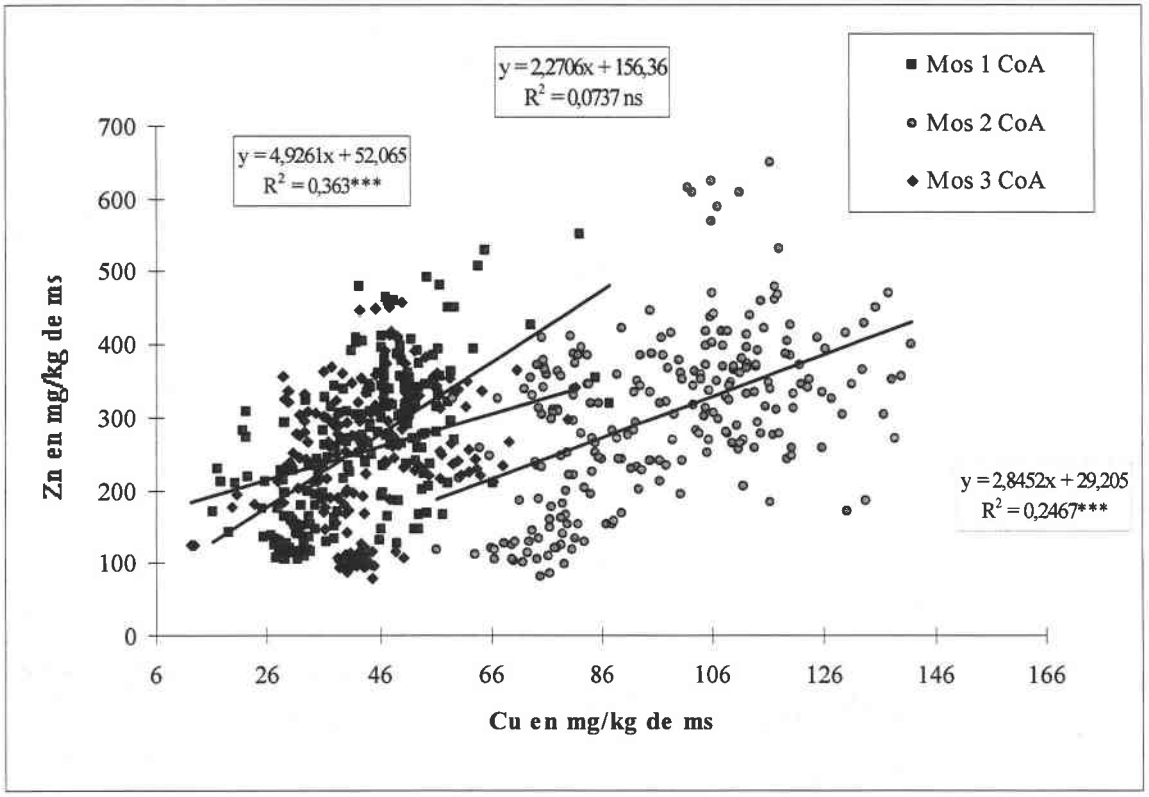


Figure III-54 : Relation entre les concentrations en cuivre et en zinc (mg/kg de ms) dans les corbicules autochtones en fonction de la station d'étude (Mos1, Mos2, Mos3). La linéarité des relations est testée par une matrice de corrélation de Pearson, dont les coefficients sont considérés comme significatifs à $p<0.05$. *** : Résultat significatif ($p<0.05$), ns : Résultat non significatif.

Des corrélations significatives entre les deux variables sont observées dans les CoA des stations Mos1 et Mos2 avec des coefficients de Pearson respectifs de 0.78 et 0.62, significatifs à $p<0.05$. Concernant la station Mos3, la corrélation entre les concentrations en cuivre et en zinc est non significative.

La **Figure III-54**, permet également de constater la superposition de la dispersion des points pour les stations Mos1 et Mos3, alors que les points relatifs aux mesures effectuées dans les CoA de la station Mos2 se distinguent clairement par des concentrations en cuivre supérieures.

Pour expliquer l'absence de corrélation entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les CoA de la station Mos3, alors qu'elle est observée aux stations Mos1 et Mos2, une hypothèse peut être avancée. L'échantillonnage de la station Mos3 est moins régulier que celui des autres stations en raison de l'impact important des crues sur le niveau d'eau de cette station non canalisée et qui se trouve en aval du barrage de régulation de la rivière Moselle contrairement aux stations Mos1 et Mos2, d'où une accessibilité réduite en automne et au printemps.

III.1.1.2.e. Discussion partielle

a. Variation stationnelle des niveaux de bioaccumulation en cuivre et en zinc dans les corbicules autochtones (CoA)

Les résultats ont mis en évidence des concentrations en cuivre et en zinc supérieures dans les CoA de la station Mos2 par rapport à celles des stations Mos1 et Mos3.

Rappelons que d'une part les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute sont dans l'ordre Cu-Zn de 4.2 – 23 µg/l en Mos1; 30 – 28 µg/l en Mos2; 4.4 – 20 µg/l en Mos3. D'autre part, il est nécessaire de considérer le fait que la stations Mos2 correspond à la rive en aval proche du rejet général, soit un niveau de contamination de l'eau brute très inférieur par rapport au rejet et avec dans les sédiments aucune trace de contamination supplémentaire en cuivre et en zinc par rapport aux stations Mos1 et Mos3 (cf. Chapitre I). Bien que la zone Mos2 rive ne soit pas propice à la sédimentation des particules provenant du rejet général, ce qui explique l'absence de cuivre dans les sédiments, il est probable que ces matières en suspension puissent être absorbées par les corbicules. Ces faits contribuent à expliquer que les concentrations en cuivre dans les corbicules ne soient pas proportionnelles au niveau de contamination mesuré dans l'eau brute, et que les corbicules de la station Mos2 reflètent un niveau de contamination supérieur par rapport à ceux des stations Mos1 et Mos3.

b. Relation entre le niveau de bioaccumulation en cuivre et en zinc des corbicules autochtones avec le niveau de contamination du site d'étude

L'accumulation du cuivre et du zinc dans les CoA des stations "Moselle" semble indépendante des concentrations métalliques de l'eau brute. Concernant le zinc, l'absence de corrélation entre le niveau d'accumulation des organismes et les concentrations du milieu a déjà été mise en évidence par Foe et Knight (1986a et b), Couillard *et al.* (1995a, b), Andres, 1997 et Fraysse (2001). Le même facteur multiplicatif de la contamination en zinc est mesurée dans les organismes et dans l'eau brute entre Mos2 et Mos1-Mos3. Cependant comme nous l'avons déjà mentionné, la concentration en zinc de la station Mos2 rive est certainement équivalente à celles des stations Mos1 et Mos3. Par conséquent, il est probable que l'augmentation significative du niveau de contamination en zinc soit plutôt le fait d'autres facteurs biologiques ou physico-chimiques.

L'une des différences entre les station Mos1-Mos3 et la station Mos2, est une augmentation de température dans le rejet général qui pourrait, en accélérant le métabolisme des organismes, accroître la quantité de métaux ingérée par filtration (Andres, 1997). De même, l'augmentation de la turbidité de l'eau à la station Mos2 rive du fait des forts débits de rejet, pourrait favoriser l'accumulation du zinc par les organismes comme cela a été rapporté par Klerks & Fraleigh (1997). Cependant si ces paramètres affectaient la quantité de métaux ingérés par les CoA, ce serait également le cas pour les DA.

c. Variations saisonnières des niveaux de bioaccumulations en cuivre et en zinc dans les corbicules autochtones

Une évolution saisonnière de la contamination en cuivre et en zinc a été mise en évidence dans les corbicules autochtones avec des concentrations en cuivre et en zinc qui semblent croître du printemps jusqu'à l'automne puis se stabiliser en hiver. Cette augmentation progressive des concentrations en métaux dans les CoA pourrait être le fait de la reprise d'activité et de la croissance des organismes après l'hiver lorsque la température de l'eau et la disponibilité en nourriture augmentent. Pour corréler ces faits, Bachman (2000) a montré que le poids sec des corbicules augmentait du début du printemps jusqu'au mois de juillet. L'accélération du métabolisme qui accroît les échanges avec le milieu extérieur pourrait en partie expliquer l'augmentation des niveaux de bioaccumulation. La principale période de reproduction a lieu en août – septembre et correspond, selon Bachman (2000), à un ralentissement de la croissance et à une perte de poids des individus. Cependant la perte de poids observée pourrait être due au fait que les larves se nourrissent grâce à des cellules hémibranchiales maternelles (Doherty et al., 1987b) et puisent dans les réserves de la mère (Bachman, 2000). Ceci pourrait signifier que la perte de poids n'est pas liée à une réduction de la prise alimentaire et de fait, expliquer que les niveaux de bioaccumulation en cuivre et en zinc augmentent encore à cette période. Et ce d'autant plus que la reproduction est consommatrice d'éléments essentiels.

L'augmentation des concentrations en cuivre en automne et en hiver pourrait également être la conséquence, comme pour les dreissènes d'un ralentissement des mécanismes d'excrétion suite au ralentissement du métabolisme.

Cette augmentation des niveaux de bioaccumulation en cuivre et en zinc pourrait également être due au fait que les corbicules puissent, lorsque la disponibilité en nourriture diminue, prélever directement des micro-organismes ou des nutriments sur et dans les sédiments grâce à son pied cilié (Britton & Morton, 1982 ; Way et al., 1990), d'autant plus que pendant la saison froide les corbicules tendent à s'enterrer dans les sédiments.

A la station Mos2, le rejet de la centrale pourrait également participer à la variation saisonnière des niveaux de bioaccumulation en cuivre et en zinc dans les organismes.

d. Relation entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les corbicules autochtones

Une corrélation entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les CoA est observée à la station Mos1, mais également à la station Mos2, ce qui signifie que les concentrations en cuivre et en zinc varient en concomitance dans les organismes. L'absence de cette relation au niveau de la station Mos3 pourrait être le fait d'un échantillonnage plus dispersé des organismes.

Cette relation linéaire entre les concentration en cuivre et en zinc dans les CoA, conformément aux observations faites dans les DA, pourrait s'expliquer par une prise ne charge similaire des deux métaux par les organismes.

e. Comparaison entre les réponses de bioaccumulation fournies par les dreissènes et les corbicules autochtones aux différentes stations

En comparaison avec les DA, les CoA semblent plus aptes à accumuler les métaux dans un contexte de faible et moyenne contamination métallique puisque leurs concentrations en cuivre et en zinc sont supérieures respectivement pour les stations Mos1, Mos2 et Mos3, d'un facteur 1.5, 2 et 1.9 pour le cuivre et 1.3, 1.6 et 1.4 pour le zinc. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que les corbicules vivent dans le sédiment alors que les dreissènes colonisent les substrats rocheux. Les corbicules sont également capables d'absorber via le pied des quantités non négligeables de sédiments, en effet dans un milieu riche en matière organique, où les particules en suspension sont inadéquates à la filtration, les corbicules peuvent devenir déposivores (Reid *et al.*, 1992).

La même évolution interstation des concentrations en cuivre est observée chez *C. fluminea* par rapport aux DA, à savoir une concentration supérieure à la station Mos2.

En ce qui concerne le zinc dans les CoA, la concentration augmente de façon significative à la station Mos2. Les deux organismes semblent, de fait, avoir un comportement différent face à l'augmentation de la pression de contamination en zinc au niveau de la station Mos2. Fraysse (2001) a mis en évidence un comportement différent des corbicules et des dreissènes face à l'augmentation de la pression de contamination en zinc. Cet auteur montre que la répartition du zinc entre les ensembles tissulaires est constante dans le temps chez *D. polymorpha* et ne dépend pas de la pression de contamination métallique. Par ailleurs, *D. polymorpha* semble réguler les apports excessifs de métal alors *que C. fluminea* présente un profil de contamination spécifique pour chaque station (niveau d'accumulation et redistribution tissulaire du métal). De plus Baudrimont *et al.* (1999) concluent que les MT semblent jouer un rôle plus faible dans la régulation du zinc chez *C. fluminea*, avec seulement 5 à 9% du zinc accumulé portés par les MT. D'ailleurs un apport supplémentaire de zinc n'aurait pas la capacité d'induire la production des MT dans l'organisme (Baudrimont, 1997).

Les principaux résultats sont les suivants :

- Les concentrations en cuivre dans les CoA sont représentatives du niveau de contamination de la station d'étude en Moselle.
- Dans le cas du zinc, les concentrations dans les CoA sont également représentatives du niveau de contamination du site, contrairement aux DA.
- Il n'existe pas de corrélation entre l'évolution des concentrations en cuivre et en zinc dans les CoA et dans l'eau brute, comme pour les DA en Moselle.
- Les CoA sont plus aptes à accumuler les métaux que les DA et ceci peut être le fait de différences dans la biologie des deux organismes.
- Il existe une variation saisonnière des concentrations en cuivre et en zinc avec un maximum d'accumulation en hiver.
- Il existe une corrélation Cu*Zn dans les CoA, comme dans les DA.

III.1.2. Etude de la bioaccumulation du cuivre et du zinc par les crustacés

III.1.2.1. Résultats

III.1.2.1.a. Profils de bioaccumulation du cuivre et du zinc par les gammares aux différentes stations d'étude

Les **Figures III-55** et **III-56** présentent la variation des concentrations en cuivre et en zinc chez *Dikerogammarus villosus* pour les différentes stations en Moselle et dans la retenue du Mirgenbach en fonction de la date de collecte.

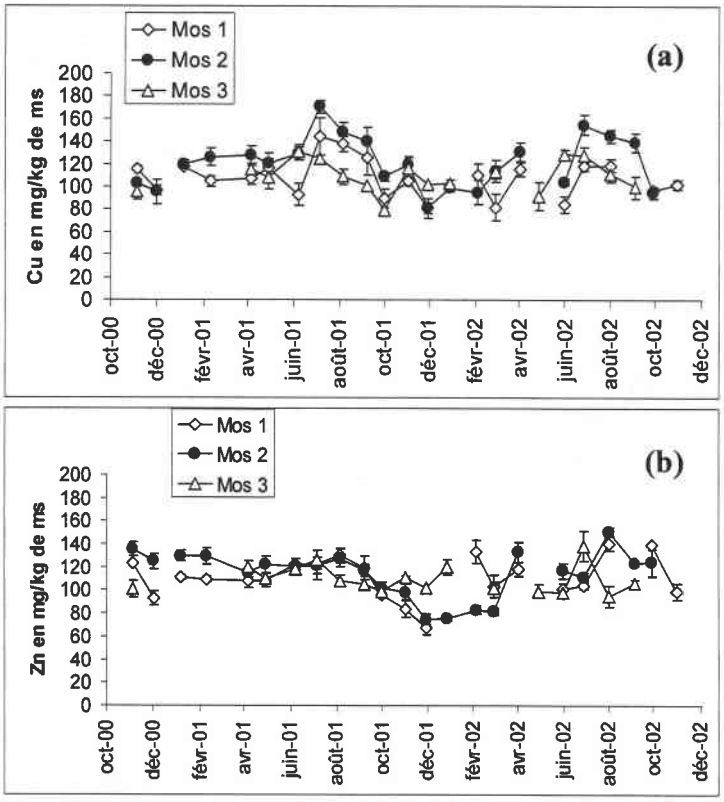


Figure III-55 : Evolution des concentrations en cuivre (a) et en zinc (b) (en mg/kg de ms) dans les gammares en fonction des stations en Moselle et de la date de collecte d'octobre 2000 à décembre 2002.

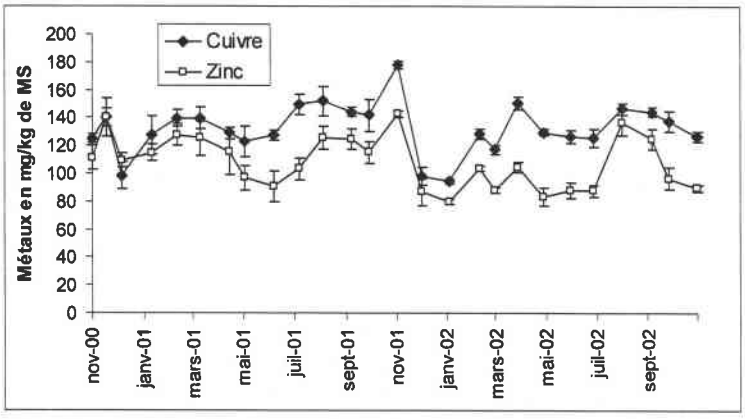


Figure III-56 : Evolution des concentrations en cuivre et en zinc (mg/kg de ms) dans les gammares de la retenue du Mirgenbach en fonction de la date de collecte de novembre 2000 à novembre 2002.

Le premier constat qui peut être fait concerne la faible variabilité des concentrations en cuivre et en zinc entre les différentes stations. En effet au niveau des stations Mos1, Mos2 et Mos3 les profils d'évolution des concentrations en cuivre et en zinc sont quasiment confondus. Cette situation est très différente de celle observée précédemment chez les corbicules et les dreissènes, avec un profil d'évolution des concentrations en cuivre de la station Mos2 s'individualisant clairement de ceux de Mos1 et Mos3.

Pour les stations « Moselle », les concentrations moyennes (mensuelles) en cuivre dans les gammares varient en fonction de la date de collecte entre 51 et 144, 81 et 171 et 79 et 131 mg Cu/kg de ms respectivement aux stations Mos1, Mos2 et Mos3.
Ces variations sont caractérisées par des pics de concentrations en cuivre en juillet et août 2001 puis en juillet et août 2002 sur toutes les stations « Moselle ». Aux mois de juillet 2001, août 2001, juillet 2002 et août 2002, les niveaux de bioaccumulation en cuivre sont respectivement de 144, 138, 118 et 119 mg Cu/kg de ms à la station Mos1, de 171, 148, 155 et 145 mg Cu/kg de ms à la station Mos2 et de 131, 125, 129 et 128 mg Cu/kg de ms à la station Mos3.
Les concentrations en zinc dans les gammares varient en fonction de la date de collecte entre 67 et 141 mg Zn/kg de ms, entre 75 et 150 mg Zn/kg de ms et entre 80 et 143 mg Zn/kg de ms, respectivement aux stations Mos1, Mos2 et Mos3.

Dans la retenue du Mirgenbach, les concentrations en cuivre évoluent entre 97 et 178 mg Cu/kg de ms, soit une amplitude de variation des moyennes mensuelles équivalente à celle de la station Mos2. Les maxima de concentration en cuivre dans les gammares sont observées, non pas sur une ou deux dates, comme en rivière Moselle, mais plutôt sur une période qui correspond aux mois de juillet, août, septembre, octobre, novembre 2001 et aux mois de août, septembre, octobre 2002 avec des valeurs respectives de 149, 152, 144, 142 et 178 mg Cu/kg de ms en 2001 et 147, 144 et 138 mg Cu/kg de ms en 2002. Par conséquent, il semblerait que cette période d'augmentation du niveau de bioaccumulation en cuivre dans les gammares se produise sur toutes les stations au cours de la période estivale, mais qu'elle est de plus longue durée dans la retenue du Mirgenbach.

La **Figure III-56**, met également en évidence une diminution importante des concentrations en cuivre au mois de décembre 2000 et décembre 2001 puisque les valeurs chutent respectivement de 140 à 99 mg Cu/kg de ms entre novembre et décembre 2000, et de 178 à 99 mg Cu/kg de ms entre novembre et décembre 2001.

Les moyennes mensuelles des concentrations en zinc dans les gammares varient de 80 à 143 mg Zn/kg de ms avec une moyenne au cours de la période d'étude de 109 +/- 23 mg Zn/kg de ms.

Le **Tableau III-26** présente les concentrations moyennes en cuivre et en zinc sur la période d'étude et les gammes de variation en fonction des échantillons (le nombre de gammares utilisés pour constituer un échantillon varie entre 8 et 15).

Tableau III-26 : Comparaison interstations des concentrations moyennes (2000, 2001, 2002) en cuivre et en zinc dans les gammares des stations Moselle et Mirgenbach.

Station	Paramètre	Cu (mg/kg de ms)	Zn (mg/kg de ms)	N analyses
Mos 1	Moyenne	106 +/- 20	106 +/- 23	101
	Min-Max	52-160	58-150	
Mos2	Moyenne	125 +/- 26	113 +/- 22	125
	Min-Max	70-178	60-155	
Mos3	Moyenne	113 +/- 14	112 +/- 14	71
	Min-Max	76-138	84-154	
Mir	Moyenne	135 +/- 19	109 +/- 23	172
	Min-Max	95-178	64-214	

Les concentrations en cuivre et en zinc ne sont pas différentes (test t, $p<0.05$) entre les gammares des stations Mos1 et Mos3, alors qu'elles le sont entre les gammares des stations Mos2 et Mir (test t, $p<0.05$).

La **Figure III-57 (a et b)** présente une comparaison interstations des concentrations moyennes en cuivre et en zinc (mg/kg de ms) dans les gammares.

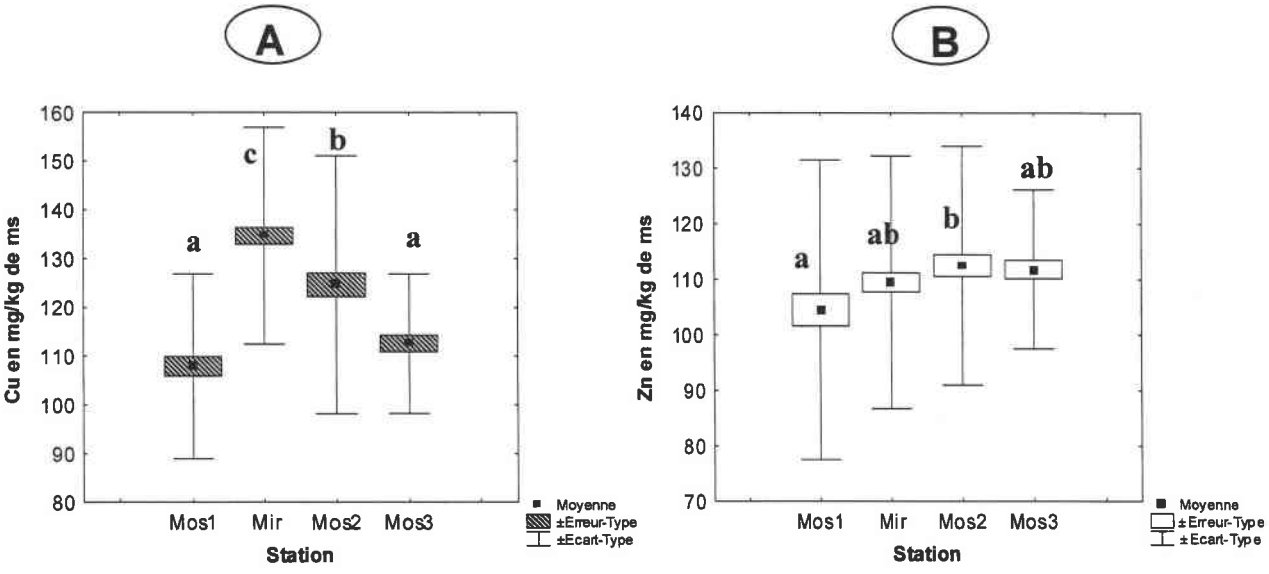


Figure III-57 : Variation interstations des concentrations en cuivre (a) et en zinc (b) (en mg/kg de ms) dans *Dikerogammarus villosus*.

Le **Figure III-57a** fait clairement apparaître une augmentation significative (test t, $p<0.05$) de la concentration moyenne en cuivre dans les gammares de la retenue du Mirgenbach par rapport à la station amont Mos 1 et par rapport à la station Mos3. Dans le cas de la station Mos2, cette différence bien que significative ($p<0.05$) est moins marquée. Par ailleurs les concentrations moyennes en cuivre des stations Mos1 et Mos3 ne sont pas

significativement différentes (test t, $p<0.05$). Par conséquent, un gradient de contamination en cuivre est constaté avec dans un ordre croissant les stations Mos1=Mos3 < Mos2 < Mir. Cependant il est a noté qu'aucune relation significative ($p<0.05$) n'a pu être établie entre les concentrations métalliques (cuivre et zinc) dans les gammares et les concentration dans le milieu (eau brute).

En ce qui concerne le zinc (**Figure III-57b**), la seule différence significative (test t, $p<0.05$) est observée entre les concentrations moyennes des gammares des stations Mos1 et Mos2.

III.1.2.1.b. Comparaison des profils d'accumulation du cuivre et du zinc par les gammares

A la vue des résultats obtenus dans la retenue du Mirgenbach, il apparaît (**Figure 55**) que les concentrations en cuivre et en zinc suivent une même évolution au cours de la saison. Cette observation est confirmée par l'existence d'une corrélation significative entre les concentrations moyennes en cuivre et en zinc dans les gammares de la retenue du Mirgenbach avec un coefficient r de Pearson de 0.67. Dans la rivière Moselle, une corrélation significative ($p<0.05$) est également observée entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les gammares aux différentes stations avec des coefficients de Pearson respectifs pour les stations Mos1, Mos2 et Mos3 de 0.61, 0.56 et 0.58.

III.1.2.1.c. Influence de la taille des gammares sur les concentrations en cuivre et en zinc

La **figure III-58** présente les profils d'évolution des concentrations en cuivre et en zinc dans les gammares en fonction de la classe de taille considérée (10-15 mm, 15-20 mm, 20-25 mm, 25-35 mm). Aucun effet de la taille sur la concentration en cuivre et en zinc des gammares n'a pu être mis en évidence.

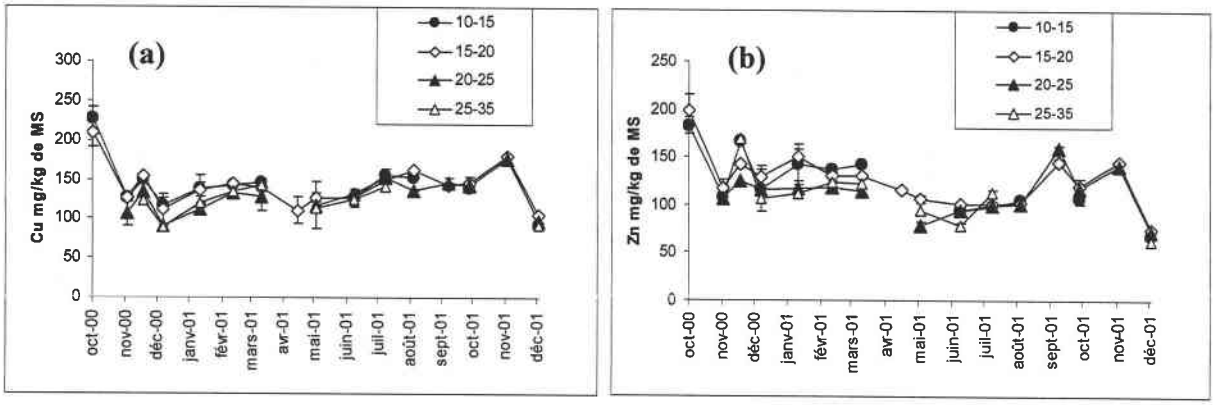


Figure III-58 : Evolution des concentrations en cuivre (a) et en zinc (b) (en mg//kg de ms) dans les gammares en fonction de leur taille et de la période de collecte. Classes de taille 10-15, 15-20, 20-25 et 25-35 mm.

III.1.2.1.d. Comparaison des profils de bioaccumulation du cuivre et du zinc chez deux espèces de crustacés, un amphipode (gammare, *Dikerogammarus villosus*) et un décapode (caridine, *Atyaephyra desmarestii*). Corrélations avec les concentrations dans l'eau

Les **Figures III-59 et III-60** mettent en évidence les profils de bioaccumulation en cuivre et en zinc par les gammares et les caridines. Seuls les profils d'évolution des concentrations en zinc sont corrélés entre les deux crustacés avec un coefficient de Spearman de 0.73 significatif à $p<0.05$. Toutefois des similitudes dans les profils de bioaccumulation du cuivre sont observables pour le cuivre, comme la diminution de sa concentration dans les organismes en décembre 2000 et 2001.

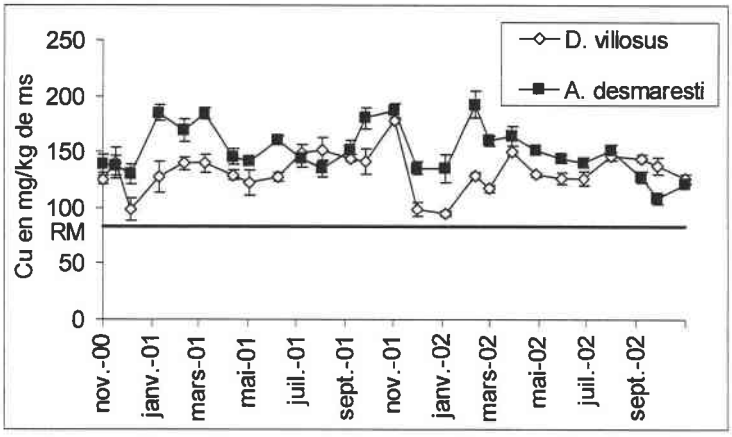


Figure III-59 : Comparaison des profils de bioaccumulation du cuivre (mg/kg de ms) par le gammare (*D. villosus*) et la caridine (*A. desmarestii*) au cours de la période d'étude dans la retenue du Mirgenbach. RM : référence métabolique de 82.8 mg Cu/kg de ms selon Depledge (1989).

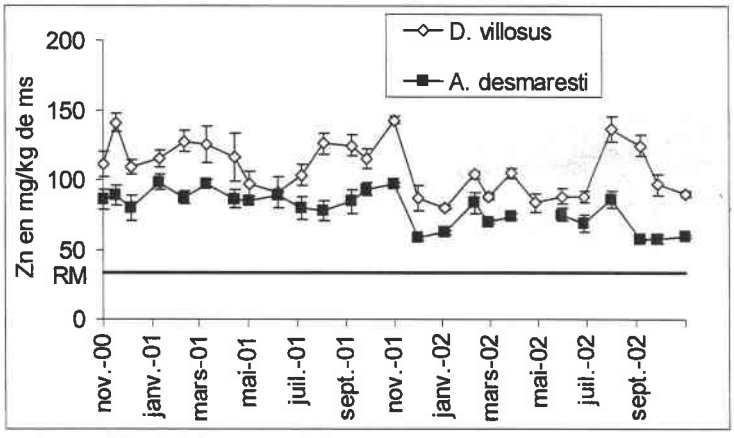


Figure III-60 : Comparaison des profils de bioaccumulation du zinc (mg/kg de ms) par le gammare (*D. villosus*) et la caridine (*A. desmarestii*) au cours de la période d'étude dans la retenue du Mirgenbach. RM : référence métabolique de 33.3 mg Zn/kg de ms selon Rainbow (1993).

Dans les caridines la concentration moyenne (mensuelle) en cuivre varie entre 108 et 192 mg Cu/kg de ms et la moyenne sur la période d'étude est de 151 mg Cu/kg de ms, alors que la concentration moyenne en zinc est de 80 mg Zn/kg de ms avec une variation de 57 à 98 mg Zn/kg de ms selon le mois considéré. Les caridines accumulent plus de cuivre et moins de zinc que les gammares (135 +/- 19 Mg Cu/kg de ms et 109 +/- 23 mg Zn/kg de ms) avec des différences significatives (test t, $p<0.05$).

Entre les mois de juin et juillet 2001, une corrélation significative ($r=0.92$, $p<0.05$) entre les concentrations en cuivre dans les caridines et celles de l'eau à la station Mir rep est observée, cependant elle n'est pas confirmée en 2002. La station Mir rep est utilisée pour établir une relation avec les caridines car cette station est une station plus littorale que la station Mir M et elle est située après la zone de mélange du rejet des eaux de purge dans le lac. Ne disposant pas des concentrations en cuivre dans l'eau brute dans la zone de prélèvement des caridines, nous avons utilisée la station qui présentait les plus fortes similitudes.

III.1.2.2. Discussion

Tous les invertébrés aquatiques sont capables de capter les métaux soit à partir de leur environnement, soit à partir de la nourriture et la proportion relative de chaque voie d'entrée est variable selon le type d'invertébré et la biodisponibilité relative des métaux dans l'eau et dans la nourriture (voir Wang & Fisher, 1999a ; Rainbow & Wang, 2001). Ces voies d'entrée ne sont pas équivalentes ; chez les animaux à cuticule épaisse tels que la caridine et surtout le gammare, les métaux accumulés à partir de la phase dissoute sont souvent associés avec la carapace comme cela a été démontré chez les copépodes par Wang & Fisher (1998a). D'après ces auteurs, les métaux seraient retenus plus longtemps dans l'organisme lorsqu'ils sont ingérés *via* la nourriture.

Les taux de métaux accumulés dépendent de la physiologie de l'organisme et plus exactement de la quantité en métaux requise par l'organisme notamment dans le cas des métaux essentiels tels que le cuivre et le zinc. Contrairement aux métaux non-essentiels, qui après leur entrée dans l'organisme sous une forme métaboliquement disponible sont immédiatement pris en charge par la physiologie de l'organisme pour être détoxiqués ou excrétés, les métaux essentiels doivent rester métaboliquement disponibles pour jouer leur rôle d'élément essentiel.

Chez les crustacés, le cuivre est un constituant fonctionnel de l'hémocyanine qui intervient dans la physiologie respiratoire. Par conséquent, une certaine quantité de cuivre est requise sous une forme métaboliquement disponible dans le corps pour couvrir les besoins de l'organisme et il est possible d'évaluer cette quantité. Ainsi White & Rainbow (1985) ont estimé la quantité minimale de cuivre requise pour le métabolisme chez les mollusques et les crustacés. Les besoins enzymatiques en cuivre pour les crustacés sont estimés à 26.3 mg/kg de ms. La présence d'hémocyanine ajoute a cette quantité une proportion requise de cuivre non enzymatique de 57.4 mg Cu/kg de ms pour les crustacés tels que les décapodes. Depledge (1989) évalue la quantité de cuivre requise par les crustacés décapodes à 82.8 mg/kg de ms. Abdennour (1997) réalise le même type d'estimation et suggère que les crustacés décapodes ont besoin d'environ 31.3 à 38.1 mg/kg de ms de cuivre pour couvrir leur besoin en cuivre dans les enzymes et l'hémocyanine. De la même manière, Rainbow (1993) a calculé la quantité de zinc requise dans les tissus mous comme étant de 31.9 mg/kg de ms et 33.3 mg Zn/kg de ms dans le corps entier des décapodes. Les concentrations en zinc mesurées dans les espèces de crustacés décapodes marins varient de 57.5 (*Pandalus grandi*) à 159 mg Zn/kg de *ms (Carcinus moenas*) (Rainbow, 1993). Il est possible de considérer qu'à la station Mos1,

présentant un niveau de contamination en cuivre très faible, les gammares ne contiennent, de même que les dreissènes, qu'une quantité de cuivre proche de celle requise par le métabolisme. Par conséquent la concentration en cuivre minimale dans les gammares et correspondant aux besoins physiologiques serait comprise entre 81 et 144 mg Cu/kg de ms ce qui correspond aux données de Depledge (1989). La possession du pigment respiratoire hémocyanine justifierait donc de la différence de concentration en cuivre observée entre les bivalves et les crustacés au niveau de la station Mos1.

Les niveaux de bioaccumulation en cuivre sont dans la retenue du Mirgenbach, respectivement pour *D. villosus* et *A. desmaresti* de 135 +/- 19 et 151 +/- 21 mg Cu/kg de ms alors que ceux des dreissènes sont de 340 +/- 180 mg Cu/kg de ms. Et ce, malgré des besoins en cuivre accrus chez les crustacés par rapport aux espèces ne possédant pas le pigment respiratoire hémocyanine. En ce qui concerne le zinc, les concentrations mesurées dans les crustacées et les bivalves de la retenue sont de 109 +/- 23 mg Zn/kg de ms pour les gammares et de 173 +/- 44 mg Zn/kg de ms dans les dreissènes. La même différence de concentration en zinc est observée à la station Mos1 avec respectivement 106 +/- 23 mg Zn /kg de ms dans les gammares, 201 +/- 50 mg Zn/kg de ms dans les dreissènes et 261 +/- 99 dans les corbicules.

Par conséquent, les crustacés semblent avoir développé un système de régulation du cuivre et du zinc plus efficace que celui des bivalves, ce qui est en accord avec les observations de Bryan (1984) et Depledge & Rainbow (1990). Les crustacés décapodes régulent leurs concentrations corporelles en cuivre et en zinc à des niveaux approximativement constants (White & Rainbow, 1985, Rainbow, 1993). La mise en évidence de la régulation du cuivre et du zinc par les décapodes a été réalisée d'une part en laboratoire (sous des conditions contrôlées) (Rainbow, 1985, Rainbow & White, 1989) et d'autre part suite à l'observation de concentrations constantes dans les décapodes collectés sur différents sites (White & Rainbow, 1982). La régulation du cuivre et du zinc a également été mise en évidence chez les amphipodes (Week & Rainbow, 1992 ; Galay & Rainbow, 1998 ; Nassiri *et al.*, 2000 ; Correia *et al.*, 2002a, b).

Selon les stations, les concentrations en cuivre mesurées dans les gammares varient entre 106 +/- 20 et 135 +/- 19 mg Cu/kg de ms en moyenne et les concentrations en zinc varient de 106 +/- 23 à 113 +/- 22 mg Zn/kg de ms. Dans le cas du cuivre ces valeurs sont proches de celles rapportées par Rainbow (1998 et 2002) chez l'amphipode *Orchestia gammarellus* à Restronguet Creek (England) (139 mg Cu/kg de ms) et Millport (England) (77.5 mg Cu/kg de ms) et chez le décapode *Palaemon elegans* à Millport (110 mg Cu/kg de ms), mais restent très supérieures aux valeurs habituellement mesurées dans les copépodes, les amphipodes et les décapodes (Rainbow, 1998, 2002). Dans le cas du zinc, les niveaux de bioaccumulation en zinc dans les gammares sont du même ordre de grandeur que ceux mesurés chez les amphipodes, comme *Orchestia gammarellus* (Millport, Scotland) (188 mg Zn/kg de ms), *Talorschestia gaudichaudii* (Sabdfly bay, Dunedin) (133 mg Zn/kg de ms) (Rainbow, 1998, 2002). La caridine (80 +/-13 mg Zn/kg de ms) présente dans la retenue des niveaux de contamination en zinc, inférieurs à ceux des gammares, mais du même ordre de grandeur que ceux connus chez *Palaemon elegans*, *Pandalus montagui*, *Carcinus moenas* (Rainbow, 1998, 2002).

La présente étude a mis en évidence une variabilité saisonnière des concentrations en cuivre et en zinc dans les gammares. Les variations saisonnières des concentrations en cuivre pourraient être liées à la physiologie de l'organisme. Par exemple Hagerman (1983) a montré chez *Homarus gammarus* que la quantité de pigment hémocyanine dans le sang diminuait chez les organismes privés de nourriture et qu'elle dépendait également de la nature de la nourriture fournie aux animaux. La concentration en hémocyanine peut également être affectée par la saison de récolte des organismes (Fialkowski *et al.*, 2003). Des variations saisonnières des niveaux de bioaccumulation en cuivre ont été rapportées chez le crabe *Carcinus mediterraneus* (Devescovi & Lucu, 1995). Le cycle de mue modifie les concentrations en cuivre dans les crustacés possédant le pigment hémocyanine mais modifie également les concentrations en zinc (Engel & Brouwer, 1993 ; Engel *et al.*, 2001 ; Rainbow, 2000).

Chez les gammares, il existe une relation linéaire entre l'évolution des concentrations en cuivre et en zinc, comme cela a été observé chez les dreissènes (chapitre III-1). Cependant chez les gammares des stations Mos1 et Mos3, les concentrations en cuivre et en zinc sont identiques, alors qu'aux stations Mos2 et Mirgenbach, il existe une différence significative entre leurs concentrations respectives qui est le résultat de l'augmentation significative de la concentration en cuivre dans les organismes de la station Mos2 et de la retenue du Mirgenbach. Il semblerait donc que malgré l'absence de relation entre les concentrations en cuivre dans les gammares et celles du milieu (eau brute), le niveau de bioaccumulation des organismes reflète le gradient de contamination intersite. Par conséquent il apparaît que le gammare régule sa concentration en cuivre autour d'une valeur variable qui est fonction du niveau de contamination du milieu.

Conformément aux observations de Nugegoda & Rainbow, 1987, 1988 et Rainbow, 1990, les différences de concentrations en cuivre et en zinc observées entre les caridines et les gammares pourraient refléter des différences dans les quantités de cuivre et zinc requises par les deux espèces, et par conséquent il existerait des différences interspécifiques dans la régulation des concentrations en cuivre et en zinc. Cependant la variabilité interspécifique des concentrations en cuivre et en zinc peut également résulter de caractéristiques biologiques liées à chaque espèce ; comme par exemple le régime alimentaire, qui peut modifier l'efficacité d'assimilation des métaux, les cycles de mue, la reproduction, etc.

Le régime alimentaire des deux espèces est différent, la caridine étant plus végétarienne et détritivore et le gammare plutôt carnivore et détritivore, or le transfert des métaux ne sera pas le même vers un organisme végétarien ou vers un organisme prédateur. Par exemple chez les herbivores, il a été démontré que l'efficacité de l'assimilation des métaux ingérés était dépendante de la répartition cytoplasmique du métal dans les cellules algales consommées (Reinfelder & Fisher, 1991, Hutchins *et al.*, 1995) et que les métaux fixés sur les parois cellulaires et membranes ne sont pas assimilés mais excrétés *via* les fèces. De même, l'assimilation des éléments traces par les organismes carnivores dépend de la forme sous laquelle l'organisme proie a stocké les métaux (Wang & Fisher, 1999c). Les invertébrés, comme nous l'avons expliqué précédemment, séquestrent les métaux sous forme de granules insolubles (Nott & Nicolaidou, 1990) qui ne sont pas assimilés par les prédateurs (Nott & Nicolaidou, 1990 ; Wallace & Lopez, 1996).

D'après Rainbow (2002) les profils d'accumulation des métaux sont très variables chez les crustacés. Alors que chez *Palaemon elegans* une excrétion du zinc, sans recours à des processus de détoxication, est observée, chez la majorité des espèces, le stockage des métaux est réalisé sous une forme détoxiquée ; ce processus est d'ailleurs fréquent chez les invertébrés aquatiques. Cependant chez d'autres groupes de crustacés, comme les cirripèdes, le zinc accumulé à partir d'une solution est stocké sous une forme détoxiquée sans excrétion, d'où des niveaux de bioaccumulation très élevés.

Parmi les schémas d'accumulation du zinc incluant une phase d'excrétion des métaux, Rainbow (2002) différencie, l'excrétion des métaux cuivre et zinc à partir d'un pool métaboliquement disponible comme chez *Palaemon elegans* et l'excrétion des métaux à partir d'une forme détoxiquée comme chez *Orchestia gammarellus* (Nassiri et al., 2000).La présence de cuivre lié à des granules insolubles chez *Gammarus locustra* a été démontrée par Correia *et al.* (2002a). Ces granules riches en sulfures seraient formés en réponse à une concentration en cuivre dans l'eau ou les sédiments ; l'abondance de ces granules augmenterait en relation avec l'augmentation de la concentration en cuivre dans le corps. Ces observations suggèrent qu'au moins une partie du cuivre accumulé par *G. locustra* est incorporé dans des granules insolubles dans l'hépatopancréas. Mouneyrac *et al.* (2002) démontrent que, chez *O. gammarellus,* la répartition du cuivre et du zinc entre la fraction cytosolique et la fraction insoluble reste identique quel que soit le niveau d'exposition, ce qui suggère que les mécanismes de stockage du métal sont identiques dans toutes les conditions d'expérimentation. Nassiri *et al.* (2000) ont montré que quel que soit le niveau de contamination du milieu, les amphipodes utilisent les mêmes processus de détoxication des métaux. Ces auteurs considèrent que les métallothionéines pourraient avoir un rôle important dans les processus de détoxication, en liant le cuivre et le zinc avant leur lyse dans les lysosomes du caecum ventral du tractus digestif.

Les faits suivants peuvent être soulignés :

- Les niveaux élevés de bioaccumulation en cuivre chez les crustacés en station Mos1 sont, par rapport aux bivalves, caractéristiques de besoins physiologiques particuliers (Hémocyanine)
- Il existe une régulation très efficace du cuivre et du zinc chez les crustacés par rapport aux bivalves, mais le seuil de régulation est fonction du niveau de contamination du site.
- En hiver, les concentrations en cuivre dans les organismes diminuent pour approcher le niveau métabolique.
- Il existe des différences entre les niveaux de bioaccumulation des gammares et des caridines qui sont explicables par des différences dans la biologie des espèces.
- Les concentrations en cuivre et en zinc sont corrélées chez les caridines et dans les gammares.
- Les concentrations en zinc sont corrélées entre les deux crustacés, mais pas celles en cuivre. Il semblerait que chez la caridine, les concentrations en cuivre soient fonction, en période chaude, des niveaux de contamination du site.

III.1.3. Bioaccumulation du cuivre et du zinc par les gastéropodes aquatiques : Viviparus viviparus et Radix ovata

L'étude des gastéropodes en rivière Moselle et sur les stations d'étude est complexe en raison de l'accessibilité réduite et de la faible abondance des deux espèces. Par conséquent l'échantillonnage n'est pas homogène sur toutes les stations et une comparaison mois par mois est quasiment impossible. Par contre nous pouvons tenter de dégager les caractéristiques des profils de bioaccumulation des gastéropodes par rapport à ceux des bivalves et des crustacés.

III.1.3.1. Résultats

III.1.3.1.a. Bioaccumulation du cuivre et du zinc chez *Viviparus viviparus*

La **figure III-61** présente la comparaison interstations des concentrations en cuivre (a) et en zinc (b) dans le gastéropode *Viviparus viviparus.*

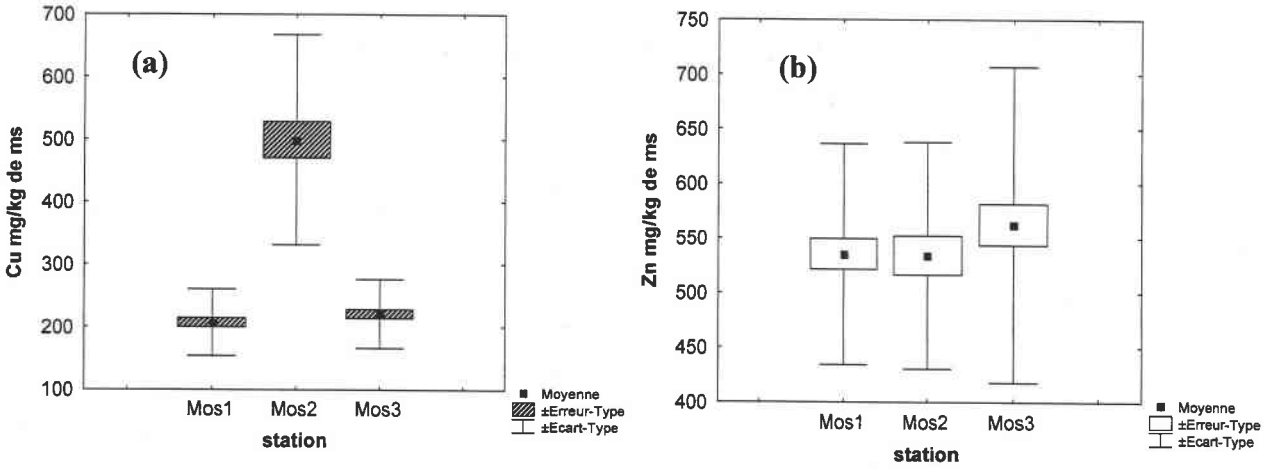


Figure III-61 : Comparaison interstations des concentrations moyennes en cuivre (a) et en zinc (b) chez *Viviparus viviparus* (n=39 pour la station Mos1, n=35 pour Mos2 et n=40 pour Mos3).

Les concentrations moyennes mesurées dans les vivipares sont significativement supérieures à la station Mos2 (499 +/- 168 mg Cu/kg de ms) par rapport aux stations Mos1 (207 +/- 53 mg Cu/kg de ms) et Mos3 (221 +/- 55 mg Cu/kg de ms) dont les valeurs sont similaires (test t, $p<0.05$). L'écart-type en station Mos2 est par ailleurs très supérieur à ceux de Mos1 et Mos3.

Les concentrations en zinc ne sont pas significativement différentes (test t, $p<0.05$) entre les stations Mos1 (535 +/- 101 mg Zn/kg de ms), Mos2 (534 +/- 104 mg Zn/kg de ms) et Mos3 (562 +/- 104 mg Zn/kg de ms). Les écart-types présentent des valeurs similaires.

La **Figure III-62**, présente l'évolution saisonnière des concentrations en cuivre et en zinc chez les vivipares.

L'intérêt est surtout porté sur les variations saisonnières des concentrations en station Mos2 étant donné qu'aucune différence significative des concentrations en zinc n'a pu être mise en évidence entre les stations Mos1 et Mos2, que les écart-types sans également similaires et que nous ne disposons pas de suffisamment de prélèvements pour établir une évolution saisonnière (pas de prélèvement en hiver et peu au printemps) des concentrations en cuivre et en zinc dans les organismes comme cela a été réalisé chez les bivalves et les crustacés. Concernant les concentrations en cuivre chez les vivipares de la station Mos2, une tendance semble commune aux années 2001 et 2002. En effet entre les mois de juillet/août et septembre 2001, la concentration en cuivre augmente significativement (test U de Mann-Whitney, $p<0.05$) et il en est de même entre les mois de juillet et septembre 2002. Il semblerait donc que pendant la saison estivale les concentrations en cuivre augmentent progressivement dans les organismes puis en octobre 2001 et 2002 la concentration en cuivre diminue significativement (test U, $p<0.05$) par rapport au mois précédent. Conjointement à l'augmentation des concentrations en cuivre, une diminution significative des concentrations en zinc est observée entre août et septembre en 2001 et 2002

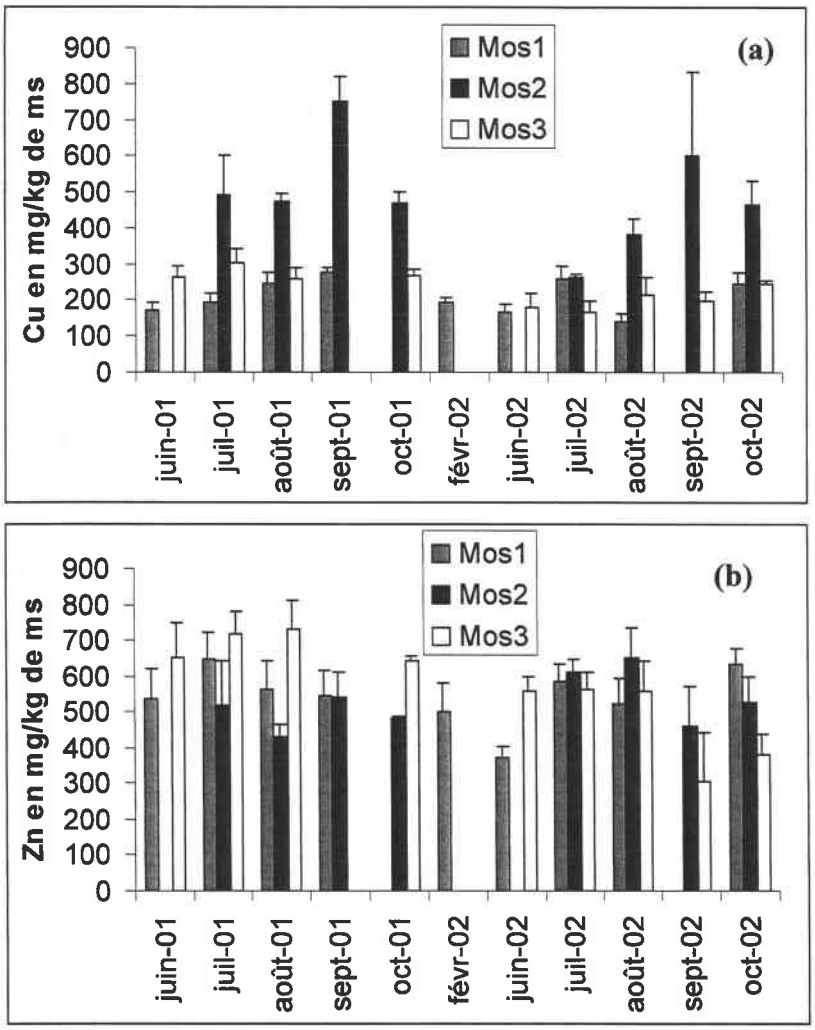


Figure III-62 : Variations des concentrations en cuivre (a) et en zinc (b) chez *Viviparus viviparus* en fonction de la date de collecte.

III.1.3.1.b. Bioaccumulation du cuivre et du zinc chez *Radix ovata*

L'étude de la bioaccumulation du cuivre et du zinc chez les limnées est restreinte en raison de difficultés inhérentes à l'échantillonnage *in situ* comme pour *Viviparus viviparus*, et parce que les limnées de part leur taille, nécessitent de disposer d'un grand nombre d'individu pour réaliser des « pools » avant dosage.

La **Figure III-63** présente une comparaison interstations des concentrations moyennes en cuivre et en zinc dans les limnées.

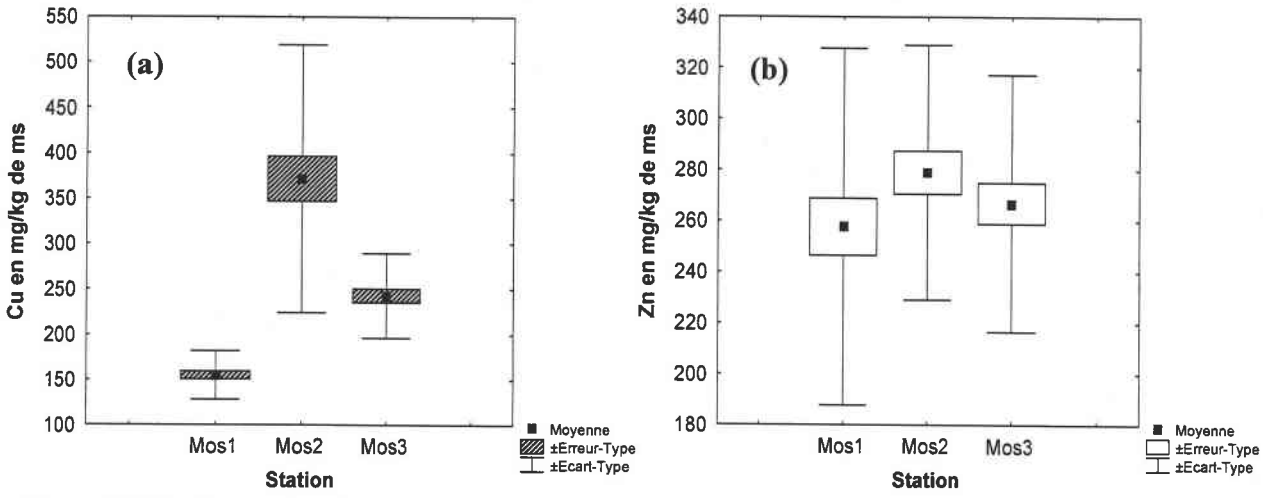


Figure III-63 : Comparaison interstations des concentrations moyennes en cuivre (a) et en zinc (b) (en mg/kg de ms) dans les limnées (n=41 pour Mos1, n=38 pour Mos2 et n= 43 pour Mos3).

Le niveau de bioaccumulation du cuivre dans les limnées est significativement (test U, $p<0.05$) supérieur chez les individus de la station Mos2 (371 +/- 147 mg Cu/kg de ms) par rapport à ceux des stations Mos1 (155 +/- 27 mg Cu/kg de ms) et Mos3 (243 +/- 46 mg Cu/kg de ms) avec également, mais à moindre degré, des concentrations en cuivre significativement supérieures chez les individus de la station Mos3 par rapport à ceux de Mos1 (test U, $p<0.05$). En ce qui concerne les concentrations en zinc dans les limnées, elles sont équivalentes aux stations Mos1 (258 +/- 70 mg Zn /kg de ms), Mos2 (279 +/- 50 mg Zn /kg de ms) et Mos3 (266 +/- 50 mg Zn /kg de ms) (test U, $p<0.05$).

III.1.3.2. Discussion

Les concentrations en cuivre mesurées dans les individus des stations Mos1 et Mos2 exemptes de contamination sont respectivement de 207 +/- 53 mg Cu/kg de ms et 221 +/- 55 mg Cu/kg de ms chez *V. viviparus* et de 155 +/- 27 mg Cu/kg de ms et 243 +/- 46 mg/kg de ms chez *R. ovata* ; par conséquent les deux espèces accumulent le cuivre à des niveaux similaires.

Ces concentrations en cuivre chez les gastéropodes, comme chez les crustacés pourraient être expliquées par leur physiologie respiratoire (présence d'hémocyanine). Les niveaux de bioaccumulation en cuivre dans les gastéropodes (*V. viviparus* et *R. ovata*) sont très élevés par rapport aux valeurs rapportées par Timmermans (1993) chez *Physa* (22.77 et 17.79 mg Cu/kg de ms), *Lymnaea ovata* (14 mg Cu/kg de ms) et chez *Potamopyrgus jenkensi* (96 à 111 mg Cu/kg de ms) dans différentes rivières et lacs. De même Pihan (2001) dans une synthèse des concentrations minimales et maximales mesurées dans cinq espèces de gastéropodes dulçaquicoles retient une gamme de concentration variant de 7 mg Cu/kg de ms chez *Lymnaea stagnalis* à 343 mg Cu/kg de ms chez *Melanopsis praemorsa*. Le même auteur détermine d'après la littérature des seuils de concentrations en cuivre pour des gastéropodes aquatiques provenant de sites pollués et non pollués ; le seuil maximal en zone pollué est de 108 mg Cu/kg de ms. Par conséquent en dehors de *M. praemorsa* dont le niveau de bioaccumulation peut varier de 23 à 343 mg Cu/kg de ms, tous les autres gastéropodes aquatiques cités présentent des concentrations en cuivre 2 à 40 fois inférieures à celles de *V. viparus* et de *R. ovata* provenant de la station.

Cependant Blackmore & Morton (2001) rapportent des niveaux de bioaccumulation en cuivre chez *Thais luteostoma* et *Morula musiva* (néogastéropodes) plus en accord avec nos mesures, avec respectivement une variation de 51.5 +/- 47.4 à 856 +/- 554 mg Cu/kg de ms et de 115 +/ 22.4 à 143 +/- 29 sur 11 sites de la zone côtière de Hong Kong.

Les concentrations en cuivre dans les limnées de la station Mos3 sont significativement supérieures à celles de la station Mos1, or pour tous les autres organismes étudiés aucune différence n'était observée entre ces deux stations. Ceci peut s'expliquer par le fait que les limnées colonisent des substrats différents sur les deux stations. En effet, la station Mos1 se caractérise d'une part par la quasi absence d'herbiers et d'autre part par l'absence de dépôt sédimentaire sur la zone littorale en raison des mouvement de batillage occasionnés par le passage des péniche (Zone canalisée de gabarit européen). Par conséquent, les limnées qui sont présentes uniquement sur les rochers situés à proximité de la surface de l'eau, ne disposeraient comme source alimentaire que du biofilm se développant sur les roches. A la station Mos3, qui se trouve dans un bras mort de la rivière, l'habitat est différent. Les limnées sont présentes également sur les rochers mais ces rochers sont couverts de dépôts sédimentaires avec une couverture d'algues vertes à une faible profondeur d'eau.

Concernant les concentrations en zinc dans les deux espèces de gastéropodes, elles sont respectivement pour les stations Mos1 et Mos3 de 535 +/- 101 mg Zn/kg de ms et 562 +/- 104 mg Zn/kg de ms chez *V. viviparus* et de 258 +/- 70 et 266 +/- 50 mg Zn/kg de ms chez *R. ovata.* Par comparaison avec les valeurs rapportées par Timmermans (1993) et Pihan (2001), comprises entre 24 et 174 mg Zn/kg de ms, les concentrations trouvées en Moselle sont très supérieures, sauf chez *Melanopsis praemorsa* dont le niveau maximum de bioaccumulation en zinc peut atteindre 840 mg Zn/kg de ms. Concernant le zinc, dans les mêmes espèces, le niveau de bioaccumulation varie de 163 +/-70 à 280 +/- 99 mg Zn/kg de ms et 2050 +/- 321 à 1850 +/- 297 mg Zn/kg de ms.

A la station Mos2, nous avons montré que le niveau de contamination en cuivre dans les eaux de rejet était supérieur à celui des stations Mos1 et Mos3. Cependant d'après les résultats obtenus lors de l'étude de l'accumulation du cuivre par les bivalves, il apparaissait que la station Mos2 rive ne subissait pas ou épisodiquement l'impact du rejet de la centrale de Cattenom. Or les données acquises sur les gastéropodes mettent en évidence une augmentation significative et d'un facteur 2 entre Mos1 et Mos2, des concentrations en cuivre dans les deux espèces *V. viviparus* (499 +/- 168 mg Cu/kg de ms) et *R. ovata* (371 +/- 147 mg Cu/kg de ms).

Les données essentielles concernant les gastéropodes sont les suivantes :

- Les gastéropodes sont les organismes qui, parmi les organismes étudiés, accumulent le plus le cuivre avec des moyennes maximales en station Mos2 pour *V. viviparus* et *R. ovata* de 499 +/-104 et 371 +/- 147 mg Cu/kg de ms. La physiologie respiratoire des organismes ne permet pas d'expliquer, à elle seule, ce résultat de bioaccumulation.
- La stratégie de régulation des métaux inclut le stockage sans excrétion des métaux cuivre et zinc sous une forme métaboliquement inerte.
- Les concentrations en cuivre sont représentatives du niveau de contamination des stations.
- Les différences d'accumulation du cuivre et du zinc entre les deux espèces de gastéropodes peuvent être expliquée par des différences dans la biologie des espèces.

III.2. Biosurveillance active

III.2.1. Dreissena polymorpha transférées (DT)

III.2.1.1. Résultats

III.2.1.1.a. Etude de la cinétique d'évolution des concentrations en cuivre et en zinc dans les dreissènes transférées (DT)

Le **tableau III-27** présente les dates et durée des différents transferts initiés aux stations d'étude en Moselle et dans le Mirgenbach.

Tableau III-27 : Synthèse des informations concernant les dates et la durée des transferts.

	Date de transfert des organismes	Durée du transfert
Transfert 1	Octobre 2000	8 mois
Transfert 2	Juin 2001	3 mois
Transfert 3	Septembre 2001	7 mois
Transfert 4	Avril 2002	6 mois
Transfert 5	Octobre 2002	2 mois (interrompu)

La durée des transferts est dépendante de la survie des organismes sur les stations. Dans le cas ou les organismes disparaissent sur une station et lorsque la période permet une nouvelle collecte d'organismes sur les stations de référence, alors un nouveau transfert a été réalisé. Au cours des transferts 4, 3 et 1, initiés au début du printemps et en automne, les organismes ont une durée de survie bien supérieure par rapport au transfert réalisé à la fin du printemps (transfert 2). La période fin de printemps - début d'été correspondant à la période de reproduction des bivalves, semble être une période de fragilité des organismes.

***Nota** : Parmi les transferts dans la retenue du Mirgenbach, un transfert 1a et un transfert 1b ont été distingués. Le transfert 1a correspond à un répliquât réalisé en concomitance avec le transfert 1B sur une station distante de 50m de la station normale.*

Une station témoin « régionale » a été choisie sur le lac de Madine. Sur ce lac des dreissènes autochtones ont été encagées et réimplantées sur le site. Le **tableau III-28** présente les moyennes, ainsi que les minima et maxima des concentrations en cuivre et en zinc pour les dreissènes du lac de Madine. Les individus de la station Mos1 représentent les « références » amont de la centrale.

Tableau III-28 : Caractéristiques des concentrations en cuivre et en zinc dans les dreissènes transférées sur le site du lac de la Madine de décembre 2000 à décembre 2002.

	Cu en mg/kg de ms	Zn en mg/kg de ms
Moyenne	15 +/- 6	121 +/- 14
Min-Max	4 - 33	88 - 160
N dosage	73	73
N individu	589	589

a. Etude des cinétiques de bioaccumulation du cuivre par D. polymorpha au cours des transferts

La **Figure III-64** présente les cinétiques d'accumulation du cuivre par *D. polymorpha* au cours des différents transferts et pour chaque station d'étude en Moselle, Mos1 (A), Mos2 (B) et Mos3 (C). La **Figure III-65 A** présente la cinétique d'accumulation par les dreissènes aux cours des différents transferts effectués dans la retenue du Mirgenbach. Le **tableau III-28** présente les concentrations en cuivre (moyennes, minimum et maximum) mesurées dans les dreissènes transférées du lac de Madine.

Pour tous les transferts, la valeur de référence est constituée par la mesure des concentrations au temps zéro, correspondant à l'introduction des organismes dans les cages. Dans tous les cas, ces concentrations à t_0 sont comprises entre 7 et 15 mg Cu/kg de ms. Dans les dreissènes de Madine, les concentrations en cuivre varient entre 4 et 33 mg Cu/kg de ms avec une moyenne de 15 mg Cu/kg de ms.

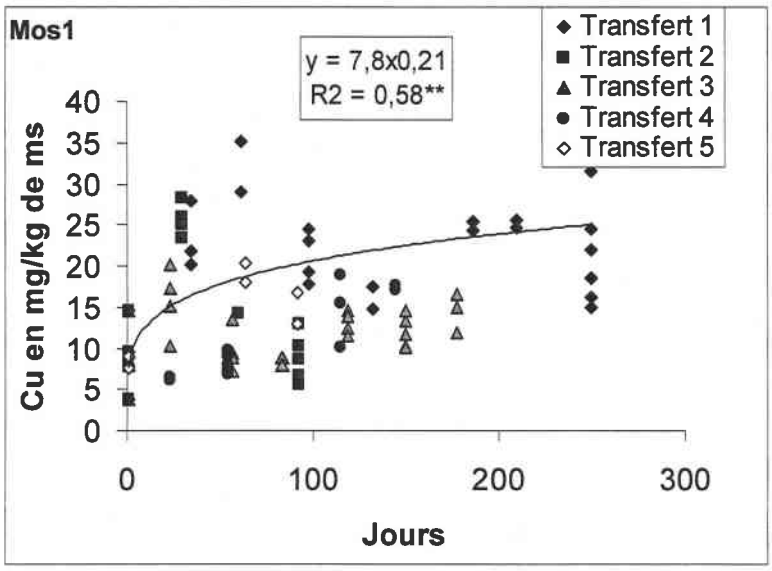
Pour la station Mos1, les tendances d'accumulation sont relativement similaires entre les transferts 1, 3 et 5 : elles se traduisent par une augmentation des concentrations en cuivre par rapport au temps To, alors qu'au cours du transfert 2 s'observe une phase de diminution des concentration (d'environ 25 à 10 mg/kg de ms). Lors du 1er transfert, les concentrations en cuivre dans les dreissènes augmentent au cours du premier et du deuxième mois jusqu'à des valeurs moyenne respectives de 23 et 38 mg Cu/kg de ms, avant de se stabiliser entre 16 et 25 mg Cu/kg de ms. Au cours du second transfert le niveau de bioaccumulation augmente en moyenne jusqu'à 26 mg Cu/kg de ms, puis diminue à 14 mg Cu/kg de ms et se stabilise. Au cours du troisième et du quatrième transfert, la concentration en cuivre dans les DT reste stable au cours du temps et varie respectivement entre 8 et 16 et entre 6 et 16 mg Cu/kg de ms. La valeur maximale de concentration en cuivre dans les DT pour cette station (38 mg Cu/kg de ms) est atteinte au cours du transfert 1 après 2 mois d'exposition. Les autres valeurs restent comprises entre 6 et 26 mg/kg de ms, ce qui représente un niveau faible de bioaccumulation, du même ordre que celui observé pour les DT du lac de Madine (7 à 15 mg Cu/kg de ms).

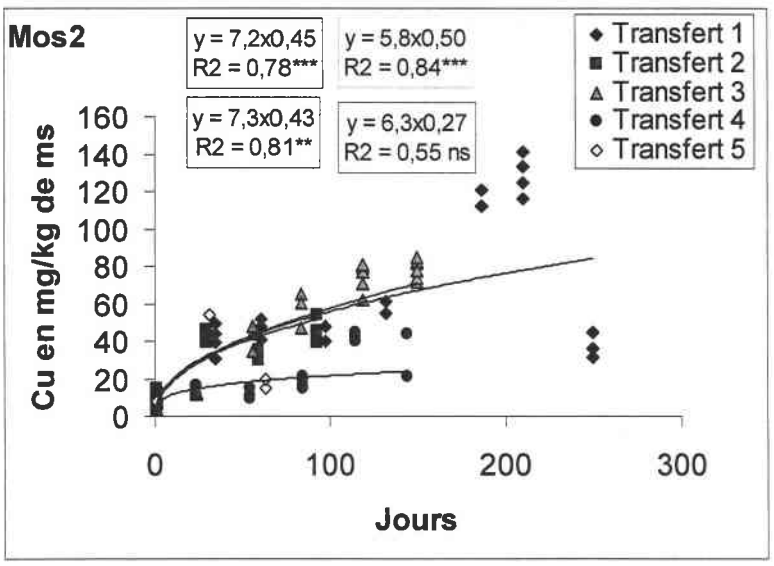
Pour la station Mos2, les cinétiques d'accumulation sont comparables pour les transferts 1, 2 et 3. Au cours de ces transferts, les concentrations en cuivre dans les DT augmentent progressivement avec l'augmentation du temps d'exposition, pour atteindre les valeurs maximales et respectives de 129 mg Cu/kg de ms (après 7 mois d'exposition), 46 mg Cu/kg de ms (après 3 mois d'exposition) et 79 mg Cu/kg de ms (après 4 mois d'exposition). Les cinétiques des transferts 1 et 2 sont identiques et décrites par les équations respectives suivantes : $y= 7.2\ x^{0.45}$ et $y= 7.3x^{0.43}$ (hautement significative à $p<0.001$)

La cinétique d'accumulation observée lors du transfert 3 est décrite par le même modèle et suit l'équation : $y= 5.8x^{0.50}$ (significative à $p<0.001$).

Au cours du 4^{ième} transfert, le niveau de bioaccumulation dans les DT n'augmente qu'à partir du 5^{ième} mois d'exposition pour atteindre 42 mg Cu/kg de ms.

Pour la station 3, les schémas d'accumulation sont très proches de ceux observés à la station Mos1. Pour les transferts 2, 3 et 4, les niveaux de bioaccumulation sont stables et restent faibles, malgré une légère augmentation au cours des deux premiers mois au cours du transfert 2. Dans le cas du transfert 1, après une augmentation du niveau de bioaccumulation au cours des deux premiers mois jusqu'à des valeurs moyennes et respectives de 22 et 28 mg Cu/kg de ms, les concentrations en cuivre dans les DT se stabilisent à environ de 20 mg Cu/kg de ms puis augmentent en mai 2001 jusqu'à 38 mg Cu/kg de ms. Cependant les maxima de bioaccumulation en cuivre restent du même ordre de grandeur que ceux observés pour les DT du lac de Madine.





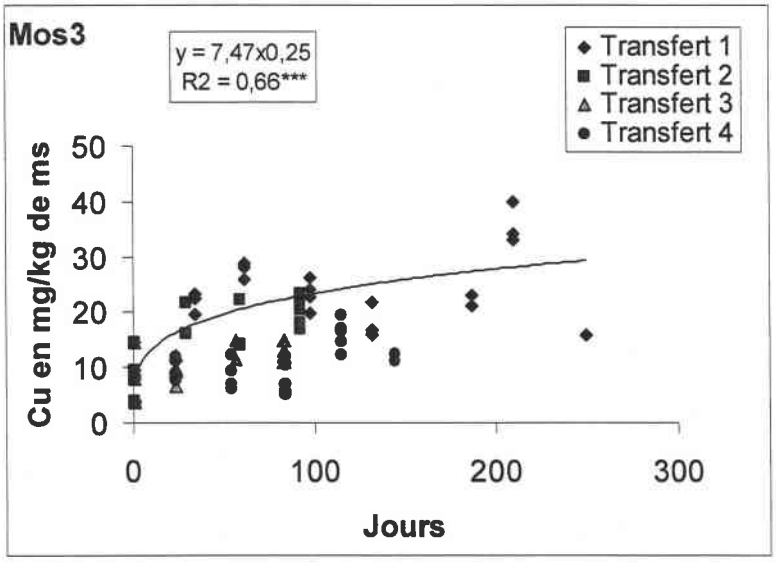
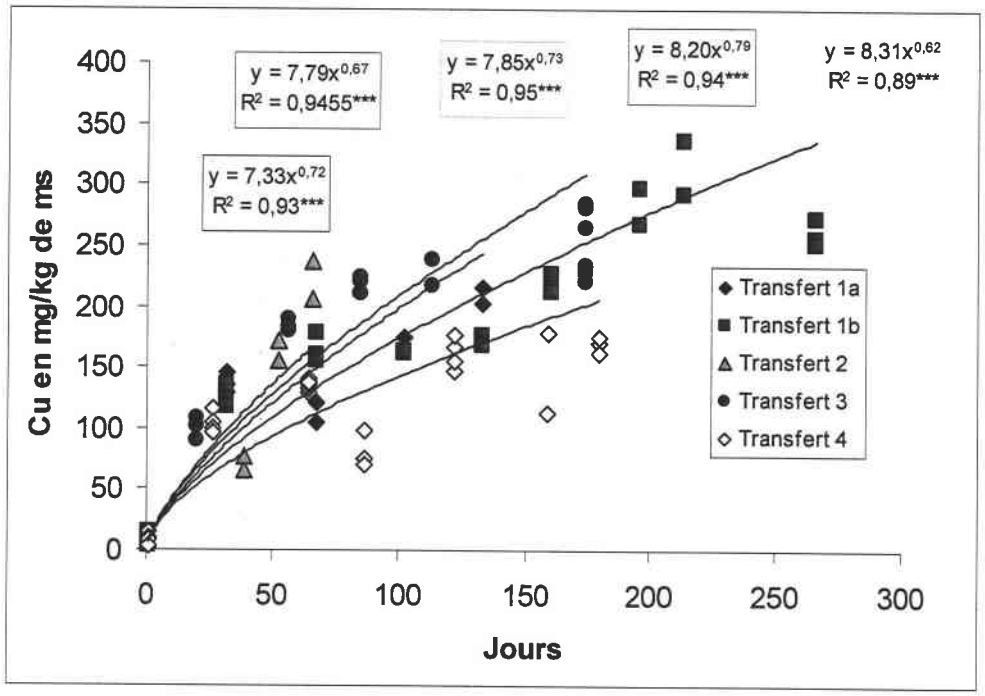


Figure III-64 : Cinétique d'accumulation du cuivre (mg/kg de ms) dans les dreissènes transférées pour les 5 transferts successifs en fonction de la station en Moselle (Mos1 (a), Mos2 (b) et Mos3 (c)). Chaque point représente une analyse. Les courbes de tendance représentent les cinétiques d'accumulation significatives.



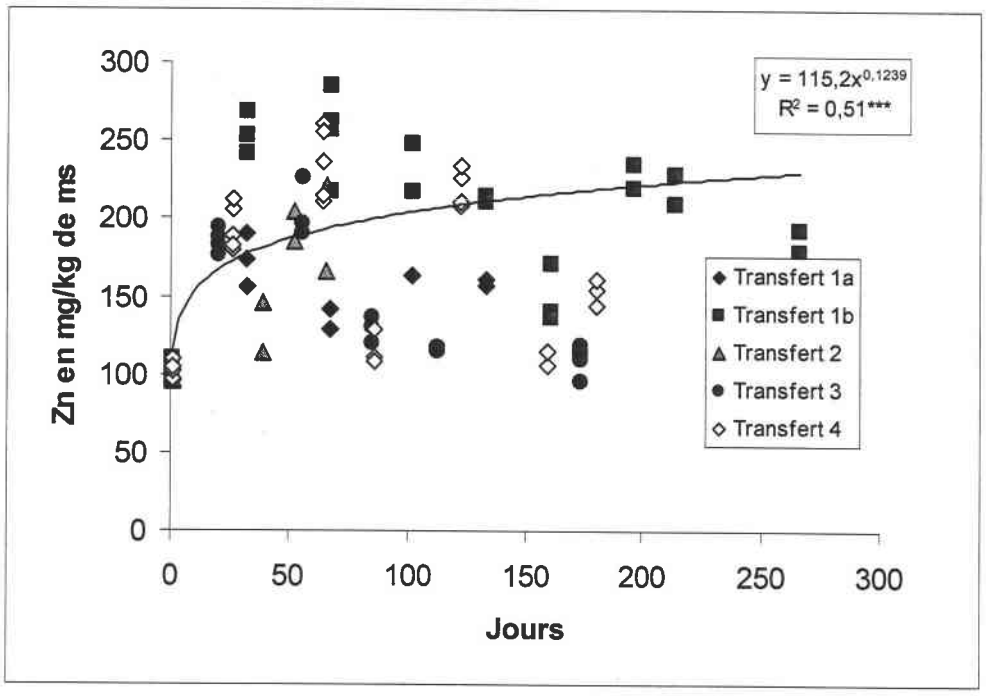


Figure III-65 : Cinétique d'accumulation du cuivre (a) et du zinc (b) (mg/kg de ms) par les dreissènes transférées dans la retenue du Mirgenbach pour les 5 transferts successifs. Les courbes de tendance représentent les cinétiques d'accumulation significatives.

Pour la station Mirgenbach, les cinétiques d'accumulation sont du même type que celles observées lors des transferts à la station Mos2, c'est à dire qu'une cinétique d'accumulation plus rapide est observée au cours des premiers mois d'exposition. Au cours du 1^{ier} transfert, la concentration moyenne en cuivre dans les DT augmente jusqu'à 127 mg Cu/kg de ms au cours du 1^{ier} mois, puis atteint un maximum de 315 mg Cu/kg de ms en mai 2001 (7^{ième} mois d'exposition). Au cours du second transfert, les DT accumulent le cuivre jusqu'à une

moyenne de 71 mg Cu/kg de ms au cours du 1ier mois puis jusqu'à 163 et 221 mg Cu/kg de ms au cours des 2ième et 3ième mois. La même cinétique d'accumulation est observé pendant le troisième transfert et le niveau de bioaccumulation en cuivre atteint après trois mois d'exposition est équivalent (219 mg Cu/kg de ms). Le quatrième transfert se caractérise par une augmentation du niveau de bioaccumulation en cuivre dans les DT au cours des 1ier et 2ième mois d'exposition pour atteindre une moyenne de 135 mg Cu/kg de ms suivi d'une diminution jusqu'à 81 mg Cu/kg de ms, avant d'augmenter à nouveau en août 2002 à 161 mg Cu/kg et de se stabiliser.

Les valeurs maximales de bioaccumulation sont atteintes au cours des transferts 1 et 3 avec respectivement 315 et 251 mg Cu/kg de ms en mai 2001 et avril 2002 (printemps). Les concentrations en cuivre dans les DA n'atteignent à aucun moment, quel que soit la période de transfert envisagé, un seuil limite d'accumulation.

La cinétique d'évolution des concentrations en cuivre dans les DT est une cinétique d'accumulation (moins nette pour le transfert 4). L'augmentation des concentrations en cuivre au cours du temps dans les DT peut être représentée par une fonction puissance comme pour la station Mos2 avec pour les différents transferts, les équations suivantes (toutes significatives à $p<0.001$) :

Transfert 1a : $y=7.33x^{0.72}$
Transfert 1b : $y=7.79x^{0.67}$
Transfert 2 : $y=7.85x^{0.79}$
Transfert 3 : $y=8.20x^{0.79}$
Transfert 4 : $y=8.31x^{0.62}$

Ces cinétiques d'accumulation peuvent être classées selon une vitesse croissante de la manière suivante :

Transfert 2 > transfert 3 >transfert 1a > transfert 1b > transfert 4. Ce qui correspond dans l'ordre aux saisons de transfert été > automne-hiver > fin été-automne > printemps-été. Le transfert 2 est à considérer avec précaution étant donnée la disparition précoce des organismes, d'ailleurs le mauvais état physiologique des organismes est certainement à l'origine de la diminution progressive des concentrations en cuivre au cours du transfert..

b. Etude des cinétiques de bioaccumulation du zinc par D. polymorpha au cours des transferts

A partir de l'observation globale des quatre graphiques relatifs à l'analyse de l'évolution des niveaux de bioaccumulation du zinc dans les parties molles des mollusques transplantés dans la retenue du Mirgenbach et en rivière Moselle, nous pouvons mettre en évidence un comportement très différent de celui observé précédemment pour le cuivre (Cuivre : **Figure III-64** et **III-65 A**, Zinc : **Figure III-66** et **III-65 B**).

Les niveaux de contamination atteints en fin de transfert, ainsi que les cinétiques d'évolution des concentrations sont très hétérogènes.

Les concentrations en zinc dans les dreissènes aux temps zéro d'exposition sont comprises entre 91 et 110 mg Zn/kg de ms (**Figure III-65 et III-66**). Les concentrations en zinc dans les dreissènes encagées (DT) du lac de Madine sont comprises entre et 88 et 180 mg/kg de ms.

Au cours du premier mois d'exposition, quelle que soit l'époque de transfert dans la retenue du Mirgenbach, les concentrations en zinc dans les DT augmentent jusqu'à une valeur comprise entre 195 et 254 mg Zn/kg de ms. Au cours des mois suivants les concentrations en zinc varient de façon aléatoire.
Pour les stations Mos1, Mos3, et Mir au cours du premier transfert la concentration en zinc augmente jusqu'à une valeur de, respectivement, 223, 227 et 254 mg Zn/kg de ms suivie d'un palier qui fluctue entre 150 et 250 mg Zn/kg de ms.
En dehors du transfert 1 des stations Mos1 et Mos3 et du transfert 3 de la station Mos2 ou on observe une cinétique d'accumulation avec une tendance en palier significative au cours du temps, les autres transferts se caractérisent par des schémas d'accumulation instables, avec des phases d'augmentation, de diminution ou de stabilisation des concentrations en zinc.

III.2.1.1.b. Comparaison de la bioaccumulation du cuivre et du zinc par les dreissènes autochtones et les dreissènes transférées. Validation des techniques de biosurveillance active appliquées à *D. Polymorpha*

Les **figures III-67** et **III-68** présentent l'évolution saisonnière des concentrations en cuivre et en zinc dans les DT en comparaison avec celle observée dans les DA de la retenue du Mirgenbach et des différentes stations de la rivière Moselle.

Pour la station Mirgenbach, la **figure III-65** met en évidence, tant dans le cas du cuivre que dans celui du zinc, une évolution concomitante des concentrations dans les DA et les DT, qui est confirmée par l'existence de facteurs de corrélation significatifs à $p<0.05$ de 0.48 (Cu) et 0.51 (Zn). Cependant au cours du 1^{ier} et du 4^{ième} transfert, les concentrations maximales en cuivre atteintes dans les DT sont respectivement de 315 mg Cu/kg de ms (après 8 mois d'exposition) et de 135 mg Cu/kg de ms (après 2 mois d'exposition) alors que les concentrations en cuivre dans les DA à ces mêmes dates sont de 605 et 354 mg Cu/kg de ms. Les dreissènes transférées ne présentent pas la même capacité d'accumulation que les dreissènes autochtones (DA).

Au cours du transfert 4, au 4^{ième} mois d'exposition, le niveau de bioaccumulation en cuivre dans les DT est non différent de celui des DA (Test t, $p<0.05$). De même pendant le transfert 3, les DT ont atteint une concentration équivalente à celle des DA après deux mois d'exposition.

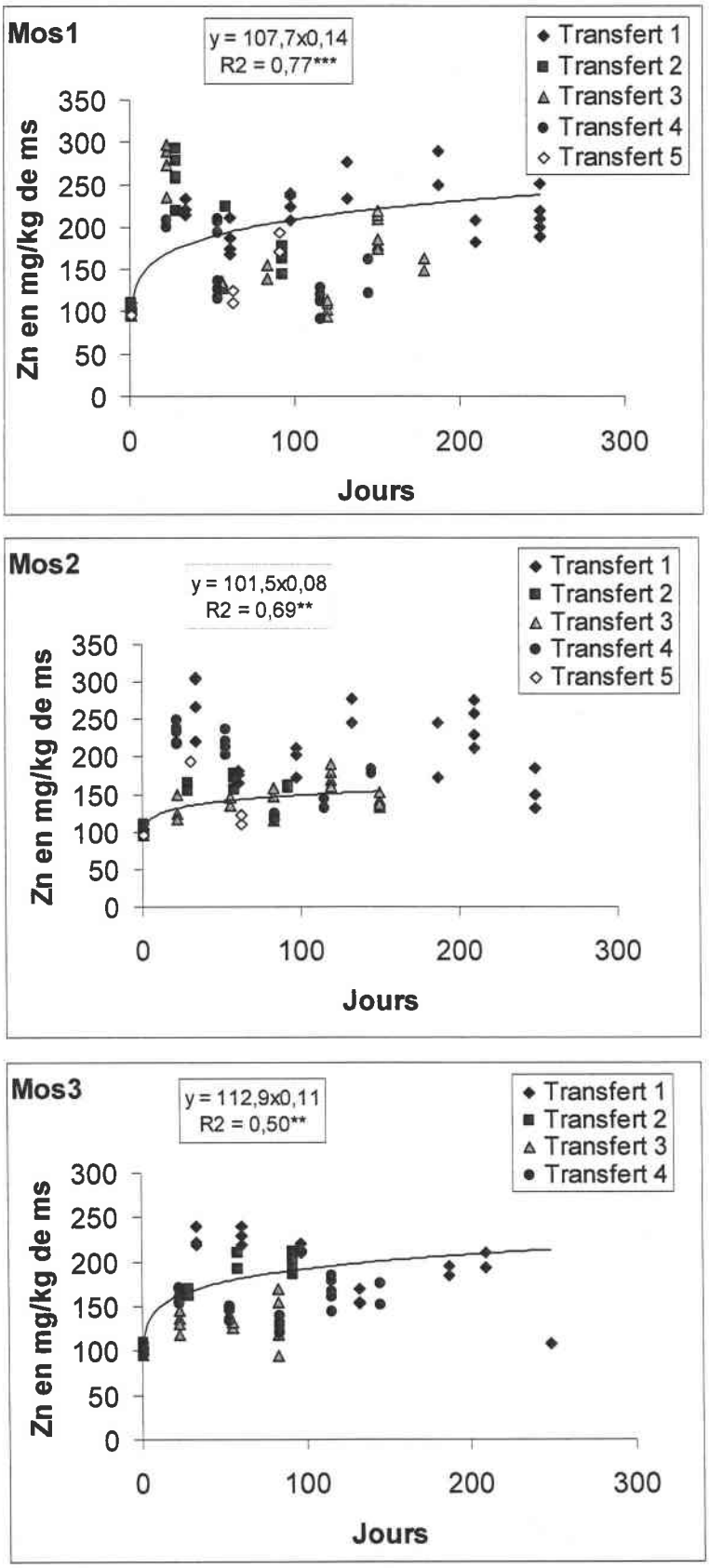


Figure III-66 : Cinétique d'accumulation du zinc (mg/kg de ms) dans les dreissènes transférées pour les 5 transferts successifs en fonction de la station en Moselle (Mos1 (a), Mos2 (b) et Mos3 (c)).

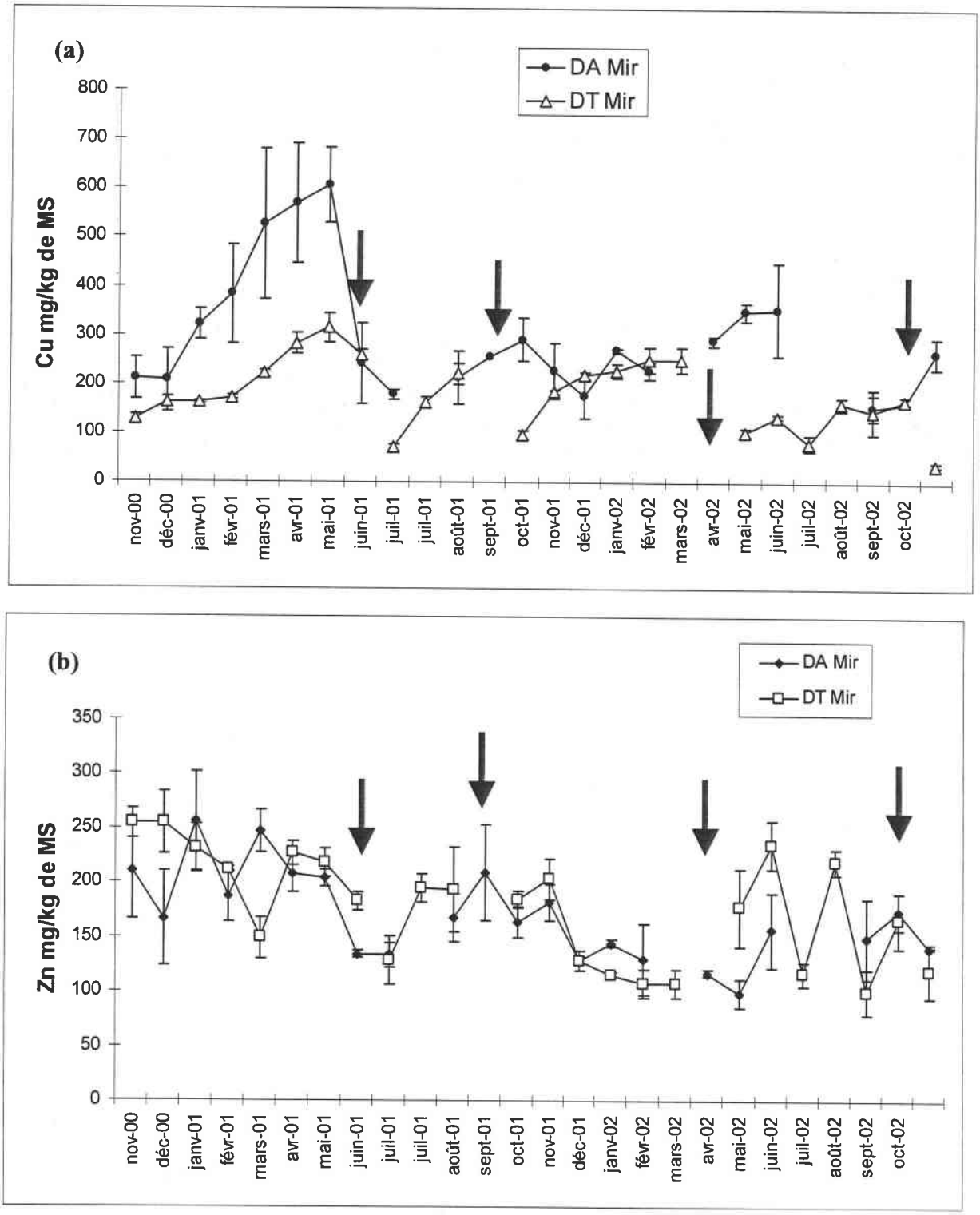


Figure III-67 : Comparaison pour la retenue du Mirgenbach de l'évolution des concentrations en cuivre (a) et en zinc (b) (mg/kg de ms) dans les dreissènes autochtones (DA) et dans les dreissènes transférées (DT) en fonction de la date de prélèvement entre novembre 2000 et octobre 2002. Les flèches rouges indiquent les dates t_0 de transfert de nouveaux organismes.

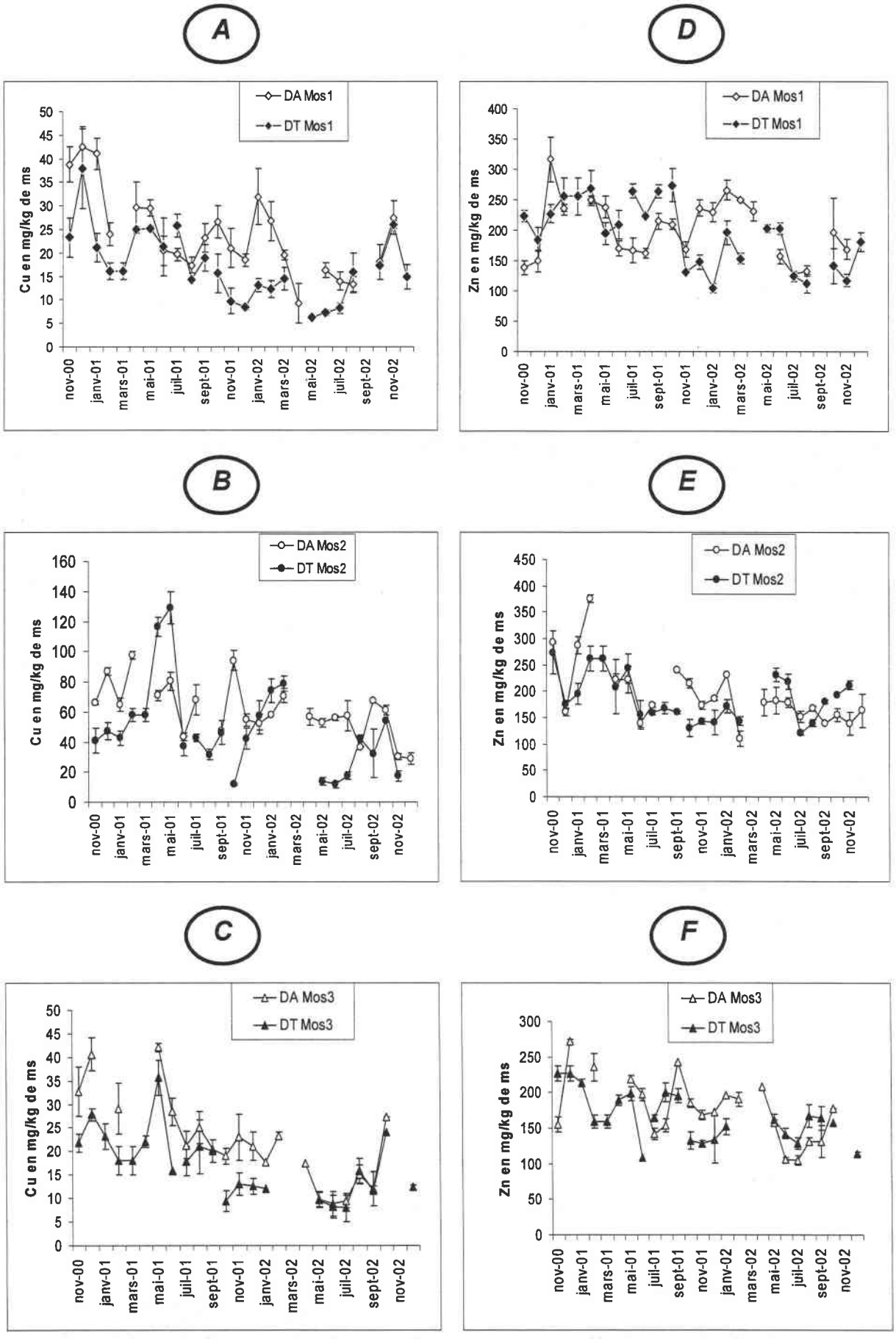


Figure III-68 : Evolution des concentrations en cuivre (A, B, C) et en zinc (D, E, F) (mg/kg de ms) dans les dreissènes transférées (DT) et comparaison avec les dreissènes autochtones (DA) en fonction de la station Moselle et de la date de prélèvement.

Pour les stations Mos1 et Mos3, une corrélation significative (P>0.05) est établie entre l'évolution des concentrations en cuivre dans les DT et celle des DA. Le facteur de corrélation est respectivement pour les stations Mos 1 et Mos3 de 0.68 et 0.88. Cependant, la courbe d'évolution des concentrations en cuivre des DT est toujours en dessous de celle des DA et la différence est plus marquée durant la période automne-hiver que pendant la période printemps-été (**Figure III-67**).

Au niveau de la station Mos2, la corrélation est non significative et cela s'explique par le fait que les DT soient implantées dans le rejet général, alors que les DA sont collectées sur la rive en aval proche dans des conditions courantologiques et de contamination très différentes.

Dans le cas du zinc, les **figures III-68 D à F**, montrent une évolution de la concentration en zinc dans les DT qui semble suivre celle des DA. Cependant aucune corrélation entre les deux n'a pu être établie. Ceci pourrait s'expliquer par la forte variabilté des concentrations en zinc dans les organismes.

Les concentrations moyennes constatées dans les DA et les DT au cours du temps, tous transferts confondus, sont présentées dans le **Tableau III-29**.

Tableau III-29 : Concentrations moyennes, minimum et maximum (Cu, Zn) mesurées dans les DA et les DT en fonction de la station d'étude en Moselle et dans la retenue du Mirgenbach.

Station		DA Cu	DT Cu	DA Zn	DT Zn
Mos1	**Moyenne**	**24**	**17**	**201**	**194**
	Minimum	9	6	128	105
	Maximum	42	38	317	274
Mos2	**Moyenne**	**61**	**48**	**186**	**195**
	Minimum	29	12	120	110
	Maximum	97	129	274	377
Mir	**Moyenne**	**297**	**169**	**177**	**182**
	Minimum	153	99	100	71
	Maximum	605	256	255	315
Mos3	**Moyenne**	**22**	**17**	**178**	**165**
	Minimum	9	8	105	108
	Maximum	42	36	272	227

Les gammes de concentrations mesurées dans les DT des stations Mos1 et Mos3 sont similaires à celles des DA et les moyennes des concentrations sont non différentes (p<0.05). Les seules différences significatives entre DA et DT sont observées, d'une part au niveau de la retenue du Mirgenbach, avec des concentrations en cuivre dans les DT très inférieures à

celles mesurées dans les DA, et d'autre part, au niveau de la station Mos2 pour les raisons déjà mentionnées précédemment (distance entre les deux stations Mos2 rejet (DT) et Mos2 rive (DA)).

III.2.1.2. Conclusion partielle

Dans ce chapitre, le point important est qu'à to, la concentration des DA est toujours supérieure à celle des DT.

Les résultats obtenus ont permis de visualiser des évolutions des concentrations en cuivre et en zinc très différentes. Dans le cas du cuivre, au niveau des stations Mos2 et surtout Mirgenbach, l'évolution des concentrations en cuivre relève d'une cinétique d'accumulation avec une augmentation conséquente et continue des concentrations en cuivre dans les organismes du 1^{ier} au dernier mois d'exposition. Aucune limite d'accumulation du cuivre n'est atteinte dans les organismes lors des différentes périodes de transfert.

Dans le cas du zinc, aucun schéma d'évolution des niveaux de bioaccumulation dans les organismes n'a pu être établi. Après une augmentation des concentrations en zinc au cours du 1^{ier} mois d'exposition, elles semblent évoluer vers un palier. Mais cette tendance n'est pas établie avec certitude.

D'après Fraysse (2001), une des caractéristiques des profils d'évolution des niveaux de bioaccumulation en zinc dans les bivalves est l'apparition d'un palier de concentration dans les tissus, se traduisant, lors des études de cinétique, par une tendance à l'établissement d'un plateau après 15 jours d'exposition en présence d'une concentration en zinc constante dans le milieu. Plusieurs processus peuvent être à l'origine de ce constat, la saturation des sites de fixation, le contrôle de l'accumulation du métal doublé ou non de la stimulation de son excrétion, et/ou de l'expression de sa toxicité (Pentreath, 1973). Ces trois mécanismes coexisteraient chez les bivalves, dont *D. polymorpha*. En fait, lors de l'augmentation de la pression de contamination en zinc, un déplacement du métal est observé au niveau cellulaire des protéines de hauts poids moléculaires (HPM) vers la fraction cytosolique de bas poids moléculaires (BPM). Ce phénomène serait le résultat de la saturation des sites de fixation des HPM (dont font partie les métallothionéines) (Johansson *et al.*, 1986; Wallace & Lopez, 1997). De ce fait, le zinc présent dans la fraction BPM serait plus facilement mobilisable et transportable, ce qui accélèrerait son excrétion (Fraysse, 2001). L'accélération de l'excrétion pourrait être liée à une dégradation plus rapide par les lysosomes des complexes formés entre le zinc et les HPM, d'ou une intègration plus rapide dans les concrétions insolubles et leur rejet dans les fèces.

Dans la retenue du Mirgenbach, les durées de transfert sont comprises entre 3 et 8 mois, la mort des organismes étant la cause de l'interruption du transfert. Il est possible que les organismes transférés contrairement aux organismes autochtones aient subi des effets toxiques du cuivre et ce en raison de la saturation des sites de détoxication des métaux et

notamment de ceux du cuivre, du fait de sa présence à une concentration élevée dans la retenue du Mirgenbach.

Chez *Dreissena polymorpha*, De Lafontaine *et al.* (2000) ont mis en évidence une corrélation entre la quantité de MT dans l'organisme et le niveau de contamination en cuivre dans le milieu et ce, conformément aux observations de Johansson *et al.* (1986) et Bremner (1991). De même, Markrich *et al.* (2001) ont montré que la capacité de stockage des organismes était liée à la quantité de calcium accumulée par l'organisme. Par conséquent, il existerait une inégalité entre les DA et les DT face aux polluants, qui serait justifiée par le fait que les DA contiendraient une proportion suffisante de MT et de granules de calcium pour détoxiquer et stocker tout le cuivre entrant alors que, chez les DT non acclimatées au milieu, les systèmes de régulation seraient saturés. La saturation des sites de fixation permet aux métaux entrant de se fixer sur des cibles cellulaires sensibles. D'après Giguère *et al.* (2003), la saturation des sites de fixation des métaux (Cu et Zn), donc des MT, en cas d'augmentation de la pression de contamination (concept du Spillover) ne serait applicable que dans le cas d'une modification brutale du contexte de contamination et ne serait pas observée conformément aux observations de Brown *et al.* (1990) et Wang *et al.* (1999) dans le cas d'une contamination chronique *in situ*. Par conséquent seul les DT souffriraient d'effets toxiques et pas les DA. Ce phénomène se traduit, lors de l'étude des cinétiques d'accumulation du cuivre dans la retenue du Mirgenbach, par une diminution de la concentration en cuivre dans les DT en fin de transfert, en général le dernier mois qui témoigne du mauvais état physiologique des organismes.

La différence de concentration, notamment en cuivre entre DA et DT pourrait être liée en partie à des mécanismes de défense déployés par les DT face à une situation de contamination importante pour limiter l'entrée du polluant (sécrétion de mucus (Maarouf, 1988), fermeture des valves (Mouabad, 1991; Czembor, 2001) mais également à une masse pondérale plus importante des DT (Soto *et al.*, 2000) ; en effet comme nous l'avons constaté lors de la dissection des organismes, les dreissènes autochtones de la retenue du Mirgenbach possèdent une masse graisseuse beaucoup moins importante. Ceci pourrait s'expliquer d'une part, du fait de la température élevée de la retenue du Mirgenbach, et/ou d'autre part, par la dépense d'énergie liée à la détoxication et à la régulation des métaux.

La différence observée entre les niveaux d'accumulation entre les DA et les DT pourrait également être la conséquence d'une période d'exposition plus longue des DA aux contaminants. La différence entre le niveau de bioaccumulation augmente avec le niveau de contamination et avec la saison (la différence étant plus marquée durant la période automne-hiver).

Par rapport aux DA, les DT permettent également d'obtenir une image correcte des niveaux de contamination des sites et de préserver le schéma d'évolution interstations des concentrations en cuivre et en zinc (variations stationnelles des concentrations significatives et dépendantes des niveaux de contamination des sites). De même, les concentrations en cuivre et en zinc dans les DA sont corrélées avec celles des DT dans la retenue, et également dans le cas du cuivre aux stations Mos1 et Mos3. La seule défaillance de la technique est donc l'inégalité des valeurs maximales de bioaccumulation entre les DA et les DT. Les DT suivent

le même profil d'évolution que celui des DA mais dans une gamme de concentration inférieure notamment dans la retenue puisque la concentration en cuivre dans les DT à To est plus faible que celle des DA.

En résumé les points importants à souligner sont les suivants :

- Le profil d'évolution des concentrations en cuivre est une cinétique d'accumulation uniquement au niveau des stations Mos2 et surtout Mir. Aux stations Mos1 et Mos3, il n'y a pas d'accumulation du cuivre au cours du temps, mais simplement des variations saisonnières de la bioaccumulation comme montré chez les DA.
- Au niveau de la station Mir, la cinétique d'accumulation du cuivre n'atteint pas de palier, mais il y a un ralentissement de la vitesse d'accumulation qui se traduit par une fonction puissance.
- Les cinétiques d'accumulation du cuivre sont plus rapides en automne-hiver qu'au printemps-été.
- Les concentrations en cuivre dans les DA sont corrélées à celles des DT quel que soit le contexte de contamination.
- Les concentrations en zinc dans les DT sont corrélées à celles des DA dans la retenue, mais pas en Moselle certainement en raison d'une grande variabilité des concentrations zinc dans les DA de Moselle.
- Les DT ont la même capacité à accumuler le zinc que les DA. Dans le cas du cuivre, la capacité d'accumulation des DA est supérieure à celle des DT lors que la concentration en cuivre dans le milieu est élevée. Lors que le niveau de contamination en cuivre du milieu est plus faible, les niveaux de bioaccumulation des DT atteignent ceux des DA.
- Dans le cas du zinc, les profils d'évolution des concentrations au cours du temps sont très hétérogènes. IL y a une phase d'accumulation commune pour tous les transferts entre t_0 et t_{1mois}, et parfois, t_{2mois}. Ensuite les concentrations en zinc cessent d'augmenter et soit elles se stabilisent, soit elles diminuent.

III.2.2. Les corbicules transférées

III.2.2.1. Résultats

III.2.2.1.a. Etude de la cinétique d'évolution des concentrations en cuivre et en zinc dans les Corbicules transférées (CoT)

Le **tableau III-30** présente les dates et la durée des différents transferts initiés dans la retenue du Mirgenbach et en rivière Moselle.

Les transferts en Moselle ont régulièrement été interrompus en raison de la disparition, de la dégradation des cages sur une des stations (actions malveillantes, crues de la rivière

Moselle) et ce, plus particulièrement à la station Mos3, plus accessible au public et soumise à des variations considérables du niveau d'eau.

Parmi les transferts de la retenue du Mirgenbach, un transfert 1a et un transfert 1b ont été distingués. Le transfert 1a correspond à un répliquât réalisé en concomitance à une station distante de 50m de la station Mir M.

Tableau III-30 : Synthèse des informations concernant les dates et la durée des transferts en Moselle (Mos1, Mos2, Mos3).

	Date de transfert des organismes	Durée du transfert
Transfert 1	Octobre 2000	3-4 mois
Transfert 2	Avril 2001	4-5 mois
Transfert 3	Septembre 2001	3-4 mois
Transfert 4	Avril 2002	6 mois
Transfert 5	Octobre 2002	2 mois (interrompu)

a. Etude des cinétiques de bioaccumulation du cuivre par C. fluminea au cours des transferts

La **figure III-69** présente les cinétiques d'accumulation du cuivre par *C. fluminea* au cours des différents transferts et pour chaque station d'étude en Moselle, Mos1 (**A**), Mos2 (**B**) et Mos3 (**C**), alors que la **figure III-69 A** présentent la cinétique d'accumulation des corbicules aux cours des différents transferts effectués dans la retenue du Mirgenbach.

Pour tous les transferts, la valeur de référence est constituée par la mesure des concentrations au temps zéro, correspondant à l'introduction des organismes dans les cages. Dans tous les cas, ces concentrations « témoins » sont comprises entre 36 +/- 4 et 42 +/- 7 mg Cu/kg de ms.

Pour la station Mos1 (**Figure III-69 A**), les profils d'accumulation sont relativement similaires entre les transferts 1, 2 et entre les transferts 3, 4 ; elles se traduisent par une augmentation progressive des concentrations en cuivre par rapport au temps To au cours des transferts 1 et 2, alors que pendant les transferts 3 et 4, les concentrations en cuivre dans les CoT n'évoluent quasiment pas au cours du temps. Lors du 1er transfert, les concentrations moyennes en cuivre dans les corbicules augmentent de 38 mg Cu/kg de ms au temps To à 63 mg Cu/kg de ms après 4 mois d'exposition. De même, au cours du second transfert, les concentrations moyennes en cuivre passent de 29 mg Cu/kg de ms à 60 mg Cu/kg de ms après 5 mois d'exposition. Dans les deux cas, les cinétiques sont lentes.

Au cours des transferts 3 et 4, les concentrations moyennes en cuivre dans les CoT fluctuent respectivement entre 32 et 40 mg/kg de ms et entre 28 et 36 mg/kg de ms ; ces valeurs correspondent aux gammes de concentrations observées dans les lots témoins.

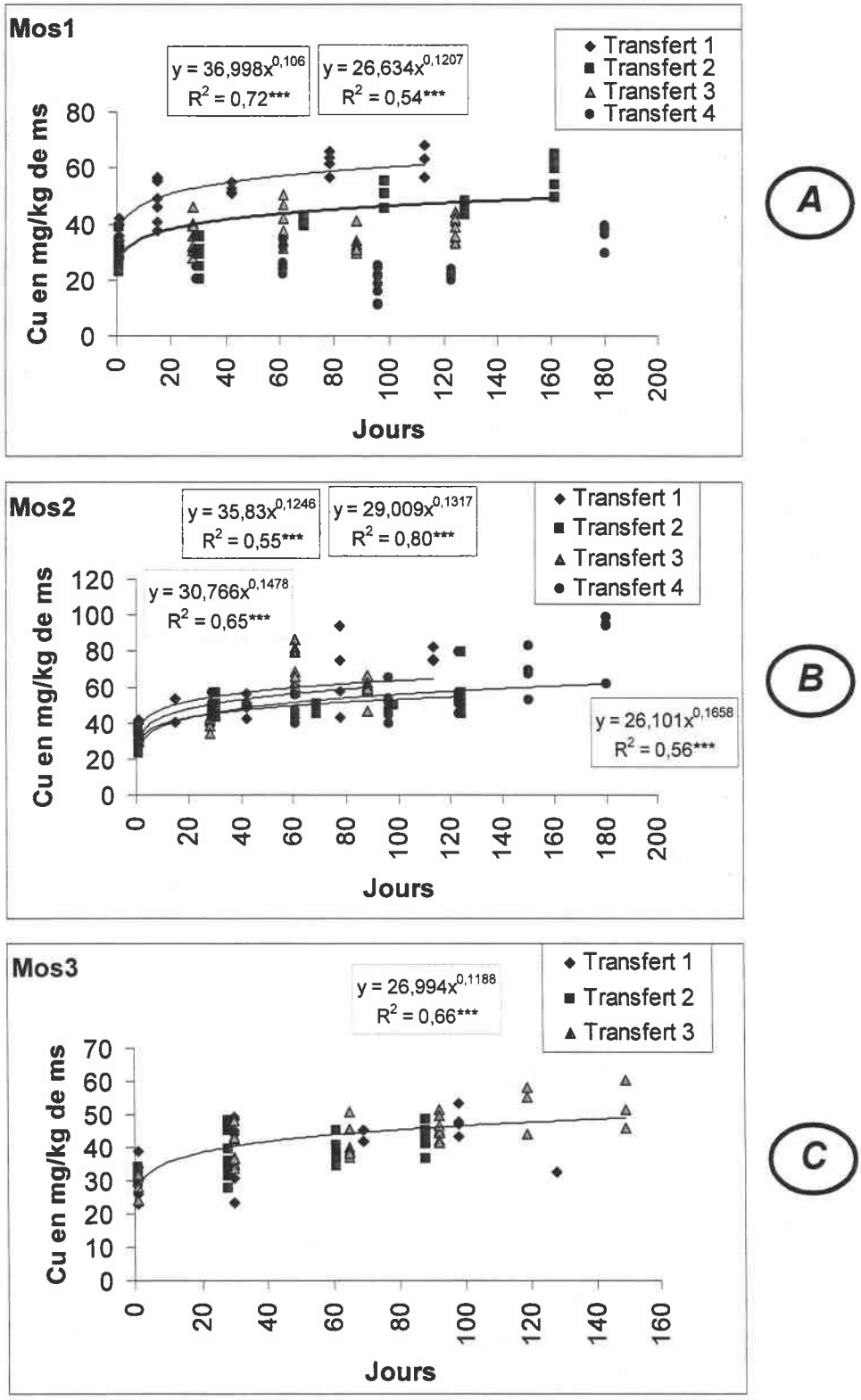


Figure III-69 : Cinétique d'accumulation du cuivre (mg/kg de ms) dans les corbicules transférées pour les 5 transferts successifs en fonction de la station en Moselle (Mos1, Mos2 et Mos3).

Pour la station Mos2, les cinétiques d'accumulation sont comparables pour tous les transferts (**Figure III-69 B**).

Au cours des transferts 1, 2, 3 et 4, les concentrations en cuivre dans les CoT augmentent progressivement avec le temps d'exposition, pour atteindre les valeurs maximales et respectives de 78 mg Cu/kg de ms (après 4 mois d'exposition), 55 mg Cu/kg de ms (après 4 mois d'exposition), 70 mg Cu/kg de ms (après 2 mois d'exposition), et 87 mg Cu/kg de ms (après 7 mois d'exposition).

Cependant dans le cas du transfert 3, le niveau de bioaccumulation diminue au cours du dernier mois d'exposition (en décembre 2001), à 59 mg Cu/kg de ms, ce qui pourrait être la conséquence d'une mauvaise condition des corbicules ou de modifications brutales des conditions du milieu, comme par exemple une diminution de la température de l'eau.

Le 4^{ième} transfert, qui est le plus long avec une durée d'exposition de 6 mois permet de constater 3 phases dans la cinétique d'accumulation. D'abord, la concentration moyenne en cuivre dans les CoT augmente rapidement au cours du premier mois d'exposition de 28 à 47 mg Cu/kg de ms, ensuite elle se stabilise entre le 1^{ier} mois et le 4^{ième} mois et n'évolue que de 47 à 55 mg Cu/kg de ms, enfin à partir du 4^{ième} mois d'exposition une nouvelle augmentation est observée jusqu'à 87 mg Cu/kg de ms. Lors des autres transferts, plus courts, seules les deux premières phases sont observées.

Les cinétiques des transferts 2 et 4 sont confondues sur la **figure III-69**, et se trouvent en dessous de celles des transferts 1 et 3. Ces cinétiques d'accumulation sont décrites par une fonction puissance avec une accumulation plus rapide en début de transfert, suivie d'un ralentissement qui se traduit par une tendance en palier. Les équations suivantes significatives à $p<0.05$ décrivent les cinétiques d'accumulation pour chaque transfert :

Transfert 1 : $Y= 35.83x^{0.12}$
Transfert 3 : $y= 30.77x^{0.15}$
Transfert 2 : $y= 29.01x^{0.13}$
Transfert 4 : $y= 26.10x^{0.16}$

La similitude entre les transferts 1 et 3 et entre les transferts 2 et 4 est la date de début de transfert, donc la saison. En effet les transferts 1 et 4 sont effectués au cours de la période automne-hiver alors que le 2^{ième} et le 4^{ième} transfert ont lieu au cours de la période printemps-été.

Pour la station 3 (**Figure III-69 C**), les schémas d'évolution des concentrations en cuivre sont très proches de ceux observés pour les transferts 1 et 2 dans la station Mos1, c'est-à-dire que la tendance générale est une augmentation rapide des concentrations en cuivre au cours du premier mois d'exposition suivie d'une stabilisation de la concentration en cuivre, qui continue à augmenter au cours du temps, mais de façon beaucoup plus lente. Ainsi au

cours des transferts 2, 3 et 4, les concentrations en cuivre ont respectivement augmentées de 29 à 42 Cu/kg de ms (après 3 mois d'exposition), de 32 à 42 Cu/kg de ms (après 3 mois d'exposition), et enfin de 28 à 53 Cu/kg de ms (après 5 mois d'exposition). Les maxima de bioaccumulation restent cependant très proches des concentrations en cuivre mesurées dans les lots témoins.

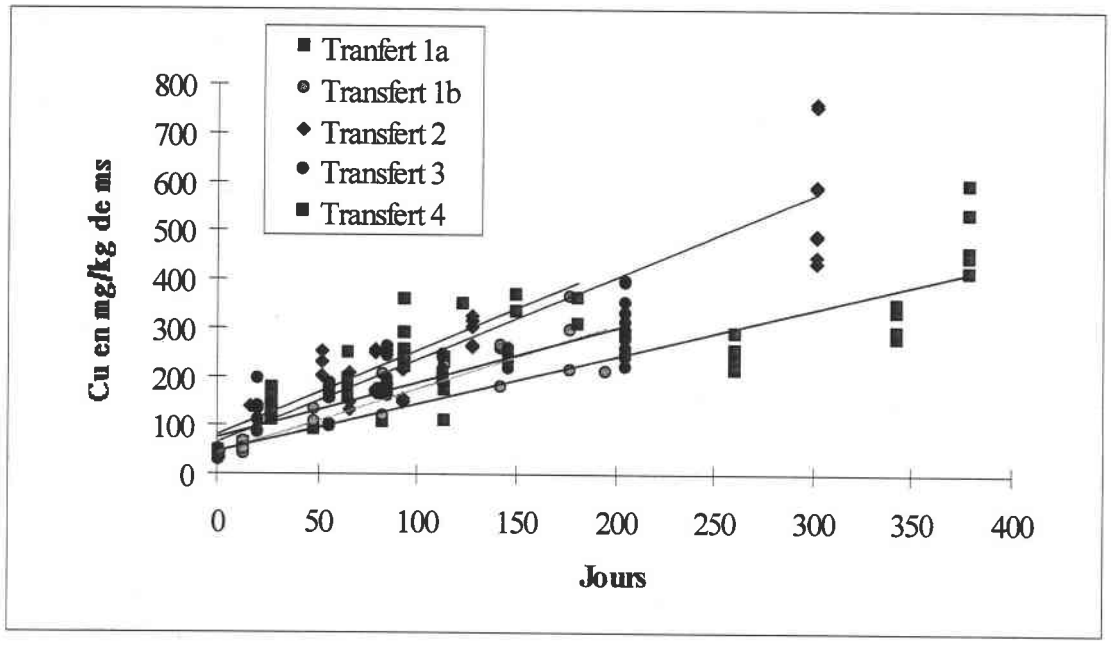
Pour la station Mirgenbach (**Figure III-70**), les cinétiques d'accumulation ne sont pas du même type que celles observées en Moselle lors des transferts. La cinétique d'accumulation est rapide et sans palier. Au cours du 1^{ier} transfert (1b), la concentration en cuivre dans les CoT augmente de 39 à To jusqu'à 292 mg Cu/kg de ms à T 7 mois. Les organismes encagés pendant les transferts 1a et 2 sont restés *in situ* pendant 13 et 12 mois, ce qui a permis de constater qu'après respectivement 13 mois et 12 mois d'exposition la concentration moyenne était de 490 et 569 mg Cu/kg de ms dans les CoT et qu'aucun palier n'était atteint.

Au cours des transferts 2, 3 et 4, les concentrations moyennes en cuivre ont augmenté respectivement de 42 à 299 mg Cu/kg de ms (après 6 mois d'exposition) pour atteindre 569 mg Cu/kg de ms (après 12 mois d'exposition), de 37 à 298 mg Cu/kg de ms (après 6 mois d'exposition) et de 42 à 335 mg Cu/kg de ms (après 6 mois d'exposition). Les concentrations en cuivre dans les CoT ont donc été multipliées par 13 pendant les transferts 1a et 2 et par 8 au cours des transferts 1b, 3 et 4.

La cinétique d'accumulation dans les CoT est toujours linéaire et elle se traduit en fonction du transfert par les équations suivantes :

Transfert1a : $y = 0.97x + 46.95$
Transfert1b : $y = 1.31x + 44.35$
Transfert2 : $y = 1.70x + 63.23$
Transfert3 : $y = 1.13x + 74.6$
Transfert4 : $y = 1.73x + 8.78$

Une ANCOVA nous a permis de comparer le parallélisme des droites de régression et les ordonnées à l'origine. Il apparaît que les cinétiques d'accumulation observées au cours des transferts 1b et 3 soit non différentes ($p<0.05$), mais que les ordonnées à l'origine le soient. De même les cinétiques d'accumulation sont similaires ($p<0.05$) au cours des transferts 2 et 4. La cinétique d'accumulation du cuivre dans les CoT étant plus rapide au cours des transferts 2 et 4 qui sont tous deux initiés aux printemps alors que les transferts 1b et 3 sont initiés en automne.



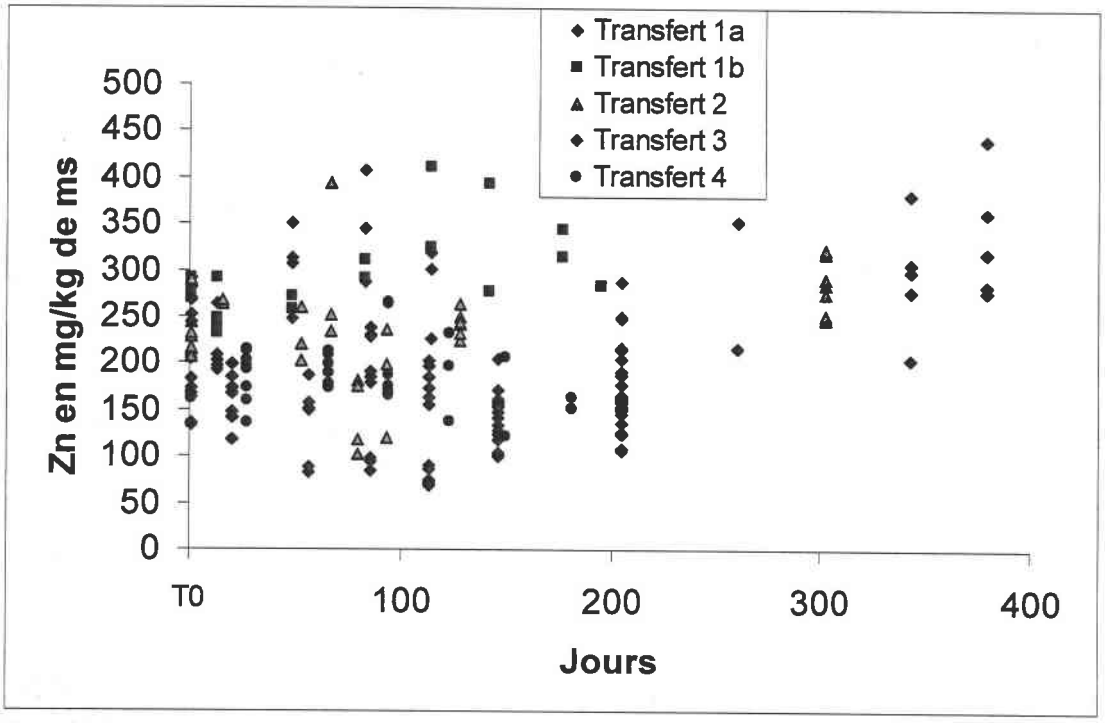


Figure III-70 : Cinétique d'accumulation du cuivre et du zinc (mg/kg de ms) dans les corbicules transférées dans la retenue du Mirgenbach pour les 4 transferts successifs.

b. Etude des cinétiques de bioaccumulation du zinc chez C. fluminea au cours des transferts

A partir de l'observation globale des quatre graphiques relatifs à l'analyse de la bioaccumulation du zinc dans le corps mou des mollusques transplantés dans la retenue du Mirgenbach (**Figure III-70**) et en rivière Moselle (**Figure III-71**), nous pouvons rapidement mettre en évidence un comportement très différent de celui observé précédemment pour le

cuivre. Les niveaux de contamination atteints en fin de transfert ainsi que les cinétiques d'évolution des concentrations pour chaque station sont très hétérogènes.

Notons cependant que les niveaux de bioaccumulation du zinc dans les CoA ne semblent pas augmenter en relation avec le temps d'exposition, quel que soit le site où ils sont transférés.

Les concentrations moyennes en zinc dans les corbicules « témoin » aux temps zéro d'exposition sont comprises entre 148 +/- 11 et 262 +/- 39 mg Zn/kg de ms selon la date de collecte de l'échantillon. Ces valeurs sont très hétérogènes par rapport aux concentrations en cuivre mesurées dans ces mêmes échantillons (**Figure III-69 et III-70**).

Dans la retenue du Mirgenbach (station Mir M), au cours des transferts 3 et 4, les concentrations moyennes en zinc dans les CoT varient respectivement, entre 136 et 188 mg Zn/kg de ms et entre 155 et 200 mg Zn/kg de ms. Par opposition, lors des transferts 1a et 1b on peut observer dans le profil d'évolution des concentrations en zinc dans les CoT, une phase d'accumulation qui se produit respectivement entre to et $t_{4\ mois}$ pour atteindre une valeur de 346 mg Zn/kg de ms et entre le temps to et le $t_{4\ mois}$ pour atteindre 367 mg Zn/kg de ms.

Notons également que les valeurs les plus élevées de bioaccumulation en zinc sont observées dans les lots de corbicules possédant au temps to, les concentrations en zinc les plus élevées. En effet dans les lots dont la concentration moyenne en zinc dans les témoins est de 262 et 230 mg Zn/kg de ms, les concentrations en zinc varient respectivement au cours des transferts entre 213 et 346 (Transfert 1a), 250 et 367 (Transfert 1b) et entre 114 et 285 mg Zn/kg de ms (Transfert 2).

<u>En rivière Moselle</u>, globalement, les concentrations en zinc dans les CoT n'augmentent pas avec le temps d'exposition. Cependant le transfert 2 à la station Mos1, révèle dans les CoT une accumulation progressive de zinc au cours du temps puisque la concentration varie de to à t_{5mois} de 141 à 352 mg Zn/kg de ms (**Figure III-71**).

A la station Mos1, les niveaux de bioaccumulation dans les CoT varient peu et, au cours des transferts 1, 3, 4 et 5 les concentrations sont comprises entre 131 et 178, 156 et 181, 102 et 154 (sauf une valeur à 271) et enfin entre 125 et 162 mg Zn/kg de ms. Ces valeurs moyennes correspondent aux valeurs les plus basses mesurées dans les échantillons témoins.

A la station Mos2, deux profils d'évolution des concentrations sont observés, d'une part une augmentation progressive de la concentration en zinc en fonction du temps et d'autre part une évolution aléatoire des concentrations en zinc avec le temps d'exposition. Au cours du transfert 1, c'est le premier profil qui est observé avec des concentrations respectives qui augmentent de 151 à 227 (après 4 mois d'exposition). Au cours des transferts 2, 3 et 4, les niveaux de bioaccumulation moyen en zinc varient respectivement entre 141 et 277, entre 156 et 209 et entre 115 et 231 mg Zn/kg de ms.

Au niveau de la station 3 aucune augmentation de la concentration en zinc dans les CoT n'est observée en relation avec le temps d'exposition, de plus ces concentrations sont très stables au cours du temps ; elles varient quelle que soit la date de transfert entre 98 et 198 mg Zn/kg de ms (sauf une valeur à 257 mg Zn/kg de ms).

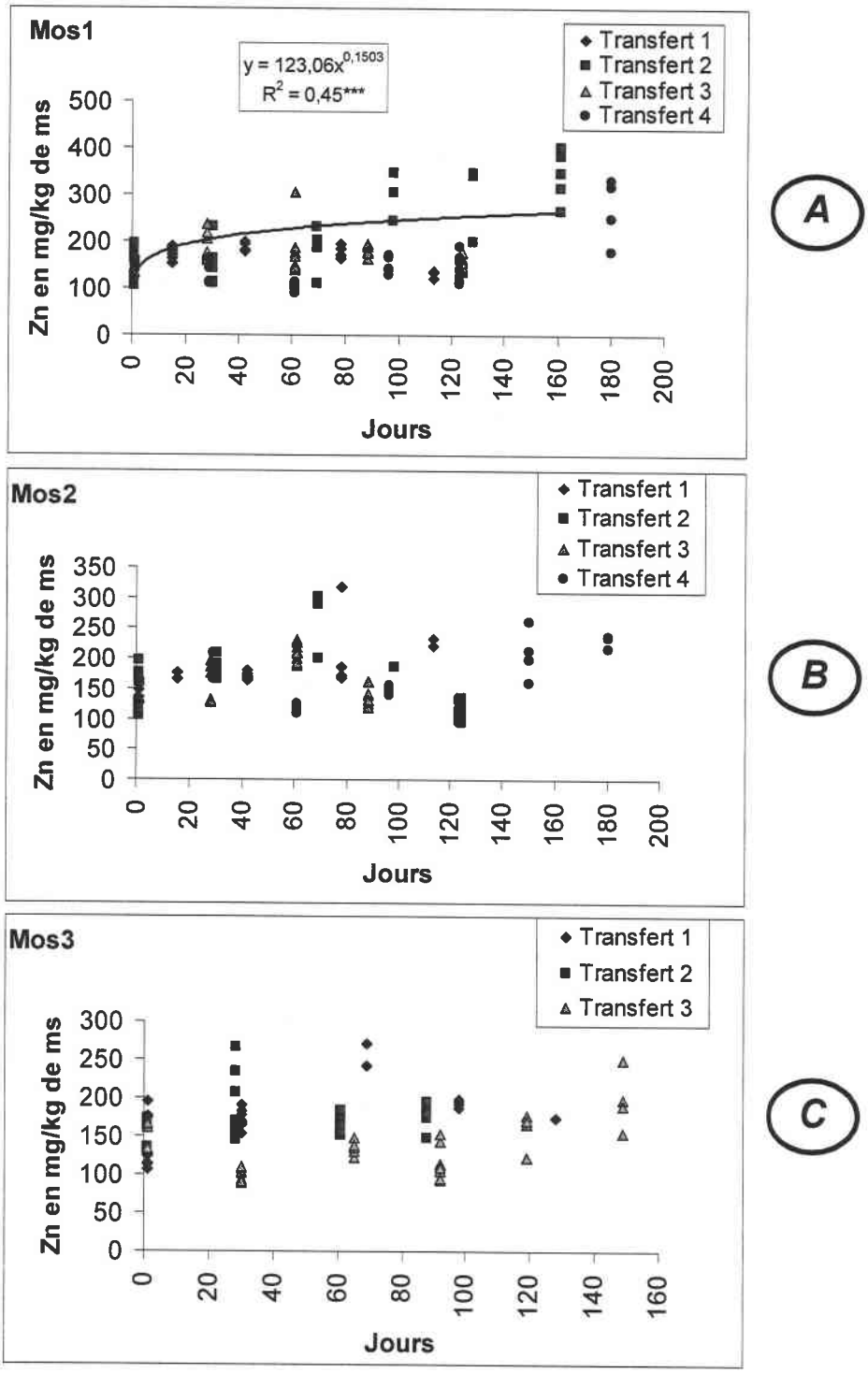


Figure III-71 : Cinétique d'accumulation du zinc (mg/kg de ms) dans les corbicules transférées pour les 5 transferts successifs en fonction de la station (Mos1, Mos2 et Mos3).

c. Relation entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les corbicules transférées et celles du milieu

En rivière Moselle, les concentrations en cuivre et en zinc dans les CoT sont indépendantes de celles mesurées dans l'eau brute (r de Spearman, $p<0.05$). Dans la retenue du Mirgenbach, les concentrations en cuivre dans les CoT sont corrélées (r de Spearman, $p<0.05$) à celles du milieu au cours des transferts 1b ($r=0.96$) et 3 ($r=0.96$) uniquement. Par contre, les concentrations en zinc dans les CoT ne sont pas corrélées à celles du milieu pour aucun des transferts.

d. Influence de la taille sur l'accumulation du cuivre par C. fluminea

Une expérience, initiée en même temps que le premier et le second transfert, a permis d'évaluer l'influence de la taille des organismes sur la cinétique d'évolution des concentrations en cuivre et en zinc dans les CoT de la retenue du Mirgenbach. La **figure III-72** présente les cinétiques d'accumulation du cuivre et du zinc dans les corbicules en fonction de la classe de taille des organismes.

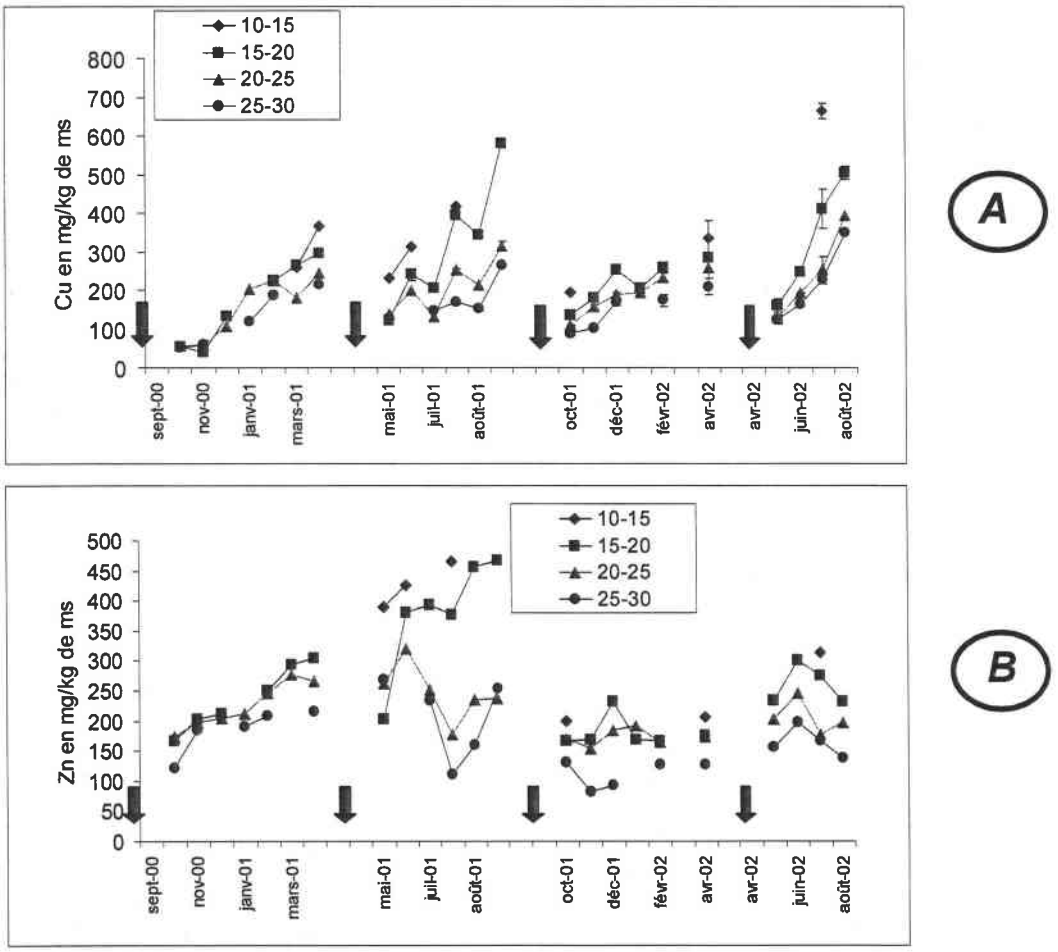


Figure III-72 : Evolution de la cinétique d'accumulation du cuivre (A) et du zinc (B) en fonction de la classe de taille des corbicules transférées. Les flèches rouges représentent les dates de transfert des organismes sur la station Mir M.

Nous ne reviendrons pas, face aux résultats présentés par la **figure III-72 (A et B)**, sur la cinétique d'évolution des concentrations en cuivre qui est une cinétique d'accumulation. L'intérêt de ces résultats est d'observer la différence de cinétique entre les différentes classes de tailles de corbicules étudiées. Les **figures III-72 A et B** montrent clairement que la cinétique d'accumulation du cuivre dans les CoT de taille 15-20mm est la plus rapide, suivi de celle des organismes de taille 20-25mm, puis 25-30mm. La cinétique d'accumulation du cuivre semble être plus rapide sur la période printemps-automne que pendant la période automne-printemps et les différences entre les profils d'évolution des concentrations sont également plus marquées, au cours de la période printemps-été, entre les différentes classes de taille.

L'analyse des cinétiques d'évolution des concentrations en zinc dans les CoT met clairement en évidence une relation entre la classe de taille des organismes et le niveau de bioaccumulation, avec selon un ordre croissant 10-15 mm> 15-20 mm > 20-25 mm > 25-30 mm.

Remarquons dans le cas du zinc, que le premier transfert se caractérise, quelle que soit la classe de taille considérée, par une cinétique d'accumulation dans les CoT alors que pendant les transferts 3 et 4, les CoT présentent une cinétique d'évolution des concentrations en zinc irrégulière. Au cours du transfert 2 et dans une moindre mesure du transfert 4, une diminution abrupte des concentrations en zinc est observée à partir de mai-juin dans les CoT.

Pour une année donnée, les niveaux de bioaccumulation en zinc des organismes semblent plus faibles au cours des transferts initiés en automne (1 et 3) par rapport à ceux initiés au printemps (2 et 4).

e. Comparaison des résultats obtenus lors de l'étude de la bioaccumulation du cuivre et du zinc dans les corbicules autochtones et transférées

L'évolution des concentrations en cuivre dans les CoT à la station Mos1 est significativement corrélée avec celle des CoA ($r=0.77$, $p<0.05$) . Cependant aux stations Mos2 et Mos3, aucune corrélation significative entre les profils d'évolution des CoA et des CoT n'est observée. Dans le cas du zinc aucune corrélation n'est significative.

III.2.2.2. Conclusion partielle

III.2.2.2.a. Etude des cinétiques d'évolution des concentrations en cuivre et en zinc

L'étude de la cinétique d'évolution des concentrations en cuivre et en zinc dans les CoT, a permis de mettre en évidence, conformément aux résultats obtenus chez la dreissène, des comportement très différents pour le cuivre et le zinc.

Dans le cas du cuivre, aux stations Mos1 et Mos3, les profils d'évolution des concentrations en cuivre au cours du temps se caractérisent par une accumulation de cuivre au cours des premiers mois d'exposition (jusqu'à t_{3mois} ou t_{4mois}) puis un palier est atteint et les niveaux de bioaccumulation se stabilisent. Cependant au cours des transferts T3 et T4 de la station Mos1, aucune accumulation de cuivre n'est observée dans les CoT même au cours des premiers mois d'exposition. Dans le cas d'une accumulation dans les CoT, il est a noter que les concentrations en cuivre atteintes dans les CoT en fin de transfert restent faibles (entre 36 et 63 mg Cu/kg de ms).

A la station Mos2, le même type d'évolution des concentrations en cuivre est obtenu dans les CoT qu'aux stations Mos1 et Mos3, à savoir une accumulation de cuivre au cours des premiers mois de transfert, suivi d'un palier. Cependant ce palier n'est pas un seuil limite d'accumulation comme dans le cas des CoT des stations Mos1 et 3, mais il traduit le ralentissement de la vitesse d'accumulation du cuivre dans les organismes et par conséquent les concentrations en cuivre continuent à augmenter jusqu'à la fin du transfert. De plus, les niveaux de bioaccumulation en cuivre sont supérieurs dans les CoT de la station Mos2, par rapport à Mos 1 et Mos 3, avec des maxima à 78, 55, 70, 87 mg Cu/kg de ms, respectivement pour les transferts 1, 2, 3 et 4.

A la station Mos2, la cinétique d'accumulation du cuivre par les CoT semble être plus rapide lors des transferts initiés en automne. Cette observation est à mettre en relation avec les niveaux de bioaccumulation des CoA, plus élevés en automne-hiver qu'en été. Il est probable que l'augmentation du niveau de bioaccumulation des CoT en automne-hiver soit le fait du fonctionnement cyclique de la biologie de l'organisme, puisque la même variation saisonnière a été observée chez les organismes autochtones des stations Mos1 et Mos3. Il est possible, comme nous l'avons expliqué pour les corbicules autochtones que le ralentissement du métabolisme d'excrétion, en relation avec la faible abondance en nourriture à cette période et avec la diminution de la température, soit à l'origine d'une cinétique d'accumulation plus rapide des métaux dans les organismes.

Dans la retenue du Mirgenbach, les cinétiques d'évolution des concentrations en cuivre sont des cinétiques d'accumulation au cours desquelles les concentrations en cuivre augmentent de façon linéaire avec le temps d'exposition pour atteindre des valeurs de 490, 292, 569, 298, 351 mg Cu/kg de ms, respectivement pour les transferts 1a, 1b, 2, 3 et 4. Aucune limite d'accumulation du cuivre n'est atteinte dans les organismes lors des différentes périodes de transfert.

La cinétique d'accumulation du cuivre dans les CoT est plus rapide lorsque le transfert est initié au printemps, qu'en automne. Par contre, en rivière Moselle, nous avons pu mettre en évidence une augmentation progressive des concentrations en cuivre dans les CoA du printemps jusqu'à l'automne-hiver et dans les CoT de la station Mos2, nous avons montré que les cinétiques d'accumulation semblaient plus rapides en automne-hiver.

D'après Bachmann (2000), la vitesse de croissance de la coquille de *C. fluminea* augmente à partir du printemps et ce jusqu'en septembre, ce qui correspond à une reprise

d'activité et à une augmentation de la masse sèche des organismes. A partir de septembre, la vitesse de croissance diminue fortement, puis devient nulle en hiver. Le même auteur a également montré que la vitesse de croissance des corbicules était beaucoup plus rapide pendant les deux premières années et qu'ensuite elle diminuait. Le modèle de croissance établit par cet auteur montre que les organismes nés en 1998, atteignent une taille de 10-15 mm environ en 1999 (1 ans), puis une taille de 20-25 mm en 2000 (2 ans) et de 26-30 mm en 2001. La vitesse de croissance des organismes pourrait, par conséquent, expliquer les différences de cinétique d'accumulation observées d'une part entre les différentes classes de taille, d'autre part entre les saisons. L'accumulation serait donc très fortement influencée par le rythme d'activité de l'organisme au cours de la période printemps été, et ceci expliquerait également et en partie l'absence de corrélation entre les concentrations ponctuelles en cuivre dans l'eau et l'organisme a cette période.

A partir du printemps, l'accélération du métabolisme entraînerait l'intensification des échanges avec le milieu extérieur et une prise de poids des corbicules (Bachman, 2000). Par conséquent, dans le cas où la concentration en cuivre dans le milieu est faible et relativement constante (Mos1, Mos3, voir Mos2) et que les organismes sont en phase de régulation, la reprise d'activité associée à une prise de poids importante, pourrait par dilution contribuer à la diminution du niveau de bioaccumulation en cuivre au printemps et en été, conformément à ce qui est observé chez les CoA de la rivière Moselle. Par contre, en automne, la croissance ralentit, puis devient presque nulle en hiver ; par conséquent, il y a simultanément plus de cuivre accumulé par unité de masse corporelle et moins d'excrétion du cuivre par ralentissement du métabolismes.

Par contre dans un milieu fortement contaminé comme la retenue du Mirgenbach, les CoT sont en phase d'accumulation du cuivre et l'accélération des échanges avec le milieu extérieur durant la croissance accroît la quantité de métaux absorbés. Rappelons également que les concentrations en cuivre dans la retenue du Mirgenbach sont maximales durant la période qui va de février à fin mai-début juin, ce qui malgré l'absence de corrélation entre les concentrations en cuivre dans les CoA et celles dans l'eau, pourrait contribuer à l'accélération de la cinétique d'accumulation à partir du printemps.

Au cours des transferts initiés en automne, le métabolisme des organismes ralentit et de ce fait, l'accumulation du cuivre serait moins influencée par la croissance qui décline ou par la reproduction qui se termine en octobre. Ceci pourrait contribuer à l'apparition d'une corrélation significative entre les concentrations en cuivre dans les CoT et celles du milieu au cours des transferts 1b et 3. Cependant, les conditions dans la retenue sont particulières avec des températures de l'eau ne descendant jamais en dessous de 10°C avec une moyenne de 17.4°C d'où un ralentissement du métabolisme des organismes en hiver moindre qu'en rivière Moselle.

Pendant la période printemps-été, la vitesse d'assimilation des métaux peut également influencer les niveaux de bioaccumulation des organismes. D'après Wang *et al.* (1995), Wang & Fisher (1996a, b, 1997a), la composition de la nourriture absorbée par les organismes peut

fortement influencer l'efficacité de l'assimilation des métaux. La source majeure de nourriture des organismes filtreurs est l'ensemble du phytoplancton, des détritus et bactéries présent dans le milieu. Or au cours de la période printemps-automne, le plancton se développe et peut augmenter le transfert des métaux vers les corbicules conformément aux observations de Lee & Luoma (1998)

L'étude de l'influence de la taille des organismes sur la cinétique d'accumulation du cuivre a permis de confirmer l'impact de la vitesse de croissance sur la bioaccumulation du cuivre mais également du zinc. En effet, nous avons vu que les organismes de la classe de taille 15-20mm accumulaient plus de cuivre que ceux de taille supérieure et que cette différence était encore plus évidente pendant la période printemps – automne.

En ce qui concerne le zinc dans la majorité des transferts en Moselle, aucune accumulation n'est observée au cours du temps dans les CoT conformément aux observations faites chez les dreissènes et les bivalves semblent être en phase de régulation du zinc.

L'analyse des résultats relatifs à l'étude de l'accumulation du zinc au cours du temps dans les CoT révèle deux profils d'évolution des concentrations, d'une part une augmentation progressive de la concentration en zinc en fonction du temps et d'autre part une succession de phases d'accumulation et d'élimination du métal au cours du temps d'exposition sans relation avec le niveau de contamination de l'eau brute (pas de corrélation significative) et ce quelle que soit la station considérée. Rappelons que l'accumulation du zinc par les bivalves est fortement influencée par les paramètres du milieu et notamment la quantité de MES (Klerks & Fraleigh, 1997; Andres, 1997), d'autant plus que la voie dominante d'assimilation du zinc est la voie trophique conformément aux observations de Qiu et al., 2001.

Dans la retenue du Mirgenbach, les niveaux d'accumulation en zinc semblent les plus importants dans les CoT (transfert 1a, b et 2) dont les témoins présentent les concentrations en zinc les plus fortes. La diminution des concentrations en zinc observée dans les CoT à partir de mai-juin pourrait être lié à la reproduction (gamétogénèse).

III.2.2.2.b. Comparaison des profils d'accumulation des CoA avec celui des CoT

Une corrélation est observée entre l'évolution des concentrations dans les CoA et les CoT, uniquement à la station Mos1. A la station Mos2, l'absence de corrélation s'explique par le fait que les CoA sont collectées à la station Mos2 rive, alors que les CoT sont positionnées dans le rejet. A la station Mos3, l'interruption fréquente des transferts en raison de dégradation des cages contribue certainement à la non significativité de la corrélation entre les CoA et les CoT. Il est difficile face à ces résultats de valider la technique de transfert pour les corbicules, d'autant plus, que nous ne disposons pas de CoA dans la retenue du Mirgenbach.

Cependant, dans le cas du cuivre, les profils d'évolution des concentrations sont représentatifs du gradient de contamination interstations, établit sur la base des concentrations en cuivre dans l'eau brute. Les concentrations maximales en cuivre et en zinc mesurées dans

les CoT sont inférieures aux concentrations moyennes des CoA (96 +/-19 mg Cu/kg de ms et 303 +/- 111 mg Zn/kg de ms) alors que les CoT sont placées dans le milieu le plus contaminé. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que les sédiments placés dans les cages sont évacués par les forts débit d'eau caractérisant la station rejet et par un effet de stress sur les organismes.

Dans le cas du zinc, aucune corrélation n'est observée entre l'évolution des concentrations dans les CoA et les CoT. Ceci peut être le fait d'une forte variabilité des concentrations en zinc dans les organismes. En effet, les concentrations en zinc dans les CoT évoluent rapidement avec une succession de phase d'accumulation et d'élimination du métal et il n'y a pas d'accumulation en relation avec le niveau de contamination du milieu. Ce profil d'évolution particulier est, comme chez les dreissènes, à mettre en relation avec une régulation rapide du métal par les organismes et avec le fait que l'accumulation est fortement dépendante des caractéristiques du milieu conformément aux observations de Klerks & Fraleigh (1997), Andres (1997). La vitesse de régulation qui peut varier d'un individu à l'autre en fonction de la saison (Maarouf, 1993), de la reproduction, et de la nourriture ingérée (Qiu *et al.*, 2001, Xu & Wang, 2002). La croissance a également un effet sur la vitesse d'accumulation du zinc comme nous l'avons montré.

Les principaux résultats sont les suivants :

- Le profil d'évolution des concentrations en cuivre chez les CoT est une cinétique d'accumulation uniquement au niveau des stations Mos2 et surtout Mir. Aux stations Mos1 et Mos3, il n'y a accumulation du cuivre qu'au cours du premier mois d'exposition puis stabilisation de la concentration.
- Au niveau de la station Mir, la cinétique d'accumulation est linéaire.
- Dans le cas du zinc, les concentrations n'évoluent quasiment pas au cours des transferts par rapport à celles à t0.
- Les cinétiques d'accumulation du cuivre chez les CoT sont plus rapides en automne-hiver à la station Mos2 et au printemps-automne en station Mir.
- L'augmentation de la vitesse d'accumulation ou de la concentration en métal dans les organismes serait fortement dépendante du rythme d'activité des organismes (croissance, reproduction) et du niveau de contamination du milieu.
- Les concentrations en cuivre dans les CoT ne sont corrélées à celles des CoA qu'à la station Mos1. L'absence de corrélation aux stations Mos2 et Mos3 serait le fait de conditions d'exposition différentes et de biais expérimentaux.
- Les concentrations en zinc dans les CoT ne sont pas corrélées à celles des CoA en Moselle (comme observé chez les DA/DT) en raison d'une grande variabilité des concentrations zinc dans les corbicules de Moselle.
- Les CoT ont la même capacité à accumuler le cuivre et le zinc que les CoA aux stations Mos1 et Mos3. A la station Mos2, les CoT accumulent moins de cuivre et de zinc, certainement en raison de conditions d'exposition particulières et ne correspondant pas au preferendum d'habitat de l'espèce.

Chapitre IV. Impact écotoxicologique et Transfert du cuivre et du zinc dans la retenue du Mirgenbach

Ce chapitre a fait l'objet d'une publication soumise au journal environmental pollution et acceptée en novembre 2003 et les points singuliers mis en évidence sont rappelés page 318.

CIRCULATION OF COPPER IN THE BIOTIC COMPARTMENTS OF A FRESHWATER DAMMED RESERVOIR.

IV.1. Abstract

This study concerns a chronic copper release in an aquatic ecosystem with a short residence time: Mirgenbach reservoir; which is characterized by high salinity, conductivity and hardness, a eutrophic state and a high temperature. To study the bioavailability of copper in the biotic compartments, the sampling covered the entire food chain; this includes phyto- and zooplankton, macroalgae (three species), aquatic plants (three species), crustaceans (three species), mollusks (bivalves and gastropods), and three species of fish. Of the organisms present, the filter feeder *Dreissena polymorpha* (89 to 952 mg Cu/kg dry weight), the detritivorous *Bithynia tentaculata* (303-604 mg Cu/kg dry weight) and *Orconectes limosus* in both muscle (74-311 mg Cu/kg dry weight) and viscera (305-1851 mg Cu/kg dry weight) were the most contaminated by copper. Among planktonic species, the highest copper levels were not observed in phytoplankton, but rather in zooplankton (Cladocerans + copepods). In green algae, the BCF was always comparable among the species, excepted one. Copper concentrations measured in crustaceans were on the same order of magnitude, whatever the species (Dikerogammarus villosus, *Atyaephyra desmaresti*, zooplankton crustaceans or muscle of crayfish) and were in the range of 103 to 162 mg Cu/kg d.w., The level of copper found in fish was lower than in the other species, and varied significantly among species with, in order of increasing contamination in the liver: Pike perch < Perch < Roach < Bream. Thus, body copper concentrations recorded in the present study show large variability between species, even some that are closely related. In most cases, however, the metal handling strategy, feeding habits, morphology and ecology can, at least partially, explain the metal content recorded. Pollution factors have been used to assess the state of contamination of the food chain and the best indicator of pollution among all the species has been pointed up. Pollution factors calculated for water and sediments were respectively 11 and 14, and all organisms showing equivalent pollution factors can be considered to be good indicators of contamination at this site. This study showed finally that the copper in the lake is bioavailable and bioaccumulated by organisms up to high levels and some effects of long-term toxicity of copper on benthic community and planktonic biomass were pointed up.

IV.2. Introduction

The accumulation of trace elements in aquatic consumers is of interest to environmental scientists concerned with the fate and effect of contaminants, as well as to ecologists interested in food web dynamics and trace metal biogeochemical cycles (Reinfelder *et al.*, 1998). Whether their goal is to assess the toxic impact or distribution of contaminants, it is necessary to understand how elements move through aquatic food webs. Understanding the means by which aquatic organisms accumulate trace metals such as copper from their environment is complicated by the existence of both soluble and dietary sources. For many aquatic invertebrates, trophic transfer accounts for a major portion of total trace element accumulation (Luoma *et al.*, 1992; Fisher & Reinfelder, 1995 ; Wang *et al.*, 1996a ; Munger *et al.*, 1997). In the field, the ecotoxicological approach is very difficult for evaluation of the impact of heavy metals in an aquatic environment, due to the complexity of interrelationships between organisms and the ecosystem. However, field studies can enable assessment of the long-term effect on organisms of heavy metals like copper. The underlying regulator of metal concentrations accumulated by animals in tissue is the balance between accumulation and elimination (both of which vary according to the organism's accumulation strategy and diluting body growth) (Rainbow *et al.*, 1990). Mirgenbach lake was interesting for this study because of its specific physicochemical characteristics, and because it is a receptor medium for a chronic copper contamination - already evaluated in the abiotic compartments in a parallel study. Copper pollutes a large part of Mirgenbach lake as a result of a release of metals due to corrosion, essentially in the cooling system (brass exchanger Cu, Zn: 70/30) of Cattenom nuclear power plant (Mersch *et al.*, 1993). This phenomenon is amplified by the high salt load and the hardness of Moselle water and by an acid injection (HCl) to fight furring.

The copper released into Mirgenbach lake was estimated at 30,590 kg Cu/year, while the amount of copper circulating in the biotic compartments was estimated at 7,315 kg Cu/year throughout the lake (Vinot & Pihan, unpublished data). A principal flux of copper towards the sediments was observed (about 70% of the copper released in the lake). The mean concentration of copper in water in the center of the lake was 38 +/- 12µg/l.

The Moselle River (high conductivity: 1650 µS/cm, linked to high salinity (Na^+: 150 mg/l, Cl^-: 460 mg/l) and hardness (CaCl2), much suspended matter: organic matter and clay and nutrients: N, P, and silica) conditions the specific physicochemical characteristics of the lake. Mirgenbach lake was a eutrophic ecosystem and, besides the beneficial trophic effects of organic matter, organisms may benefit from the reduced bioavailability of toxicants (copper). Several studies have indicated that sorbed or complexed toxicants are less toxic than are soluble compounds (Allen *et al.*, 1980), due to reduced bioavailability (see Nugegoda & Rainbow, 1988; McGeer *et al.*, 2002). However, this is not always the case. Dissolved cupric ion, thence, is often considered as the more toxic form for organisms (Pagenkopf *et al.*, 1974; Wood, 1983; Borgmann & Ralph, 1984; Xue & Sigg, 1990) and several studies have shown a close correlation between copper toxicity and cupric ion activity (Borgmann, 1983; Meador, 1991).

The high water temperature (**Table III-31**) in Mirgenbach lake (maxima of 28°C; temperature never below 10°C) increases the toxicity of copper (Centeno *et al.*, 1993; Snell *et al.*, 1991).
A number of abiotic criteria, including the dissolved concentration and particulate phase, and the ways in which such factors as salinity, water hardness, and dissolved organic carbon concentration influence these values, affect trace metal element accumulation in aquatic animals (Reinfelder & al., 1998). Thence, although the copper be toxic for a great number of freshwater organisms (Nor, 1987 ; Reed-Judkins, 1997 ; Sherba *et al.*, 2000 ; Brix *et al.*, 2001 ; LaBreche *et al.*, 2002 ; Ma *et al.*, 2003), the physicochemical characteristics of Mirgenbach lake influence certainly the availability of copper in the system (**Table III-31**) and thus, its toxicity.
The aim of the present study is (1) to assess the distribution of copper in the biotic compartments, and the variation in the bioaccumulation level according to the species and their trophic levels in the food chain; (2) to evaluate the level of copper pollution in the biotic compartments and, (3) to assess the ecotoxicity of chronic contamination by copper.

Table III-31 : The main physicochemical parameters in Mirgenbach Lake. Copper concentrations in water and in decanted matter measured at a site located in the middle of the lake.

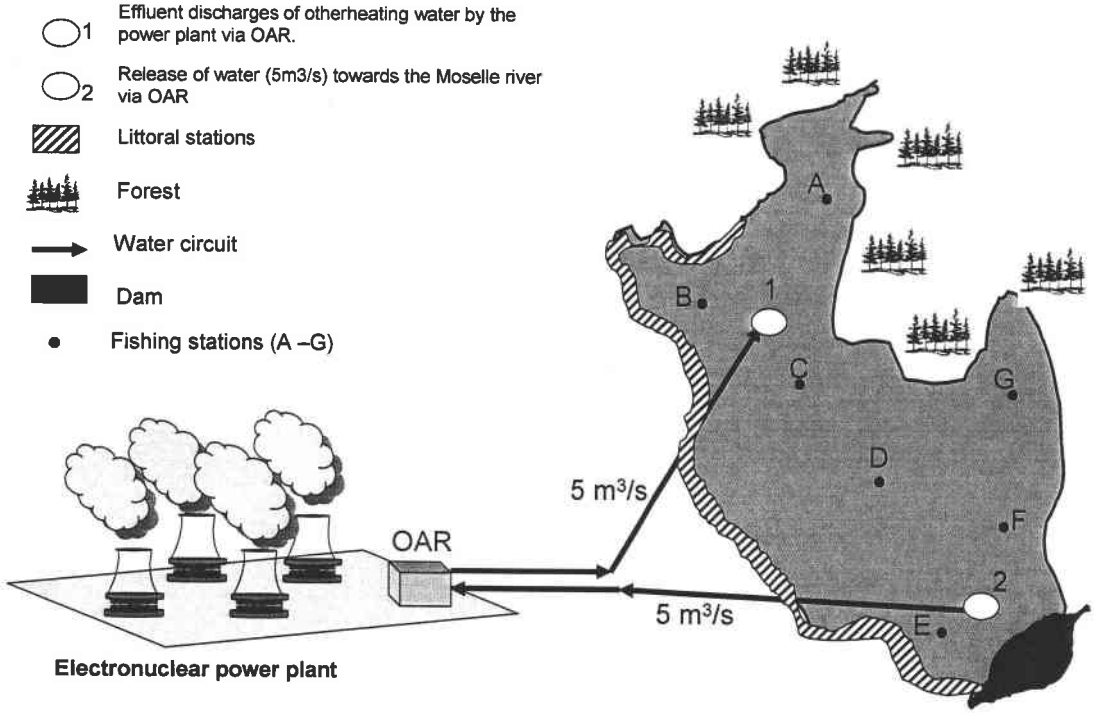
Parameters	Means	Range
Temperature (°C)	17.4	11.1 – 25.2
pH	8.5	8.2 – 9.3
Oxygen (mg/l)	9.2	7.2 – 11.3
NH_4^+ (mg N/l)	0.07	0.02 – 0.13
PO_4^{2-} (mg P/l)	0.20	0.11 – 0.31
NO_3^{2-} (mg N/l)	3.04	2.26– 3.90
SiO_2 (mg/l)	9.77	6.13 – 12.71
Conductivity at 20°C (µS/cm)	1686	1050 – 2140
Transparency (m)	0.90	0.40 – 1.30
Hardness (mg $CaCO_3$ /l)	566	410 – 720
Chloride (mg/l)	344	181 – 500
Sodium (mg/l)	120	67 – 181
Potassium (mg/l)	7	5 – 11
Chlorophyll a (mg/m^3)	2.4	0.1 – 6
Albazod (g dry weight/m^3)	0.17	0.01 – 0.46
Copper in water (µg/l)	38	24 – 62
Copper in decanted matter (mg/kg	912	656 – 1223
Copper in sediments (mg/kg d.w.)		
- Middle of the lake	744	571 – 925
- Littoral area	173	46 – 345

IV.3. Materials and method

IV.3.1. Study area

Mirgenbach reservoir is a freshwater dammed reservoir (100 ha; 7.3 x 10^6 m^3) located near the Cattenom nuclear power plant (four 1300-MW reactors) in northeastern France. It is used as a thermal buffer and backup cooling reservoir for the blowdown from the tertiary cooling system of the power plant (**Figure III-73**). The lake is devoid of radioactive contamination (Mersch *et al.*, 1992). Water (8 m3/s) is directly pumped from the Moselle River and is then conveyed to the cooling water system, which is a half-closed circuit with flow of 50 m3/s, where it serves as makeup. Part of the cooled water flows toward Mirgenbach lake (5m3/s), with discharge equal to the input flow (8m3/s) minus evaporation (3m3/s). The residence time of water in the lake is about ten days.

Samples were collected at littoral sites, which are shown in **Figure III-73.**



NB: overheated water from the power plant

Figure III-73 : Map of sampling sites.

IV.3.2. Biological materials: sampling and sampling sites

Surface water samples were collected in the middle of the lake from 1998 to 2001 and placed in opaque bottles (2 l) for analysis of Chlorophyll a, total Chlorophyll, silica and pheopigments, and the evolution of these parameters in water was observed. The organisms were chosen because of their position in the food chain, their accessibility and their presence in high numbers in the study area. **Figure III-74** shows the trophic level in the food chain of each species collected from Mirgenbach lake, and the interrelationships between each level.

Plankton was collected by towing a 20 µm mesh size Clark-bumpus sampler for several minutes at a depth of 50 cm in August 2000 and 2001 in a central area of the lake. Once collected, the samples were separated in the laboratory using successive filtration (1000µm, 500µm, 200µm, 100µm, 50µm and 20µm). Microscopic observations of aliquots preserved in formolin revealed the groups of organisms with the highest biomass (**Table III-32**). The primary food source in Mirgenbach reservoir corresponds to the first producers or phytoplankton (<200µm). The zooplankton was observed in size classes from 200µm to >1000µm.

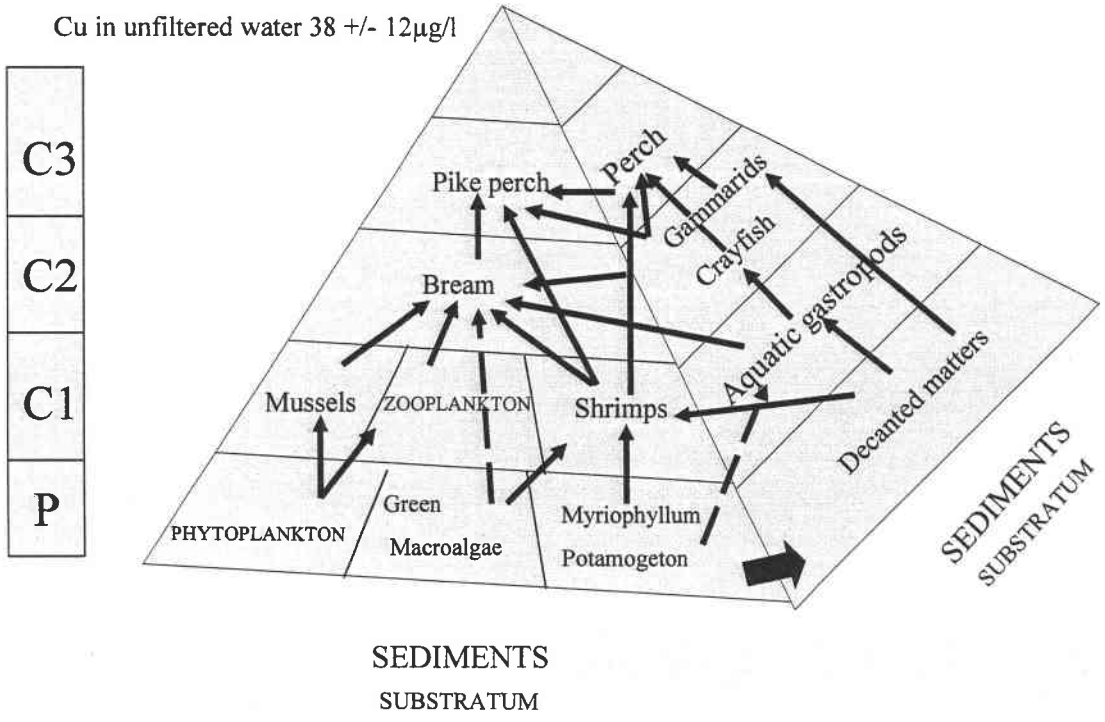


Figure III-74 : Trophic levels of organisms collected from Mirgenbach lake in two food chains: autotrophic chain and detritivorous chain. (P) Primary producers; (C1) First consumers; (C2) Secondary consumer; (C3) Tertiary consumers;

Green filamentous algae *Oedogonium sp.* was collected on the rock, while *Cladophora sp.* (floating algae) was collected in surface water, as the green algae *Enteromorpha intestinalis.* Aquatic macrophytes were collected from littoral sites from spring to autumn (April to September), 2000 and 2001. Mosses (*Fontinalis antipyretica*) were collected from a reference site (Meuse River), transported to the laboratory and washed. The mosses were the transferred to the study area in the central part of the lake, and were collected again one month later. In the laboratory, macrophyte, alga and moss samples were washed under pressure with nanopure water, to eliminate suspended particles.
Mollusca bivalvia (*Dreissena polymorpha*) and gastropods (*Bithynia tentaculata*) were handpicked from stones or rocky zones along the shore and dam area. Crustaceans, shrimps (*Atyaephyra desmaresti*), gammarids (*Dikerogammarus villosus*) and crayfish (*Orconectes limosus*) were captured with a dip net. Gammarids and crayfish were considered in this study primarily as consumers of organic matter and secondly as carnivorous.

All organisms were transported in a cooler containing water to the laboratory, and arrived within 4 hours of being collected. After a first clean-up, the collected organisms were placed for 24 hours in an aquarium filled with dechlorinated tap water to purge their gut contents, and then washed and frozen at –18°C in polyethylene bags. After being unfrozen, the organisms were pooled by size class based on total length for crustaceans and shell length for bivalves. One size class was chosen for each species (10-15 mm for *Atyaephyra desmaresti*, 15-20 mm for *Dikerogammarus villosus* and 18-22 mm for *Dreissena polymorpha*). For mollusks, the soft tissues were separated from the shells for analysis. Crayfish (6 to 13 g) were dissected to separate muscle and viscera from the carapace.

Fish were collected (**Figure III-73**: sites A to G) with vertical fishery nets during two field sampling surveys each year in summer and in autumn, from 2000 to 2001. Four species were studied in 2000: pikeperch (*Stizostedion lucioperca*), perch (*Perca fluviatilis*), roach (*Rutilus rutilus*) and bream (*Abramis brama*), but only one species was studied in 2000 and 2001, the bream. After collection, the fish were transported in coolers with ice to the laboratory.
The number of individuals of each species collected varies and is given in the next section with the elementary concentrations.

IV.3.3. Chemical and data analysis

One sample was constituted from: 15 crustaceans (around 200 mg, whole body), 10 mussels (around 200 mg, soft tissues), 30 gastropods (around 250 mg), 1 crayfish (viscera, around 100 mg), 1 crayfish (muscle, around 300 mg), 300 mg d.w. for vegetal matter or 200 mg d.w. for plankton. All samples were dried (70°C) to a constant weight, ground in a mortar and digested by acid attack (HNO_3, 36%) (Mersch *et al.*, 1993). Copper analyses were carried out on four organs of the fish (muscle, liver, spleen and kidney). Another sample was constituted from

300 mg d.w. for each organ. Metal concentrations in biological matter are expressed as mg/kg of dry weight (d.w.) (mean, SD, range, analysis number).

On the basis of copper concentrations in water during the study period, some bioaccumulation factors (BCF) were calculated. Transfer factors (TF) were calculated corresponding to the copper level in predators divided by the copper level in the prey, using the same units for each. The pollution factors (PF) were also calculated and correspond to the copper concentration in an organism collected at a polluted site, divided by the copper concentration in the same organism collected from an unpolluted site. In this study, the upstream Moselle, which has some physicochemical parameters similar to Mirgenbach Lake and low copper concentrations in the water (3.7 +/- 2.4 µg Cu/l), could be, in terms of copper, considered as an unpolluted site. Data from the upstream Moselle were provided by a parallel study. Two other unpolluted sites, Lindres lake (a fish farming lake) and Madine lake (drinking water reservoir), monitored for several years in the laboratory, were also used as reference sites. Some supplementary data were obtained in a preliminary study of Mirgenbach reservoir in 1999. For these samples, the same treatment and analysis protocols were followed.

Extreme care was taken to avoid contamination during collection and preparation of all samples. All materials used were kept in polypropylene bags and washed with acidified water (5% HNO_3) and nanopure water before being used. Cu was analyzed in a Perkin-Elmer flame atomic adsorption spectrophotometer (NF T 90-112). The method of standard addition calibration was used to correct for matrix effects; metal concentrations were calculated and expressed as milligrams per kilograms of metal/dry weight of tissue. The readings were checked against those of standard solutions, and contamination errors minimized by using blanks, acid-washed glassware, analytical grade reagents, and nanopure water. Some certified samples were used to validate our results: (Lobster hepatopancreas (NRC-Tort 2, certified by NIST), mussels (certified by BCR-IRMM) and water (SPS-SW1, certified by NIST). The differences between our values and the certified values were acceptable (<10%) enough to validate our results.

IV.4. Results

IV.4.1. Copper distribution in the food chains in Mirgenbach lake

Copper concentrations, BCF and PF in all species collected from Mirgenbach lake are presented in **Table III-32**; **Figure III-75** shows the relationships between trophic level and the copper concentrations measured in organisms, while **Table III-33** shows the copper concentrations in the same species collected in an unpolluted area. Copper concentrations in fish collected in the lake during the preliminary study in August 1999 are presented in **Table III-34A** while **Table III-34B** shows copper concentrations in fish in the same site ten years ago and **table III-34C** shows copper concentration in fish collected in an unpolluted site.

Table III-32 : Mean copper concentrations in organisms (mg/kg d.w.) collected from Mirgenbach lake between October 2000 and December 2001.

	Mean	Sd	range	N	BCF	PF [8]
Water (µg/l)	38	12	24-62		-	
Oedogonium sp.	182	54	87-333	20	4789	
Cladophora sp. [7]	49	15	39-67	3	2465	11
Enteromorpha intestinalis [7]	41	7	38-51	4	2060	10
Phytoplankton [4] (100-200µm)	70	15	58-106	16	1842	
Phytoplankton [5] (50-100µm)	82	13	65-101	16	2158	
Phytoplankton fragments + MO [6] (20-50µm)	135	25	112-176	16	3553	
Potamogeton pectinatus	155	77	75-318	22	4079	11
Myriophyllum spicatum	183	43	108-256	15	4816	10
Fontinalis antipyretica	152	12	142-161	6	4000	8
Zooplankton [1] (>1000µm)	103	43	73-183	16	2711	
Zooplankton [2] (500-1000µm)	141	12	125-157	16	3711	
Zooplankton [3] (200-500µm)	130	13	108-151	16	3421	
Dreissena polymorpha	361	201	89-952	74	9500	15
Atyaephyra desmaresti	153	19	117-194	164	4026	1.4
Dikerogammarus villosus	134	24	89-237	157	3526	1.2
Bithynia tentaculata [7]	390	138	303-604	4	19500	1.4
Orconectes limosus (muscle)	162	66	74-311	15	4263	1.4
Orconectes limosus (viscera)	1020	445	305-1851	15	26842	8
Abramis brama (muscle)	1.7	0.6	0.8-3	16	45	1.9
Abramis brama (kidney)	11	4	6-23	16	289	0.6
Abramis brama (spleen)	37	14	18-76	16	974	2.3
Abramis brama (liver)	80	25	43-130	16	2105	13

(1) Large cladocerans (Sididae, Leptodoridae)
(2) Cladocerans (young Sididae) and copepods (cyclopoid and calanoid)
(3) Small cladocerans and copepods
(4) Mainly dinophycea (*Ceratium hirundinella*), plus chlorophycea and copepod nauplii
(5) Dinophycea (*Ceratium hirundinella)*, chlorophycea (*Pediastrum, Coelastrum*) and diatoms (*Actinicyclus)*
(6) Organic matter, fragments of *Ceratium,* chlorophycea and faeces of crustaceans
(7) Results obtained in 1999 during a preliminary study in summer 1999. Copper concentration in water was 20µg/l.
(8) Pollution factors were calculated with copper burdens in the same organisms from the upstream Moselle

Table III-33 : Copper concentrations in organisms (mg/kg d.w.) and in water (µg/l) collected from the Moselle upstream of Mirgenbach lake; copper concentrations in an unpolluted area chosen in the literature.

	Moselle river			Reference
	Sd	Means (mg/kg d.w.)	N	Means (mg/kg d.w.)
Water(µg/l)	2	3.7	20	
Enteromorpha intestinalis	1.1	4.1	6	
Cladophora	0.8	8.5	5	
Fontinalis antipyretica	3	18	8	19 [(a)]
Potamogeton pectinatus	5	14	16	5.8 [(b)]
Myriophyllum	7	19	16	3.3 - 9.6 [(b)]
Dreissena polymorpha	9	24	77	9.5 [(c)]
Atyaephyra desmaresti	17	112	15	
Dikerogammarus villosus	21	111	75	
Bithynia tentaculata	12	281	4	
Orconectes limosus				
Muscle	26	114	10	
Viscera	9	131	10	
Abramis brama			12	
Liver	6	6.0		
Kidney	1.6	19		
Spleen	7	16		
Muscle	0.4	0.9		

[a] : Reference given by Mouvet (1986) as standard values of copper in uncontaminated mosses.
[b]: Values given by Sameka-Cymerman & Kempers (1995) in a freshwater where the copper concentration in water was in the range of 2 to 8 µg/l.
[c] : Reference used by Mersch and al. (1992) and obtained in organisms collected from the Meuse river (Unpolluted area).

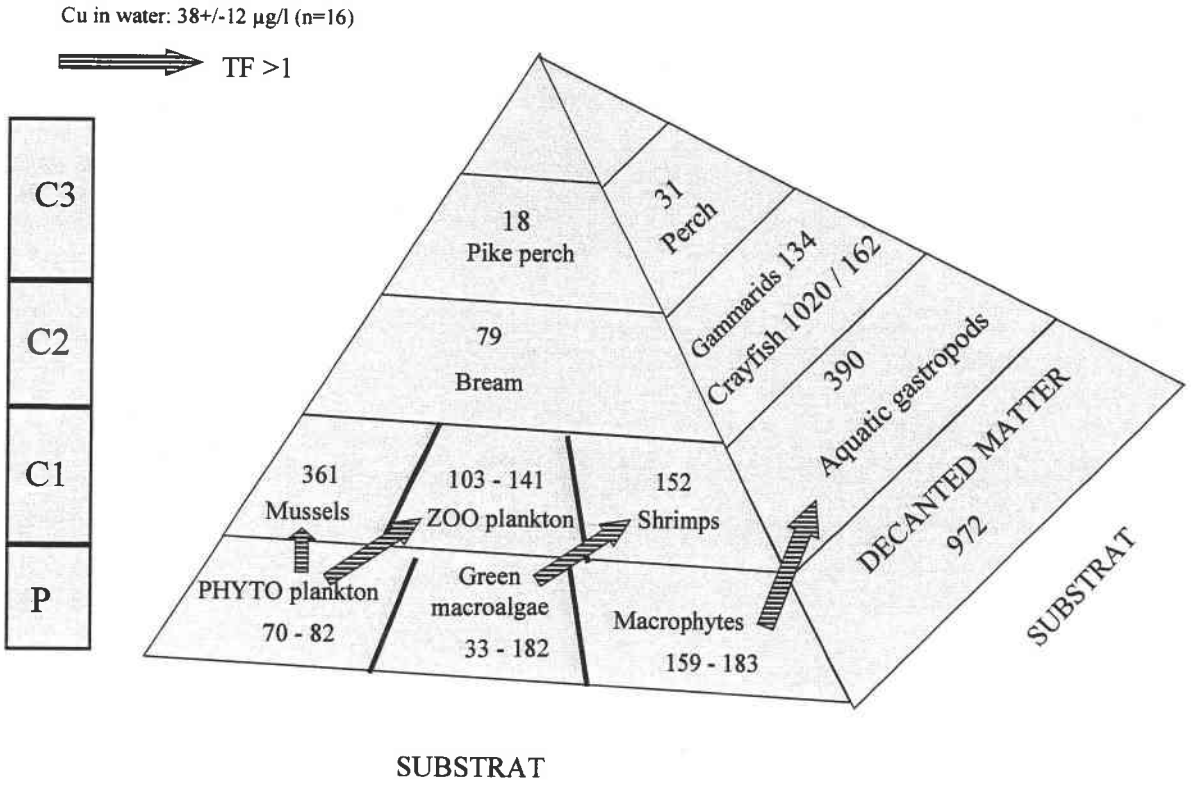


Figure III-75 : Mean copper concentrations in organisms in Mirgenbach lake corresponding to their trophic level. (For fish, the copper concentration considered is in the liver).

Table III-34 : Copper concentrations in three fish species collected from Mirgenbach lake (Roach, Pike perch and Perch) and four organs (Liver, Kidney, Spleen and Muscle) expressed in mg/kg d.w.

III-34A : Copper concentrations measured in the preliminary study (August 1999) (Copper level in water: 25µg/l).

	Liver	Kidney	Spleen	Muscle	N
Bream	70 +/- 21	8 +/- 2	19 +/- 2	1.3 +/- 0.4	12
Roach	51 +/- 8	6.3 +/- 0.8	3.07 +/-	1.34 +/-	4
Perch	31 +/- 11	7 +/- 2	2.0 +/- 0.9	0.7 +/- 0.4	5
Pike perch	18 +/- 10	7.1 +/- 0.3	6.2 +/- 0.5	1.2 +/- 0.3	4

III-34B : Copper concentrations related by Mersch & al (1993) in two fish species collected from Mirgenbach lake (Copper level in water: 20.5µg/l).

	Liver	Kidney	Spleen	Muscle	N
Roach	56	9.6	-	2.6	5
Perch	35	9.3	-	1.4	5

III-34C : Copper concentration given by Mersch & al. (1993) in two fish species collected from an unpolluted site: Lindres pond (copper level in water: 3.6µg/l).

	Liver	Kidney	Spleen	Muscle	N
Roach	10.4	14.5	-	2.5	4
Perch	8.0	10.6	-	2.1	4

IV.4.1.1 Copper distribution in the food chains

Mean copper concentrations in the food chain were in the range of 1.7 to 1,020 mg/kg d.w., according to species, while BCFs, respectively, were in the range from 45 to 26,842.
The highest copper levels were observed in the viscera of crayfish, followed by mussels and aquatic snails, while the lowest copper level was observed in the muscle of fish.

During the study period (August), mean copper concentrations in phytoplankton, primary producers, varied depending on the size class between 70 +/- 15mg/kg d.w. and 135 +/- 25mg/kg d.w. The lowest concentrations were found in size classes: 100-200µm and 50-100µm, corresponding to the *Ceratium hirundinella* dominance; while the highest was observed in size class 20-50µm corresponding to higher biomass of fragments of *C. hirundinella* and of Chlorophycea (*Pediastrum, Coelastrum*...) mixed with some organic matters.

Green algae (*Enteromorpha* and *Cladophora*) showed some low and. These samples were collected in 1999, when the copper concentration in the water was 20µg/l. The green filamentous algae *Oedogonium* showed the same level of concentrated copper as aquatic macrophytes (*Potamogeton, Myriophyllum*) and mosses collected during the same period. In fact, BCFs for phytoplankton and green macro-algae were on the same level, from 1,842 to 2,465. Only *Oedogonium* had a copper level significantly higher than the other green algae, and its copper level was more similar to that measured in macrophytes and mosses, in the range of 152 to 183 mg Cu/kg d.w.

Copper concentrations in zooplankton, primary consumers, were in the range of 103 +/- 43 to 141 +/- 12 mg Cu/d.w., with no significant difference between each size class. However, copper concentrations observed in size classes of 200-500µm and 500-1000µm corresponding to a higher biomass of crustaceans (copepods and cladocerans), were a little higher.

Among mollusks, the highest levels of copper (361 – 390 mg Cu/kg d.w.) were observed in mussels (filter feeders) and in aquatic gastropods (detritivorous). Crustaceans, gammarids and shrimps also presented equivalent copper levels (134 – 153 mg/kg d.w.), though lower than those measured in mollusks. In crayfish, a higher copper level was measured in viscera than in muscle and in the whole body of the other crustaceans.

In the muscle of crayfish, copper level (162 +/- 66 mg Cu/d.w.) was in the same order of magnitude than in the other crustaceans.

Fish are at the top of the trophic chain (secondary and tertiary consumers). The metal level was always significantly ($p < 0.05$) higher in the liver for each species (**Table III-32, III-34A and B and Figure III-76**). The highest copper concentrations in the liver, the spleen and the kidney (**Tables III-32 and III-4A**) were measured for the bream (respectively 80, 37 and 11mg/kg d.w.). Bream was also the only fish with a copper level higher in the spleen than in the kidney. The lowest copper concentration was always found in the muscle for each species, and the mean copper level in muscle varied between 0.7 and 1.7 mg/kg d.w. depending on the species considered. The lowest fish contamination was found in the liver of the pike perch (tertiary consumer). Copper levels in the kidney were equivalent for each species studied (**Table III-32, III-34A**).

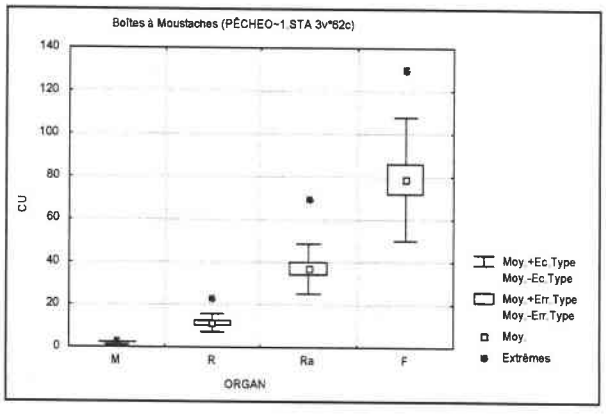


Figure III-76 : Copper concentrations in four organs of Bream. Cu is expressed in mg/kg d.w.

IV.4.1.2. Factors of copper transfer in the food chain

Figures III-74 and III-75 and Table III-32 show the existence of transfers across the food chain. When TF $\geq$ 1, the transfer is considered as positive. Between phytoplankton and zooplankton, transfer factors were in the range of 1.25 to 2.04 depending on the species considered, with a biomagnification phenomenon. In 2000, the same field sampling provided results for transfer factors between phytoplankton and zooplankton, which were around 0.7 but varied between 0.6 and 1.2 according to the sample, i.e. the species.

Between plankton and zebra mussels, the TFs were 4.4 and 5.16 depending on the size class of phytoplankton. In the case of shrimps, TFs varied between 0.84 and 3.71, with green macro algae and between 0.83 and 1, with macrophytes. There are therefore several paths of

copper biomagnification in the food chain. The transfer factor can only be considered as an indication, due to the absence of information concerning the proportion of each type of food consumed.

For others species, transfer factors were below 1. In the case of copper, a decline in the amount of metal bioaccumulated by organisms was observed from the first consumers to the third consumers.

IV.4.2. Ecotoxicity of the chronic release of copper in Mirgenbach lake: Study of plankton

The evolution in the Chlorophyll a and SiO2 levels between 1998 and 2001 is shown in **Figure III-77**, while **Figure III-78** presents the evolution of total Chlorophyll and Pheopigment levels between 1998 and 2001. In Mirgenbach lake, trends in the chlorophyll a level in water have been observed since 1998. A significant drop in chlorophyll a was observed in summer from 1998 to 2001 and silica was consumed little in 2001. Chlorophyll a peaks were less and less noticeable in spring and in summer, and silica (an element normally incorporated into diatom frustules) was no longer consumed (**Figure III-77**).

The total Chlorophyll and pheopigment peaks normally observed from March to October tended to disappear (**Figure III-78**). To understand this phenomenon, all the physicochemical parameters have been monitored since 1998, but the only strong change is the copper concentration in water, with an increase in mean from 20.5 µg/l in 1991 to 38 +/- 12 µg/l in 2001. Copper concentrations in water varied from 20 µg/l to 129 µg/l depending on the site and season throughout 2001.

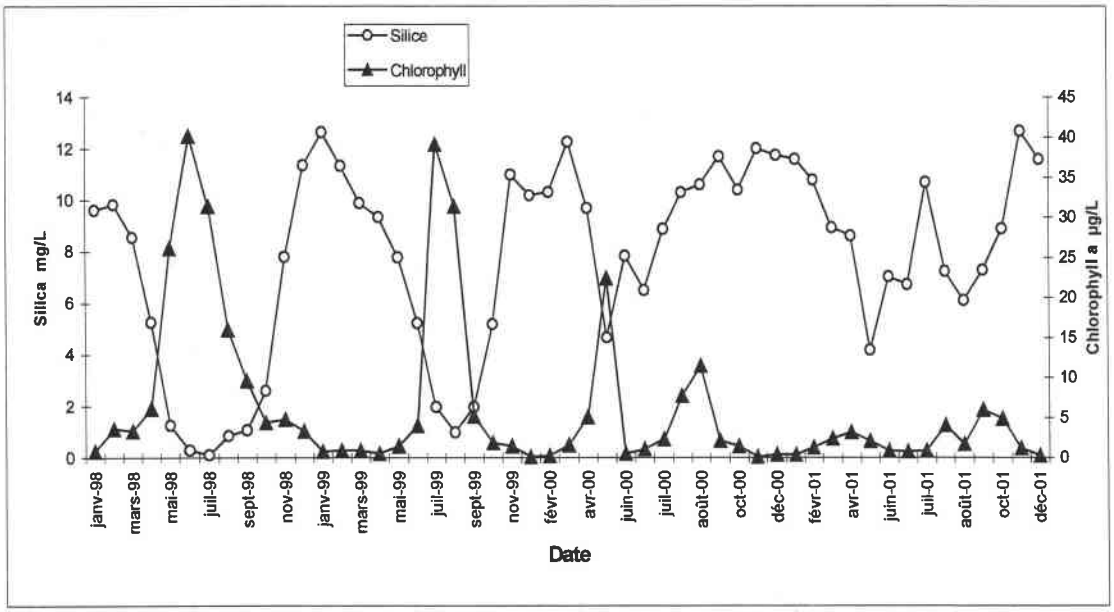


Figure III-77 : Seasonal variations in concentrations of chlorophyll a (µg/l) and silica (µg/l) in the water from Mirgenbach lake between January 1998 and December 2001.

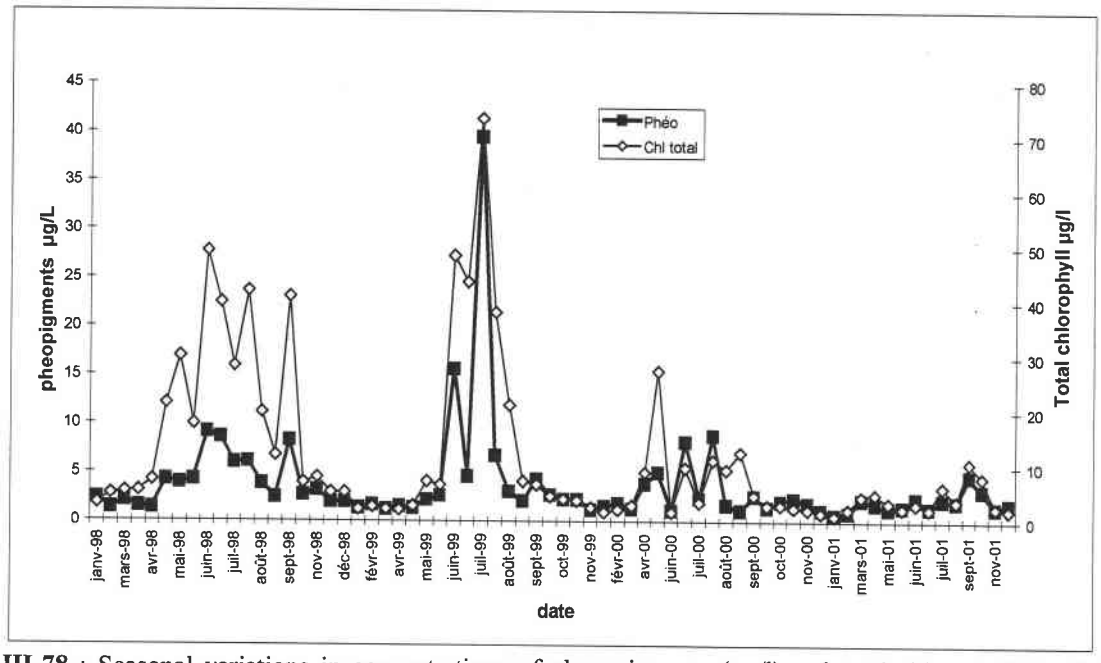


Figure III-78 : Seasonal variations in concentrations of phaeopigments (µg/l) and total chlorophyll (µg/l) in the water from Mirgenbach lake between January 1998 and December 2001.

IV.5. Discussion

IV.5.1. Distribution of copper in the food chain

Among planktonic species, the highest copper level was not observed in phytoplankton but in zooplankton (Cladocerans + copepods) and the lowest level was found in phytoplankton (*Dinophycea* or *Dinophycea* + *Chlorophycea*). Nevertheless, the high capacity of phytoplankton to bind copper has been reported, mainly with respect to algae (Tien, 2002; Rijstenbil & Gerringa, 2002) and cyanobacteria (Kretschmer *et al.*, 2002). Phytoplankton takes up metals mainly from dissolved phase (Sunda & Guillard, 1976; Anderson *et al.*, 1978, Arab-Joux, 1999). Phytochelatins, whose production is regulated in algal cells depending on metal availability, play a very important role as the primary line of defense, which can start immediately, when toxic metals become more available and enter the cells (Pawlik-Skowronska, 2001). The primary food source, which is represented by the plankton, is also the first level contaminated by pollution. The plankton could play an essential role in the detection of a pollutant.

In green algae, the BCF was always equivalent between species, except for *Oedogonium*, which had bioconcentrated copper at the same rates as macrophytes. The observed difference could be explained by a metal uptake from sediments through the root systems as macrophytes. The uptake of metal through the root systems of aquatic plants is an important process for the transfer of these metals to organisms of higher trophic levels (McIntosh *et al.*, 1978). Samecka-

cyberman & Kempers (1996) found in a study about bioaccumulation in aquatic macrophytes that the highest concentrations of Cu were observed in submersed plants in comparison with floating plants.

In zooplankton (mainly cladocerans), BCFs were equivalent to those observed in shrimps and gammarids.
Copper concentrations in mussels were among the highest observed values (361 +/- 200mg/kg d.w.). Mussels are known to be a good indicator of contamination in a lake (Mersch *et al.*, 1993, 1995; Kraak *et al.*, 1992). In general, mollusks had higher concentrations than crustaceans, although interspecific variation within these groups was high (Blackmore, 2001). The high variability of copper level in mussel is certainly du to a correlation, which has often been related (Mersch *et al.*, 1993; Wang & Fisher, 1996a,b, 1997), between total metal load in the water column (water + biological and inorganic particles) and copper rates in mussels. Similarly, metal assimilation in mussels has been found as highly correlated with metal cellular partitioning in ingested phytoplankton (Wang & Fisher, 1996b). But, assimilation of metals from ingested sediments, as shown in the clam *Macoma balthica* and the mussel *Mytilus edulis,* tend to be lower than those from ingested phytoplankton (Gagnon & Fisher, 1997; Wang *et al.*, 1997; Lee & Luoma, 1998, Chong & Wang, 2000). Thus, for mussel as for many aquatic invertebrates, trophic way accounts for a major portion of total trace element accumulation (Luoma *et al.*, 1992; Fisher & Reinfelder, 1995; Wang *et al.*, 1996a; Munger & Hare, 1997, Reinfelder *et al.*, 1998).

Copper concentrations measured in crustaceans were on the same order of magnitude, whatever the species (Dikerogammarus villosus, *Atyaephyra desmaresti*, zooplankton crustaceans or muscle of crayfish). Levels of bioaccumulation in crustaceans in Mirgenbach lake were in the range of 103 to 162 mg Cu/kg d.w., however in viscera of crayfish, copper level can reach up to1020 mg Cu/kg d.w.. The copper level in crustaceans varied little in comparison with mussels, because crustaceans seem to have a more efficient body copper-regulation system than mussels. A significant difference in food source (filter feeder, organic matter feeder or carnivore) and the possession by gammarids of haemocyanin as respiratory pigment could explain this phenomenon. White and Rainbow (1985) estimated theoretical values for the minimum metabolic requirements for copper in crustaceans and mollusks; enzymatic requirements for both groups were estimated to be 26.3mg Cu/kg (d.w.). The possession of haemocyanin adds a further non-enzymatic metabolic requirement of 57.4 mg Cu/kg for some crustaceans such as decapods and 125 mg Cu/kg for certain gastropod mollusks. However, Depledge (1989) recalculated the amount of copper required by decapod crustaceans to be 82.8mg Cu/kg (d.w.). Abdennour (1997) gives theoretical calculations which suggest that decapod crustaceans need approximately 31.3 to 38.1 µg Cu/g (d.w.) of copper to meet the requirements of both copper-associated enzymes and the copper-bearing respiratory pigment haemocyanin. This approximate value is of the same order as many regulated body copper burdens in decapods (e.g. White and Rainbow, 1988). Thus, whatever theoretical calculations of copper required, level measured in crustaceans in the lake are

always higher. This signified that even if crustaceans can regulated their copper rates (ref), a part of assimilated copper could be accumulated, at least temporarily.

In fish, the metal level varied significantly among species (Burger *et al.*, 2002) with, in increasing order of contamination in the liver: Pike perch < Perch < Roach < Bream. In addition, copper levels were always higher in liver than in the other organs (spleen, kidney, and muscle), while copper levels in muscle were always lower. In this study of copper contamination, the herbivorous and omnivorous or bottom-dwelling species such as roach and bream respectively have higher copper concentrations in the liver, than carnivorous species like perch and pike perch. Trophic-level differences in metal level have been reported for a number of contaminants (Lemly, 1993a,b; Barron, 1995; Sydeman & Jarman, 1998 Phillips *et al.*, 1980, Lacerda *et al.*, 1994, Burger *et al.*, 2002), though this is not the case for copper in the lake under study. However, bottom-dwelling fish sometimes have higher copper levels than some carnivores (Tayel & Shriadak, 1996). For example, Campbell (1994) found that a bottom-feeding redear sunfish (*Lepomis microlophus*) had higher copper levels than bass or bluegill sunfish, which are primarily water column feeders. Thus, it is essential to understand both the feeding location and the trophic level to interpret contaminant levels. Burger *et al.*, (2002) found a species difference for all metals studied. Similarly, no single fish species had the highest levels of all metals, indicating that trophic relationships alone can not explain metal levels. The digested matter observed in *Abramis brama* was often mussels, which accumulate copper to high levels, and algae or plankton, which also concentrate copper; in small *Stizostedion,* shrimps were often found, which accumulate less copper than do mollusks. Metal transfer to high levels may depend on metal binding following different routes of exposure (Wallace & Lopez, 1996). For example, in copepods, metals accumulated from the dissolved phase are often associated with exoskeleton (Wang & Fisher, 1998a), and consequently are less bioavailable to fish than metals in internal tissues (Reinfelder & Fisher, 1994)

Several factors affect bioaccumulation of metals in fish, including metal bioavailability (which can vary with water pH, Spry & Wiener, 1991). Uptake of metals from the dissolved phase by fish is also influenced by hardness and salinity (Chakoumakos, 1979).

Copper levels measured in roach and perch from the lake in 2001 were similar to those related in the same site and in the same fish ten years ago (**Table III-34A, III-34B**). These values were about five times higher than those observed in the same fish collected in an unpolluted site (**Table III-34C**).

Body copper concentrations recorded in the present study show large variability between species, even some that are closely related. In most cases, however, the metal handling strategy, feeding habits, morphology and ecology can, at least partially, explain the metal content recorded (Blackmore, 2001).

Organisms can to be exposed to different sources of contaminants in accordance with different feeding types and prey taken; it is difficult to assess the relative importance of each in

overall pollutant uptake. The copper level in organisms from Mirgenbach lake seems to support the idea that, while the copper was considered here as a minor toxic element (because of the many physicochemical parameters which decrease its toxicity), it can be accumulated in large amounts (up to 952 mg/kg d.w. in mussels) by organisms from both direct and indirect sources. However, it is very clear that there are huge differences in metal tolerance and uptake among species (Masnado *et al.*, 1995).

IV.5.2. Factors of copper transfer in the food chain

Some transfer factors greater than 1 were found in studying the alimentary relationship between zooplankton and phytoplankton, between mussels and plankton, and between shrimps and green algae (**Figure III-78**); there are therefore several copper transfers across the food chain. The case of crustaceans was interesting because of their unique respiratory physiology. No biomagnification was observed throughout this entire food chain; nevertheless, some paths of biomagnification were observed between some adjacent trophic levels. Lower concentrations of copper were observed in the liver of carnivorous fishes (pike perch and perch) and in omnivorous fish (bream and roach) in the high trophic level (**Figures III-74, III-75 and Tables III-32, III-34**).

IV.5.3. Comparison with other results and Pollution factors

The copper concentration measured in Mussels from the upstream Moselle, where the copper concentration in water was 2.8 +/- 0.8 µg/l (n=15), was 24 +/- 9 mg Cu/kg d.w. (n= 63). This value is 3 to 35 times lower than those measured in the same organism from Mirgenbach reservoir. In unpolluted areas, the body copper concentration found in *D. polymorpha* was 12µg/g d.w. in lakes in the Netherlands (Kraak *et al.*, 1991) and 9.5 µg/g d.w in the Meuse River (Mersch *et al.*, 1992). Studies related by Mersch *et al.*, (1993) on the same site have provided information about the copper level in zebra mussels ten years ago (1991). This copper level (65 mg/kg d.w.) is 6 times lower than the one measured in 2000-2001 (**Tables III-32 and III-33**), indicating an increase in the copper pollution level in the lake in ten years.

In comparison with the copper level in the same species from the upstream Moselle (copper concentration in water = 2.8 +/- 0.8µg/l), the copper concentration in gammarids from Mirgenbach lake was 1.22 times higher.

In the Danube, which is a polluted river, the copper level in Dikerogammarus was only 93 +/- 22 mg/kg (d.w.) (Ovari *et al.*, 2002). In the Moselle River, the copper concentration measured in shrimps was 112 +/- 17 mg/kg d.w. (n=15), i.e. 1.38 times lower than in the same organism from Mirgenbach reservoir. These results put in light the level of copper pollution in the lake.

Pollution factors can be used to evaluate this level of pollution, but also to evaluate the pertinence of each organism to assess the level of pollution. It is generally reported by authors

(ref) that there does exist a correlation between copper found in the body of mussels and copper in water and that, mussels should be a relevant bioindicator. Pollution factors in mussels, macrophytes (*P. pectinatus and M. spicatum*) and two green algae (*Cladophora* and *Enteromoropha*) were all on the same level and ranged between 10 and 15. These PF values were close to those obtained for mosses and crayfish viscera and for the liver of bream (**Table III-32**), while the factors calculated for crustaceans (shrimps and gammarids) were far lower. Pollution factors calculated for water and sediments were respectively 11 and 14, and all organisms showing equivalent pollution factors can be considered to be good indicators of contamination at this site.

IV.5.4. Ecotoxicity of copper

In the lake studied, chlorophyll a production tends to decrease since 1998 and our results show the non-consumption of silica by diatoms in early spring. Many authors have reported some toxic effects of copper, including Wurtsbaugh & Horne (1982) who exposed a natural phytoplankton group from a clean lake (California - USA) to copper for a period of 6 days. Chlorophyll a and nitrogen fixation were altered at copper concentrations over 20µg/l, and carbon fixation was significantly reduced at copper concentrations over 10µg/l. Biomass estimates indicated that the blue-green alga *Aphanizomenon flos-aquae* was more sensitive to copper than were diatoms. Toxic effects of copper for plankton were also related by Havens (1994a). This author found that there was a significant negative relationship between total algal biovolume and copper doses (>50µg Cu/l), reflecting the loss of *Rhodomonas, Aphanizomenon, Chlamydomonas* and *Ceratium.* Diatoms dominated the assemblage that survived. There was so a significant negative exponential relationship between zooplankton biomass and copper dos and the most sensitive species were the calanoid copepods, with a biomass reduction of more than 50% at 20 µg Cu/l. The cyclopoids were the most tolerant, with more than 50% of the biomass of cyclopoid copepods surviving the highest dose. Havens (1994b) has also demonstrated that copper (140µg Cu/l) significantly reduces the dry weight biomass of zooplankton, ciliates, flagellates and autotrophic phytoplankton and bacterial biomass was significantly increased. Copper has been found to have a deleterious effect on the photosynthesis (Rai *et al.*, 1995, Mallick & Mohn, 2002).

In Mirgenbach lake, the highest biomass in the August planktonic bloom was *Ceratium hirundinella.* However, *C. Hirundinella* has been shown to be more sensitive than diatoms in laboratory experiments (Haven, 1994b).

The effects of copper on organisms differ widely, depending not only on the tolerance of a species to toxicants but also on a species-specific capacity to modify or compensate for the negative effects of toxicants (Stuijfzand *et al.*, 1999a). Because of the complexity of this problem, a large number of studies, including determination of the CL50 value, have been carried out under controlled conditions in the laboratory. However, due to the differing reactions which

have been reported (Giesy *et al.*, 1977; Diamond *et al.*, 1997) of species in site water compared to standard water, and to the complex interactions at work in the field, species observed to be tolerant to pollution in the field are not necessarily the most tolerant to various chemical compounds tested under standard laboratory conditions (Nalepa & Landrum, 1988; Hickey & Vickers, 1994; Stuijfzand *et al.*, 1999b). The difference has often been attributed to variation in speciation of the test compound (Diamond *et al.*, 1997). For example, laboratory tests have shown that zebra mussels are generally more tolerant to metals than *Chironomus riparius* (Kraak *et al.*, 1994, us Postma *et al.*, 1995). For *Chironomus riparius*, the inconsistency between its performance in toxicity tests and its tolerance to polluted water has been demonstrated to be partly attributable to a compensation of toxic effects by the nutritional effects of particulate organic matter (Stuijfzand *et al.*, 1999a). The distribution of this pollution-tolerant species is therefore partly explained by trophic preferences. The response of species in the river can not be predicted from their sensitivity to metals in synthetic water (Stuijfand *et al.*, 1999 a,b) and we cannot use a CL50 value defined in the laboratory to predict the toxic effects of a substance in the field. The apparent inconsistencies between accumulation rates measured in the laboratory and the measured concentrations in field specimens collected from the different sites may be related to the relative importance of the two different means of uptake. It is to be expected, therefore, that there will be different levels of turnover of metal (zinc) in laboratory experiments and in the field, since it has been shown that zinc ingested from food by *O. gammarellus* is eliminated more quickly than zinc ingested from a solution (Weeks & Rainbow, 1990, 1991, 1993; Mouneyrac *et al.*, 2002).

According to the *SEQ-eau* level (water quality grid published by the French Water Board), for water of hardness >200 mg CaCO3, the various thresholds of contamination and their effects on the ecosystems are shown in **Figure III-79**.

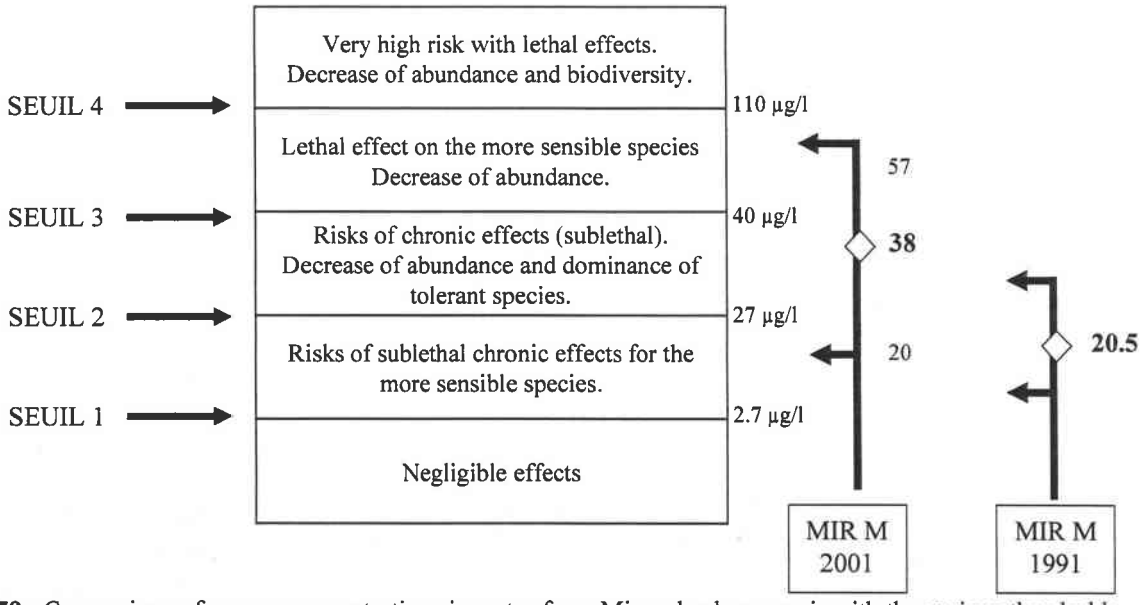


Figure III-79 : Comparison of copper concentrations in water from Mirgenbach reservoir with the various thresholds of contamination given in the SEQ-eau classification (French water board).

In view of the copper concentrations measured in 2001 in Mirgenbach reservoir, copper could be expected to exercise some sub-lethal or lethal effects on the most sensitive species and decrease their abundance. The presence of copper in high quantities in Mirgenbach reservoir has been noted since 1989 (University of Metz, 1989). Since that time, as noted previously, this concentration has continued to increase. At the same time, we have noticed the proliferation of *Hydrodyction* (CL_{50}=25 µg / l) with a maximum in 1988 and a disappearance in 1990, when the copper concentration exceeded its CL_{50}. Following that, a proliferation in 1991 of *Aphanizomenon flos-aquae* was observed, with a maximum in 1992 and a decline since 1993 (CL_{50} =30 to 127 µg Cu/l). These two species were among the most sensitive to copper in water.

In 1995, a study conducted in the framework of the follow-up on Mirgenbach mentioned the presence of gastropods (*Lymnaea limosa*), confirmed today by the large number of empty shells harvested. In 1999, the gastropod *Lymnaea stagnalis* was sampled very occasionally in various places, as were *Bithynia tentaculata* and *Radix ovata*. However, indigenous mollusks are often very good indicators of power plant discharge impact because of their sensitivity to copper and zinc (see Admiraal *et al.*, 1999). The copper contamination level in the lake may be too high for these species. Many shells of corbicula (*Corbicula fluminea*) ($CL_{96hours}$ = 0.04 ppm (Rogers, on 1980)) were also observed, but no live individuals. Dipterans (*Chironomus plumosus.*) and an oligochaeta *tubificidae* are the only benthos collected in sediments from the reservoir, and only in small numbers. The dominant populations in the lake are those of gammarids, sun perch (CL 50 96 hours = 2700 µg Cu/ l, (Rehwoldt, on 1972)), which are some invader species, and bream. Shrimps as well as gammarids effectively regulate their copper concentration (Rainbow, 2002).

In Mirgenbach, the copper concentrations in water can vary from 20 to 129 µg Cu/l. *D. polymorpha* was found to modify its pumping behavior at copper concentrations ranging from 16 to 46µg Cu/l (Slooff *et al.*, 1983). Its filtration rate dropped to 50% after 48 h (EC_{50}, 48h) at an aqueous concentration of 41µg Cu/l (Kraak *et al.*, 1992).

It is often hypothesized that species, which are adapted to major changes in natural environmental factors, are most probably able to acclimate to any supplementary stress. But it can be argued that populations living under severe ecological or ecotoxicological conditions have reached the limits of their acclimation capacities and thus would be more sensitive to any additional stress (Mouneyrac *et al.*, 2002). For instance, findings by Hummel *et al.* (1995, 1996) support the hypothesis that populations are more sensitive to copper exposure near the limits of their geographical distribution (Gironde estuary, Fr), where the conditions are far from their ecological optima. In Mirgenbach lake, organisms withstand some very severe life conditions, because of high hardness, chloride concentrations ranging from 181 to 500mg/l, and chronic copper contamination. Even though tolerance has been described in many taxa when populations are exposed to chronic pollution, as suggested by Slooff *et al.* (1983), it is dangerous to assume that all populations in polluted environments will develop increased tolerance (Klerks & Weis, 1987). On the contrary, ecosystems with several species under extreme conditions might be considered as being particularly vulnerable to further ecological disturbance (Hummel *et al.*,

1996).

In conclusion, in the presence of high chronic copper concentrations in the water, the artificial ecosystem represented by Mirgenbach lake has evolved since it was filled. In the same time, copper (in addition to the T°C and specific conductivity) acts as a primary factor of species selection, and has a demonstrable influence on biodiversity.

IV.6. Reference

Abdennour, C. (1997) - Copper, zinc and haemocyanin concentrations in four caridean decapods (Crustacea): size relationships - *Hydrobiologia*, **346:** 1 - 9.

Admiraal, W., Blanck, H., Buckert-de Jong, M., Guasch, H., Ivorra, N., Lehmann, V., Nystrom, B. A. H., Paulsson, M. et Sabater, S. (1999) - Short-term toxicity of zinc to microbenthic algae and bacteria in a metal polluted stream - *Water Research*, **33:** 1989-1996.

Allen, H. et Brisbin, T. (1980) - Prediction of bioavailability of copper in natural water. - *Thalassia Jugosl*, **16:** 331-334.

Anderson, D. M., Morel, F. M. M. et Guillard, R. R. L. (1978) - Growth limitation of coastal diatom by low zinc ion activity. - *Nature*, **276:** 71-76.

Arab-Joux, L., 1999. Etude de la bioaccumulation du cuivre chez différentes espèces de diatomées d'intérêt aquacole: Formes physico-chimiques de stockage et influence sur la composition d'un peuplement. Thèse de Doctorat, Université de Nantes, pp. 150.

Barron, M. G. (1995) - Bioaccumulation and bioconcentration in aquatic organisms. - In: D.J. Hoffman, B. A. R., G.A. Burton Jr. and J. Cairns Jr. (ed.): *Handbook of Ecotoxicology* - Lewis, Boca Rato, FL.

Blackmore, G. (2001) - Interspecific variation in heavy metal body concentrations in Hong Kong marine invertebrates - *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, **114:** 303-311.

Borgmann, U. (1983) - Metal speciation and toxicity of the free ions to aquatic biota. - In: Nriagu, J. O. (ed.): *Aquatic Toxicology* - John Wiley & Sons Ltd, New york, pp. 47-72.

Borgmann, U. et Ralph, K. M. (1984) - Copper complexation and toxicity to freshwater zooplanckton. - *Archive of Environmental Contamination Toxicology*, **13:** 403-409.

Brix, K. V., DeForest, D. K. et Adams, W. J. (2001) - Assessing acute and chronic copper risks to freshwater aquatic life using species sensitivity distributions for different taxonomic groups - *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20:** 1846-1856.

Burger, J., Gaines, K., Boring, C. S., Stephens, W., Snodgrass, J., Dixon, C., McMahon, M., Shukla, S., Shukla, T., Gochfeld et al (2002) - Metal levels in fish from the Savannah River: potential hazards to fish and other receptors - *Environmental Research*, **89:** 85-97.

Campbell, K. R. (1994) - Concentrations of heavy metals associated with urban runoff in fish living in stormwater treatment ponds. - *Archives Of Environmental Contamination And Toxicology*, **27:** 352-356.

Centeno, M. D. F., Brendonck, L. et Persoone, G. (1993) - Acute toxicity tests with *Streptocephalus*

proboscideus (Crustacea: Brachiopoda: Anostraca): influence of selected environmental conditions. - *Chemosphere*, **27:** 2213-2224.

Chakoumakos, C., Russo, R. G. et Thurston, R. V. (1979) - Toxicity of copper to cutthroat trout (*Salmo clarky*) under different conditions of alkalinity, pH, and hardness. - *Environmental Science & Technology*, **13:** 213-219.

Chong, K. et Wang, W.-X. (2000) - Bioavailability of sediment-bound Cd, Cr and Zn to the green mussel *Perna viridis* and the Manila clam *Ruditapes philippinarum* - *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **255:** 75-92.

Depledge, M. H. (1989) - Re-evaluation of metal requirements for copper and zinc in crustaceans. - *Marine Environmental Research*, **27:** 115-126.

Diamond, J. M., Koplish, D. E., McMahon, J. et Rost, R. (1997) - Evaluation of the water-effect ration procedure for metals in ariverine system. - *Environmental Toxicology and Chemistry*, **16:** 509-520.

Fisher, N. S. et Reinfelder, J. R. (1995) - The trophic transfer of metals in marine systems. - In: Tessier, A. & Turner, D. R. (eds.): *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems.* - John Wiley., Chichester, pp. 363-406.

Gagnon, C. et Fisher, N. S. (1997) - The bioavailability of sediment-bound Cd, Co and Ag to the mussel, *Mytilus edulis*. - *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **54:** 147-156.

Giesy, J. P., Leversee, G. J. et Williams, D. R. (1977) - Effects of naturally occurring aquatic organic fractions on cadmium toxicity to *Simocephalus serrulatus* (Daphnidae) and *Gambusia affinis* (Poeciliidae). - *Water Research*, **11:** 1013-1020.

Havens, K. E. (1994a) - An experimental comparison of the effects of two chemical stressors on a freshwater zooplankton assemblage. - *Environmental Pollution*, **84:** 245-251.

Havens, K. E. (1994b) - Structural and functional responses of a freshwater plankton community to acute copper stress. - *Environmental Pollution*, **86:** 259-266.

Hickey, C. W. et Vickers, M. L. (1994) - Toxicity of ammonia to nine native New Zealand freshwater invertebrate species. - *Archive of Environmental Contamination Toxicology*, **26:** 293-298.

Hummel, H., Bogaards, R. H., Amiard-Triquet, C., Bachelet, G., Desprez, M., Marchand, J., Sylvand, B., De Wit, Y. et De Wolf, L. (1995) - Uniform variation in genetic traits of a marine bivalve related to pollution, geographic clines and physiological condition. - *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **191:** 133-150.

Hummel, H., Amiard-Triquet, C., Bachelet, G., Desprez, M., Marchand, J., Sylvand, B., Amiard, J. C., Rybarczyk, H., Bogaards, R. H., Sinke, J., De Wit, Y. et De Wolf, L. (1996) - Sensitivity to stress of the estuarine bivalve *Macoma balthica* from areas between the Netherlands and its southern limits (Gironde). - *Journal of Sea Research*, **35:** 315-321.

Klerks, P. L. et Weis, J. S. (1987) - Genetic adaptation to heavy metals in aquatic organisms: a review. - *Environmental Pollution*, **45:** 173-205.

Kraak, M. H., Lavy, D., Peeters, W. H. et Davids, C. (1992) - Chronic ecotoxicity of copper and cadmium to the zebra mussel *Dreissena polymorpha* - *Archives Of Environmental Contamination And Toxicology*, **23:** 363-369.

Kraak, M. H. S., Scholten, M. C. T., Peeters, W. H. M. et 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., Wink, Y. A., Stuijfzand, S. C., Buckert-de Jong, M. C., de Groot, C. J. et Admiraal, W. (1994) - Chronic ecotoxicity of Zn and Pb to the zebra mussel *Dreissena polymorpha* - *Aquatic Toxicology*, **30:** 77-89.

Kretschmer, X. C., Gardea-Torresdey, J., Chianelli, R. et Webb, R. (2002) - Determination of copper binding in *Anabaena flos-aquae* purified cell walls and whole cells by X-ray absorption spectroscopy - *Microchemical Journal*, **71:** 295-304.

LaBreche, T. M. C., Dietrich, A. M., Gallagher, D. L. et Shepherd, N. (2002) - Copper toxicity to larval *Mercenaria mercenaria* (hard clam) - *Environmental Toxicology and Chemistry*, **21:** 760-766.

Lacerda, L. D., Bidone, E. D., Giumaraes, A. F. et Pfeiffer, W. C. (1994) - Mercury concentrations in fish from the Itacaiunas-Parauapebas River System, Carajas region. - *Amazon. Ann. Acad. Bras. Sci.*, **66:** 373-379.

Landrum, P. F., Harkey, G. A. et Kukkonen, J. (1996) - Evaluation of organic contaminant exposure in aquatic organisms: the significance of bioconcentration and bioaccumulation. - In: Newman, M. C. & Jagoe, C. H. (eds.): *Ecotoxicology: A hierarchal Treatment.* - Lewis Publishers, Boca Raton, FL, pp. 83-131.

Lee, B. G. et Luoma, S. N. (1998) - Bioavailability of Cd, Cr and Zn to bivalves during a phytoplankton bloom in San Francisco Bay. - *Limnology and Oceanography*, **43**.

Lemly, D. A. (1993a) - Guidelines for evaluating selenium data from aquatic monitoring and assessment studies. - *Environ. Monit. Assess.*, **28:** 83-100.

Lemly, D. A. (1993b) - Metabolic stress during winter increases the toxicity of selenium to fish. - *Aquatic Toxicology*, **27:** 133-158.

Luoma, S. N., Johns, C., Fisher, N. S., Steinberg, C. E., Oremland, R. S. et Reinfelder, J. R. (1992) - Determination of Selenium bioavailability to a benthic bivalve from particulate and solute pathways. - *Environmental Science & Technology*, **26:** 485-491.

Ma, M., Zhu, W., Wang, Z. et Witkamp, G. (2003) - Accumulation, assimilation and growth inhibition of copper on freshwater alga (*Scenedesmus subspicatus* 86.81 SAG) in the presence of EDTA and fulvic acid - *Aquatic Toxicology*, **In Press, Corrected Proof**.

Mallick, N. et Mohn, F. H. (2003) - Use of chlorophyll fluorescence in metal-stress research: a case study with the green microalga *Scenedesmus* - *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **In Press, Corrected Proof**.

Masnado, R. G., Geis, S. W. et Sonzogni, W. C. (1995) - Comparative acute toxicity of a synthetic mine effluent to *Ceriodaphnia dubia*, larval fathead minnow and the freshwater mussel *Anodonta imbecilis* - *Environmental Toxicology and Chemistry*, **14:** 1913-1920.

McGeer, J. C., Szebedinszky, C., McDonald, D. G. et Wood, C. M. (2002) - The role of dissolved organic carbon in moderating the bioavailability and toxicity of Cu to rainbow trout during chronic waterborne exposure - *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **133:** 147-160.

McIntosh, A. W., Shephard, K., Mayes, R. A., Atchison, G. J. et Nelson, D. W. (1978) - Some aspects of sediment distribution and macrophyte cycling of heavy metals in a contaminated lake. - *J. Environ. Qual.*, **7:** 301-305.

Meador, J. (1991) - The interaction of pH, dissolved organic carbon, and total copper in the determination of ionic copper and toxicity. - *Aquatic Toxicology*, **19:** 13-32.

Mersch, J., Jeanjean, A. et Pihan, J. C. (1992) - The freshwater mussel *Dreissena polymorpha* as bioindicator for for trace metals, organochlorines and radionucleides. - In: Verlag., L. A. G. F. (ed.): *The zebra mussel Dreissena polymorpha* - Stuttgart, Germany, 4, pp. 227-244.

Mersch, J., Dubost, N. et Pihan, J. C. (1993) - Comparaison de plusieurs supports analytique inertes et biologiques pour apprécier la contamination de la retenue du site électronucléaire de Cattenom, France - *Annls Limnol*, **29:** 325-337.

Mersch, J., Wagner, P. et Pihan, J. C. (1996) - Copper indigenous and transplanted zebra mussels in relation to changing water concentrations and body weight. - *Environmental Toxicology and Chemistry*, **15:** 886-891.

Mouneyrac, C., Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., Cottier, A., Rainbow, P. S. et Smith, B. D. (2002) - Partitioning of accumulated trace metals in the talitrid amphipod crustacean *Orchestia gammarellus*: a cautionary tale on the use of metallothionein-like proteins as biomarkers - *Aquatic Toxicology*, **57:** 225-242.

Munger, C. et Hare, L. (1997) - Relative importance of water and food as cadmium sources to an aquatic insect (*Chaoborus puntipennis*): implication for predicting Cd bioaccumulation in nature. - *Environ. Sci. Technol.*, **31:** 891-895.

Nalepa, T. F. et Landrum, P. F. (1988) - Benthic invertebrates and contaminant levels in the Great lakes:effects, fates and role in cycling. - In: Evans, M. S. (ed.): *Toxic Contaminants and Ecosystem Health: A GReat Lake Focus.* - John WIley, New York, pp. 77-99.

Nor, Y. (1987) - Ecotoxicity of copper to aquatic biota: a review. - *Environ Res*, **43:** 274-282.

Nugegoda, D. et Rainbow, P. (1988) - Effect of chelating agent (EDTA) on zinc uptake and regulation by *Palaemon elegans* (Crustacea Decapoda). - *Journal of the marine biological association of the united Kingdom.*, **68**.

Ovari, M., Zaray, G. et Hassler, J. (2002) - Solid sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometric method for analysis of amphipods (*Dikerogammarus villosus*) samples. - *Microchemical Journal*, **73:** 125-130.

Pagenkopf, G. K., Russo, R. C. et Thurston, R. V. (1974) - Effects of complexation on toxicity of copper to fishes. - *Journal Fisheries Research Board of Canada*, **31**.

Pawlik-Skowronska, B. (2001) - Phytochelatin production in freshwater algae *Stigeoclonium* in response to heavy metals contained in mining water; effects of some environmental factors - *Aquatic Toxicology*, **52:** 241-249.

Phillips, G. R., Lenhart, T. E. et Gregory, R. W. (1980) - Relations between trophic position and mercury accumulation among fishes from the Tongue River Reservoir, Montana. - *Environ. Res.*, **22:** 73-80.

Pihan, J. C. (1989) - Suivi hydrobiologique de la retenue du Mirgenbach, Université de Metz, pp.

Postma, J. F., Kyed, M. et Admiraal, W. (1995) - Site specific differentiation in metal tolerance in the midge *Chironomus riparius* (*Diptera, Chironomidae*) - *Hydrobiologia*, **315:** 159-165.

Rai, L. C., Tyagi, B., Mallick, N. et Rai, P. K. (1995) - Interactive effects of UV-B and copper on photosynthetic activity of the cyanobacterium *Anabaena doliolum*. - *Environ. Exp. Bot.*, **35:** 177-185.

Rainbow, P. S. (1990) - Heavy metal levels in marine invertebrates. - In: Furness RW, R. P. (ed.): *Heavy metals in marine environment.* - CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 67-79.

Rainbow, P. S. (2002) - Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? - *Environmental Pollution*, **120:** 497-507.

Reed-Judkins, D. K. (1997) - Foodborne uptake and sublethal effects of copper and zinc to freshwater snails - *Hydrobiologia*, **364:** 105 - 118.

Rehwoldt, R., Menapace, L. W., Nerrie, B. et Alessandrello, D. (1972) - The effect of increased temperature upon the acute toxicity of some heavy metal ions. - *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **8:** 91-96.

Reinfelder, J. R. et Fisher, N. S. (1994) - The assimilation of elements ingested by marine planktonic bivalve larvae. - *Limnology and Oceanography*, **39:** 12-20.

Reinfelder, J. R., Fisher, N. S., Luoma, S. N., Nichols, J. W. et Wang, W.-X. (1998) - Trace element trophic transfer in aquatic organisms: A critique of the kinetic model approach - *The Science of The Total Environment*, **219:** 117-135.

Rijstenbil, J. W. et Gerringa, L. J. A. (2002) - Interactions of algal ligands, metal complexation and availability, and cell responses of the diatom *Ditylum brightwellii* with a gradual increase in copper - *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, **56:** 115-131.

Sherba, M., Dunham, D. W. et Harvey, H. H. (2000) - Sublethal copper toxicity and food response in the freshwater crayfish *Cambarus bartonii* (Cambaridae, Decapoda, Crustacea) - *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **46:** 329-333.

Slooff, W., De Zwart, D. et Marquenie, J. M. (1983) - Detection limit of a biological monitoring system for chemical water pollution based on mussel activity. - *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **30:** 400-405.

Snell, T. W., Moffat, B. D., Janssen, C. R. et Personne, G. (1991) - Acute toxicity tests using rotifers: IV. Effect of cyst age, temperature, and salinity on the sensitivity of *Brachinus calyciflorus*. - *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **21:** 308-317.

Spry, D. J. et Wiener, J. G. (1991) - Metal bioavailability and toxicity to fish in low-alkalinity lakes: A critical review. - *Environ. Pollut.*, **71:** 243-304

Stuijfzand, S. C., Helms, M., Kraak, M. H. S. et Admiraal, W. (1999a) - Interacting effects of toxicants and organic matter on the midge *Chironomus riparius* in polluted river water. - *Environmental Pollution*, **106:** 115-121.

Stuijfzand, S. C., Jonker, M. J., van Ammelrooy, E. et Admiraal, W. (1999b) - Species-specific responses to metals in organically enriched river water, with emphasis on effects of humic acids - *Environmental Pollution*, **106:** 115-121.

Sunda, W. G. et Guillard, R. R. L. (1976) - The relationshipsbetween cupric ion activity and the toxicity of

copper to phytoplankton. - *J. Mar. Res.*, **34:** 511-529.

Sydeman, W. J. et Jarman, W. M. (1998) - Trace metals in seabirds, Steller sea lion, and forage fish and zooplankton from central California. - *MAR. POLLUT. BULL.*, **36:** 828-832.

Tayel, F. T. R. et Shriadah, M. M. A. (1996) - Fe, Cu, Mn, Pb and Cd in some fish species from Western Harbour of Alexandria, Egyp. - *Bull. Nat. Inst. Oceanogr. Fish.*, **22:** 85-96.

Tien, C. J. (2002) - Biosorption of metal ions by freshwater algae with different surface characteristics - *Process Biochemistry*, **38:** 605-613.

Wallace, W. K. et Lopez, G. R. (1996) - Relationships between suncellular cadmium distribution in prey and cadmium transfer to a predator. - *Estuaries*, **19:** 923-930.

Wang, W.-X., Fisher, N. S. et Luoma, S. N. (1996) - Kinetic determinations of trace element bioaccumulation in the mussel *Mytilus edulis* - *Marine Ecology Progress Series*, **140:** 91-113.

Wang, W.-X. et Fisher, N. S. (1996a) - Assimilation of trace elements and carbon by the mussel *Mytilus edulis:* effects of food composition - *Limnol Oceanogr*, **41:** 197-207.

Wang, W.-X. et Fisher, N. S. (1996b) - Assimilation of trace elements by the mussel *Mytilus edulis:* effects of diatom chemical composition - *Marine Biology*, **125:** 715-724.

Wang, W.-X. et Fisher, N. S. (1997) - Modeling metal bioavailability for marine mussels - *Environmental Contamination Toxicology*, **151:** 39-65.

Wang, W.-X. et Fisher, N. S. (1998) - Accumulation of trace elements in a marine copepod - *Limnology and Oceanography*, **43:** 273-283.

Weeks, J. M. et Rainbow, P. S. (1990) - A dual-labelling technique to measure the relative assimilation efficiencies of invertebrates taking up trace metals from food - *Functional Ecology*, **4:** 711-717.

Weeks, J. M. et Rainbow, P. S. (1991) - The uptake and accumulation of zinc and copper from solution by two species of talitrid amphipods (Crustacea) - *Journal - Marine Biological Association of the United Kingdom*, **71:** 811-826.

Weeks, J. M. et Rainbow, P. S. (1993) - The relative importance of food and seawater as sources of copper and zinc to talitrid amphipods (Crustacea; Amphipoda: Talitridae) - *Journal of Applied Ecology*, **30:** 722-735.

White, S. L. et Rainbow, P. S. (1985) - On the metabolic requirements for copper and zinc in molluscs and crustaceans. - *Marine Environmental Research*, **16:** 215-229.

Wood, A. (1983) - Available copper ligands and the apparent bioavailability of copper to natural phytoplankton assemblage. - *Sci Total Environ*, **28:** 51-64.

Wurtsbaugh, W. A. et Horne, A. J. (1982) - Effects of copper on nitrogen fixation and growth of blue-green algae in natural plankton associations. - *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **39:** 1636-1641.

Xue, H.-B. et Sigg, L. (1990) - Binding of Cu(II) to algae in a metal buffer. - *Water Research*, **24:** 1129-1136.

Les points singuliers mis en évidence sont les suivants:

- Le cuivre est biodisponible dans la retenue du Mirgenbach et se répartit dans l'ensemble de la chaîne trophique.
- Les niveaux trophiques les plus contaminés sont les gastéropodes, les dreissènes et les écrevisses (viscères), ensuite viennent les crustacés et les macrophytes.
- Chez les producteurs primaires, le niveau de bioaccumulation semble dépendant des sources d'exposition (eau ou eau+sédiments)
- Le niveau de bioaccumulation du métal est fortement dépendant de la physiologie de l'espèce et du régime alimentaire. Ainsi, tous les crustacés présentent un niveau de bioaccumulation caractéristique et de même ampleur et les petites différences entre espèces sont la conséquence de différences dans l'alimentation ou le lieu de vie.
- Les niveaux trophiques supérieurs sont faiblement contaminés en raison de l'existence de systèmes de régulation efficaces.
- Il n'y pas de phénomène global de biomagnification du cuivre dans la chaîne alimentaire, mais il existe des voies de transfert d'un niveau n à un niveau n+1.
- Le niveau de contamination du milieu augmente au cours des années.
- Le cuivre semble exercer des effets toxiques à long terme et il semble être à l'origine de la diminution de la production planctonique au cours des années.
- Le cuivre est à l'origine de la disparition de deux espèces ayant généré des fleurs d'eau : l'algue verte *Hydrodyction* puis la cyanobactérie *Aphanizomenon,* dont les CL50 sont inférieures aux concentrations moyennes en cuivre dans l'eau brute.
- Une prédominance d'espèces invasives ou exotiques est constatée et parmi ces espèces, la dreissène est elle-même en déclin.

PARTIE IV :

SYNTHESE ET PERSPECTIVES

Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer l'impact d'un rejet de cuivre et de zinc à l'aval d'une exploitation industrielle. Pour atteindre ces objectifs, deux approches complémentaires ont été réalisées, la première concernant les compartiments abiotiques et la seconde, les compartiments biotiques.

L'étude en première partie de la répartition et de la circulation des métaux dans les compartiments abiotiques a permis, après une caractérisation du rejet industriel (variation temporelle, quantification), d'analyser la répartition, la circulation et les transferts des métaux cuivre et zinc dans l'écosystème lacustre de la retenue du Mirgenbach et d'étudier l'impact de leur rejet en rivière Moselle.

La seconde partie, consacrée à l'étude de la spéciation du cuivre (principalement) et du zinc dans les sédiments et les matières décantées aux différentes stations a apporté des informations quant à la mobilité et à la biodisponibilité de ces métaux.

La troisième partie, en abordant l'étude de la bioaccumulation du cuivre et du zinc par les organismes, a permis d'évaluer la biodisponibilité des métaux. Cette partie a également permis d'étudier les variations saisonnières des profils d'accumulation, les stratégies de régulation du cuivre et du zinc, ainsi que l'impact du niveau de contamination du milieu sur l'accumulation des métaux par les organismes autochtones. Les différences interspécifiques des concentrations en cuivre et en zinc ont également été observées. L'utilisation des techniques de biosurveillance active, en concomitance avec des techniques de biosurveillance passive, avait pour but de valider les techniques de transfert d'organismes appliquées aux dreissènes et aux corbicules, et ce, en lac et en rivière.

La dernière partie de cette étude, consacrée à la répartition du cuivre dans les compartiments biotiques avait pour objectifs d'estimer les transferts de cuivre dans une chaîne trophique de la retenue du Mirgenbach, de visualiser les variations interspécifiques des niveaux de bioaccumulation et de les corréler avec des différences de comportement alimentaire, d'habitat et de biologie des espèces. Cette partie a également permis d'estimer la toxicité à long terme du cuivre sur la biocoenose de la retenue du Mirgenbach.

Les nombreuses méthodes permettant de surveiller la qualité de l'environnement peuvent être réparties en deux catégories, clairement distinctes : d'une part, la détection des polluants et éventuellement leur quantification, dans les milieux physiques et biologiques, et d'autre part, l'évaluation des effets des pollutions sur les organismes vivants, soit au niveau des individus, soit au niveau des populations et /ou des communautés. Après plusieurs années d'utilisation de ces différentes méthodologies, il apparaît qu'aucune d'entre elles n'est exclusive et ne peut, à elle seule, fournir des informations fiables et complètes sur l'état de l'environnement. En d'autres termes, c'est l'association judicieuse de ces différentes approches qui permet d'évaluer de façon précise l'état des milieux et des organismes qui y vivent (Lagadic *et al.*, 1997). La présente étude s'est voulue pluridisciplinaire pour aborder la totalité du parcours des métaux dans un écosystème, ce qui suppose d'aborder étape par étape les compartiments cibles des métaux et ce, après avoir caractérisé la source de contamination du ou des système(s) étudié(s).

I. Mise en évidence du niveau de contamination métallique des sites d'étude

Le suivi métallique de l'année 2001 a permis d'identifier les métaux dont les concentrations sont modifiées en aval du circuit de refroidissement (CRF) de la centrale de Cattenom. Parmi les 5 métaux étudiés (qui entrent dans la composition de la structure métallique du circuit de refroidissement), seul le cuivre et le zinc atteignent des concentrations préoccupantes en aval du CRF. En effet, en référence au SEQ-eau et pour une dureté supérieure à 200 mg$CaCO_3$/l, la classe de qualité de l'eau en référence au cuivre et pour la fonction potentialité biologique est détériorée en aval du CRF par rapport à l'amont, de trois classes de qualité à la station Mir M de la retenue du Mirgenbach (classe orange ou 4/5) et de deux classes à la station Mos2 (classe jaune ou 3/5). Par conséquent, le niveau de contamination en cuivre de la retenue du Mirgenbach peut potentiellement engendrer des effets létaux sur les espèces les plus sensibles et une diminution d'abondance ; à la station Mos2, le cuivre peut être à l'origine d'effets chroniques sur les populations (effets sublétaux) avec possible réduction de l'abondance et prédominance d'espèces tolérantes (SEQ-eau).

Dans le cas du zinc, la classe de qualité de l'eau n'est pas modifiée d'une station à l'autre, bien qu'une augmentation significative des concentrations dans l'eau brute par rapport à l'amont soit observée dans la retenue (facteur de concentration des aéroréfrigérants de 1.46), et à la station Mos2 (x 1.42) en 2001. Remarquons cependant qu'en 2002, aucun impact significatif du rejet de zinc à la station Mos2 n'est mesurable.

Il est nécessaire de considérer avec précaution les évaluations de toxicité réalisées sur la base du SEQ-eau, car les seuils interclasses se réfèrent à des concentrations en métal total dans l'eau brute, or une fraction de ces métaux se trouve sous une forme particulaire et l'autre sous une forme dissoute. Ces deux fractions ne pénètrent pas dans les organismes par les mêmes voies. La fraction particulaire ne peut pénétrer dans l'organisme que par la voie trophique, alors que la fraction dissoute peut pénétrer par voie trophique mais également via les épithéliums des muqueuses de l'organisme. De même, les caractéristiques physico-chimiques des milieux étudiés et plus particulièrement le pH alcalin, la dureté calcique importante (prise en compte dans l'évaluation des risques associés à un niveau de contamination métallique dans le SEQ-eau), la salinité élevée et la charge en MES vont tendre à diminuer la toxicité des métaux.

En aval éloigné de la centrale de Cattenom (station Mos3), aucun impact n'est mesurable sur les concentrations en cuivre et en zinc de l'eau brute.

II. Caractérisation du rejet de cuivre et de zinc par le CRF de la centrale de Cattenom

La **figure IV-1** synthétise les concentrations en cuivre et en zinc mesurées aux stations C1 et C2 du circuit de refroidissement de la centrale de Cattenom.

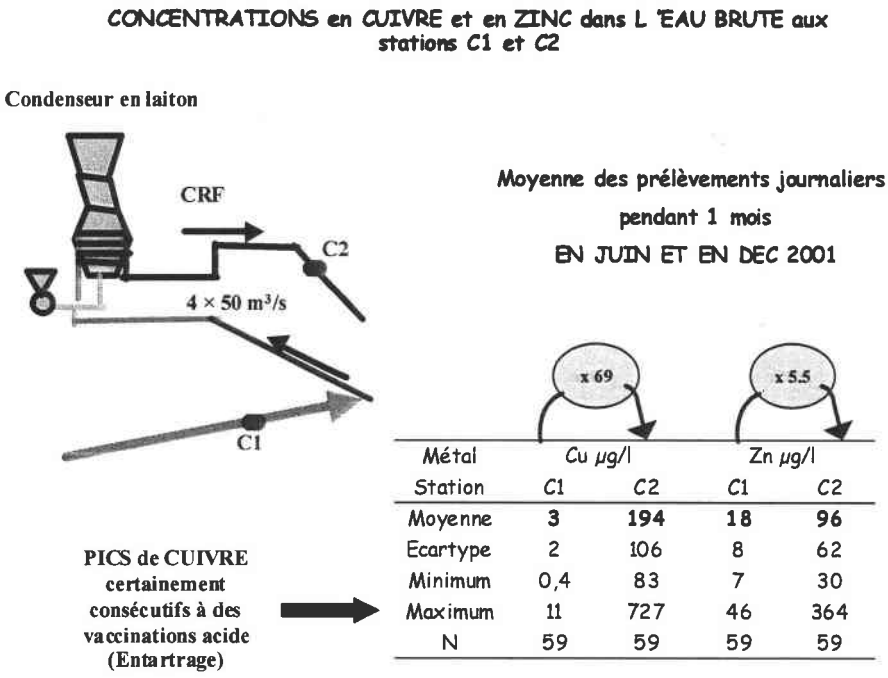


Figure IV-1 : Synthèse des concentrations en cuivre et en zinc mesurées dans le circuit de refroidissement aux stations C1 et C2.

L'étude des concentrations en cuivre et en zinc dans le circuit de refroidissement de la centrale a mis en évidence la libération de cuivre (principalement) et de zinc par les condenseurs en laiton avec une augmentation respective des concentrations de x 67 et x 5.5 en moyenne (les concentrations en cuivre et en zinc pouvant atteindre 727µg Cu/l et 364 µg Zn/l) entre les stations C1 et C2 et ce, indépendamment de la saison (juin ou décembre 2001). Les concentrations en cuivre et en zinc, à la station C2, varient respectivement entre 83 et 727 µg Cu/l (avec une moyenne de 194 +/- 106 µg Cu/l) et entre 30 et 364 µg Zn/l (avec une moyenne de 96 +/- 62 µg Zn/l). La libération des métaux cuivre et zinc est fortement corrélée et se fait dans des proportions relatives de 70% et 30% conformes à celles du laiton des condenseurs (70Cu/30Zn). Ces résultats ont confirmé que la corrosion du laiton des échangeurs était bien à l'origine de la contamination métallique dans la retenue et au rejet en Moselle. Cependant la libération des métaux semble être un processus irrégulier, dont la périodicité pourrait être fortement influencée par le type de fonctionnement de la centrale (nombre de tranches en activité) et par les vaccinations acides réalisées par l'exploitant pour lutter contre l'entartrage. Toutefois, un impact probable de la qualité de l'eau, à l'entrée du CRF, sur la corrosion des échangeurs en laiton n'est pas écarté et reste encore à évaluer.

Les eaux contaminées du CRF sont rejetées dans la retenue du Mirgenbach via un débit de purge de $5m^3/s$. Dans la retenue du Mirgenbach et en zone centrale (station Mir M), les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute chutent respectivement de 81% et de 76% par rapport à la station C2.

III. Etude de la contamination en cuivre et en zinc dans l'eau brute de la retenue

Une étude plus détaillée de la répartition des métaux dans la retenue du Mirgenbach a donc été réalisée pour préciser les variations spatio-temporelles des concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute. Dans la retenue, un gradient de contamination basé sur les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute a été mis en évidence de la station Mir inj (71 µg Cu/l, 46 µg Zn/l) à la station Mir rep (41 µg Cu/l, 25 µg Zn/l). Au niveau de la station Mir inj, les niveaux de contamination en cuivre et en zinc sont corrélés et peuvent varier respectivement de 32 à 128 µg Cu/l et de 21 à 74 µg Zn/l, avec des maxima en hiver et au printemps, et des minima en été.

Une relation linéaire et significative entre les concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute est conservée de la station C2 à la station Mos2, même si le coefficient de corrélation diminue progressivement. Cette observation suppose que les voies de transport ou de transfert des deux métaux, puissent être similaires ou très proches.

La contamination en zinc dans la retenue semble cependant être plus localisée que celle du cuivre puisque dans le cas du zinc, l'impact de la centrale n'est plus visible à partir de la station Mir rep, alors que pour le cuivre le point de restauration de la qualité d'eau à un niveau équivalent de celui de Mos1 se situe entre Mos2 et Mos3.

Pour mieux comprendre l'évolution spatiale des concentrations en cuivre et en zinc dans l'eau brute, l'étude de la répartition des métaux entre la phase soluble et la phase particulaire de l'eau brute est indispensable. Cette étude permet également d'apporter des informations quant à la toxicité potentielle des métaux, puisque généralement, c'est leur forme ionique qui est considérée comme toxique pour les organismes.

Les préférences du cuivre et du zinc respectivement pour la phase soluble conformément aux observations de Sigg *et al.* (1982, 1995), Van den Berg *et al.* (1987) et Xue *et al.* (1995) et pour la phase particulaire en accord avec les résultats de Windom *et al.* (1991) et Shafer *et al.* (1999) ont pu être mises en évidence. De nombreux auteurs ont montré qu'une majorité du cuivre présent dans les eaux naturelles est complexée avec de la MO (Donat *et al.*, 1994 ; Donat, 1995 ; Muller, 1996a ; Achterberg *et al.*, 2002 ; Sarek-Gwiazdia & Mazurkiewich-Boron, 2002), en phase dissoute et en phase particulaire (Lu & Allen, 2001). Les ligands organiques exerceraient également un contrôle dominant de la spéciation du zinc en phase dissoute (Wells *et al.*, 1998 ; Shafer *et al.*, 1998 ; Shafer *et al.*, 1999). Les ligands du cuivre et du zinc seraient différents. La préférence du cuivre pour la phase soluble serait le fait d'une forte affinité pour la formation de complexes organiques solubles (Muller *et al.*, 2001 ; Sarek-Gwiazdia & Mazurkiewich-Boron, 2002). Les ligands forts seraient produits en réponse à une concentration en cuivre dans le milieu, alors que les ligands plus faibles seraient dérivés d'une source terrestre et/ou des sédiments réduits. Dans le cas du zinc, les ligands sont répartis plus uniformément entre phase soluble et particulaire, cependant les plus forts ligands seraient corrélés avec les particules en suspension (Muller *et al.*, 2001). Les auteurs supposent que les ligands du zinc seraient produits *in situ* par les bactéries dégradant la MO particulaire.

Les résultats obtenus, ainsi que les informations fournies par la littérature, mettent en évidence le rôle primordial dans le contrôle des métaux de la phase particulaire qui lie 33 à 53% du cuivre et entre 56 et 69% du zinc selon les stations ; cette phase a un rôle prédominant dans le transport vertical du cuivre et du zinc.

Dans la retenue du Mirgenbach qui représente une zone d'interruption du transport des métaux par rapport au système fluvial, la proportion de cuivre dans la phase particulaire est plus faible qu'en rivière ; ceci pourrait être le fait de la décantation des particules dans le lac, entre Mir inj et Mir rep, mais également d'une modification de la répartition du cuivre, suite d'une part, à l'augmentation de la concentration en chlorures dans le CRF et dans le lac (les chlorures favorisant la formation de chloro-complexes solubles), et d'autre part au développement du plancton (synthèse de phytochélatines, etc).

L'acquisition de données concernant la répartition des métaux entre les phases solubles et particulaires a également permis d'affiner les prévisions de toxicité du cuivre et du zinc pour les organismes. En référence au SEQ-eau et en se basant uniquement sur la fraction métallique soluble, il y a alors amélioration d'une classe de qualité dans la prévision de toxicité du cuivre aux stations Mos2 et Mir M.

Dans le cas du zinc, toutes les stations relèvent alors, d'une classe bleue de qualité 1/5 avec des risques d'effets négligeables pour toutes les espèces.

L'ensemble des résultats obtenus soulève trois grandes interrogations, la première relative à la répartition et à la circulation des métaux dans la retenue du Mirgenbach et à l'impact du rejet en rivière Moselle, la seconde concerne la biodisponibilité des métaux cuivre et zinc dans l'écosystème et la troisième se réfère au transfert dans la chaîne trophique et à la toxicité du cuivre et du zinc.

IV. Etude de la répartition du cuivre et du zinc dans la retenue du Mirgenbach

Dans le circuit de refroidissement au niveau de la station C2, les concentrations en cuivre dans les matières décantées varient de 900 à 2122 mg Cu/kg de ms, et pour une même date, les maxima de concentration en cuivre sont toujours mesurés à la station C2. A cette station, les particules en suspension sont collectées au niveau d'un décanteur en nid d'abeille avec piégeage de la presque totalité des MES de l'eau brute.

Dans la retenue du Mirgenbach, le cuivre se répartit dans l'ensemble du système selon un gradient de contamination, déjà mis en évidence dans l'eau brute, et également observé dans les sédiments (**Figure IV-2**).

BILAN DE LA CONTAMINATION EN CUIVRE DANS LE COMPARTIMENT SEDIMENTAIRE

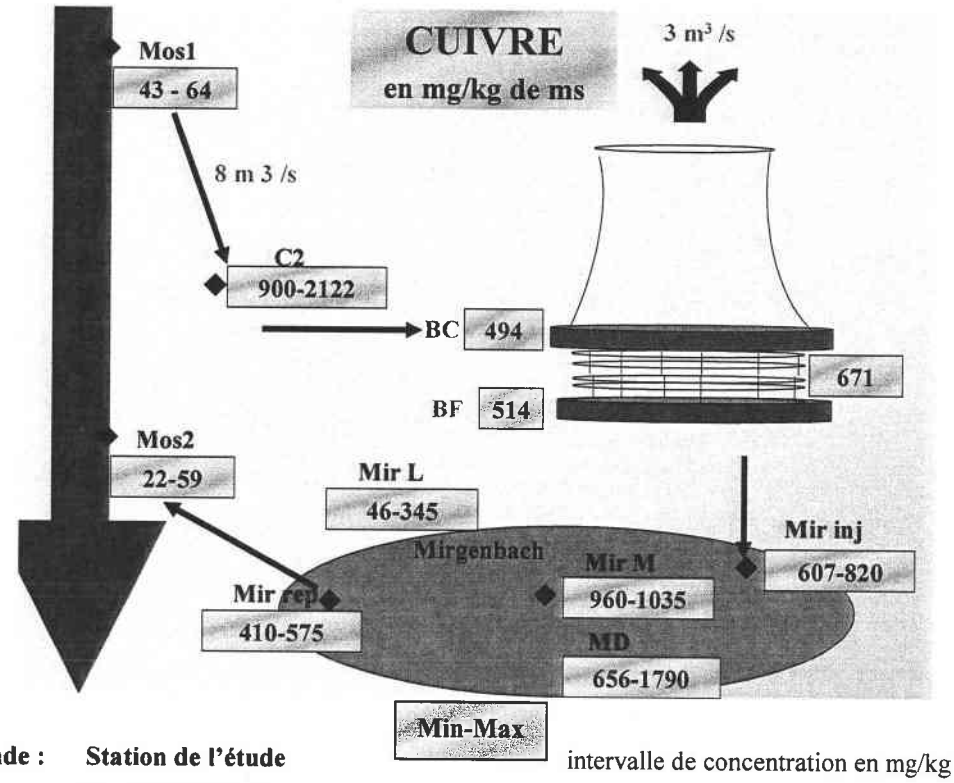


Figure IV-2 : Synthèse des niveaux de contamination en cuivre en mg/kg de ms dans les sédiments ou les matières décantées prélevés aux différentes stations de l'étude de 2001 à 2003.

Les sédiments et les matières décantées de la station Mir M (Zone centrale du lac) sont les plus contaminés (**figure IV-2).** La station Mir inj semble moins propice que la station Mir M à la sédimentation des particules liant le cuivre.

A la station Mir inj, les concentrations en cuivre dans les sédiments varient de 607 à 820 mg/kg de ms, car les courants générés par les débits d'injection sont peu propices à la sédimentation des particules fines. A la station Mir M, la concentration en cuivre dans les sédiments varie entre 960 à 1035 mg Cu/kg de ms, ces valeurs sont les plus élevées pour le lac et sont équivalentes à celles mesurées dans les MD sur la même station. A la station Mir rep, où les concentrations en cuivre dans les sédiments varient de 410 à 575 mg Cu/kg de ms, les particules qui décantent contiennent deux fois moins de cuivre qu'à la station Mir M. Il semble que la répartition du cuivre entre phase soluble et particulaire soit modifiée entre l'entrée et la sortie du lac avec une fraction de cuivre piégé dans le compartiment sédimentaire.

Dans les sédiments de la station Mos2, les concentrations en cuivre sont similaires, à celles qui sont mesurées en Moselle amont (Mos1).

Le calcul des flux de cuivre vers les sédiments a permis d'estimer et de comprendre le transport vertical du cuivre. Les flux de cuivre vers les sédiments, à la station Mir M, varient en 2001 de 27 à 171 mg Cu/jour/m2 selon la saison. Une analyse multivariée basée sur la physico-chimie du lac, a montré d'une part que dans un système à pH alcalin avec une salinité, une dureté calcique et une conductivité élevées, c'est la charge en MES qui représente le facteur clé du transport vertical du cuivre. La qualité de l'eau en rivière Moselle a un impact important sur la retenue du Mirgenbach, puisque lorsque la rivière est en crue (mars-avril), elle charrie une grande quantité de MES qui, en arrivant dans la retenue, favorise la décantation des métaux. Lors de ces épisodes avec des concentrations en cuivre dans l'eau brute importantes, la concentration en cuivre des particules n'augmente pas et elle tend même à diminuer par effet de dilution car l'augmentation du flux de cuivre correspond à une forte augmentation du flux de MES.

L'observation des variations saisonnières des concentrations en cuivre dans les matières décantées a montré que la capacité à lier le cuivre augmentait pendant le développement planctonique. En effet, pendant celui-ci, les concentrations en cuivre dans les MD sont maximales alors que les concentrations en cuivre dans l'eau brute sont faibles.

Le plancton présente par conséquent une plus forte capacité à lier le cuivre que les MES provenant de la rivière Moselle ou de la retenue. L'augmentation de la quantité de MES augmente le transport vertical du cuivre, mais c'est la qualité de ces MES (bactéries, plancton, matières organiques et argiles provenant de la rivière Moselle ou du lac) qui influence la concentration en cuivre dans les matières décantées. Les facteurs biotiques et abiotiques qui contrôlent la quantité de cuivre dans l'eau brute jouent un rôle simultané ou successif selon la période de l'année.

Le transport vertical concerne 75% du cuivre entrant dans le lac alors que la répartition du cuivre dans l'eau brute est de 68% dans la phase dissoute et 32% dans la phase particulaire. Par conséquent une partie du cuivre présent dans l'eau brute sous une forme dissoute est transférée vers les sédiments. Ce transfert pourrait être attribué à des facteurs biotiques tels que les bactéries ou les organismes animaux qui ingèrent et accumulent les métaux et en excrètent une partie sous forme d'urine ou de fèces. Les végétaux peuvent également concentrer les métaux et les chélater (capacité complexante des exsudats). A la mort des organismes, tous les métaux absorbés ou adsorbés rejoignent le compartiment sédimentaire. Toutefois, une partie du cuivre présent sous une forme dissoute dans l'eau brute peut également être transférée vers les sédiments via des mécanismes de précipitation, d'adsorption, etc.

Dans le lac, la quantité de cuivre entrant est évalué à 24 283 kg Cu/an alors que la quantité de cuivre provenant de la corrosion des échangeurs en laiton est estimée en 2001 à 29 930 kg Cu/an (**figure IV-3**). D 'après les résultats de Mersh *et al.* (1993), nous pouvons dire que depuis 1993, la quantité de cuivre dans les compartiments abiotiques (eau – MD – sédiments) a augmenté d'un facteur compris entre 1.5 et 2. De même, la quantité de cuivre qui décante dans le lac a augmenté d'un facteur 1.6 depuis 10 ans. La quantité de cuivre sortant

du lac (station Mir rep) est estimée à 5 046 kg Cu/an, soit une valeur équivalente à celle de l'année 1993 : 5 400 kg Cu/an (Mersh *et al.*, 1993).

Par conséquent, malgré une augmentation de la quantité de cuivre entrant dans le lac, le système est encore capable de retenir la pollution, notamment par piégeage du cuivre dans les sédiments, ce qui maintient à un niveau relativement constant et faible le rejet de cuivre vers la rivière Moselle.

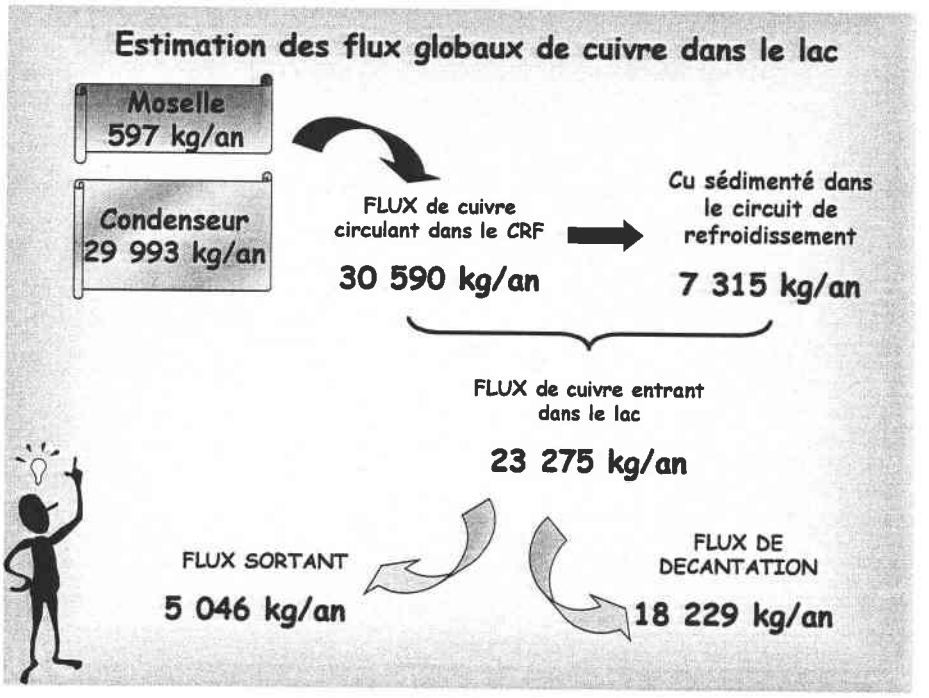


Figure IV-3 : Synthèse des flux globaux de cuivre dans la retenue du Mirgenbach. Les valeurs en rouge sont celles obtenues lors de la présente étude. Les valeurs en vert sont celles fournies par Mersch *et al.* (1993).

Dans le cas du zinc (**Figure IV-4**), la zone préférentielle de sédimentation est la zone d'injection, or, nous avons établi que cette zone est peu propice à la sédimentation des particules liant le cuivre.

Le zinc serait lié à des particules de masse plus importante que celle des particules liant le cuivre ou alors d'autres phénomènes agissent sur le transport vertical du zinc comme par exemple des mécanismes de précipitation dés l'entrée dans le lac. Ces mécanismes seraient le résultat d'une modification des paramètres physico-chimiques du lac par rapport à ceux du circuit de refroidissement.

Les concentrations en zinc des sédiments de la station Mir inj étant supérieures à celles des matières en suspension de la station C2, nous pouvons supposer qu'une partie du zinc qui était en solution à la station C2 a rejoint la phase particulaire au niveau de la station Mir inj. Les concentrations en zinc dans les sédiments de la station Mir inj (en moyenne 2 694 mg Zn/kg de ms) sont 2 à 3 fois plus élevées que celles des stations Mir 1 et Mir M. Dans le lac, la pollution par le zinc semble plus localisée que celle par le cuivre.

BILAN DE LA CONTAMINATION EN ZINC DANS LE COMPARTIMENT SEDIMENTAIRE

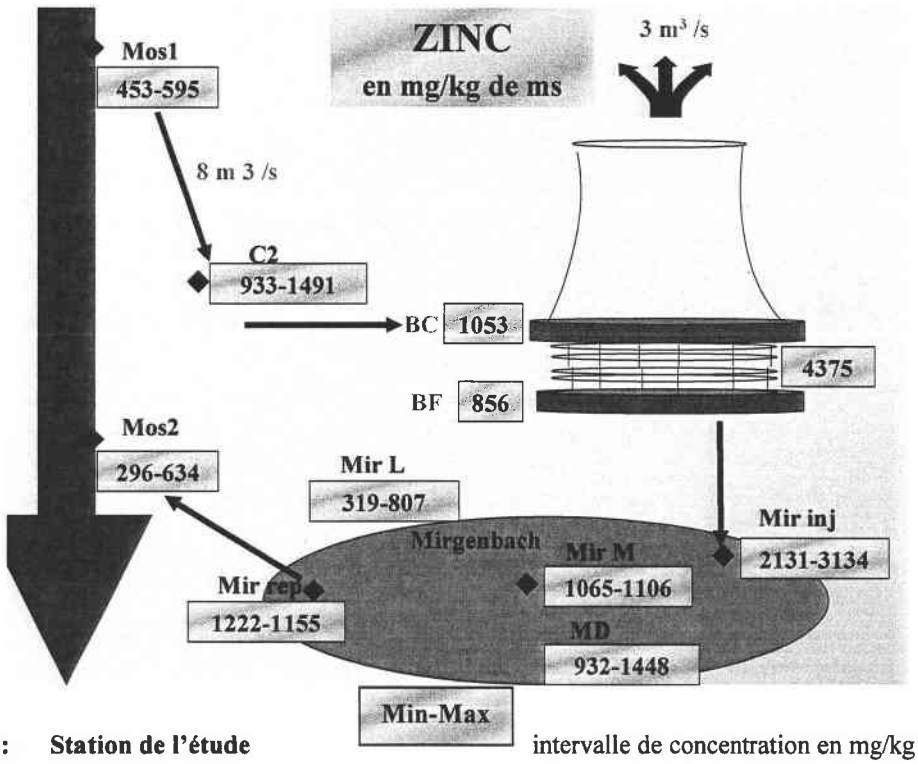


Figure IV-4 : Synthèse des niveaux de contamination en zinc en mg/kg de ms dans les sédiments ou les matières décantées prélevés aux différentes stations de l'étude de 2001 à 2003.

L'analyse bibliographique a mis en évidence l'importance de l'adsorption du zinc sur les sédiments et l'impact sur sa mobilité. Ces phénomènes d'adsorption et de complexation sont fortement dépendants du pH (EHC 221, 2001) ; dans les eaux alcalines, la plus grande partie du zinc serait liée et adsorbée aux particules colloïdales organiques et inorganiques.

Les niveaux de contamination en zinc dans les sédiments sont stables à partir de la station Mir M, puisque les concentrations varient de 1065 - 1106 mg Zn/kg de ms en Mir M à 1155 - 1222 mg Zn/kg de ms en station Mir rep.

Au niveau du bassin froid des aéroréfrigérants, un échantillon de sédiments prélevé en décembre 2001, sous les lattes en plastique, présente une concentration en zinc de 4375 mg Zn/kg de ms. Cette concentration élevée en zinc pourrait avoir un lien avec des réactions de précipitation qui se produiraient lors du refroidissement brutal de l'eau par pulvérisation sur les lattes en plastique et au contact de l'air froid extérieur. Dans la littérature, de nombreux auteurs (Usero *et al.*, 1998 ; Ciffroy & Charlatchka, 1998 ; Mortimer & Rae, 1999) ont mis en évidence, dans les sédiments, la liaison prédominante du zinc avec les fractions acido-soluble (carbonates) et réductible (oxydes de fer et manganèse). La précipitation des carbonates serait

une explication à l'augmentation de la concentration en zinc dans les sédiments du bassin froid ; d'autant plus que la concentration en carbonates diminue à la station C2, par rapport à l'amont, du fait des vaccinations acides réalisées pour lutter contre l'entartrage.

Les sédiments de la zone littorale du lac sont moins contaminés par le zinc avec des concentrations qui varient entre 319 et 807 mg Zn/kg de ms avec une moyenne de 492 +/- 122 mg Zn/kg de ms très proche de la valeur mesurée en Moselle amont (**figure IV-4**).

Malgré des zones de décantation préférentielle différentes pour le cuivre et le zinc, il existe une très forte corrélation d'une part, entre les concentrations en cuivre et en zinc dans les matières décantées de la station Mir M ($r=0.86$, $p<0.05$) et d'autre part entre les flux de cuivre et de zinc à la même station ($r=0.93$, $p<0.05$). Cette corrélation a déjà été observée dans l'eau brute. L'existence de corrélations aussi fortes, suppose au niveau de cette station des voies de transferts similaires ou proches pour les deux métaux.

Les flux de zinc, ainsi que ceux du cuivre sont dépendants de la charge en MES du milieu et les concentrations en cuivre et en zinc dans les MD sont influencées par la quantité d'ALBAZOD. Plus précisément, les concentrations en cuivre dans les MD sont corrélées à la composante phytoplanctonique de l'ALBAZOD, exprimée par la concentration de chlorophylle a dans le milieu, alors que dans le cas du zinc, il y aurait intervention d'une autre composante ou de toutes les composantes dans des proportions variables. Trois arguments viennent étayer cette hypothèse.

D'une part, la liaison du zinc sur les particules en suspension semble moins spécifique que celle du cuivre (Helland, 2000) et d'après Muller *et al.* (2001), les bactéries responsables de la dégradation des matières organiques particulaires produiraient les ligands forts du zinc. D'autre part le cuivre aurait une plus forte affinité que le zinc pour les sites de liaison des particules algales (Knauer *et al.*, 1995 ; Xue *et al.*, 1995). Enfin, d'après Wang & Fisher (1998a et b), le zooplancton affecterait de manière significative le temps de résidence du zinc dans l'eau (accumulation du zinc dans la carapace et les produits d'excrétion) ; d'après Klerck & Fraleigh (1997) les organismes animaux influenceraient le transfert du zinc vers les sédiments en l'excrétant rapidement sous forme de fèces et pseudofèces.

En raison d'une origine multiple (rivière Moselle, activités industrielles et agricoles, fond géochimique), le calcul et la compréhension des flux globaux de zinc dans le lac sont beaucoup moins aisés que dans le cas du cuivre. Les calculs des flux globaux de zinc dans le lac ont déjà été très détaillés dans le Chap. I.3.2.1.4. et ne seront pas repris ici. Des flux très importants de zinc (entre 18 728 et 37 772 kg Zn/an) vers les sédiments ont été mesurés en mars, avril et août 2001 et en avril, mai et août 2002. Les calculs des flux de zinc ont montré que le flux entrant de zinc dans le lac ne peut pas être estimé pour l'année à partir des seules mesures effectuées en juin et décembre 2001. Il apparaît que le flux entrant de zinc dans la retenue est très variable et ceci est lié, en partie, à la variation de l'apport de zinc par la rivière Moselle. Il serait, de fait, important d'étudier de façon plus approfondie les variations des flux d'entrée de zinc dans la retenue.

Les flux de zinc les plus importants vers les sédiments correspondent d'une part à un apport important de matières en suspension dans le lac, en liaison avec de fortes précipitations (mars, avril et mai) et d'autre part à la période de forte prolifération planctonique (août).

Les calculs des flux globaux du zinc dans le lac ont montré que les flux de décantation étaient de 80% et 42% respectivement en juin et décembre 2001.

La charge en MES du milieu et le développement planctonique (et peut-être bactérien) jouent, par conséquent, un rôle crucial dans le piégeage des métaux par les sédiments du lac. La retenue du Mirgenbach agit vis-à-vis des métaux, comme un bassin de décantation mais aussi comme un réacteur biologique et il limite considérablement l'impact de la pollution en cuivre et en zinc en rivière Moselle.

V. Etude de la spéciation du cuivre dans les sédiments des sites d'étude

L'étude de la spéciation du cuivre ayant déjà fait l'objet d'une synthèse et d'une discussion très détaillées dans le chapitre II-2, seuls les points importants seront repris et discutés.

Cette étude a mis en évidence la liaison dominante du cuivre à la fraction oxydable aux stations Mos1, C1, C2, Mir 1 et Mir M (43 à 66% du cuivre total), conformément aux résultats de Zhou *et al.* (1998), Scramel *et al.* (2000), Dollar *et al.* (2001), Fan *et al.* (2002) et Da Silva *et al.* (2002). Cependant dans un écosystème aquatique, la matière organique est d'origine très diverse. Regnier et Wollast (1993) et Gerringa *et al.* (1996) ont montré que le cuivre était principalement lié à de la matière organique d'origine fluviale et non terrestre. Moffet *et al.* (1990), Rijstenbil *et al.* (1993) et Gerringa *et al.* (1996) précisent que le plancton joue un rôle déterminant dans le transfert du cuivre vers les sédiments. Dans la retenue du Mirgenbach, nos résultats semblent, cependant, mettre en évidence une évolution saisonnière de la répartition du cuivre entre les différentes fractions ; ainsi, la quantité de cuivre fixée à la fraction oxydable augmente dans les matières décantées collectées en juillet 2002 et en octobre 2001 par rapport à janvier 2002 ; la période de juillet à octobre correspond à une production primaire plus importante dans le lac (Vinot & Pihan, 2001, 2002).

La fraction réductible joue également un rôle dominant dans la spéciation du cuivre, notamment au niveau des stations Mir inj, Mir rep, Mos2 et Mos3 (entre 37 et 44% du cuivre total), avec une codominance des fractions oxydable et réductible. Förstner (1986), Kraepiel *et al.* (1997), Gundersen & Steinnes (2003) ont mis en évidence l'importance des oxydes et hydroxydes de fer dans la liaison et le transfert du cuivre vers le compartiment sédimentaire. Les caractéristiques physico-chimiques de la retenue du Mirgenbach (pH compris entre 8.2 et 9.3) favorisent la précipitation du cuivre avec les oxydes de Fe (adsorption, coprécipitation). L'analyse de la composition des sédiments a également révélé la présence en grande quantité d'oxydes de fer, certainement en liaison avec l'activité sidérurgique de la vallée de la

Moselle. Il semblerait que lorsque la quantité de cuivre fixée à la fraction réductible (oxydes de fer) diminue, ce soit à la faveur de la fraction carbonatée.

Dans les sédiments des stations Mos1, C1, C2, Mir1, Mir M et dans les MD, la seconde fraction liant le plus de cuivre, après la fraction oxydable, est la fraction acido-soluble ou carbonatée qui représente 24 à 39% du cuivre total, alors que la fraction réductible lie moins de 20% du cuivre total.

Seules les stations Mir 1, Moselle et C1 présentent des fractions résiduelles non négligeables et liant plus de 15% du cuivre totale. La fraction résiduelle augmente lorsque la concentration en cuivre total dans les sédiments diminue, ceci conformément aux résultats de Xiangdong Li *et al.* (2001) et en liaison avec une origine géologique et non anthropique du cuivre lié à cette fraction.

La fraction échangeable lie moins de 1% du cuivre quel que soit l'échantillon considéré. La *quasi*-absence de cuivre dans la fraction échangeable pourrait être expliquée par le fait que le cuivre serait intégré comme constituant de la matière organique et des argiles contrairement au cuivre adsorbé ou lié à la surface de la MO et des argiles.

Les analyses aux rayons X des particules sédimentaires réalisées en complément de la technique d'extraction séquentielle ont révélé le rôle primordial des sulfures dans la spéciation et la mobilité du cuivre.

Les sulfures de cuivre seraient générés dans le circuit de refroidissement (station C2), certainement en raison de conditions anaérobies. Ces sulfures de cuivre existent en tant qu'entités isolées, mais également en tant que composés mixtes de sulfures de fer et cuivre dans les matières décantées de la station C2 et dominent la spéciation du cuivre. Le cuivre, au niveau de cette station, est également associé aux oxydes de Fer, aux argiles et dans une moindre mesure aux carbonates. Cependant à la station C2, 80% des argiles liant du cuivre sont également associés à du soufre.

A la station Mir inj, les sulfures de cuivre n'existent plus en tant qu'entités isolées, mais ils semblent avoir migré sur les argiles. Les oxydes de fer ne sont plus associés à du cuivre. En fait, dans les sédiments de la station Mir inj, des composés mixtes de silicates d'alumine, d'oxydes de fer et de sulfures sont observés, et ce sont ces composés qui lient le cuivre. Dans les matières décantées de la station Mir M, le cuivre est observé en association avec des oxydes de fer et principalement des sulfures de fer mixtes ; alors que dans les sédiments de la station Mir M, le cuivre n'est associé qu'à des argiles mixtes formées de silicates d'alumine, d'oxydes de fer et de sulfures. Par conséquent, il semblerait que la diagenèse soit à l'origine du transfert du cuivre des oxydes de fer et sulfures de fer vers les argiles. De plus l'absence de cuivre dans la fraction échangeable des sédiments suppose que le cuivre est associé à la structure des argiles et n'est pas échangeable.

Au niveau de la station Mir rep, le cuivre n'est que très peu présent et il est associé en trace aux argiles.

A la station C2, le zinc est essentiellement associé aux oxydes de fer, puis aux argiles et aux carbonates. Le zinc n'est jamais lié aux sulfures conformément aux observations de Fernandes (1997). A la station Mir inj, les carbonates liant du zinc ont disparu des sédiments, ce qui confirmerait le fait que les carbonates précipitent avant l'entrée dans le lac (bassin froid). Dans les sédiments de la station Mir inj, le zinc n'est associé qu'à des argiles eux-mêmes porteurs d'oxydes de fer. Le zinc est cependant peu observé à la station Mir inj alors que les concentrations en zinc total dans les sédiments sont maximales. Il semblerait, par conséquent, que les oxydes de fer liant une grande quantité de zinc à la station C2, aient migré vers les argiles. Les oxydes de fer forment fréquemment une couverture (ou coating) à la surface des argiles. Cependant, au niveau des matières décantées de la station Mir M, le zinc est associé à des oxydes de fer indépendants des argiles et il est très peu présent sur les argiles. Par conséquent, il apparaît que la liaison des oxydes de fer à la surface des argiles ou dans les argiles soit le résultat de la diagenèse.

Dans les sédiments de la station Mir inj, le zinc est associé principalement aux argiles, mais en proportion plus importante que sur les argiles de la station Mir M. Au niveau de la station Mir rep, le zinc bien que présent, n'est plus détectable qu'à l'état de trace.

Les résultats fournis par la spéciation du cuivre (principalement) et du zinc, peuvent être utilisés pour évaluer la biodisponibilité des métaux dans le lac et présager d'une éventuelle remobilisation des métaux à partir du compartiment sédimentaire.

Nous avons déjà vu que la majorité du cuivre et du zinc dans le lac était transférée vers les sédiments.

Dans le cas du zinc et, d'après la grille du SEQ-eau, les concentrations dans l'eau brute ne révèlent pas de risque d'effet toxique pour les organismes, de plus la majorité du zinc présent dans le système rejoint le compartiment sédimentaire. Dans les sédiments le zinc semble être fixé principalement aux argiles via les oxydes de fer. La matière organique joue certainement un rôle dans la spéciation du zinc conformément aux observations de Mortimer & Rae (1999) et de Muller *et al.* (2001). Toutefois d'après Usero *et al.* (1998), Ciffroy & Charlatchka (1998), Mortimer & Rae (1999), les fractions dominantes de la spéciation du zinc seraient, conformément aux observations que nous avons faites par analyses X, les fractions acido-soluble et réductible. Ces fractions sont stables dans les conditions du milieu et ne sont susceptibles de poser un problème que dans le cas d'une modification de ces conditions (acidification, anaérobiose). De plus les oxydes de fer diminuent la biodisponibilité du cuivre et du zinc associés aux sédiments (Langston, 1980 ; Luoma & Bryan, 1978 ; Luoma & Jenne, 1977 ; Tessier *et al.*, 1994). La bibliographie a également fourni de nombreuses informations quant aux seuils de toxicité du zinc vis à vis de nombreux organismes ; par comparaison les concentrations en zinc dans le milieu ne représentent pas à ce jour, un risque pour les organismes.

Dans le cas du cuivre, la spéciation est dominée dans les sédiments par les fractions oxydable, réductible et carbonatée. Dans le cas des fractions carbonatée et réductible, les mêmes remarques que précédemment peuvent être faites. Concernant la proportion de cuivre

associée à la fraction oxydable, elle pourrait être libérée au cours de la dégradation de la MO dans les sédiments. Toutefois, nous n'avons pas constaté de différence entre les concentrations en cuivre dans les matières décantées et celles mesurées dans les sédiments de fond et, par conséquent il ne semble pas y avoir une remobilisation du cuivre associé à la MO. Il est possible que le cuivre libéré lors de la dégradation de la MO, soit intégré par diagenèse aux argiles via les oxydes de fer par exemple. D'autre part, la toxicité est considérée comme étant fortement atténuée lorsque le cuivre est associé à la MO (Bartell *et al.*, 1996 ; Fernandes, 1997).

VI. Etude de la biodisponibilité du cuivre et du zinc

La biodisponibilité du cuivre et du zinc a déjà été discutée de manière très détaillée à la fin de chaque sous partie du chapitre III. Il convient de souligner les faits essentiels. Le **tableau IV-1** présente les concentrations moyennes en cuivre et en zinc dans les organismes étudiés et ce pour chaque station. Les différences interstations de concentration (test t, $p<0.05$) sont illustrées dans le tableau par des lettres arabes différentes.

			Mos1	Mir	Mos2	Mos3
CUIVRE mg/kg de ms	DA	moyenne	21 +/- 7	340 +/- 180	62 +/- 17	23 +/- 10
		Test t (p<0,05)	a	b	c	a
	CoA	Moyenne	42 +/- 12		96 +/- 19	44 +/- 9
		test t (p<0,05)	a		b	a
	GA	Moyenne	106 +/- 20	135 +/- 19	125 +/- 26	113 +/- 14
		test t (p<0,05)	a	c	b	a
	VA	Moyenne	207 +/- 53		499 +/- 104	221 +/- 55
		test t (p<0,05)	a		b	a
	LiA	Moyenne	155 +/- 27		371 +/- 147	243 +/- 46
		test t (p<0,05)	a		b	a
ZINC mg/kg de ms	DA	moyenne	201 +/- 50	173 +/- 44	195 +/- 61	178 +/- 45
		Test t (p<0,05)	a	a	a	a
	CoA	Moyenne	261 +/- 99		303 +/- 111	256 +/- 94
		test t (p<0,05)	a		b	a
	GA	Moyenne	106 +/- 23	109 +/- 23	113 +/- 22	112 +/- 14
		test t (p<0,05)				
	VA	Moyenne	535 +/- 101		534 +/- 104	562 +/- 104
		test t (p<0,05)	a		a	a
	LiA	Moyenne	258 +/- 70		279 +/- 50	266 +/-50
		test t (p<0,05)	a		a	a

Tableau IV-1 : Synthèse des concentrations moyennes en cuivre et en zinc (mg/kg de ms) mesurées à chaque station au cours de la période d'étude et dans chaque espèce étudiée. (**DA** : Dreissène autochtone ; **CoA** : Corbicule autochtone ; **GA** : Gammare autochtone ; **VA** : *Viviparus* autochtone ; **LiA** : Limnée autochtone)

Concernant le zinc, quel que soit l'organisme considéré comme support d'étude de la biodisponibilité, il existe une régulation très efficace de ce métal. Les corbicules autochtones sont les seuls organismes qui présentent une concentration en zinc significativement supérieure à la station Mos2 par rapport aux stations Mos1 et Mos3. Pour les dreissènes, les gammares, les vivipares et les limnées, il n'y a pas de différence interstations significative ($p<0.05$) en Moselle. Dans le cas des dreissènes et des gammares présents dans la retenue du Mirgenbach, les concentrations corporelles en zinc ne sont pas non plus différentes de celles des organismes des stations Moselle.

Chez les mollusques bivalves, les concentrations en zinc varient en moyenne et selon les stations, respectivement pour les dreissènes et les corbicules, entre 178 +/- 45 et 201 +/- 50 et entre 256 +/- 94 et 303 +/- 111 mg Zn/kg de ms. Les corbicules ont, par conséquent, une tendance plus importante à accumuler le zinc. Ceci est à mettre en relation avec un mode de vie et d'alimentation différent entre les deux espèces. En effet, bien que les dreissènes, comme les corbicules, soient des organismes filtreurs, ces dernières vivent, contrairement aux dreissènes, enfouies dans les sédiments et sont capables d'en ingérer une fraction non négligeable. D'autre part, d'après la littérature, la voie dominante du transfert du zinc, en milieu turbide, est la voie trophique via les particules en suspension. Toutefois, il est probable que cette différence d'accumulation soit en partie, conformément aux observations de Baudrimont *et al.* (1999) et Fraysse (2001), le fait d'une stratégie de régulation du zinc, légèrement différente chez les corbicules par rapport aux dreissènes.

Les mollusques gastéropodes présentent des concentrations en zinc qui varient, en moyenne, respectivement chez les limnées et les vivipares, entre 258 +/- 70 et 279 +/- 50 et entre 535 +/- 101 et 532 +/- 104 mg Zn/kg de ms. Par conséquent, les limnées accumulent le zinc dans des proportions similaires à celles des corbicules, et supérieures à celles des dreissènes. Les concentrations en zinc dans les vivipares sont beaucoup plus élevées (facteur 2) que celles des limnées. Comme dans le cas des mollusques bivalves, cette différence pourrait être, en partie, le fait d'un régime alimentaire différent. Les vivipares vivent exclusivement à la surface des rochers et sur les sédiments, alors que les limnées, bien qu'également présentes sur les mêmes substrats, notamment en automne et en hiver, sont surtout groupées dans les herbiers de macrophytes au printemps et en été. Les limnées se nourriraient préférentiellement de matière organique fraîche, alors que les vivipares seraient plutôt déposivores. Par conséquent les vivipares pourraient absorber plus de sédiments. D'après les résultats fournis par Gundacker (2000), il semblerait que le niveau de bioaccumulation en zinc mesuré dans les vivipares soit fonction du niveau de contamination du site et plus particulièrement du niveau de contamination en zinc de la nourriture des organismes. Cependant, il est également probable que leurs systèmes de régulation du zinc soient différents et que les vivipares possèdent la capacité de stocker plus de zinc que les limnées.

Parmi les organismes étudiés, les gammares présentent les plus faibles concentrations en zinc avec des valeurs qui varient en moyenne de 106 +/- 23 à 113 +/- 22 mg Zn/kg de ms. La variabilité des valeurs est également beaucoup plus faible que dans le cas des autres mollusques. *Dikerogammarus villosus* est un organisme qui vit à la surface du sédiment et

dans les anfractuosités avec un régime détritivore et carnivore, mais surtout très opportuniste. Le régime alimentaire pourrait expliquer en partie un niveau de bioaccumulation en zinc inférieur à celui des bivalves et des gastéropodes. La caridine, surtout végétarienne et, en partie détritivore, accumule le zinc à hauteur 80 mg Zn/kg de ms en moyenne. Ces résultats supposent un système de régulation du zinc beaucoup plus efficace chez les crustacés que chez les mollusques bivalves et gastéropodes. Par ailleurs, il est probable que le comportement alimentaire influence également le taux de zinc ingéré par les organismes, ce qui expliquerait la différence entre les concentrations en zinc dans les deux crustacés choisis.

Dans le cas du cuivre, tous les organismes étudiés présentent une concentration en cuivre caractéristique du niveau de contamination du site d'étude avec des concentrations qui se classent en fonction des stations selon l'ordre croissant suivant : Mos1=Mos3 < Mos2 < Mir.

A la station Mos1, le niveau de contamination en cuivre dans l'eau brute est très faible (classe 1/5 ou bleue du SEQ-eau) avec des concentrations qui varient entre 1.5 et 6.4 µg Cu/l. Dans les sédiments le niveau de contamination en cuivre est également très faible avec des concentrations comprises entre 43 et 64 mg Cu/kg de ms. Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que les standards régionaux fournis par l'agence de l'eau Rhin-Meuse : 20 mg Cu/kg de ms et sont proches des concentrations en cuivre mesurées dans les sédiments d'un site de référence (étang du Lindre) soit 30 mg Cu/kg de ms, et des teneurs métalliques médianes mesurées dans 87 lacs répartis sur tout le continent (45 mg Cu/kg de ms).

Les organismes peuvent être classés en fonction de leur concentration moyenne en cuivre à la station Mos1 selon un ordre croissant et de la manière suivante : *Dreissena polymorpha* (21 +/- 7 mg Cu/kg de ms) < *Corbicula fluminea* (42 +/- 12 mg Cu/kg de ms) < *Dikerogammarus villosus* (106 +/- 20 mg Cu/kg de ms) < *Radix ovata* (155 +/- 27 mg Cu/kg de ms) < *Viviparus viviparus* (207 +/- 53 mg Cu/kg de ms). Par conséquent, on peut considérer qu'à cette station les organismes présentent des concentrations en cuivre très proches du minimum requis au fonctionnement physiologique. Nous avons montré que c'était le cas chez la dreissènes, avec une moyenne de 21 +/- 7mg Cu/kg de ms. La différence de concentrations en cuivre s'explique par des besoins physiologiques différents et notamment par le fait que les crustacés et les gastéropodes possèdent une physiologie respiratoire particulière (Hémocyanine) qui utilise le cuivre pour la fixation de l'oxygène. Cependant, Gundacker (2000) relate dans la Vienne (concentrations en cuivre dans les sédiments comprises entre 24 et 52 mg Cu/kg de ms) des niveaux de bioaccumulation en cuivre dans les vivipares et dans les limnées plus faibles que ceux de la présente étude, avec respectivement des valeurs comprises entre 134 +/- 16 et 225 +/- 64 mg Cu/kg de ms et entre 91 et 185 +/- 12 mg Cu/kg de ms selon les stations étudiées. Ces valeurs sont, dans le cas de la limnée, plus faibles mais très proches des nôtres, alors que chez *Viviparus*, elles peuvent être très inférieures. Par conséquent, il est probable qu'en dehors du cuivre nécessaire à la physiologie particulière des gastéropodes, il existe une fraction de cuivre accumulé sous forme de dépôts cellulaires (cellules « à pores » des gastéropodes ; Communication orale de Dallinger, 2003).

Chez les gammares, la concentration en cuivre est intermédiaire par rapport aux autres organismes, avec 106 mg Cu/kg de ms et correspond au calcul théorique réalisé par Depledge (1989) pour estimer le minimum en cuivre requis pour le fonctionnement respiratoire et enzymatique.

Dans le cas d'un niveau de contamination en cuivre plus important dans le milieu et correspondant aux stations Mos2 et Mir, les concentrations en cuivre augmentent de façon significative dans tous les organismes, mais à des degrés variables selon les espèces.

A la station Mos2, les concentrations en cuivre sont multipliées par un facteur 3 chez les dreissènes, un facteur compris entre 2.3 et 2.4 chez les corbicules, les vivipares et les limnées et par un facteur 1.18 chez les gammares. Par conséquent tous ces organismes peuvent être considérés comme de bons indicateurs du niveau de contamination ambiant, bien qu'aucune corrélation entre la variation du niveau de contamination des organismes et celle du milieu ne soit observée. En effet, les sources de contamination en cuivre dans les organismes bien que certainement très dépendante de la voie trophique (Gundacker, 2000), sont souvent multiples et difficilement identifiables, de plus, les niveaux de contamination en rivière sont très variables, en raison des variations de débit, de l'érosion des fonds suite aux crues, des sources multiples de pollution.

Les organismes de la station Mos2 peuvent être classés, en fonction de leur concentration en cuivre corporelle, selon un ordre croissant de la manière suivante : *Dreissena polymorpha* (62 +/- 17 mg Cu/kg de ms) < *Corbicula fluminea* (96 +/- 19 mg Cu/kg de ms) < *Dikerogammarus villosus* (125 +/- 26 mg Cu/kg de ms) < *Radix ovata* (371 +/- 147 mg Cu/kg de ms) < *Viviparus viviparus* (499 +/- 147 mg Cu/kg de ms). Le même ordre est conservé par rapport au classement réalisé à la station Mos1. Les différences de niveaux de bioaccumulation en cuivre dans les organismes de la station Mos2 sont fonction d'une part, des besoins physiologique de chaque espèce (station Mos1), d'autre part, de la stratégie de régulation et de son efficacité pour chaque espèce et enfin de la biodisponibilité du métal, qui sera fonction de l'habitat et surtout du comportement alimentaire des organismes. Au regard du classement effectué entre les organismes, nous pouvons constater que malgré des concentrations en cuivre extrêmement élevées dans les gastéropodes, l'augmentation du niveau de bioaccumulation entre la station Mos1 et la station Mos2 est du même ordre de grandeur que pour les corbicules. Sur la base de leur aptitude à accumuler les métaux, tel que le cuivre, certains gastéropodes terrestres sont considérés comme des macroconcentrateurs de cuivre (Dallinger, 1993), et cela est valable pour les gastéropodes aquatiques étudiés ici. Il est possible que les deux espèces de gastéropodes (*Radix ovata*, *Viviparus viviparus*) ne possèdent pas un système de régulation avec une phase d'excrétion, mais qu'ils détoxiquent les métaux et les stockent indéfiniment.

La dreissène est l'organisme dont la concentration augmente le plus par rapport à l'amont cependant, c'est également l'organisme qui accumule le moins de cuivre sur la station Mos2. La dreissène, tout comme la corbicule possède un système de régulation du cuivre très efficace et souvent mentionné dans la littérature (Mersch *et al.*, 1992, 1993 ; Kraak *et al.*, 1991, 1992 ; Klercks & Fraleigh, 1997 ; Camusso *et al.*, 2001). La concentration en cuivre dans les gammares varie peu en station Mos2, par rapport à la station Mos1 et ceci est à

mettre en relation avec une stratégie de régulation du cuivre très efficace, comme chez la caridine (Wang & Fisher, 1995).

Notons également, que la concentration en cuivre des sédiments de la station Mos2 rive, où sont collectés les organismes autochtones, n'est pas différente de celle des sédiments de Mos1. De fait, le vecteur de contamination vers les organismes est l'eau brute (y compris les MES). Nous avions supposé *a priori* que l'impact du rejet de la centrale sur les organismes de la station Mos2 rive était moindre et épisodique en raison de la présence du barrage et de la centrale hydroélectrique, cependant, cet impact s'est révélé significatif sur tous les organismes étudiés.

Aucune corrélation significative n'est observée entre les concentrations en cuivre dans les dreissènes et les corbicules autochtones de Moselle et celles mesurées dans l'eau brute. Toutefois, l'absence de corrélation est plus le fait de la très grande variabilité des concentrations en cuivre (variabilité des débits, des sources de pollution, etc.) dans l'eau brute en rivière (échantillonnage non représentatif du niveau de contamination subi par les organismes), que du fait de l'absence de relation entre la bioaccumulation et le niveau de contamination du milieu. Dans la retenue du Mirgenbach, où le niveau de contamination en cuivre est uniquement le fait d'un rejet continu soumis à des variations progressives, et non celui de sources multiples, diffuses, et discontinues avec des variations brusques, une corrélation significative ($r=0.92$, $p<0.01$) entre les concentrations en cuivre dans l'eau brute et celles dans les dreissènes est observée.

Une corrélation entre les concentrations en cuivre dans les caridines et celles de l'eau brute est également établie mais uniquement pendant la période printemps-été. L'apparition de cette corrélation pourrait être liée à une plus grande activité des organismes pendant la saison chaude, mais également à un comportement alimentaire ou à des besoins physiologiques différents.

Dans la retenue du Mirgenbach, seuls trois organismes autochtones ont pu être suivis en continu pendant plus de deux ans, la dreissène et deux crustacés (gammare et caridine) ; la dreissène s'est révélée être un excellent indicateur de la contamination dans le lac parce qu'elle intègre toutes les variations du niveau de contamination dans l'eau brute.

Dans la retenue du Mirgenbach, la concentration moyenne en cuivre dans les gammares, bien que significativement supérieure à celle des individus des stations Mos1 et Mos2, reste de même niveau avec 135 +/- 19 mg/kg de ms. La variabilité de la concentration en cuivre dans le gammare reste faible et du même ordre que celle observée chez les individus des stations Moselle. Par conséquent, le gammare adapte sa concentration corporelle en cuivre au niveau de contamination du milieu, puis stabilise son niveau de bioaccumulation autour de ce nouveau seuil.

Les dreissènes accumulent le cuivre dans la retenue, jusqu'à des valeurs étonnantes de 952 mg Cu/kg de ms. Cependant, il existe toujours une régulation du niveau de bioaccumulation en cuivre, puisque dés que le niveau de contamination du milieu diminue, les organismes évacuent le cuivre excédentaire. Toutefois, ces régulations demandent une dépense énergétique considérable et il est possible que la pollution en cuivre, sans causer

directement la mort des organismes, les fragilise énormément. Ceci pourrait expliquer également, la taille réduite des dreissènes dans la retenue du Mirgenbach, de même que la fragilisation de la coquille par rapport aux dreissènes issues de site dit « de référence ».

En conclusion, nous pouvons dire que le cuivre et le zinc restent biodisponibles dans la retenue du Mirgenbach et à la station Mos2 et que les organismes sont capables d'accumuler les métaux cuivre et zinc rejetés dans leur milieu. Par conséquent, bien que la biodisponibilité des métaux semble réduite dans les compartiments inertes de la retenue du Mirgenbach (spéciation, transfert vers les sédiments), les sédiments et les matières en suspension semblent être une source importante du transfert des métaux vers les organismes.

Nous avons montré que le zinc ne représentait pas pour les stations étudiées, un danger pour les organismes. Dans le cas du cuivre une question subsiste et elle se réfère à l'évaluation des transferts de cuivre *via* la chaîne trophique. De même, nous avons remarqué que dans la retenue du Mirgenbach, proliféraient *quasi* exclusivement des espèces dites « invasives », « exotiques » ou « tolérantes », ce qui pourrait être un indice de la toxicité à long terme du cuivre sur les espèces plus sensibles. Nous avons constaté par exemple la disparition de certaines espèces (ex : gastéropodes) dans le lac et la fragilisation d'autres, telle que la dreissène.

L'ensemble des travaux de Mersch sur la dreissène a permis l'établissement d'une grille de qualité proposée pour interpréter les concentrations métalliques (µg/g de poids sec) observées dans les moules zébrées (**Annexe 2**). Cette grille de qualité a été utilisée (**Tableau IV-2** et **IV-3**) afin de comparer la classification des sites réalisée, selon leur niveau de contamination, à partir d'un compartiment abiotique : l'eau brute (SEQ-eau) et d'un compartiment biotique : les dreissènes (Mersch). Ces deux grilles d'évaluation n'ont cependant pas tout à fait le même objectif puisque la grille du SEQ-eau prévoit des effets probables sur les espèces en fonction du niveau de contamination de l'eau alors que la grille de Mersch attribue simplement un niveau de contamination en fonction du niveau de bioaccumulation en cuivre et en zinc dans les DA. Il existe un décalage d'une classe de qualité dans la prévision des deux grilles (**Tableau IV-2** et **IV-3**).

D'après la grille de qualité de Mersch, les stations Mos1 et Mos3 relèvent pour la contamination en cuivre d'une classe verte de qualité (situation intermédiaire de contamination) alors que le SEQ-eau prévoit une classe bleue de qualité (effets négligeables), d'ailleurs plus en accord avec des niveaux de bioaccumulation dans les organismes proches des niveaux métaboliques.

Dans la retenue du Mirgenbach, le niveau de qualité de l'eau pour le cuivre relève d'une classe orange d'après la grille du SEQ-eau, et d'une classe rouge d'après la grille de Mersch. Dans les dreissènes, la classe 4/4 ou rouge (niveau de contamination importante) est admise à partir d'une concentration de >80 mg Cu/kg de ms. Or dans la retenue une concentration moyenne de 340 +/- 180 mg Cu/kg de ms est mesurée, soit 4.25 fois le seuil de la classe rouge. Ce qui signifie qu'entre 80 et, 340 et plus mg Cu/kg de ms, la grille de Mersch ne fait plus de distinction.

			Moyenne **CUIVRE** mg/kg de ms				
	classe de qualité (Eau)	**classe de qualité (DA)**	**DA**	**CoA**	**GA**	**VA**	**LiA**
Mos1		2/4	21 +/- 7	42 +/- 12	106 +/- 20	207 +/- 53	155 +/- 27
Mir	4/5		340 +/- 180		135 +/- 19		
Mos2	3/5	3/4	62 +/- 17	96 +/- 19	125 +/- 26	499 +/- 104	371 +/- 147
Mos3		2/4	23 +/- 10	44 +/- 9	113 +/- 14	221 +/- 55	243 +/- 46

Tableau IV-2 : Mise en relation du niveau de contamination en cuivre des sites d'étude estimé à partir d'un compartiment abiotique et d'un compartiment biotique avec le niveau moyen de bioaccumulation mesuré dans les organismes.

Dans le cas du zinc, les grilles de qualité du SEQ-eau et de Mersch attribuent toutes deux une classe verte de qualité à toutes les stations de l'étude. Par conséquent, les dreissènes autochtones présentent un niveau de contamination intermédiaire et le SEQ-eau prévoit des risques d'effets chroniques sur les espèces les plus sensibles.

			Moyenne **ZINC** mg/kg de ms				
	classe de qualité (Eau)	**classe de qualité (DA)**	**DA**	**CoA**	**GA**	**VA**	**LiA**
Mos1	2/5	2/4	201 +/- 50	261 +/- 99	106 +/- 23	535 +/- 101	258 +/- 70
Mir	2/5	2/4	173 +/- 44		109 +/- 23		
Mos2	2/5	2/4	195 +/- 61	303 +/- 111	113 +/- 22	534 +/- 104	279 +/- 50
Mos3	2/5	2/4	178 +/- 45	256 +/- 94	112 +/- 14	562 +/- 104	266 +/- 50

Tableau IV-3 : Mise en relation du niveau de contamination en zinc des sites d'étude estimé à partir d'un compartiment abiotique et d'un compartiment biotique avec le niveau moyen de bioaccumulation mesuré dans les organismes.

Il est également possible de faire correspondre le niveau de contamination en cuivre et en zinc d'une station avec le niveau de bioaccumulation en ces métaux dans chaque organisme étudié.

La répartition du cuivre dans l'ensemble des compartiments biotique a été entreprise en choisissant des espèces caractéristiques de chaque niveau trophique. Ainsi, l'étude a porté sur le phyto et le zooplancton, des macroalgues vertes (3 espèces), des macrophytes (3 espèces), des crustacés (3 espèces), des mollusques (bivalves et gastéropodes) et quatre espèces de poissons. Les concentrations en cuivre les plus élevées ont été mesurées chez l'organisme filtreur *D. polymorpha* (89 à 952 mg Cu/kg de ms), le détritivore *Bithynia tentaculata* (303 à 604 mg Cu/kg de ms) et l'écrevisse *Orconectes limosus,* dans le muscle (74 à 311 mg Cu/kg de ms) et les viscères (305 à 1851 mg Cu/kg de ms). Parmi les espèces planctoniques, les concentrations en cuivre les plus élevées ne sont pas observées dans le phytoplancton, mais

dans le zooplancton (cladocères et copépodes). Dans toutes les algues vertes, les concentrations en cuivre sont du même ordre de grandeur, à l'exception de l'espèce *Oedogonium*. Cependant, très souvent, la biologie des espèces peut permettre d'expliquer ces différences. En effet, *Oedogonium* est une algue verte fixée, alors que *Cladophora* et *Enteromorpha* ont été collectées à des stades libres en pleine eau, et l'algue *Oedogonium* présente une concentration en cuivre similaire à celle des macrophytes (potamot et myriophylle). Par conséquent, la différence de concentrations en cuivre est certainement le fait d'une contamination supplémentaire d'*Oedogonium* et des macrophytes, à partir des sédiments via le système racinaire, contrairement aux espèces flottantes.

Chez les crustacés, les concentrations en cuivre sont toujours du même ordre e grandeur quelle que soit l'espèce (*Dikerogammarus villosus, Atyaephyra desmarestii*, les crustacés du zooplancton ou le muscle de l'écrevisse) et elles restent dans une gamme variant de 103 à 162 mg Cu/kg de ms.

Les concentrations en cuivre dans les poissons sont toujours plus faibles que chez les autres organismes et elles varient significativement selon l'espèce considérée. Les poissons peuvent être classés selon un ordre croissant en fonction de leur niveau de bioaccumulation en cuivre dans le foie : Sandre < Perche < Gardon < Brème. Les poissons les moins contaminés étant de fait les carnivores et les plus contaminés étant les benthophages strictes.

Par conséquent, il existe une grande variabilité interspécifique des concentrations corporelles en cuivre des organismes. Cependant bien souvent, la stratégie de régulation, les habitudes alimentaires, l'habitat, la morphologie et l'écologie peuvent partiellement expliquer ces divergences et le niveau d'accumulation de chaque organisme. Par exemple, les poissons possèdent un système de régulation très efficace des métaux étudiés, basé sur une élimination via les organes excréteur (Foie, rein). En effet, seuls les organes excréteurs accumulent les métaux de façon significative. Enfin, le régime alimentaire peut expliquer la différence de concentration en cuivre dans le foie du sandre par rapport à la brème. La brème se nourrit de vers de vase (plus du sédiment), de dreissènes principalement et d'autres animaux du macrobenthos ; en conséquence, elle ingère beaucoup plus de cuivre que le sandre, qui se nourrit de poisson. D'autant plus, que les proies du sandre régulent également le cuivre et qu'elles ne contiennent le contaminant que dans une petite partie de leur corps (organes excréteurs) alors que le muscle accumule peu de métal.

L'étude des transferts du cuivre au travers de la chaîne trophique a mis en évidence, conformément à la bibliographie, l'absence presque générale de phénomène de biomagnification. Cependant des voies de transfert avec biomagnification subsistent, notamment entre les végétaux et les caridines et entre le phytoplancton et les dreissènes.

L'étude des niveaux de bioaccumulation en cuivre dans les organismes a permis, en comparaison avec ceux des mêmes organismes issus d'un site de référence, de calculer des facteurs de pollution. La comparaison entre les facteurs de pollution obtenus pour les organismes et ceux déterminés pour les compartiments abiotiques, a permis d'estimer la pertinence du choix des organismes pour évaluer les niveaux de contamination du milieu. En

effet, un organisme qui reflète le même facteur de pollution que celui des sédiments est un bon indicateur pour l'évaluation du niveau de contamination de ce compartiment. Les facteurs de pollutions des dreissènes, des macrophytes et des algues vertes sont du même ordre de grandeur et compris entre x10 et x15. Ces valeurs sont proches des facteurs de pollution des mousses, des viscères de l'écrevisse et du foie de brème. Les facteurs de pollution de l'eau et des sédiments sont respectivement de x11 et x14 et tout organisme présentant un Ft de valeur proche est un bon indicateur de la pollution du milieu.

L'étude du développement planctonique depuis janvier 1998 jusqu'en décembre 2001, a permis de visualiser une diminution importante et significative du taux de chlorophylle a au cours des années, ainsi que conjointement, la « non » consommation de la silice par les diatomées au début du printemps. Nous avons pu mettre en évidence un effet de l'augmentation de la pollution en cuivre au cours des années sur la réduction de la biomasse planctonique. Il est probable que l'augmentation de la concentration en cuivre dans le milieu depuis les années 90, soit à l'origine de la disparition d'espèces telles que *Hydrodictyon sp.*, source de marée verte de 1986 à 1988 (**Figure IV-5**) dont la Cl_{50} est de 25µg/l, puis de *Aphanizomenon flos aquae* dont la CL_{50} varie de 30 à 127 µg/l (selon les conditions d'expérimentation).

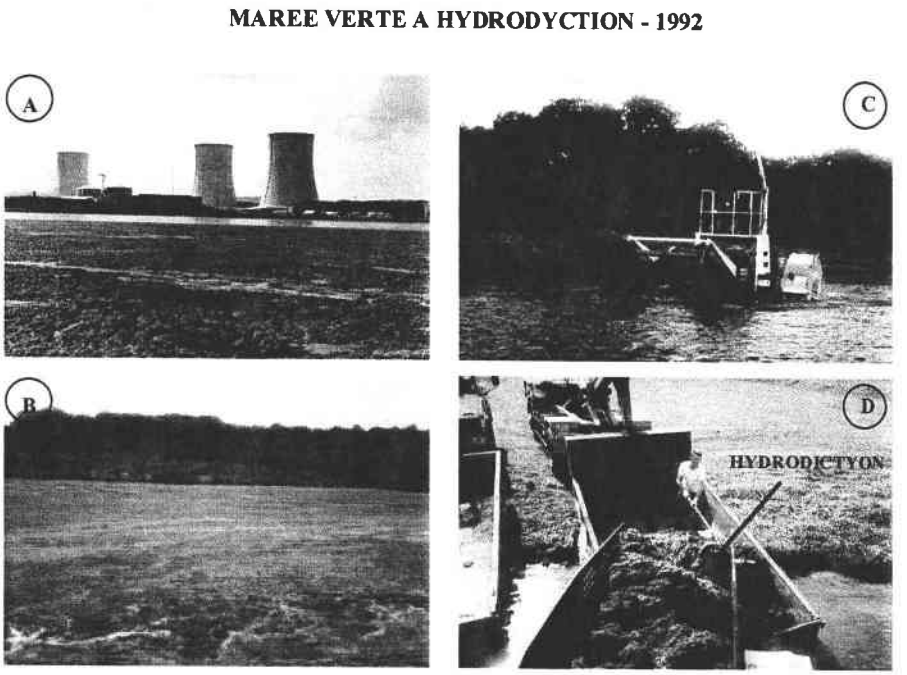


Figure IV-5 : Illustration des marées vertes à *Hydrodictyon,* qui ont causé de sérieux problèmes de gestion du lac et de l'installation nucléaire. La faucardeuse (Figure XX D) a été élaborée spécialement pour lutter contre la prolifération de cette algue verte.

Aphanizomenon a été, en 1991, 1992 et 1993, source de fleurs d'eau à cyanobactéries dans le lac (**figure IV-6**) avec des problèmes de potentialité toxique en été. Ces espèces ont disparu lorsque la concentration en cuivre dans l'eau brute a dépassé la valeur de leur CL_{50}.

L'espèce dominante des fleurs d'eau en fin d'été et début d'automne est *Ceratium hirundinella (***Figure IV-7***)* dont la CL50 pour le cuivre est de 50 µg/l. La concentration en cuivre dans l'eau brute approche actuellement cette CL50, ce qui pourrait expliquer la diminution du taux de chlorophylle a dans le lac.

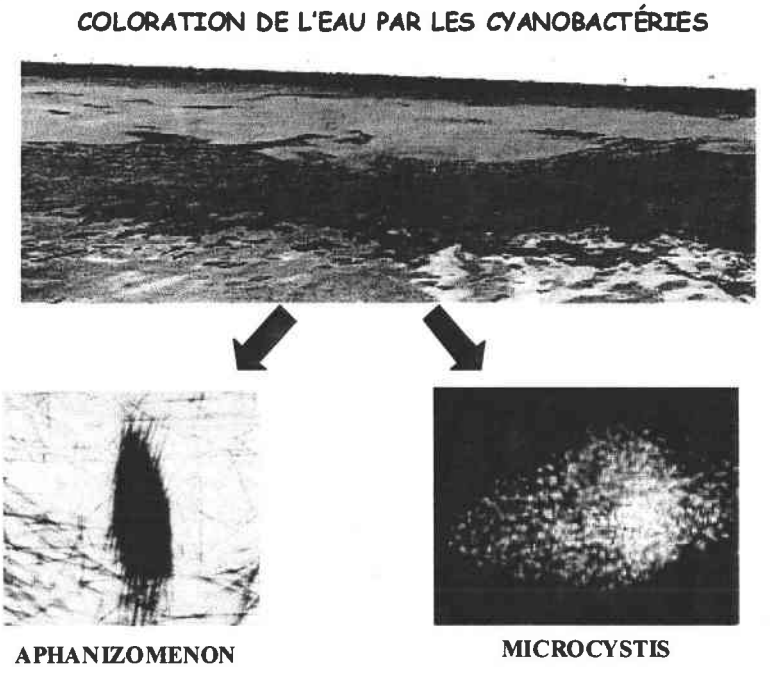
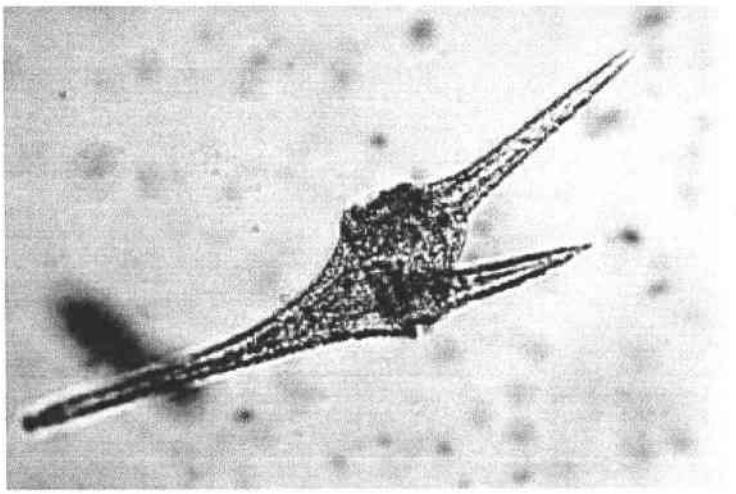


Figure IV-6 : Illustration d'un bloom à cyanobactéries, dont les espèces dominantes étaient *Aphanizomenom* et *Microcystis*).



Ceratium hirundinella

Figure IV-7 : *Ceratium hirundinella*, espèce actuellement dominante des fleurs d'eau estivale et automnale.

La **figure IV-8**, montre l'augmentation de la concentration en cuivre dans l'eau de la retenue du Mirgenbach, en correspondance avec le niveau de toxicité induit d'après la grille du SEQ-eau.

Seuils de Qualité fixés par l'agence de l'eau française (SEQ-eau) pour la fonction potentialité biologique

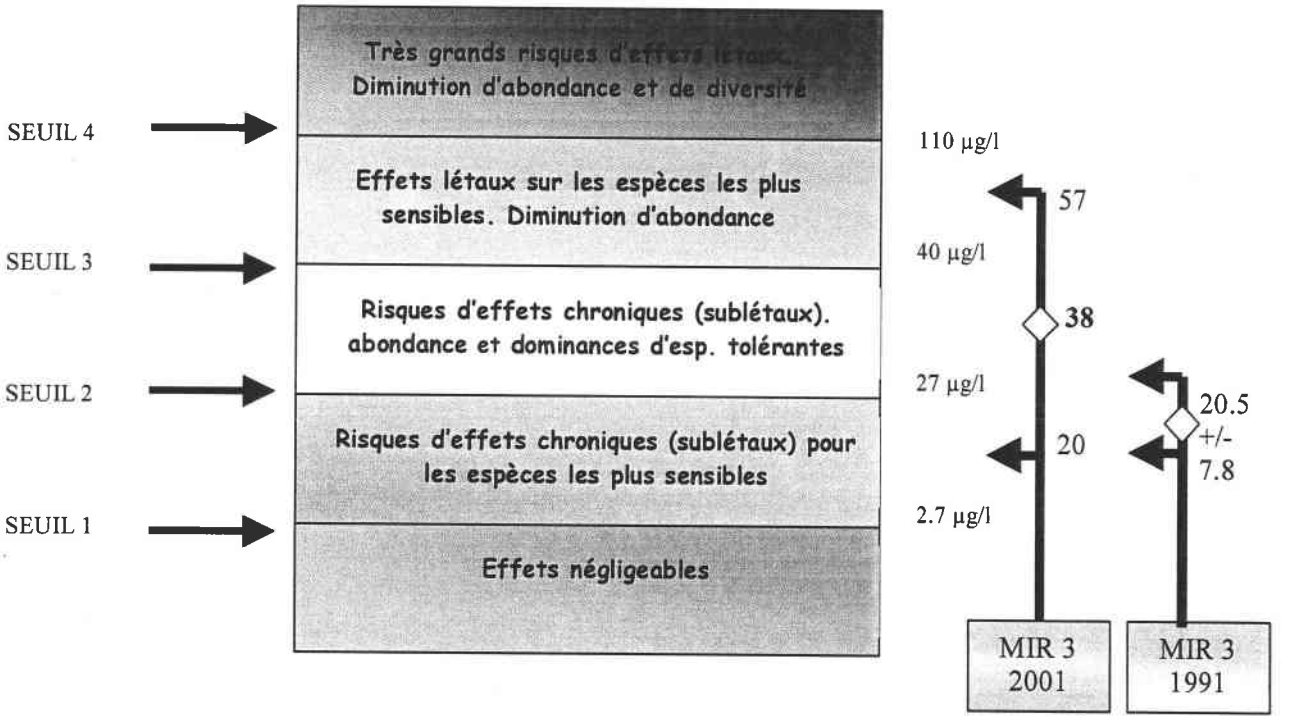


Figure IV-8 : Evaluation pour les organismes du risque toxique lié à l'augmentation de la concentration en cuivre dans l'eau brute entre 1991 et 2001 dans la retenue du Mirgenbach. Les seuils 0, 1, 2, 3 et 4, correspondent à des classes de concentrations dont les limites supérieures sont indiquées à droite de la figure (2.7 µg/l, 27 µg/l, 40 µg/l et 110 µg/l pour une dureté > 200 mg $CaCO_3$/l)). Les valeurs sans unité correspondent aux concentrations en cuivre (minimums, **moyennes** et maximums) mesurées dans l'eau brute en 2001 et à la concentration moyenne en cuivre rapportée par Mersh *et al.* (1993) en 1991.

Cette figure montre clairement qu'entre 1991 et 2001, le pouvoir toxique de l'eau s'est accru en passant d'un danger toxique de niveau jaune-vert à un niveau vert-orange, sachant que cette estimation a été réalisée sur la base des concentrations en cuivre mesurées à la station Mir M, pour comparer les résultats à ceux fournis par Mersch *et al.* (1993). Il s'agit d'une estimation minimale, puisqu'au niveau de la station injection, les concentrations en cuivre atteignent épisodiquement des niveaux de classe rouge. La disparition d'espèces sensibles, la diminution d'abondance et la prédominance d'espèces tolérantes sont inscrites dans le SEQ-eau dans le cas de niveaux de contamination en cuivre aussi élevés que ceux rencontrés dans l'eau brute de la retenue. Toutefois, il existe de nombreux arguments pour étayer l'hypothèse d'une limitation de la toxicité du cuivre en raison des caractéristiques

particulières du milieu (salinité, dureté calcique, charge importantes en MES, pH alcalin) (*cf.* chapitre IV). Ce qui signifie qu'en cas de modifications de la qualité physico-chimique du milieu, le rejet de cuivre de la centrale pourrait devenir beaucoup plus toxique pour les organismes.

VII. Synthèse des résultats obtenus en biosurveillance active

L'étude de la bioaccumulation du cuivre et du zinc par les organismes transférés a permis d'observer deux profils différents. Dans le cas du zinc, les profils d'accumulation dans les organismes ne sont pas clairement établis. En général, une phase d'accumulation rapide du zinc est observée au cours du premier mois de transfert, avant une stabilisation de la valeur. Après le premier mois, tous les profils sont observés, c'est-à-dire, une diminution, une augmentation ou une stabilisation de la concentration en zinc dans les organismes ou une succession de phases d'accumulation et de relargage du métal. Les profils sont, de fait, très changeant et ne sont pas caractéristiques des stations. Cependant, dans le milieu, les niveaux de contamination en zinc sont similaires pour toutes les stations. Les variations rapides des concentrations en zinc dans les organismes mettent en évidence d'une part, des mécanismes de régulation efficace ; d'autre part, nous avons montré que l'accumulation du zinc était fortement dépendante des conditions du milieu (turbidité) et ceci pourrait expliquer les variations interstations et saisonnières des niveaux de bioaccumulation.

Dans le cas du cuivre, pour les stations peu ou pas contaminées, nous avons montré que le profil d'évolution des concentrations en cuivre dans les organismes se caractérisait par une augmentation de la concentration en cuivre au cours du premier mois avant de se stabiliser. Dans le cas d'une contamination en cuivre du site de transfert, comme dans la retenue du Mirgenbach et à la station Mos2, nous avons observé une cinétique d'accumulation du cuivre. Au niveau de la station Mos2, la cinétique est décrite par une fonction puissance et se caractérise par une vitesse d'accumulation rapide au cours des premiers mois, suivi d'un ralentissement à partir du $2^{ième}$ mois d'exposition.

Dans la retenue du Mirgenbach, la cinétique d'accumulation du cuivre est décrite par une fonction linéaire.

La comparaison des résultats de bioaccumulation du cuivre et du zinc dans les dreissènes et les corbicules, obtenus en biosurveillance passive et en biosurveillance active, a permis de valider la technique du transfert d'organismes comme méthode de suivi des niveaux de contamination des sites en rivière et en lac. Dans le cas des dreissènes, une corrélation significative des variations des niveaux de bioaccumulation en cuivre dans les DA et les DT a été mise en évidence. Il apparaît cependant, que les dreissènes transférées accumulent moins de cuivre que les dreissènes autochtones et, ceci est à mettre en relation avec un niveau de contamination différent au temps t_0 et avec une durée d'exposition différente. En effet, les organismes autochtones subissent la contamination du site depuis leur naissance alors que les organismes transférés ne sont exposés que quelques mois.

VIII. Perspectives

L'évaluation de la toxicité du cuivre sur les organismes aquatiques de la retenue du Mirgenbach et de la station Mos2 pourrait être amélioré en apportant des informations sur la spéciation du cuivre dans l'eau brute et plus précisément en quantifiant la fraction de cuivre labile ou biodisponible dans l'eau brute. La technique de la DGT de Zhang & Davison (1995) qui repose sur l'utilisation de gels de diffusion fins, permet d'étudier *in situ* la spéciation des métaux dans l'eau brute. Il est possible alors de tenter de relier la fraction labile des métaux avec les concentrations en cuivre et en zinc dans les organismes. Des variations de la spéciation et de fait, de la biodisponibilité des métaux dans l'eau brute pourraient peut être expliquer une partie des variations saisonnières des niveaux de bioaccumulation dans les organismes et la pression de sélection sur les organismes aquatiques. Cependant cette technique ne prend pas en compte les transferts du métal par voie trophique.

En collaboration avec le CEMAGREF d'Anthony et EDF, nous testons actuellement, dans la retenue du Mirgenbach et en rivière Moselle, la technique des DGT développée par Zhang & Davison (1995), dans le but de compléter les résultats de la présente étude. L'acquisition des données s'achèvera en janvier 2004 et ces résultats feront l'objet d'une publication en collaboration avec le CEMAGREF d'Anthony et EDF.

Parmi les organismes utilisés, dans le cadre de cette étude, pour estimer la biodisponibilité du cuivre, la corbicule, tout comme la dreissène, s'est avérée être un bon indicateur du niveau de contamination en cuivre et en zinc de l'eau brute. Les niveaux de bioaccumulation en cuivre dans les corbicules sont représentatifs du niveau de contamination du site.

Cependant, il est possible d'utiliser d'autres caractéristiques de la corbicule pour évaluer le niveau de contamination d'un site et sa toxicité, et ce en utilisant le comportement fouisseur de l'organisme. Sur la base des travaux de Phelps *et al.* (1983), nous avons initié une étude sur le comportement fouisseur de la corbicule pour évaluer la toxicité du cuivre dans les compartiments abiotiques de la retenue du Mirgenbach (eau brute, sédiments) et ce dans l'optique de comprendre l'absence actuellement constatée de ces organismes invasifs dans la retenue, alors qu'ils sont présents en Moselle et dans le circuit de refroidissement.

L'expérience s'est déroulée de la façon suivante :

Description du contenu des bacs d'expérience.
Expérience n°1 : Eau non contaminée et sédiments non contaminés (3 bacs).
Expérience n°2 : Eau du Mirgenbach et sédiments non contaminés (3 bacs).
Expérience n°3 : Eau non contaminée et sédiments du Mirgenbach (3 bacs).
Expérience n°4 : Eau du Mirgenbach et sédiments du Mirgenbach (3 bacs).

Après un délai de 24h permettant l'installation d'un état d'équilibre, 12 corbicules ont été placées au temps t_0 dans chacun des bacs d'expérience.

A t_0, t_{10min}, t_{20min}, t_{1h}, t_{2h}, t_{8h} et t_{24h} les informations suivantes ont été notées : nombre de corbicules qui sont totalement et partiellement enfouies, nombre de corbicules ouvertes, fermées et le nombre d'individus dont le pied est sorti.

Les résultats, issus de travaux annexes, n'ont pas été décrits dans ce mémoire. Cependant, les observations montrent qu'il existe une différence significative de la vitesse d'enfouissement des corbicules dans les sédiments selon leur niveau de contamination (eau et sédiments). Il existe un gradient de vitesse d'enfouissement qui suit le gradient de contamination des bacs. Il a également été noté que les organismes qui ne se sont pas enfouis avant t_{1h} sont toujours à la surface des sédiments à t_{24h}.

D'autres expériences sur un temps plus long et en présence des mêmes milieux ou d'apports supplémentaires en cuivre dans l'eau et/ou les sédiments sont nécessaires pour valider les résultats obtenus. La vitesse d'enfouissement des corbicules pourrait être un mécanisme comportemental intéressant dans l'évaluation de la toxicité du milieu ; d'autant plus, que les réponses comportementales des organismes face à un contaminant sont très précoces. Un système de bioindication basé sur ces mécanismes pourrait permettre une première évaluation, rapide et simple de la contamination d'un site par le cuivre.

L'évaluation de l'écotoxicité cumulée du fait de l'action conjointe de la présence du métal dans l'eau et les sédiments avec des espèces chimiques différentes est particulièrement délicate dans le cas des organismes comme la corbicule qui se situent à l'interface entre les deux compartiments.

BIBLIOGRAPHIE

A.

Abdennour, C. (1997) - Copper, zinc and haemocyanin concentrations in four caridean decapods (Crustacea): size relationships - *Hydrobiol.*, **346:** 1 - 9.

Absil, M. C. P., Kroon, J. J. & Wolterbeck, H. T. (1994) - Availability of copper from phytoplankton and water for bivalve *Macoma balthica*. I. Separation of uptake pathways using the radiotracer ^{64}Cu. - *Mar. Biol.*, **118:** 123-127.

Achterberg, E. P., van den Berg, C. M. G., Boussemart, M. & Davison, W. (1997) - Speciation and cycling of trace metals in Esthwaite Water: A productive English lake with seasonal deep-water anoxia - *Geochem. Cosmo. Acta*, **61:** 5233-5253.

Achterberg, E. P., van, E. & Kolar, Z. I. (2002) - Species kinetics and heterogeneous reactivity of dissolved Cu in natural freshwaters - *Environ. Sci. Technol*, **36:** 914-920.

Adams, N. W. H. & Kramer, J. R. (1999) - Silver speciation in wastewater effluent, surface waters and porewaters. - *Environ. Toxicol. Chem.*, **18:** 2667-2673.

Admiraal, W., Blanck, H., Buckert-de Jong, M., Guasch, H., Ivorra, N., Lehmann, V., Nystrom, B. A. H., Paulsson, M. & Sabater, S. (1999) - Short-term toxicity of zinc to microbenthic algae and bacteria in a metal polluted stream - *Water Research*, **33:** 1989-1996.

Agence de l'eau, 1999. Système d'évaluation de la qualité des eaux de surface., Agence de l'eau.

Agence de l'eau Rhin-Meuse, 1991. Indicateurs de qualité des eaux superficielles: valeurs de référence pour divers métaux et micropolluants organiques.

Ahner, B. A., Kong, S. & Morel, F. M. M. (1995) - Phytochelatin production in marine algae. 1. An interspecies comparison. - *Limnol. Oceanogr.*, **40:** 649-657.

Ahsanullah, M., Mobley, M. C. & Rankin, P. (1988) - Individual and combined effects of zinc, cadmium and copper on the marine amphipod Allorchestes compressa. - *Mar. Fresh. Res.*, **39:** 33–37.

Aldrich, J. C. (1991) - The use of allometry and individuality in the examination of field data for sublethal toxicological effects. - *Chemosphere*, **22:** 747-767.

Alexander, M., (2001) - Incorrect assessment of risk from pollutants: the role of aging and bioavailability. Organic soil contaminants 2001, Copenhague, Danemark.

Al-Farawati, R. & Van Den Berg, C. M. G. (1999) - Metal sulfide complexation in seawater. - *Mar. Chem.*, **63:** 331-352.

Allen, H. & Brisbin, T. (1980) - Prediction of bioavailability of copper in natural water. - *Thalassia Jugosl*, **16:** 331-334.

Allen, H. E., Hall, R. & Brisbin, T. (1980) - Metal speciation. Effects on aquatic toxicity. - *Environ sci Technol*, **14:** 441-443.

Allen, H. & Hansen, D. (1996) - The importance of trace metal speciation to water quality criteria. - *Water Environ Res*, **68:** 42-54.

Allison, J. D., Brown, D. S. & Novo-Gradac, K. J. (1991) - MINTEQA2/PRODEFA2, a geochemical assessment model for environmental systems: version 3.0 user's manual. - Office of research and development, USEPA.

Al-Shukry, R., Serpaud, B., Matejka, G. & Caullet, C. (1992) - Spéciation des métaux lourds dans les sédiments d'un cours d'eau en aval d'un rejet industriel. - *Environ. Technol.*, **13:** 129-140.

Amiard, J. C., Ettajani, H., Jeantet, A. Y., Ballan-Dufrancais, C. & Amiard-Triquet, C. (1995) - Bioavailability and toxicity of sediment-bound lead to a filter-feeder bivalve Crassostrea gigas (Thunberg). - *Biometals.*, **8:** 280-289.

Amiard, J. C. & Cosson, R. P. (1997) - Les métallothionéines. - In: L. Lagadic, T. C., J.C. Amiard & F. Ramade. (ed.): *Biomarqueurs en écotoxicologie: Aspects Fondamentaux.* - Masson, Paris, pp. 53-66.

Amiard-Triquet, C., Berthet, B., Metayer, C. & Amiard, J. C. (1986) - Contribution to the ecotoxicological study of cadmium, copper and zinc in the mussel *Mytilus edulis*.II. Experimental study. - *Mar. Biol.*, **92:** 7-13.

Amichot, M., Bergé, J. B., Cuany, A., Pasteur, N., Pauron, D. & Raymond, M. (1998) - Bases moléculaires, génétiques et populationnelles de la résistance des insectes aux insecticides. - In: Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J. C., & Ramade, F. (eds.): *Utilisation des Biomarqueurs pour la Surveillance de la Qualité de l'Environnement.* - Lavoisier Tec&Doc, Paris, pp. 243-264.

An, Y.-J. & Kampbell, D. H. (2003) - Total, dissolved, and bioavailable metals at Lake Texoma marinas - *Environ. Poll.*, **122:** 253-259.

Anadu, D. I., Chapman, G. A., Curtis, L. R. & Tubb, R. A. (1989) - Effect of zinc exposure on subsequent acute tolerance to heavy metals in rainbow trout. - *Environ. Contam. Toxicol.*, **43:** 329–336.

Anastasia, J. R., Morgan, S. G. & Fisher, N. S. (1998/88) - Development of larval taggig methods: assimilation and retention of trace metal elements by crustacean larvae. - *Limnol. Oceanogr.*, **43:** 362-368.

Anderson, D. M., Morel, F. M. M. & Guillard, R. R. L. (1978) - Growth limitation of coastal diatom by low zinc ion activity. - *Nature*, **276:** 71-76.

Andreae, G. (1986) - Chemical forms of heavy metals in the dissolved phase. - In: Bernhard, M., Brinckman, F. E., & Sadler, P. J. (eds.): *The importance of chemical speciation in environmental processes.* - Springer-Verlag, Berlin, pp. 456-521.

Andres, S., 1997. Etude ecotoxicologique des transferts de cadmium et de zinc entre la colonne d'eau et les sédiments du Lot (France) et les organismes aquatiques - Approche *in situ* et expérimentale. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier, pp. 193.

Ankley, G. T., Hoke, R. A., Giesy, J. P. & Winger, P. V. (1989) - Evaluation of toxicity of marine sediments and dredge soils with the microtox bioessay. - *Chemosphere*, **18:** 2069-2075.

Antonovics, J., Bradshaw, A. D. & Turner, R. G. (1971) - Heavy metal tolerance in plants. - *Adv Ecol Res*, **7:** 1–85.

Apte, S. C. & Batley, G. E. (1995) - Trace metal speciation of labile chemical species in natural waters and sediments: non-electro chemical approaches. - In: Tessier, A. & Turner, D. R. (eds.): *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems.* - IUPAC series 3, pp. 259-306.

Arab-Joux, L., 1999. Etude de la bioaccumulation du cuivre chez différentes espèces de diatomées d'intérêt aquacole: Formes physico-chimiques de stockage et influence sur la composition d'un peuplement. Thèse de Doctorat, Université de Nantes, pp. 150.

B.

Bachmann, V., Ceglielka, E., Wagner, P., Usseglio-Polatera, P. & Moreteau, J. C. (1995) - Installation de l'Amphipode *Corophium curvispinum* et de la palourde asiatique *Corbicula sp.* dans la partie française de la Moselle. - *Hydroecol. appl*, **7:** 185-190.

Bachmann, V., Usseglio-Polatera, P., Ceglielka, E., Wagner, P., Poinsaint, J. F. & Moreteau, J. C. (1997) - Premières observations sur la coexistance de *Dreissena Polymorpha, Corophium curvispinum* et *Corbicula sp.* dans la rivière Moselle. - *Bull. Fr. Pêche Pisc.*, **344-345:** 373-384.

Bachmann, V., 2000. Dynamique spacio-temporelle d'espèces invasives, particulièrement *Corbicula* spp. et *Dreissena polymorpha* (Mollusca: Bivalvia) en hydrosystème fluvial: évolution des populations et effets de l'artificialisation sur les peuplements macrobenthiques. Thèse de Doctorat, Université de Metz, 229 p.

Ballan-Dufrançais, C., Jeantet, A. Y., Geffard, A., Amiard, J. C. & Amiard-Triquet, C. (2001) - Cellular and tissular distribution of copper in an intrasedimentary bivalve, the Baltic clam *Macoma balthica*, originating from a clean or a metal-rich site - *Can. J. Fish Aquati. Sci.*, **58:** 1964-1974.

Barkacs, K., Ovari, M., Oertel, N., Szabo, E., Szurdoki, E. & Zaray, G. (2002) - Elemental analysis of *Dikerogammarus villosus* samples for river water monitoring - *Microchem. J.*, **73:** 99-111.

Barron, M. G. (1995) - Bioaccumulation and bioconcentration in aquatic organisms. - In: D.J. Hoffman, B. A. R., G.A. Burton Jr. and J. Cairns Jr. (ed.): *Handbook of Ecotoxicology* - Lewis, Boca Rato, FL.

Bartell, S. M., Gardner, R. H. & O'Neill, R. V. (1992) - Ecological Risk Estimation. - Lewis publishers, Chelsea, pp. 252.

Baudrimont, M., Lemaire-Gony, S., Ribeyre, F., Metivaud, J. & Boudou, A. (1997) - Seasonal Variations of Metallothionein Concentrations in the Asiatic Clam (*Corbicula fluminea*) - *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, **118:** 361-367.

Baudrimont, M., Andres, S., Metivaud, J., Lapaquellerie, Y., Ribeyre, F., Maillet, N., Latouche, C. & Boudou, A. (1999) - Field transplantation of the freshwater bivalve *Corbicula fluminea* along a polymetallic contamination gradient (river LOt, France): II. Metallothionein response to métal exposure. - *Environ Toxicol Chem*, **18:** 2472-2477.

Baudrimont, M., Andres, S., Durrieu, G. & Boudou, A. (2003) - The key role of metallothioneins in the bivalve *Corbicula fluminea* during the depuration phase, after in situ exposure to Cd and Zn - *Aquatic Toxicol.*, **63:** 89-102.

Bayne, B. L., Hawkins, A. J. S. & Navarro, E. (1987) - Feeding and digestion by the mussel *Mytilus edulis L.* (Bivalvia : Mollusca) in mistures of silt and algal cells at low concentrations. - *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **111:** 1-22.

Bayne, B. L., Hawkins, A. J. S., Navarro, E. & Iglesias, I. P. (1989) - Effects of seston concentration on feeding, digestion and growth in the mussel *Mytilus edulis*. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **55:** 47-54.

Belanger, S. E., Farris, J. L., Cherry, D. S. & Cairns, J. J. (1985) - Sediment preference of the freshwater Asiatic clam, *Corbicula fluminea*. - *Nautilus*, **99:** 66-73.

Belanger, S. E., Farris, J. L. & Cherry, D. S. (1989) - Effects of diet, water hardness, and population source on acute and chronic copper toxicity to *Ceriodaphnia dubia*. - *Archives Environ. Contam. Toxicol.*, **18:** 601-611.

Bell, R. A., Ogden, N. & Kramer, J. R. (2002) - The biotic ligand model and a cellular approach to class B metal aquatic toxicity - *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **133:** 175-188.

Benoit, D. A. & Holcombe, G. W. (1978) - Toxic effects of zinc on fathead minnows *Pimephales promelas* in soft water. - *J Fish Biol.*, **13:** 701–708.

Berglind, R. & Dave, G. (1984) - Acute toxicity of chromate, DDT, PCP, TPBS, and zinc to *Daphnia magna* cultured in hard and soft water. - *Environ. Contam. Toxicol.*, **33:** 63-68.

Bergmann, H. L. & Dorward-King, E. J. (1997) - Reassessment of metals criteria for aquatic life protection - SETAC press, Pensacola (FL).

Berhenfeld, M. J., Bale, A. J., Kolber, Z. S., Aiken, J. & Falkowski, P. C. (1996) - Confirmation of iron limitation of phytoplankton photosynthesis in the equatorial Pacific Ocean. - *Nature*, **385:** 508-511.

Berthet, B., 1986. Etudes in situ et expérimentales du devenir de quelques éléments métalliques (Cd, Pb, Cu et Zn) dans un écosystème de zone conchylicole. Thèse de Doctorat, Université de Rennes I, pp. 204.

Berthet, B., Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., Martoja, M. & Jeantet, A. Y. (1992) - Bioaccumulation, toxicity and physico-chemical speciation of silver in bivalve molluscs: ecotoxicological and health consequences. - *Sci Total Environ*, **125:** 97-122.

Bervoets, L., Blust, R. & Verheyen, R. (1996) - Uptake of zinc by midge larvae *Chironomus riparius* at different salinities: role of speciation, acclimation, and calcium. - *Environ Toxicol Chem*, **15:** 1423–1428.

Bianchini, A. & Bowles, K. C. (2002a) - Metal sulfides in oxygenated aquatic systems: implications for the biotic ligand model - *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **133:** 51-64.

Bianchini, A., Grosell, M., Gregory, S. M. & Wood, C. M. (2002b) - Acute silver toxicity in aquatic animals is a function of sodium uptake rate. - *Environ sci Technol*, **36:** 1763-1766.

Bjerregaard, P., Topçuoglu, S., Fisher, N. S. & Fowler, S. W. (1985) - Biokinetics of americium and plutonium in the mussel *Mytilus edulis*. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **21:** 99-111.

Blackmore, G. (2001) - Interspecific variation in heavy metal body concentrations in Hong Kong marine invertebrates - *Environ. Poll. (Barking, Essex: 1987)*, **114:** 303-311.

Blackmore, G. & Morton, B. (2001) - The interpretation of body trace metal concentrations in neogastropods from Hong Kong - *Mar. Pollut. Bull.*, **42:** 1161-1168.

Blackmore, G. & Wang, W.-X. (2002) - Uptake and efflux of Cd and Zn by the green mussel *Perna viridis* after metal preexposure - *Environ sci Technol*, **36:** 989-995.

Blackmore, G. & Wang, W.-X. (2003) - Inter-population differences in Cd, Cr, Se, and Zn accumulation by the green mussel *Perna viridis* acclimated at different salinities - *Aquatic Toxicology*, **62:** 205-218.

Bodek, I., Lyman, W. J., Reehl, W. F. & Rosenblatt, D. H. (1988) - Environmental inorganic chemistry: properties, processes and estimation methods - Pergamon press, New York.

Bondorff, E., Bakke, T. & Pedersen, A. (1990) - Colonization of amphipods and polychaetes to sediment experimentally exposed to oil hydrocarbons. - *Mar. Pollut. Bull.*, **21:** 355-358.

Borchardt, T. (1983) - Influence of food quantity on the kinetics of cadmium uptake and loss via food and seawater in *Mytilus edulis*. - *Mar. Biol.*, **76:** 67-76.

Bordin, G., McCourt, J. & Rodríguez, A. (1992) - Trace metals in the marine bivalve Macoma Balthica in the Westerschelde Estuary (The Netherlands). Part 1: analysis of total copper, cadmium, zinc and iron concentrations – locational and seasonal variations. - *Sci Total Environ*, **127:** 255 - 280.

Borgmann, U. (1983) - Metal speciation and toxicity of the free ions to aquatic biota. - In: Nriagu, J. O. (ed.): *Aquatic Toxicol.* - John Wiley & Sons Ltd, New york, pp. 47-72.

Borgmann, U. & Ralph, K. M. (1983) - Complexation and toxicity of copper and the free metal bioassay technique. - *Wat. Res.*, **17:** 1697-1703.

Borgmann, U. & Charlton, C. C. (1984) - Copper complexation and toxicity to *Daphnia* in natural waters. - *Great Lakes Res.*, **10:** 393-398.

Borgmann, U. & Ralph, K. M. (1984) - Copper complexation and toxicity to freshwater zooplanckton. - *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **13:** 403-409.

Borgmann, U. & Munawar, M. (1989) - A new standardized sediment bioessay protocole using the amphipods *Hyatella azteca*. - *Hydrobiol.*, **188/189:** 425-431.

Bowen, H. J. M. (1985) - The natural environment and the biogeochemical cycles. - In: D., H. (ed.): *Handbook of environmental chemistry.* - Basel, Springer-verlag, New York, pp. 1-26.

Bradley, R. W. & Sprague, J. B. (1985) - The influence of pH, water hardness, and alkalinity on the acute lethality of zinc to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). - *Can. J. Fish Aquati. Sci.*, **42:** 731–736.

Brand, L. E., Sunda, W. G. & Guillard, R. R. L. (1986) - Reduction of marine phytoplakton reproduction rates by copper and cadmium. - *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **96:** 225-250.

Bremner, I. (1987) - Involvement of metallothionein in the hepatic metabolism of copper: Critical review. - *J. Nutr.*, **117:** 19-29.

Brezonik, P. L., KIng, S. O. & Mach, C. E. (1991) - The influence of water chemistry on trace metal bioavailability and toxicity to organsims. - In: Newman, M. C. & Mc Intosh, A. W. (eds.): *Metal Ecotoxicology: Concepts and Applications.* - Lewis, Chelsea, pp. 1-31.

Britton, J. C. & Morton, B. S. (1982) - A dissection guide, field and laboratory manual for the introduced bivalve *Corbicula fluminea*. - *Malac. Rev.*, **(Suppl.3):** 1-82.

Brix, K. V., DeForest, D. K. & Adams, W. J. (2001) - Assessing acute and chronic copper risks to freshwater aquatic life using species sensitivity distributions for different taxonomic groups - *Environ. Toxicol. Chem.*, **20:** 1846-1856.

Brown, V. M. & Ahsanullah, M. (1971) - Effects of heavy metals on mortality and growth. - *Mar. Pollut. Bull.*, **2:** 182-188.

Brown, L. N., Robinson, M. G. & Hall, B. D. (1988) - Mechanisms for copper tolerance in *Amphora coffeaeformis* - internal and external binding. - *Mar. Biol.*, **97:** 581-586.

Brown, D. A., Bay, S. M. & Patrick Hershelman, G. (1990) - Exposure of scorpionfish (Scorpaena guttata) to cadmium: effects of acute and chronic exposures on the cytosolic distribution of cadmium, copper and zinc - *Aquatic Toxicol.*, **16:** 295-310.

Bruland, K. W., Donat, J. R. & Hutchins, D. A. (1991) - Interactive influences of bioactive trace metals on biological production in oceanic water. - *Limnol. Oceanogr.*, **36:** 1555-1577.

Brungs, W. A., Geckler, J. R. & Gast, M. (1976) - Acute and chronic toxicity of copper to the fathead minnow in a surface water of variable quality. - *Wat. Res.*, **10:** 37-43.

Bryan, G. W. (1980) - Recent trends in research on heavy metal contamination in the sea - *Cited by Wang & Fisher, 1997b.*

Bryan, G. W. (1984) - Pollution due to heavy metals and their compounds. - In: O, K. (ed.): *Mar. Ecol. Prog. Ser.* - Wiley, Chichester, 5, pp. 1289-1430.

Bryan, G. W. & Langston, W. J. (1992) - Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. - *Environ. Poll.*, **76:** 89-131.

Buffle, J. (1988) - Complexation reactions on aquatic systems: an analytical approach. - In: Horwood, E. (ed.): - Chicester.

Burger, J., Gaines, K., Boring, C. S., Stephens, W., Snodgrass, J., Dixon, C., McMahon, M., Shukla, S., Shukla, T., Gochfeld *et al* (2002) - Metal levels in fish from the Savannah River: potential hazards to fish and other receptors - *Environ. Res.*, **89:** 85-97.

Busch, D. & Schuchardt, B. (1991) - The use of the freshwater mussel *Dreissena polymorpha* pallas for biomonitoring heavy metals in limnic ecosystems: the weser FRG. - *Verh. Int. Ver. Limnol.*, **24:** 2261-2264.

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. Ecology, biological monitoring and first applications in water quality management.* - Gustav Fisher Verlag, Stuttgart., pp. 197-211.

Butler, M., Haskew, A. E. J. & Young, M. M. (1980) - Copper tolerance in the green alga, *Chlorella vulgaris*. - *Plant. Cell. Environ.*, **3:** 19-126.

C.

Cairns, J. J. (1988) - Putting the Eco in Ecotoxicology. - *Regulatory Toxicology and Pharmacology.* - 8, pp. 226-238.

Callahan, M. A., Slimak, N. W., May, I. P., Fowler, C. F., Freed, J. R., Jennings, P., Durfee, R. L., Whitmore, F. C., Maestri, B., Mabey, W. R., Holt, B. R. & Gould, C. (1979) - Water-related environmental fate of 129 priority pollutants.Vol. 1: Introduction and technical background, metals and inorganics, pesticides and PCBs. - Springfield, VA, Versar, Inc. (EPA-440/4-79-029A).

Calmano, W., Hong, J. & Förstner, U. (1993) - Binding and mobilization of heavy metals in contaminated sediment affected by pH and redox potentiel. - *Wat. Sci. Technol.*, **28:** 223-235.

Calow, P. (1998) - The Encyclopedia of Ecology & Environmental Management. - Blackwell Science, Oxford.

Campbell, K. R. (1994) - Concentrations of heavy metals associated with urban runoff in fish living in stormwater treatment ponds. - *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **27:** 352-356.

Campbell, P. G. C. (1995) - Interactions between trace metals and aquatic organisms: a critique of the free-ion activity model. - In: Tessier A., T. D. (ed.): *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems.* - Chichester: Wiley, pp. 45-102.

Campbell, P. G. C. (1995) - Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. - In: Tessier A., T. D. (ed.): - Chichester: Wiley, pp. 479-482.

Camusso, M., Balestrini, R., Muriano, F. & Mariani, M. (1994) - Use of freshwater mussel *Dreissena polymorpha* to assess trace metal pollution in the lower river Po, Italy. - *Chemosphere*, **29:** 729-745.

Camusso, M., Balestrini, R. & Binelli, A. (2001) - Use of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) to assess trace metal contamination in the largest Italian subalpine lakes - *Chemosphere*, **44:** 263-270.

Cao, Y., Conklin, M. & Betterton, E. (1995) - Competitive complexation of trace metals with dissolved humic acid. - *Environ. Health. Persp.*, **103:** 29-32.

Carajaville, M. P., Marigomez, J. A. & Angulo, E. (1991) - Automated measurements of lysosomal structure alterations in oocytes of mussels exposed to petroleum hydrocarbons. - *Archives Environ. Contam. Toxicol.*, **21:** 395-400.

Carajaville, M. P., Marigomez, J. A. & Angulo, E. (1992a) - Comparative effects of the water accomodated fraction of three oils on mussels. 1. Survival, growth and gonad development. - *Biochem Physio*, **102C:** 103-112.

Carajaville, M. P., Marigomez, I. & Angulo, E. (1993) - Correlation between cellular and organismic responses to oil-induced environmental stress in mussels. - *Sci Total Environ*, **suppl:** 1353-1371.

Carpenè, E., Cattani, O., Serrazanztti, G. P., Fedrizzi, G. & Cortesi, P. (1990) - Zinc and copper in fish from natural waters and rearing ponds in northern Italy. - *J. Fish. Biol.*, **37:** 293-299.

Carpenè, E. (1993) - Metallothionein in marine molluscs - CRC Press, Boca Raton, pp. 480.

Casas, M. A. & Crecelius, E. A. (1994) - Relationship between acid volatil sulfide and the toxicity of zinc, lead and copper in marine sediments. - *Environ Toxicol Chem*, **13:** 529-536.

Centeno, M. D. F., Brendonck, L. & Persoone, G. (1993) - Acute toxicity tests with *Streptocephalus proboscideus* (Crustacea: Brachiopoda: Anostraca): influence of selected environmental conditions. - *Chemosphere*, **27:** 2213-2224.

Chakoumakos, C., Russo, R. G. & Thurston, R. V. (1979) - Toxicity of copper to cutthroat trout (*Salmo clarky*) under different conditions of alkalinity, pH, and hardness. - *Environ sci Technol*, **13:** 213-219.

Chapman, G. A. (1978 a) - Effects of continuous zinc exposure on sockeye salmon during adult-to-smolt freshwater residency. - *Trans. Am. Fish. Soc.*, **107:** 828–836.

Chong, K. & Wang, W.-X. (2000) - Bioavailability of sediment-bound Cd, Cr and Zn to the green mussel *Perna viridis* and the Manila clam *Ruditapes philippinarum* - *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **255:** 75-92.

Chong, K. & Wang, W.-X. (2001) - Comparative studies on the biokinetics of Cd, Cr, and Zn in the green mussel *Perna viridis* and the Manila clam *Ruditapes philippinarum* - *Environ. Poll.*, **115:** 107-121.

Cid, A., Herrero, C., Torres, E. & Abalde, J. (1995) - Copper toxicity on the marine microalga *Phaeodactylum tricornutum*: effects on photosynthesis and related parameters. - *Aquatic Toxicol.*, **31:** 165-174.

Ciffroy, P. & Charlatchka, R. (1998) - Spéciation des métaux et des radioéléments en phase dissoute. Analyse du modèle thermodynamique de spéciation MINTEQA2. Approche expérimentale de la complexation par les matières organiques naturelles., EDF- direction des études et recherches., pp. 94.

Coale, K. H. & Bruland, K. W. (1988) - Copper complexation in the northeast Pacific. - *Limnol Oceanogr*, **33:** 1084-1101.

Coello, W. F. & Khan, M. A. Q. (1996) - Protection against heavy metal toxicity by mucus and scales in fish. - *Archives Environ. Contam. Toxicol.*, **30:** 319-326.

Coeurdassier, M., 2001. Utilisation des mollusques gastéropodes pulmonés terrestres (*Helix aspersa*) et aquatiques (*Lymnaea stagnalis* et *Lymnaea palustris*) comme indicateurs de pollution par les éléments métalliques et les xénobiotiques organiques. Thèse de Doctorat, Université de Franche-Comté, pp. 273.

Collyard, S. A., Ankley, G. T., Hoke, R. A. & Goldenstein, T. (1994) - Influence of age on the relative sensitivity of *Hyalella azteca* to diazinon, alkylphenol ethoxylates, copper, cadmium, and zinc. - *Archives Environ. Contam. Toxicol.*, **26:** 110-113.

Colpaert, J. & Van Assche, J. A. (1992) - Zinc toxicity in the ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* L. - *Plant Soil*, **143:** 201–211.

Correia, A. D., Lima, G., Costa, M. H. & Livingstone, D. R. (2002a) - Studies on biomarkers of copper exposure and toxicity in the marine amphipod *Gammarus locusta* (Crustacea): I. Induction of metallothionein and lipid peroxidation - *Biomarkers: Biochemical Indicators Of Exposure, Response, And Susceptibility To Chemicals*, **7:** 422-437.

Correia, A. D., Livingstone, D. R. & Costa, M. H. (2002b) - Effects of water-borne copper on metallothionein and lipid peroxidation in the marine amphipod *Gammarus locusta* - *Mar. Environ. Res.*, **54:** 357-360.

Cossa, D. (1989) - A review of the use of Mytilus sp. As quantitative indicators of cadmium and mercury contamination in coastal waters. - *Oceanologica Acta*, **12.**

Cossa, D. & Boutier, B. (1999) - Le cadmium, le mercure et le plomb dans les eaux des grands fleuves français. - *ARET - Actualité*, **2:** 5-9.

Cosson, R. P. & Amiard, J. C. (1998) - Utilisation des métallothionéines comme biomarqueurs d'exposition aux métaux. - In: L. Lagadic, T. C., J.C. Amiard et F. Ramade (ed.): *Utilisation des biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement.* - Paris, pp. 77-110.

Cotton, F. A. & Wilkinson, G. (1989) - Advanced inorganic chemistry. - In: Ltd, J. W. S. (ed.): - New york, pp. 755-775.

Couillard, Y., Campbell, P. G. C., Tessier, A., Pellerin-Massicotte, J. & Auclair, J. C. (1995a) - Field transplantation of a freshwater bivalve, *Pyganodon grandis*, accross a metal contamination gradient I: Temporal changes in metallothionein and metal (Cd, Cu and Zn) concentrations in soft tissues. - *Can. J. Fish Aquati. Sci.*, **52:** 690-702.

Couillard, Y., Campbell, P. G. C. & Tessier, A. (1995b) - Field transplantation of a freshwater bivalve, *Pyganodon grandis*, accross a metal contamination gradient II: Metallothionein response to Cd and Zn exposure, evidence for cytotoxicity, and links to effects at higher levels of biological organization. - *Can. J. Fish Aquati. Sci.*, **52:** 703-715.

Czembor, N., 2001. Etude ecotoxicologique en milieu aquatique du Mexel 432, substance antisalissure. (Optimisation d'un test écophysiologique basé sur les activités filtrante et valvaire de *Dreissena polymorpha*. Application à la lutte contre ce mollusque). Thèse de Doctorat, Université de Metz, pp. 204.

D.

Da Silva, I. S., Abate, G., Lichtig, J. & Masini, J. C. (2002) - Heavy metal distribution in recent sediments of the Tiete-Pinheiros river system in Sao Paulo state, Brazil - *Applied Geochemistry*, **17:** 105-116.

Dahlgaard, H. (1986) - Efects of season and temperature on long-term in situ loss rates of Pu, Am, Np, Eu, Ce, Ag, Tc, Zn, Co and Mn in a balthic *Mytilus edulis* population. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **33:** 157-165.

Dallinger, R. (1993) - Strategies of metal detoxification in terrestrial invertebrates. - In: Rainbow, R. D. e. R. (ed.): *Ecotoxicology of metals in invertebrates* - Lewis, Boca raton. pp. 245-289.

Dallinger, R. (1995) - Mechanisms of metal incorporation into cells. - In: Carajaville, M. P. (ed.): *Cell Biology in environmental toxicology* - pp. 135-154.

Daniel, G. F. & Chamberlain, A. H. L. (1981) - Copper immobilization in fouling diatoms. - *Bot. Mar.*, **24:** 229-243.

Dave, G. (1984) - Effects of copper on growth, reproduction, survival and haemoglobin in Daphnia magna - *Comp. Biochem. Physiol.*, **78C:** 439-443.

Dave, G., Damgaard, B., Grande, M., Martelin, J. E., Rosander, B. & Viktor, T. (1987) - Ring test of an embryo-larval toxicity test with zebrafish (*Brachydanio rerio*) using chromium and zinc as toxicants. - *Environ Toxicol Chem*, **6:** 61–71.

Davenport, J. & Manley, A. R. (1978) - The detection of heightened seawater copper concentrations by the mussel *Mytilus edulis*. - *Mar. biol. assess. UK*, **58:** 843-850.

Davis, J. A. (1984) - Complexation of trace metals by adsorbed natural organic matter. - *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **48:** 679-691.

De Filippis, L. F. & Pallaghy, C. K. (1994) - Heavy metals: sources and biological effects in algae and water pollution. - *Arch. Hydrobiol.*, **42:** 31-77.

De Kock, W. C. & Bowmer, C. T. (1993) - Bioaccumulation, biological effects, and food chain transfer of contaminants in the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). - In: Nalepa, T. F. & Schloesser, D. W. (eds.): *Zebra Mussel: Biology, IMpacts, and COntrol.* - Lewis publishers, CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 503-533.

De La Rocha, C. L., Hutchins, D. A., Brzezinski, M. A. & Zhang, Y. (2000) - Effects of iron and zinc deficiency on elemental composition and silica production by diatoms. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **195:** 71-79.

De Lafontaine, Y., Gagne, F., Blaise, C., Costan, G., Gagnon, P. & Chan, H. M. (2000) - Biomarkers in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) for the assessment and monitoring of water quality of the St Lawrence River (Canada) - *Aquatic Toxicol.*, **50:** 51-71.

De Schamphelaere, K. A. C. & Janssen, C. R. (2002) - A biotic ligand model predicting acute copper toxicity to Daphnia magna: the effects of calcium, magnesium, sodium, potassium, and pH. - *Environ sci Technol*, **36:** 48-54.

De Schamphelaere, K. A. C., Heijerick, D. G. & Janssen, C. R. (2002) - Refinement and field validation of a biotic ligand model predicting acute copper toxicity to *Daphnia magna* - *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicology & Pharmacology*, **133:** 243-258.

Decho, A. W. & Luoma, S. N. (1991) - Times-courses in the retention of food material in the bivalves *Potamocorbula amurensis* and *Macoma balthica*: significance to the absorption of carbon and chromium. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **78:** 303-314.

Decho, A. W. & Luoma, S. N. (1994) - Humic and fulvic acid: sink or source in the availability of metals to the marine bivalves *Macoma balthica* and *Potamocorbula amurensis*? - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **108:** 133-145.

Decho, A. W. & Luoma, S. N. (1996) - Flexible digestive strategies and trace metal assimilation in marine bivalves. - *Limnol. Oceanogr.*, **41:** 568-572.

Depledge, M. H. (1989) - Re-evaluation of metal requirements for copper and zinc in crustaceans. - *Mar. Environ. Res.*, **27:** 115-126.

Depledge, M. H. & Rainbow, P. S. (1990) - Models of regulation and accumulation of trace metals in marine invertebrates - *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Comparative Pharmacology and Toxicology*, **97:** 1-7.

Devescovi, M. & Lucu, C. (1995) - Seasonal changes of the copper level in shore crabs *Carcinus mediterraneus*. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **120:** 169-174.

Di Toro, D. M., Allen, H. E., Bergmann, H. L., Meyer, J. S., Paquin, P. R. & Santore, R. C. (2001) - Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. I. Technical basis. - *Environ. Toxicol. Chem.*, **20:** 2383-2396.

Diamond, J. M., Koplish, D. E., McMahon, J. & Rost, R. (1997) - Evaluation of the water-effect ration procedure for metals in ariverine system. - *Environ. Toxicol. Chem.*, **16:** 509-520.

Dickson, K. L., Maki, A. W. & Brungs, W. A. (1987) - Fate and effects of of sediment-Bound Chemicals in Aquatic Systems. - Pergamon, New York.

Diggins, T. P. (2001) - A seasonal comparison of suspended sediment filtration by quagga (*Dreissena bugensis*) and zebra (*Dreissena polymorpha*) mussels. - *Great Lakes Res.*, **27:** 457-466.

Doherty, F. G., Cherry, D. S. & Cairns, J. J. (1987b) - Spawning periodicity of the Asiatic clam *Corbicula fluminea* in the New River, Virginia. - *Am. Midl. Nat.*, **117:** 71-82.

Dollar, N. L., Souch, C. J., Filippelli, G. M. & Mastalerz, M. (2001) - Chemical fractionation of metals in wetland sediments: Indiana Dunes national lakeshore - *Environ. Sci. Technol*, **35:** 3608-3615.

Donat, J. R., Lao, K. A. & Bruland, K. W. (1994) - Speciation of dissolved copper and nickel in South SAn Francisco Bay: a multi-method approach. - *Analytica Chimica Acta*, **284:** 547-571.

Donat, J. R., (1995) - The speciation of dissolved copper and cadmium in the Chesapeake Bay. American Chemical Society Division of Geochemistry, 209th ACS National Meeting., Anaheim.

Doshi, G. R., Krishnamoorthy, T. M., Sastry, V. N. & Sarma, T. P. (1973) - Sorption behavior of trace nuclides in sea water on manganese dioxide. - *Indian J Chem*, **11:** 158–161.

E.

Eisler, R. (1993) - Zinc hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. - *Contaminant hazard reviews. Report 26. Zinc hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review* - US Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Washington DC, Biological report No. 10, pp. 1 - 106.

Encyclopedie, 2001a. Les métaux - Cuivre. Yahoo.

Engel, D. W. & Brouwer, M. (1993) - Crustaceans as models for metal metabolism: I. Effects of molt cycle on blue crab metabolism and metallothionein. - *Mar. Environ. Res.*, **35:** 1-5.

Engel, D. W., Brouwer, M. & Mercaldo-Allen, R. (2001) - Effects of molting and environmental factors on trace metal body-burdens and hemocyanin concentrations in the American lobster, *Homarus americanus*. - *Mar. Environ. Res.*, **52:** 257-269.

Erickson, R. J., Benoit, D. A., Mattson, V. R., Nelson, H. P. & Leonard, E. N. (1996) - The effect of water chemistry on the toxicity of copper to fathead minnows. - *Environ. Toxicol. Chem.*, **15:** 181-193.

Eriksen, R. S., Mackey, D. J., van Dam, R. & Nowak, B. (2001) - Copper speciation and toxicity in Macquarie Harbour, Tasmania: an investigation using a copper ion selective electrode - *Mar. Chem.*, **74:** 99-113.

Errecalde, O. & Campbell, P. G. C. (2000) - Cadmium and zinc bioavailability to *Selenastrum capricornutum* (Chlorophyceae): accidental metal uptake and toxicity in the presence of citrate. - *Phycologia*, **36:** 473-483.

Ettajani, H., 1994. Transfert des éléments traces essentiels ou toxiques dans une chaine trophique marine a mollusques. Thèse de Doctorat, Université François Rabelais, pp. 197.

Etxeberria, M., Sastre, I., Carajaville, M. P. & Marigomez, I. (1994) - Digestive lysosome enlargement induced by experimental exposure to metals (Cu, Cd, Zn) in mussels collected from zinc-polluted site. - *Archives Environ. Contam. Toxicol.*, **27:** 338-345.

Evans, L. J. (1989) - Chemistry of metal retention by soils. - *Environ sci Technol*, **23:** 1046-1056.

Everall, N. C., Macfarlane, N. A. A. & Sedgwick, R. W. (1989) - The interactions of water hardness and pH with the acute toxicity of zinc to the brown trout, *Salmo trutta* L. - *J. Fish. Biol.*, **35:** 27–36.

F.

Fadil, F., Maarouf, A. et Zaid, A. (1997) - Utilisation de Gammarus gauthieri Pinkster (Crustacé: Amphipode) pour tester la toxicité des sediments des eaux douces. - *Annls. Limnol.*, **33:** 73-78.

Fan, W. & Wang, W.-X. (2001) - Sediment geochemical controls on Cd, Cr, and Zn assimilation by the clam *Ruditapes philippinarum*. - *Environ Toxicol Chem*, **20:** 2309-2317.

Fan, W., Wang, W.-X., Chen, J., Li, X. & Yen, Y.-F. (2002b) - Cu, Ni, and Pb speciation in surface sediments from a contaminated bay of northern China - *Mar. Pollut. Bull.*, **44:** 820-826.

Farkas, A., Salanki, J. & Specziar, A. (2003) - Age and size specific patterns of heavy metals in the organs of freshwater fish Abramis brama L. populating a low contaminated site. - *Wat. Res.*, **37:** 959-964.

Fernandes, H. M. (1997) - Heavy metal distribution in sediments and ecological risk assessment: the role of diagenetic processes in reducing metal toxicity in bottom sediments - *Environ. Poll.*, **97:** 317-325.

Ferrando, M. D. & Andreu, E. (1993) - Feeding behavior as an index of copper stress in *Daphnia magna* et *Brachionus calyciflorus*. - *Comp. Biochem. Physiol.*, **1006C:** 327-331.

Fialkowski, W., Rainbow, P. S., Smith, B. D. & Zmudzinski, L. (2003) - Seasonal variation in trace metal concentrations in three talitrid amphipods from the Gulf of Gdansk, Poland - *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **In Press, Corrected Proof.**

Fisher, H. (1983) - Shell weight as an independent variable in relation to cadmium content in molluscs. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **12:** 59-75.

Fisher, H. (1984) - Cadmium body burden/shell weight of mussels: a precise index for environmental monitoring. - *Count Meet Int Explor Sea CM-ICES/E*, **41:** 1-19.

Fisher, H. (1986) - Influence of temperature, salinity and oxygen on the cadmium balance of mussels Mytilus edulis. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **32:** 265-278.

Fisher, N. S. & Teyssié, J. L. (1986) - Influence of food composition on the biokinetics and tissue distribution of zinc and americium in mussels. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **28:** 197-207.

Fisher, N. S. & Reinfelder, J. R. (1995) - The trophic transfer of metals in marine systems. - In: Tessier, A. & Turner, D. R. (eds.): *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems.* - John Wiley., Chichester, pp. 363-406.

Florence, T. M. (1977) - Trace metal species in fresh waters. - *Wat. Res.*, **11:** 681-687.

Florence, T. M. & Stauber, J. L. (1986) - Toxicity of copper complexes to the marine diatom *Nitzschia closterium*. - *Aquatic Toxicol.*, **8:** 11-26.

Florence, T. M., Morrison, G. M. & Stauber, J. L. (1992) - Determination of trace element speciation and the role of speciation in aquatic toxicity - *Sci Total Environ*, **125:** 1-13.

Foe, C. & Knight, A. W. (1986a) - Growth of *Corbicula fluminea* fed artificial and algal diets. - *Hydrobiol.*, **133:** 155-164.

Foe, C. & Knight, A. W. (1986b) - A method for evaluating the sublethal impact of stress employing *Corbicula fluminea*. - *Am. Malacol. Bull.*, **Special edition 2:** 133-142.

Forbes, T. L. & Kure, L. K. (1996) - The role of pore water versus ingested sediments in the bioavailability of organic contaminants in marine sediments. - *Bioavailability as a Key Property in Terrestrial Ecotoxicity Assessment and Evaluation.* - Fraunhofer IRB Verlag, Schmallenberg, pp. 55-69.

Förstner, U. & Wittmann, G. T. W. (1981) - Metal pollution in the aquatic environment, 2nde ed. - Springer-Verlag, Berlin, pp. 486.

Förstner, U. (1987) - Sediment-associated contaminants - an overview of scientific bases for developing remedial options. - *Hydrobiol.*, **149:** 221-246.

Fortin, C. & Campbell, P. G. C. (2001) - Thiosulfate enhances silver uptake by green alga: role of anion transporters en metal uptake. - *Environ. Sci. Technol.*, **35:** 2214-2218.

Foster, P. L. (1977) - Copper exclusion as a mechanism of heavy metal tolerance in a green alga. - *Nature*, **269:** 322-323.

Franklin, N. M., Stauber, J. L., Markich, S. J. & Lim, R. P. (2000) - pH-dependent toxicity of copper and uranium to a tropical freshwater alga (*Chlorella sp.*) - *Aquatic Toxicol.*, **48:** 275-289.

Fraùsto da Silva, J. J. R. & Williams, R. J. P. (1993) - The biological chemistry of the elements. The inorganic chemistry of life. - Clarendon Press, Oxford, pp. 561.

Fraysse, B., 2001. Caractérisation de mollusques dulçaquicoles en tant que bioindicayeurs de radiocontamination dans un contexte de multipollution métallique (Cd, Zn). Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux I, pp. 132.

French, J. R. P. I. & Schloesser, D. W. (1991) - Growth and overwinter of the asiatic clam, *Corbicula fluminea*, in the St Clair RIver, MIchigan. - *Hydrobiol.*, **219:** 165-170.

G.

Gadd, G. M. (1993) - Interactions of fungi with toxic metals. - *New Phytol*, **124:** 25–60.

Gadde, R. R. & Laitinen, H. A. (1974) - Studies of heavy metal adsorption by hydrous iron and manganese oxides. - *Anal Chem*, **46:** 2022–2026.

Gagnon, C. & Fisher, N. S. (1997) - The bioavailability of sediment-bound Cd, Co and Ag to the mussel, *Mytilus edulis*. - *Can. J. Fish Aquati. Sci.*, **54:** 147-156.

Gagnon, C. & Fisher, N. S. (1997a) - Bioavailability of sediment-bound methyl and inorganic mercury dynamics in mussels and shrimp. - *Environ sci Technol*, **31:** 993-998.

Gagnon, C. & Fisher, N. S. (1997b) - The bioavailability of sediment-bound Cd, Co and Ag to the mussel, *Mytilus edulis*. - *Can. J. Fish Aquati. Sci.*, **54:** 147-156.

Galay, M. & Rainbow, P. S. (1998) - Uptake, accumulation and excretion by *Corophium volutator* (Crustacea: Amphipoda) of zinc, cadmium and cobalt added to sewage sludge. - *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **47:** 603-620.

Gardner, M. & Ravenscroft, J. (1991) - The behaviour of copper complexation in rivers and estuaries: two studies in North-East England - *Chemosphere*, **23:** 695-713.

Garrett, R. G. (2000) - Natural sources to the environment - *Hum. Ecol. Risk. Assess.*, **6:** 945-963.

Gekeler, W., Grill, E., Winnacker, E. L. & Zenk, M. H. (1988) - Algae sequester heavy metals via synthesis of phytochelatin complexes. - *Arch. Microbiol.*, **150:** 197-202.

Gekeler, W., Grill, E., Winnacker, E. L. & Zenk, M. H. (1989) - Survey of the plant Kingdom for the ability to bind heavy metals through phytochelatine - *Z. Naturforsch*, **44:** 361-369.

Gensemer, R. W., Naddy, R. B., Stubblefield, W. A., Hockett, J. R., Santore, R. & Paquin, P. (2002) - Evaluating the role of ion composition on the toxicity of copper to *Ceriodaphnia*

dubia in very hard waters - *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicology & Pharmacology*, **133:** 87-97.

George, S. G. & Pirie, B. J. S. (1980) - Metabolism of zinc in the mussel, *Mytilus edulis* (L.): a combined ultrastructural and biochemical study. - *Mar. biol. assess. UK*, **60:** 575-590.

George, S. G. (1982) - Subcellular accumulation and detoxification of metals in aquatic animals. - Academic Press, New York.

Gerringa, L. J. A., Poortvliet, T. C. W. & Humme, l. H. (1996) - Comparison of Chemical Speciation of Copper in the Oosterschelde and Westerschelde Estuaries, The Netherlands - *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **42:** 629-643.

Giamberini, L., 1993. Etude des mécanismes de transport et détoxication des métaux lourds chez la moule d'eau douce *Dreissena polymorpha*. Rôle des hémocytes et des organes excréteurs (histologie, ultrastructure, microanalyse). Thèse de Doctorat, Université de Metz, pp. 196.

Giamberini, L. (2001) - Indice gonadique des Dreissènes. In Suivi hydrobiologique de la rivière Moselle au droit de la centrale de Cattenom. Rapport de synthèse., Université de Metz.

Giesy, J. P., Leversee, G. J. & Williams, D. R. (1977) - Effects of naturally occurring aquatic organic fractions on cadmium toxicity to *Simocephalus serrulatus* (Daphnidae) and *Gambusia affinis* (Poeciliidae). - *Wat. Res.*, **11:** 1013-1020.

Giesy, J. P., Newell, A. & Leversee, G. J. (1983) - Copper speciation in soft acid humic water: effect on copper bioaccumulation by and toxicity to *Simocephalus serrulatus*. - *Sci Total Environ*, **28:** 23-36.

Giesy, J., Alberts, J. & Evans, D. (1986) - Conditional stability constants and binding capacities for copper (II) by dissolved organic carbon isolated from surface waters of the southeastern United States. - *Environ Toxicol Chem*, **5:** 139-154.

Giguere, A., Couillard, Y., Campbell, P. G. C., Perceval, O., Hare, L., Pinel-Alloul, B. et Pellerin, J. (2003) - Steady-state distribution of metals among metallothionein and other cytosolic ligands and links to cytotoxicity in bivalves living along a polymetallic gradient - *Aquatic Toxicol.*, **In Press, Corrected Proof**.

Glazewski, R. & Morrison, G. M. (1996) – Copper (I)/Copper (II) reactions in an urban river. - *Sci Total Environ*, **189/190:** 327-333.

Gledhill, M., Nimmo, M. & Hill, S. J. (1997) - The toxicity of copper (II) species to marine algae, with particular reference to macroalgae. - *Phycologia*, **33:** 2-11.

Gonzales-Davila, M., Santana-casiano, J. M. & Perez-Pena, J. (1995) - Binding Of Cu(II) to the surface and exudates of the aga *Dunaliella tertiolecta* in seawater. - *Environ. Sci. Technol.*, **29:** 289-301.

Gordon, A. S., Howell, L. D. & Hardwood, V. (1994) - Responses of diverse heterotrophic bacteria to elevated copper concentrations. - *Can. J. Microbiol.*, **40:** 408-411.

Graney Jr, R. L., Cherry, D. S. & Cairns Jr, J. (1984) - The influence of substrate, pH, diet and temperature upon cadmium accumulation in the asiatic clam (*Corbicula fluminea*) in laboratory artificial stream. - *Wat. Res.*, **18:** 833-842.

Grant, A., Hateley, J. G. & Jones, N. V. (1989) - Mapping the ecological impact of heavy metals on the estuarine polychaete *Nereis diversicolor* using inherited metal tolerance. - *Mar. Pollut. Bull.*, **20:** 235-238.

Grosell, M., Hogstrand, C., Wood, C. M. & Hansen, H. J. M. (2000) - A nose to nose comparison of the physiological effects of exposure to ionic silver versus silver chloride in the European eel (*Anguilla anguilla*) and the Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) - *Aquatic Toxicol.*, **48:** 327-342.

Grosell, M., Nielsen, C. & Bianchini, A. (2002) - Sodium turnover rate determines sensitivity to acute copper and silver exposure in freshwater animals - *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicology & Pharmacology*, **133:** 287-303.

Guanzon, N. G., Nakahara, H. & Yoshida, Y. (1994) - Inhibitory effects of heavy metals on growth and photosynthesis of three freshwater microalgae. - *Fish. Sci.*, **60**.

Gundacker, C. (1999) - Tissue-specific heavy metal (Cd, Pb, Cu, Zn) deposition in a natural population of the zebra mussel *Dreissena polymorpha P*allas - *Chemosphere*, **38:** 3339-3356.

Gundacker, C. (2000) - Comparison of heavy metal bioaccumulation in freshwater molluscs of urban river habitats in Vienna - *Environ. Poll.*, **110:** 61-71.

Gundersen, P. & Steinnes, E. (2003) - Influence of pH and TOC concentration on Cu, Zn, Cd, and Al speciation in rivers - *Wat. Res.*, **37:** 307-318.

Guo, L., Hunt, B., Santschi, P. & Ray, S. (2001) - Effect of dissolved organic matter on uptake of trace metals by American oysters. - *Environ sci Technol*, **35:** 885-893.

Gustavson, K. & Wängberg, S.-A. (1995) - Tolerance induction and succession in microalgae communities exposed to copper and atrazine. - *Aquatic Toxicol.*, **32:** 283-302.

Guttman, S. I. (1994) - Population genetic structure and ecotoxicology - *Environ. Health. Persp.*, **102:** 97-100.

Guy, R. D. & Chakrabarti, C. L. (1976) - Studies of metal–organic interactions in model systems pertaining to natural waters. - *Can. J. Microbiol.*, **54:** 2600–2611.

H.

Hagerman, L. (1983) - Haemocyanin concentration of juvenil lobster (*Homarus gammarus*) in relation to moulting cycle and feeding conditions. - *Mar. Biol.*, **77:** 11-17.

Hamelink, J. L., Landrum, P. F., Bergmann, H. L. & Benson, W. H. (1994) - Bioavailability. Physical, Chemical and Biological Interaction. - Lewis publisher, Boca Raton.

Hamilton-Taylor, J., Postill, A. S., Tipping, E. & Harper, M. P. (2002) - Laboratory measurements and modeling of metal-humic interactions under estuarine conditions - *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **66:** 403-415.

Hanson, M. J. & Stefan, H. G. (1984) - Side effects of 58 years of copper sulfate treatment of the Fairmont Lakes, Minnesota. - *Water Resour. Bull.*, **20:** 889-900.

Hardy, J. T., Crecelius, E. A., Cowan, C. E. & Wentsel, R. S. (1988) - Toxicity and metal speciation relationships for *Daphnia magna* exposed to brass powder - *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **17:** 575-581.

Hare, L. (1992) - Aquatic insects and trace metals: bioavailability, bioaccumulation and toxicity.. Critical review. - *Toxicol.*, **22:** 327-369.

Harvey, R. W. & Luoma, S. N. (1985) - Effects of adherent bacteria and bacterial extracellular polymers upon assimilation by *Macoma balthica* of sediment-bound Cd, Zn, and Ag - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **22:** 281-289.

Hashemi, F., Leppard, G. G. & Kushner, D. J. (1994) - Copper resistance in Anabaena variabilis: effects of phosphates nutrition and polyphosphate bodies. - *Microb. Ecol.*, **27:** 159-176.

Havens, K. E. (1994a) - An experimental comparison of the effects of two chemical stressors on a freshwater zooplankton assemblage. - *Environ. Poll.*, **84:** 245-251.

Havens, K. E. (1994b) - Structural and functional responses of a freshwater plankton community to acute copper stress. - *Environ. Poll.*, **86:** 259-266.

Heijerick, D. G., De Schamphelaere, K. A. C. et Janssen, C. R. (2002a) - Biotic ligand model development predicting Zn toxicity to the alga *Pseudokirchneriella subcapitata*: possibilities and limitations - *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicology & Pharmacology*, **133:** 207-218.

Heijerick, D. G., Janssen, C. R., Karlen, C., Wallinder, I. O. & Leygraf, C. (2002b) - Bioavailability of zinc in runoff water from roofing materials - *Chemosphere*, **47:** 1073-1080.

Heijerick, D., De Schamphelaere, K. A. C. & Janssen, C. R. (2002c) - Predicting the acute zinc toxicity for *Daphnia magna* as a function of key water chemistry characteristics: development of a biotic ligand model. - *Environ. Toxicol. Chem.*, **21:** 1.09-15.

Helland, A. (2001) - The Importance of Selective Transport and Sedimentation in Trend Monitoring of Metals in Sediments. An Example from the Glomma Estuary, East Norway - *Water, Air, and Soil Poll.*, **126:** 339-361.

Helland, A. & Bakke, T. (2002) - Transport and sedimentation of Cu in a microtidal estuary, SE Norway - *Mar. Pollut. Bull.*, **44:** 149-155.

Hem, J. D. (1972) - Chemistry and occurrence of cadmium and zinc in surface water and ground water. - *Water Resour Res*, **8:** 661–677.

Hickey, C. W. & Vickers, M. L. (1994) - Toxicity of ammonia to nine native New Zealand freshwater invertebrate species. - *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **26:** 293-298.

High, K.A., Barthet, V.J., McLaren, J.W. & Blais, J. S. (1997) - Characterization of metallothioneines-like proteins from zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) - *Environ. Toxicol.Chem.*, **16:** 1111-1118.

Hilmy, A. M., El-Domiaty, N. A., Daabees, A. Y. & Abdel Latife, H. A. (1987) - Toxicity in *Tilapia zilli* and *Clarias lazera* (Pisces) induced by zinc, seasonally. - *Comp. Biochem. Physiol.*, **86C:** 263–265.

Hodson, P. V. (1988) - The effect of metal metabolism on uptake, disposition and toxicity in fish. - *Aquatic Toxicol.*, **11:** 3-18.

Hoesloop, U. (1992) - Establishment of the Asiatic clam *Corbicula cf. fluminea* in the Tidal Weser River (N, Germany) - *Arch. Hydrobiol.*, **125:** 175-180.

Hogstrand, C. & Wood, C. M. (1995) - Mechanisms for zinc acclimation in freshwater rainbow trout. - *Mar. Environ. Res.*, **39:** 131–135.

Holcombe, G. W., Benoit, D. A. & Leonard, E. N. (1979) - Long-term effects of zinc exposures on brook trout (*Salvelinus fontinalis).* - *Trans. Am. Fish. Soc.*, **108.:** 76–87.

Hopkins, S. P. (1990) - Critical concentrations, pathways of detoxification and cellular ecotoxicology of metals in terrestrial arthropods. - *Functional Ecology*, **4:** 321-327.

Howard, J. L. & Vandenbrink, W. J. (1999) - Sequential extraction analysis of heavy metals in sediments of variable composition using nitrilotriacetic acid to counteract resorption. - *Environ. Poll.*, **106:** 285-292.

Huang, C. P., Elliott, H. A. & Ashmead, R. M. (1977) - Interfacial reactions and the fate of heavy metals in soil-water systems. - *Water Pollut Control Fed*, **49:** 745–756.

Hummel, H., Bogaards, R. H., Amiard-Triquet, C., Bachelet, G., Desprez, M., Marchand, J., Sylvand, B., De Wit, Y. & De Wolf, L. (1995) - Uniform variation in genetic traits of a marine bivalve related to pollution, geographic clines and physiological condition. - *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **191:** 133-150.

Hummel, H., Amiard-Triquet, C., Bachelet, G., Desprez, M., Marchand, J., Sylvand, B., Amiard, J. C., Rybarczyk, H., Bogaards, R. H., Sinke, J., De Wit, Y. & De Wolf, L. (1996) - Sensitivity to stress of the estuarine bivalve *Macoma balthica* from areas between the Netherlands and its southern limits (Gironde). - *J. Sea Res.*, **35:** 315-321.

Hutchins, D. A., Wang, W.-X. & Fisher, N. S. (1995) - Copepods grazing and the biogeochemical fate of diatom iron. - *Limnol. Oceanogr.*, **40:** 989-994.

Hutchins, D. A., Stupakoff, I. & Fisher, N. S. (1996) - Temperature effects on accumulation and retention of radionucleides in the sea star, *Asterias forbesi:* implication for contaminated northern waters. - *Mar. Biol.*, **125:** 701-707.

Hutchins, D. A., Stupakoff, I., Hook, S., Luoma, S. N. & Fisher, N. S. (1998) - Effects of Arctic temperatures on uptake and retention of the nuclear waste radionucleides 241Am, 57Co and 137Cs in the bioindicatior bivalve *Macoma balthica.* - *Mar. Environ. Res.*, **45:** 17-28.

I.

INERIS (2000) - Fiche de données écotoxicologiques et environnementales des substances chimiques. Le ZINC. version1, Institut Nationale de l'Environnement Industriel et des Risques., pp. 58.

Ingersoll, C. G. & Winner, R. W. (1982) - Effect on *Daphnia pulex* (De Geer) of daily pulse exposures to copper and cadmium. - *Environ. Toxicol. Chem.*, **1:** 321-327.

J.

Jansen, R. A. G., Van Leeuwen, H. P., Cleven, R. F. M. J. & Van den Hoop, M. A. G. T. (1998) - Speciation and lability of zinc(II) in river waters. - *Environ. Sci. Technol.*, **32:** 3882-3388.

Jansen, S., Blust, R. & Van Leeuwen, H. P. (2002) - Metal speciation dynamics and bioavailability: Zn(II) and Cd(II) uptake by mussel (*Mytilus edulis)* and carp (*Cyprinus carpio*) - *Environ. Sci. Technol.*, **36:** 2164-2170.

Janssen, R. P. T., Peijnenburg, W. J. G. M., Posthuma, L. & Van den Hoop, M. A. G. T. (1997) - Equilibrium partitioning of heavy metals in Dutch field soils. I. Relationships between metal partition coefficients and soil characteristics. - *Environ. Toxicol. Chem.*, **16:** 2470-2478.

Janssen, C. R., De Schamphelaere, K. A. C., Heijerick, D. G., Muyssen, B., Lock, K., Bossuyt, B. *et al.*, e. (2000) - Uncertainties in the environmental risk assessment of metals. - *Hum. Ecol. Risk. Assess.*, **6:** 1003-18.

Janssen, C. R., Heijerick, D. G., De Schamphelaere, K. A. C. & Allen, H. E. (2003) - Environmental risk assessment of metals: tools for incorporating bioavailability - *Environment International*, **28:** 793-800.

Jayaraj, Y. M., Aparanji, B. & Nimbargi, P. M. (1992) - Amelioration of heavy metal toxicity on primary productivity of aquatic ecosystems by calcium, magnesium and iron - *Environ. Ecology*, **10:** 667-674.

Jenner, H. A., Hemelraad, J., Marquenie, J. M. & Noppert, F. (1991) - Cadmium kinetics in freshwater clams (Unionidae) under filed and laboratory conditions. - *Sci Total Environ*, **108:** 205-214.

Jenner, H. A., Whitehouse, J. W., Taylor, C. J. & Khalanski, M. (1998) - Cooling water management in European power stations. Biology and control of fouling. - In: France, E. d. (ed.): *Hydroecol. Appl. - Tome 10* - EDF, Volume 1-2, pp. 83-89.

Johansson, C., Cain, D. J. & Luoma, S. N. (1986) - Variability of the fractionation of Cu, Ag et Zn among cytosilic proteins in the bivalve *Macoma balthica*. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **28:** 87-97.

Johns, C. & Timmerman, B. E. (1998) - Total cadmium, Copper, and Zinc in two Dreissenid Mussels, *Dreissena polymorpha* and *Dreissena bugensis*, at the Outflow of Lake Ontario. - *Great Lakes Res.*, **24:** 55-64.

K.

Klein, J., Brüggeman, R., Voigt, K. & Steinberg, C. (1995) - Advances in comparative analysis of adverse effects in aquatic ecosytems with emphasis on studies with humic substances and on progress in mathematical analysis techniques. - *Wat. Res.*, **29:** 2261-2268.

Klerks, P. L. & Weis, J. S. (1987) - Genetic adaptation to heavy metals in aquatic organisms: a review. - *Environ. Poll.*, **45:** 173-205.

Klerks, P. L. & Levinton, J. S. (1989) - Effects of heavy metals in a polluted aquatic ecosystem. - In: Levin, S. A., Harwell, M. A., Kelly, J. R., & Kimball, K. D. (eds.): *Ecotoxicology: problems and approaches* - Springer, New York, pp. 41–67.

Klerks, P. L. (1990) - Adaptations to metals in animals. - In: Shaw, A. J. (ed.): *Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects.* - CRC Press, Boca Raton, FL., pp. 313–321.

Klerks, P. L. & Fraleigh, P. C. (1997) - Uptake of nickel and zinc by the zebra mussel *Dreissena polymorpha* - *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **32:** 191-197.

Knauer, K., Behra, R., Xue, H. & Sigg, L., (1995) - Adsorption of copper and zinc on algal surfaces. American Chemical Society Division of Geochemistry, 209th National Meeting., Anaheim.

Knauer, K., Behra, R. & Sigg, L. (1997b) - Adsorption and uptake of copper by the green alga *Scenedesmus subspicatus* (Chlorophyta). - *Phycologia*, **33:** 596-601.

Koeman, J. (1982) - Ecotoxicological evaluation: the ecoside of the problem. - *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **6:** 358-362.

Kozelka, P. B. & Bruland, K. W. (1998) - Chemical speciation of dissolved Cu, Zn, Cd, Pb in Narragansett Bay, Rhode Island. - *Mar. Chem.*, **60:** 267-282.

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. Poll.*, **74:** 101-114.

Kraak, M. H., Lavy, D., Peeters, W. H. & Davids, C. (1992) - Chronic ecotoxicity of copper and cadmium to the zebra mussel *Dreissena polymorpha* - *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **23:** 363-369.

Kraak, M. H. S., Lavy, D., Schoon, H., Toussaint, M., Peeters, W. H. M. & Van Straalen, N. M. (1994a) - Ecotoxicity of mixtures of metals to the zebra mussel *Dreissena polymorpha* - *Environ Toxicol Chem*, **13:** 109-114.

Kraak, M. H. S., Wink, Y. A., Stuijfzand, S. C., Buckert-de Jong, M. C., de Groot, C. J. & Admiraal, W. (1994b) - Chronic ecotoxicity of Zn and Pb to the zebra mussel *Dreissena polymorpha* - *Aquatic Toxicol.*, **30:** 77-89.

Kraak, M. H. S., Stuijfzand, S. C. & Admiraal, W. (1999) - Short-term ecotoxicity of a mixture of five metals to the zebra mussel *Dreissena polymorpha.* - *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **63:** 805-812.

Kraepiel, A. M. L., Chiffoleau, J.-F., Martin, J.-M. & Morel, F. M. M. (1997) - Geochemistry of trace metals in the Gironde estuary - *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **61:** 1421-1436.

Kretschmer, X. C., Gardea-Torresdey, J., Chianelli, R. & Webb, R. (2002) - Determination of copper binding in *Anabaena flos-aquae* purified cell walls and whole cells by X-ray absorption spectroscopy - *Microchemical Journal*, **71:** 295-304.

Kukkonen, J. V. (1995) - The role of natural organic material on the fate and toxicity of xenobiotics in aquatic environment. - In: Munawar, M., Luotola, M. (ed.): *The contaminants in the nordic Ecosystem: Dynamics, Process and Fate.* - Academic publishing, Amsterdam, pp. 95-108.

L.

LaBreche, T. M. C., Dietrich, A. M., Gallagher, D. L. & Shepherd, N. (2002) - Copper toxicity to larval *Mercenaria mercenaria* (hard clam) - *Environ Toxicol Chem*, **21:** 760-766.

Lacerda, L. D., Bidone, E. D., Giumaraes, A. F. & Pfeiffer, W. C. (1994) - Mercury concentrations in fish from the Itacaiunas-Parauapebas River System, Carajas region. - *Amazon. Ann. Acad. Bras. Sci.*, **66:** 373-379.

Lagadic, L., Caquet, T. & Amiard, J.-C. (1997) - Biomarqueurs en écotoxicologie: principes et définitions. - In: Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J. C., & Ramade, F. (eds.): *Biomarqueurs en Ecotoxicologie: Aspects Fondamentaux.* - Masson, Paris, pp. 1-9.

Landrum, P. F. & Robbins, J. A. (1990) - Bioavailability of sediments-associated contaminants to benthic invertebrates. - In: Baudo, R., Giesy, J. P., & Muntau, H. (eds.): *Sediments: Chemistry and Toxicity of In-Place Pollutants.* - Boca Raton, pp. 237-263.

Landrum, P. F., Harkey, G. A. & Kukkonen, J. (1996) - Evaluation of organic contaminant exposure in aquatic organisms: the significance of bioconcentration and bioaccumulation. - In: Newman, M. C. & Jagoe, C. H. (eds.): *Ecotoxicology: A hierarchal Treatment.* - Lewis Publishers, Boca Raton, FL, pp. 83-131.

Langston, W. J. (1980) - Arsenic in UK estuaries, sediments and its bioavailability to benthic organisms. - *Mar. biol. assess. UK*, **660:** 869-881.

Langston, W. J., Bebianno, M. J. & Burt, G. R. (1998) - Metal handling strategies in molluscs. - In: Langston, W. J. & Bebianno, M. J. (eds.): *Metal metabolism in aquatic environments.* - Chapman and Hall, London, pp. 219-283.

Lanno, R. P., Leblanc, S. C., Knight, B. L., Tymowski, R. & Fitzgerald, D. G. (1998) - Application of body residues as a tool in the assessment of soil toxicity. - In: Sheppard, S. C., Bembridge, J., Holmstrup, M., & Posthuma, L. (eds.): *Advances in Earthworm Ecotoxicology.* - SETAC Press, Pensacola, pp. 41-53.

Laskowski, R. & Hopkins, S. P. (1996) - Accumulation of Zn, Cu, Pb, and CD in the garden snail *Helix aspersa*: implication for predators. - *Environ. Poll.*, **91:** 289-297.

Lau, S., Mohamed, M., Tan Chi Yen, A. & Su'ut, S. (1998) - Accumulation of heavy metals in freshwater molluscs - *Sci Total Environ*, **214:** 113-121.

Leal, M. F. C., Vasconcelos, M. T. S. D. & van den Berg, C. M. G. (1999) - Copper-induced release of complexing ligands similar to thiols by *Emiliania huxleyi* in seawater cultures - *Limnol. Oceanogr.*, **44:** 1750-1762.

Ledy, K., 2002. Developpement de biomarqueurs cellulaires de contamination chez plusieurs espèces aquatiques dulcaquicoles. Approche multiparamétrique *in situ* et au laboratoire. Thèse de Doctorat, Université de Metz.

Lee, B. G. & Luoma, S. N. (1998) - Bioavailability of Cd, Cr and Zn to bivalves during a phytoplankton bloom in San Francisco Bay. - *Limnol. Oceanogr.*, **43**.

Leglize, L. & Crochard, C. (1987) - Vérification expérimentale du chois de *Dreisseina polymorpha* Pallas (lamellibranche) comme bioindicateur de contamination métallique. - *Nat.Can, Rev. Ecol. Syst.*, **114:** 315-323.

Leleyter, L. & Probst, J. L. (1999) - A new sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace elements in river sediment. - *Internat. J. Environ. Analyt. Chem.*, **73:** 109-128.

Lemly, D. A. (1993a) - Guidelines for evaluating selenium data from aquatic monitoring and assessment studies. - *Environ. Monit. Assess.*, **28:** 83-100.

Lemly, D. A. (1993b) - Metabolic stress during winter increases the toxicity of selenium to fish. - *Aquatic Toxicol.*, **27:** 133-158.

Li, X., Shen, Z., Wai, O. W. & Li, Y.-S. (2001) - Chemical Forms of Pb, Zn and Cu in the Sediment Profiles of the Pearl River Estuary - *Mar. Pollut. Bull.*, **42:** 215-223.

Lobel, P. B. & Wright, D. A. (1982a) - Relationship between body zinc concentration and allometric growth measurements in the mussel *Mytilus edulis*. - *Mar. Biol.*, **66:** 145-150.

Lobel, P. B. & Wright, D. A. (1982b) - Total zinc concentration and allometric growth ratios in *Mytilus edulis* collected from different shore levels. - *Mar. Biol.*, **66:** 231-236.

Lowe, D. M. & Moore, M. N. (1979) - The cytochemical distribution of zinc (Zn II) and iron (Fe III) in the common mussel, *Mytilus edulis*, and tehir relationship with lysosome. - *Mar. biol. assess. UK*, **59:** 851-858.

Lu, Y. & Allen, H. E. (2001) - Partitioning of copper onto suspended particulate matter in river waters - *Sci Total Environ*, **277:** 119-132.

Lu, Y. & Allen, H. E. (2002) - Characterization of copper complexation with natural dissolved organic matter (DOM)--link to acidic moieties of DOM and competition by Ca and Mg - *Wat. Res.*, **36:** 5083-5101.

Luoma, S. N. & Jenne, E. A. (1977) - The availability of sediment-bound cobalt, silver, zinc to a deposit-feeding clam. - In: Drucher H, W. R. (ed.): *Biological implication of metals in the environment.* - NTIS, Springfield, VA, pp. 213-230.

Luoma, S. N. & Bryan, G. W. (1978) - Factors controlling the availability of sediment-bound lead to the estuarine bivalve *Scrobicularia plana.* - *Mar. biol. assess. UK*, **58:** 793-802.

Luoma, S. N. (1983) - Bioavailability of trace metals to aquatic organisms--a review - *Sci Total Environ*, **28:** 1-22.

Luoma, S. N. & Davis, J. A. (1983) - Requirements for modelling trace metal partitioning in oxidized estuarine sediments. - *Mar. Chem.*, **12:** 159-181.

Luoma, S. N. (1989) - Can we determine the biological availability of sediment-bound trace elements? - *Sediment/water interactions. Proc 4th symposium, Melbourne, 1987, Published by Kluwer; Developments in Hydrobiology, 50, Editors Sly P.G. and Hart B.T.*, 379-396.

Luoma, S. N., Johns, C., Fisher, N. S., Steinberg, C. E., Oremland, R. S. & Reinfelder, J. R. (1992) - Determination of Selenium bioavailability to a benthic bivalve from particulate and solute pathways. - *Environ. Sci. Technol.*, **26:** 485-491.

Luoma, S. N. & Fisher, N. S. (1997) - Uncertainties in assessing contaminant exposure from sediments. - In: Ingersoll, C. G., Dillon, T., & Biddinger, G. R. (eds.): *Ecological risk assessments of contaminaned sediments.* - SETAC Spec Publ Ser, Pensacola, pp. 211-237.

Luten, J. B., Bouquet, W., Burggraaf, M. M. & Rus, J. (1986) - Accumulation, elimination, and speciation of cadmium and zinc in mussels, Mytilus edulis, in the natural environment - *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **37:** 579-586.

M.

Ma, H. Z., Kim, S. D., Allen, H. E. & Cha, D. K. (2002) - Effect of copper binding by suspended particulate matter on toxicity - *Environ Toxicol Chem*, **21:** 710-714.

Ma, M., Zhu, W., Wang, Z. & Witkamp, G. (2003) - Accumulation, assimilation and growth inhibition of copper on freshwater alga (*Scenedesmus subspicatus* 86.81 SAG) in the presence of EDTA and fulvic acid - *Aquatic Toxicol.*, **In Press, Corrected Proof.**

Maarouf, A., 1988. Etude expérimentale de la bioaccumulation du zinc chez *Dreissena polymorpha* (bivalve d'eau douce): cinétique et mécanisme de contamination et de décontamination. Thèse de Doctorat, Université de Metz.

Maarouf, A., 1993. Toxicité létale et bioaccumulation du zinc respectivement chez deux invertébrés d'eau douce: *Gammarus gauthieri* et *Dreissena polymorpha*. Optimisation de deux biotests: test de toxicité létale chez *G. gauthieri* et test de bioaccumulation à moyen terme chez *D. polymorpha*. Thèse de Doctorat, Faculté des sciences de Meknes (Maroc), pp. 296.

Mackey, D. & Higgins, H. (1988) - The copper-complexing capacity of seawater. - *Sci Total Environ*, **75:** 151-167.

Mackey, D. J. & O'Sullivan, J. E. (1990) - Metal -- organic interactions in sea water: an ecosystem experiment - *Analytica Chimica Acta*, **232:** 161-170.

MacRae, R. K., Smith, D. E., Swoboda-Colberg, N., Meyer, J. S. & Bergmann, H. L. (1999) - Copper binding affinity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)* and brook trout (*Salvelinus fontinalis*) - *Environ Toxicol Chem*, **18:** 1180-1189.

Maita, Y., Kawaguchi, S. & Tada, K. (1988) - A metallothionein-like protein induced in a diatom, *Phaeodactylum tricornutum.* - *Biol. Environ. Sci. Toxicol.*, 345-348.

Mallick, N. & Mohn, F. H. (2003) - Use of chlorophyll fluorescence in metal-stress research: a case study with the green microalga *Scenedesmus* - *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **In Press, Corrected Proof.**

Manley, A. R., Gruffydd, L. L. D. & Almada-Villela, P. C. (1984) - The effect of copper and zinc on the shell growth of *Mytilus edulis* measured by a laser diffraction technique. - *Mar. biol. assess. UK*, **64:** 417-427.

Mansilla-Rivera, I. & Nriagu, J. O. (1999) - Copper chemistry in Freshwater Ecosystems: An Overview. - *Great Lakes Res.*, **25:** 599-610.

Marigomez, J. A., Vega, M. M., Carajaville, M. P. & Angulo, E. (1989) - Quantitative responses of the digestive lysosomal system of winkles to cadmium. - *Cell. Mol. Biol.*, **35:** 555-562.

Marigomez, J. A. & Ireland, M. P. (1990) - A laboratory study of cadmium exposure in *Littorina littorea* in relation to environmental cadmium and exposure time. - *Sci Total Environ*, **90:** 75-87.

Marigomez, J. A., Ireland, M. P. & Angulo, E. (1990) - Correlation of cadmium shell-weight index with environmental stress indicators at the cellular and organismic levels in *Littorina littorea.* - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **67:** 171-176.

Markich, S. J., Brown, P. L. & Jeffree, R. A. (2001) - Divalent metal accumulation in freshwater bivalves: an inverse relationship with metal phosphate solubility - *Sci Total Environ*, **275:** 27-41.

Marschner, H. (1995) - Functions of mineral nutrient: micronutrients. - In: Marschner H., e. (ed.): *"Mineral nutrition of higher plants, 2nde Ed"* - Academic press, Londres, pp. 333-347.

Martel, P., Kovacs, T., Voss, R. & Megraw, S. (2003) - Evaluation of caged freshwater mussels as an alternative method for environmental effects monitoring (EEM) studies - *Environ. Poll.*, **124:** 471-483.

Martin, M., Hunt, J. W., Anderson, B. S. & Palmer, F. H. (1989) - Experimental evaluation of the mysid *Holmesimysis costata* as a test organism for effluent toxicity testing. - *Environ. Toxicol. Chem.*, **8:** 1003-1012.

Masala, O., McInnes, E. J. L. & O'Brien, P. (2002) - Modelling the formation of granules: the influence of manganese ions on calcium pyrophosphate precipitates - *Inorganica Chimica Acta*, **In Press, Corrected Proof.**

Masnado, R. G., Geis, S. W. & Sonzogni, W. C. (1995) - Comparative acute toxicity of a synthetic mine effluent to *Ceriodaphnia dubia*, larval fathead minnow and the freshwater mussel *Anodonta imbecilis* - *Environ. Toxicol. Chem.*, **14:** 1913-1920.

Mason, W. J. & Jenkins, K. D. (1995) - Metal detoxification in aquatic organisms. - In: Tessier, A. & Turner, D. R. (eds.): *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems.* - John Wiley & Sons, Chichester, UK, pp. 479-608.

Mayer, F. L., Marking, L. L., Bills, T. D. & Howe, G. E. (1994) - Physicochemical factors affecting toxicity in freshwater: hardness, pH and temperature. - In: Hamelink, J. L., Landrum, P. F., Bergmann, H. L., & Benson, W. H. (eds.): *Bioavailability: Physical, Chemical and Biological Interactions.* - Lewis publisher, Boca Raton, pp. 5-22.

Mayer, L. M., Chen, Z., Findlay, R. H. *et al.*, e. (1996) - Bioavailability of sedimentary subject to deposit-feeder digestion. - *Environ. Sci. Technol.*, **30:** 2641-2645.

Mc Carty, L. S. & Mackay, D. (1993) - Enhancing ecotoxicological modeling and assessment: Body residues and modes of toxic action. - *Environ. Sci. Technol.*, **27:** 1719-1728.

Mc Kee, J. D., 1990. Geochemical cycling of heavy metals in profundal sediments of lake superior. Thèse de Doctorat, Michigan State University.

Mc Mahon, R. F. (1983) - Ecology of the invasive pest bivalve *Corbicula*. - In: Russel-Hunter, W. D. (ed.): *The Mollusca: Ecology* - Academic Press Inc, New York, 6, pp. 505-561.

McBride, M. B. (1989) - Reactions controlling heavy metal solubility in soil. - *Adv. Soil. Sci.*, **10:** 1-56.

McGeer, J. C., Playle, R. C., Wood, C. M. & Galvez, F. (2000) - A physiologically based biotic ligand model for predicting the acute toxicity of waterborne silver to rainbow trout in freshwaters. - *Environ. Sci. Technol.*, **34:** 4199-4207.

McGeer, J. C., Szebedinszky, C., McDonald, D. G. & Wood, C. M. (2002) - The role of dissolved organic carbon in moderating the bioavailability and toxicity of Cu to rainbow trout during chronic waterborne exposure - *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicology & Pharmacology*, **133:** 147-160.

McIntosh, A. W., Shephard, K., Mayes, R. A., Atchison, G. J. & Nelson, D. W. (1978) - Some aspects of sediment distribution and macrophyte cycling of heavy metals in a contaminated lake. - *J. Environ. Qual.*, **7:** 301-305.

Meador, J. P. (1991) - The interaction of pH, dissolved organic carbon, and total copper in the determination of ionic copper and toxicity. - *Aquatic Toxicol.*, **19:** 13-32.

Mersch, J., Jeanjean, A. & Pihan, J. C. (1992) - The freshwater mussel *Dreissena polymorpha* as bioindicator for for trace metals, organochlorines and radionucleides. - In: Verlag., L. A. G. F. (ed.): *The zebra mussel Dreissena polymorpha* - Stuttgart, Germany, 4, pp. 227-244.

Mersch, J., Dubost, N. & Pihan, J. C. (1993) - Comparaison de plusieurs supports analytique inertes et biologiques pour apprécier la contamination de la retenue du site électronucléaire de Cattenom, France - *Annls Limnol*, **29:** 325-337.

Mersch, J., Wagner, P. & Pihan, J. C. (1996) - Copper indigenous and transplanted zebra mussels in relation to changing water concentrations and body weight. - *Environ Toxicol Chem*, **15:** 886-891.

Miller, P. A., Munkittrick, K. R. & Dixon, D. G. (1992) - Relationship between concentrations of copper and zinc in water, sediment, benthic invertebrates, and tissus of white sucker (*Catostomus commersoni*) at metal-contaminated sites. - *Can. J. Fish Aquati. Sci.*, **49:** 978-984.

Miller, M. P. & Hendricks, A. C. (1996) - Zinc resistance in *Chironomus riparius*: evidence for physiological and genetic components. - *J. N. Am. Benthol. Soc.*, **15:** 106–116.

Millero, F. J., Hubinger, S., Fernadez, M. & Garnett, S. (1987) - Oxidation of H_2S in seawater as a function of temperature, pH and ionic strength. - *Environ sci Technol*, **21:** 439-443.

Mills, E. L., Roseman, E. F., Rutzke, M., Gutenmann, W. H. & Lisk, D. J. (1993b) - Contaminant and nutrient element levels in soft tissues of zebra and quagga mussels from waters of southern lake ontario. - *Chemosphere*, **27:** 1465-1473.

Moffett, J. W. & Zika, R. G. (1987) - Photochemistry of copper complexes in sea water. - *Photochemistry of environmental aquatic systems* - D.C: American Chemical Society, Washington.

Moffett, J. W., Zika, R. G. & Brand, L. E. (1990) - Distribution and potential sources and sinks of copper chelators in the Sargasso Sea - *Deep-Sea Res.*, **37:** 27-36.

Moffett, J. W. (1995) - Temporal and spatial variability of copper complexation by strong chelators in the Sargasso Sea - *Deep-Sea Res. , Part I: Oceanographic Research Papers*, **42:** 1273-95.

Moffett, J. W. & Brand, L. E. (1996) - Production of strong, extracellular Cu chelators by marine cyanobacteria in response to Cu stress - *Limnol. Oceanogr.*, **41:** 388-395.

Moore, P. G. & Rainbow, P. S. (1987) - Copper and zinc in an ecological series of talitroidean *Amphipoda* (Crustacea). - *Oecologia*, **73:** 120-126.

Mora, P., 1998. Caractérisation des cholinestérases de trois mollusques bivalves: *Mytilus edulis, Mytilus galloprovincialis* et *Corbicula fluminea*. Contribution au développement d'un biomarqueur de contamination des milieux marins et dulçaquicoles. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux.

Morelli, N. M. & Pratesi, E. (1997) - Production of phytochelatins in the marine diatom *Phaeodactymum tricornutum* in response to copper and cadmium exposure. - *Bull. Contam. Toxicol.*, **59:** 657-664.

Moriarty, F. (1999) - The study of pollutants in Ecosystems. 3ième édition - Academic press, Londres.

Morrison, G. M. & Florence, T. M. (1990) - Influence of complexing agents and surfactants on metal speciation analysis in road runoff - *Sci Total Environ*, **93:** 481-488.

Mortimer, R. J. G. & Rae, J. E. (2000) - Metal Speciation (Cu, Zn, Pb, Cd) and Organic Matter in Oxic to Suboxic Salt Marsh Sediments, Severn Estuary, Southwest Britain - *Mar. Pollut. Bull.*, **40:** 377-386.

Mouabad, A., 1991. Toxicité comportementale et physiologie (filtration, respiration) des métaux lourds (Cu, Zn, Hg, Cd et Pb) chez la moule d'eau douce *Dreissena polymorpha* Pallas. Thèse de Doctorat, Université de Metz, pp. 240.

Mouabad, A. & Pihan, J. C. (1992) - The pumping behavior response of *Dreissena polymorpha* to pollutants. A method for toxicity screening. - In: Newmann/Jenner (ed.): *The Zebra mussel Dreissena polymorpha* - Gustav Fisher Verlag, Stuttgart-Jena-New York, Limnologie Aktuell. Vol 4.

Mouneyrac, C., Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., Cottier, A., Rainbow, P. S. & Smith, B. D. (2002) - Partitioning of accumulated trace metals in the talitrid amphipod crustacean *Orchestia gammarellus*: a cautionary tale on the use of metallothionein-like proteins as biomarkers - *Aquatic Toxicol.*, **57:** 225-242.

Mouthon, J. (1981) - Sur la présence en France et au Portugal de *Corbicula* (Bivalvia: Corbiculoïdae) originaire d'Asie. - *Basteria*, **45:** 109-116.

Msaky, J. J. & Calvet, R. (1990) - Adsorption behavior of copper and zinc in soils: Influence of pH on adsorption characteristics. - *Soil Sci.*, **150:** 513-522.

Muller, F. L. L. (1996) - Interactions of copper, lead and cadmium with the dissolved, colloidal and particulate components of estuarine and coastal waters - *Mar. Chem.*, **52:** 245-268.

Muller, F. L. L. (1998) - Colloid/Solution Partitioning of Metal-Selective Organic Ligands, and its Relevance to Cu, Pb and Cd Cycling in the Firth of Clyde - *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **46:** 419-437.

Muller, F. L. L., Gulin, S. B. & Kalvoy, A. (2001) - Chemical speciation of copper and zinc in surface waters of the western Black Sea - *Mar. Chem.*, **76:** 233-251.

Munger, C. & Hare, L. (1997) - Relative importance of water and food as cadmium sources to an aquatic insect (*Chaoborus puntipennis*): implication for predicting Cd bioaccumulation in nature. - *Environ. Sci. Technol.*, **31:** 891-895.

Munkittrick, K. R. & Mc Carty, L. S. (1995) - An integrated approach to aquatic ecosystem health: top-down, bottom-up or middle-out? - *J. Aquat. Ecosyst. Health.*, **4:** 77-90.

N.

Nakanishi, H., Ukita, M., Sekine, M. & Murakami, S. (1989) - Mercury pollution in Tokuyama Bay. - *Hydrobiol.*, **176/177:** 197-211.

Nalepa, T. F. & Landrum, P. F. (1988) - Benthic invertebrates and contaminant levels in the Great lakes:effects, fates and role in cycling. - In: Evans, M. S. (ed.): *Toxic Contaminants and Ecosystem Health: A Great Lake Focus.* - John WIley, New York, pp. 77-99.

Nalepa, T. F., Cavaletto, J. F., Ford, M., Gordon, W. M. & Wimmer, M. (1993) - Seasonal and annual variation in weight and biochemical content of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha,* in Lake St. Clair. - *Great Lakes Res.*, **19:** 541-552.

Nalepa, T. F., Wojcik, J. A., Fanslow, D. L. & Lang, G. A. (1995) - Initial colonization of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in Saginaw Bay, Lake Huron: population recruitement, density, and size structure. - *Great Lakes Res.*, **21:** 417-434.

Nassiri, Y., Rainbow, P. S., Amiard-Triquet, C., Rainglet, F. & Smith, B. D. (2000) - Trace metal detoxification in the ventral caeca of *Orchestia gammarellus.* - *Mar. Biol.*, **136:** 477-484.

Naylor, C., Pindar, L. & Calow, P. (1990) - Inter- and intraspecific variation in sensitivity to toxins; the effects of acidity and zinc on the freshwater crustaceans *Asellus aquaticus* (L.) and *Gammarus pulex* (L.) - *Wat. Res.*, **24:** 757-762.

Neubecker, T. & Allen, H. (1983) - The measurement of complexation capacity and conditional stability constants for ligands in natural waters - A review. - *Wat. Res.*, **17:** 1-14.

Neumann, D. & Jenner, H. A., 1992. The zebra mussel *Dreissena polymorpha.* Limnologie aktuell 4, Verlag, G. F., (ed.), Stuttgart.

Newman, M. C. & Jagoe, C. H. (1994) - Ligands and the bioavailability of metals in aquatic environments. - In: Hamelink, J. L., Landrum, P. F., Bergmann, H. L., & Benson, W. H. (eds.): *Physical, Chemical and Biological Interactions.* - Lewis, Boca Raton, pp. 5-22.

Nieboer, E. & Richardson, D. H. (1980) - Replacement of the monodescript term 'Heavy metals' by a biologically and chemically significant classification of metal ions. - *Environ. Poll., Series B: Chemical and Physical*, **1:** 3-26.

Nor, Y. M. (1987) - Ecotoxicity of copper to aquatic biota: a review. - *Environ Res*, **43:** 274-282.

Nott, J. A. & Nicolaidou, A. (1990) - Transfer of metal detoxification along marine food chains. - *Mar. biol. assess. UK*, **70:** 905-912.

Nriagu, J. O. (1979) - Copper in the environment: Part 1. Ecological cycling. - - John Wiley &Sons Ltd, New York, pp. 43-79.

Nugegoda, D. & Rainbow, P. S. (1987) - The effect of temperatrure on zinc regulation by the decapod crustacean *Palaemon elegans* - *Ophelia 27*, 13-30.

Nugegoda, D. & Rainbow, P. S. (1988) - Zinc uptake and regulation by the sublittoral prawn *Pandalus montagui* (Crustacean: Decapoda) - *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **26:** 619-632.

Nugegoda, D. & Rainbow, P. (1988) - Effect of chelating agent (EDTA) on zinc uptake and regulation by *Palaemon elegans* (Crustacea Decapoda). - *Mar. biol. assess. UK*, **68**.

O.

O'Connor, D. J. (1988) - Models of sorptive toxic substances in freshwater sytems. I. Basic equations. - *Environ Engrg*, **114:** 507-532.

Oste, L. A., Dolfing, J., Ma, W. C. & Lexmond, T. M. (2001) - Cadmium uptake by earthworms as related as availability In the soil and the intestine. - *Environ. Toxicol. Chem.*, **20:** 1785-1791.

Ouddane, B., Fischer, J. C. & Wartel, M. (1992) - Evaluation statistique de la répartition des métaux en traces CD, Pb, Cu, Zn et Mn dans la seine et son estuaire. - *Oceanologica Acta*, **15:** 347-354.

Ovari, M., Zaray, G. & Hassler, J. (2002) - Solid sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometric method for analysis of amphipods (*Dikerogammarus villosus*) samples. - *Microchemical Journal*, **73:** 125-130.

Owens, R. E., Balls, P. W. & Price, N. B. (1997) - Physicochemical Processes and their Effects on the Composition of Suspended Particulate Material in Estuaries: Implications for Monitoring and Modelling - *Mar. Pollut. Bull.*, **34:** 51-60.

P.

Pagenkopf, G. K., Russo, R. C. & Thurston, R. V. (1974) - Effects of complexation on toxicity of copper to fishes. - *Journal Fisheries Research Board of Canada*, **31**.

Pagenkopf, G. K. (1983) - Gill surface interaction model for trace-metal toxicity to fishes: role of complexation, pH, and water hardness (Cd Cu Zn). - *Environ. Sci. Technol.*, **17:** 342-347.

Pain, S., 2003. Potentiel biomarqueur du mécanisme de défense xénobiotique (MDMX) chez Dreissena polymorpha pour le suivi de la pollution organique des eaux douce. Thèse de Doctorat, Université de Metz.

Paulauskis, J. D. & Winner, R. W. (1988) - Effects of water hardness and humic acid on zinc toxicity to Daphnia magna Straus. - *Aquatic Toxicol.*, **12:** 273–290.

Pawlik-Skowronska, B. (2001) - Phytochelatin production in freshwater algae *Stigeoclonium* in response to heavy metals contained in mining water; effects of some environmental factors - *Aquatic Toxicol.*, **52:** 241-249.

Peijnenburg, W. J. G. M., Posthuma, L., Eijsackers, H. J. P. & Allen, H. E. (1997) - A conceptual framework for implementation of bioavalability of metals for environmental management purposes. - *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **37:** 163-172.

Peijnenburg, W. J. G. M., Baerseman, R., De Groot, A., Jager, T., Posthuma, L. & Van Veen, R. P. M. (1999a) - Relating environmental availability to bioavailability: soil-type-dependant metal accumulation in the oligochaete *Eisena adrei*. - *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **44:** 294-310.

Peijnenburg, W. J. G. M., Posthuma, L., Zweers, P. G. C., Baerseman, R., De Groot, A., Van Veen, R. P. M. & Jager, T. (1999b) - Prediction of metal bioavailability in Dutch Field soils for the oligocaete *Enchytraeus crypticus*. - *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **43:** 170-186.

Pempkowiak, J., Chiffoleau, J. F. & Staniszewski, A. (2000) - The vertical and horizontal distribution of selected trace metals in the baltic sea off Poland. - *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **51:** 115-125.

Pentreath, R. J. (1973) - The accumulation from water of ^{65}Zn, ^{54}Mn, ^{58}Co, and ^{59}Fe by the mussel, *Mytilus edulis*. - *Mar. biol. assess. UK*, **53:** 127-143.

Peres, I. & Pihan, J. C. (1991a) - Copper LC50 to Cyprinus carpio. Influence of hardness, seasonal variation, proposition of maximum acceptable toxicant concentration. - *Environ.Technol.*, **12:** 161-167.

Phelps, H. L., Hardy, J. T., Pearson, W. H. & Apts, C. W. (1983) - Clam burrowing behaviour: inhibition by copper-enriched sediments. - *Mar. Pollut. Bull.*, **14:** 452-455.

Phillips, D. J. H. (1976) - The common mussel Mytilus edulis as an indicator of pollution by zinc, cadmium, lead and copper. I. Effects of environmental variables on uptake of metals - *Mar. Biol.*, **37:** 59-69.

Phillips, G. R., Lenhart, T. E. & Gregory, R. W. (1980) - Relations between trophic position and mercury accumulation among fishes from the Tongue River Reservoir, Montana. - *Environ. Res.*, **22:** 73-80.

Phillips, D. J. H. & Rainbow, P. S. (1988) - Barnacles and mussels as bioindicator of trace elements: a comparative study. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **49:** 83-93.

Phillips, D. J. H. & Rainbow, P. S. (1994) - Biomonitoring of trace aquatic contaminants, second edition. - Chapman and Hall, London.

Phipps, G. L., Mattson, V. R. & Ankley, G. T. (1995) - Relative sensitivity of three freshwater benthic macroinvertebrates to ten contaminants - *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **28:** 281-286.

Pihan, J. C. (1989) - Suivi hydrobiologique de la retenue du Mirgenbach, Université de Metz.

Pihan, F., 2001. Caractérisation de Mollusques Gastéropodes Terrestres en tant que Bioindicateurs de la Contamination Polymétallique (Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Zn, Cu, Cd et Pb). Thèse de Doctorat, Université de Metz, pp. 422.

Playle, R. A., Dixon, D. R. & Burmison, K. (1993a) - Copper and cadmium binding to fish gills: modification by dissolved organic carbon ans synthetic ligands. - *Can. J. Fish Aquati. Sci.*, **50:** 2667-2677.

Playle, R. A., Dixon, D. R. & Burmison, K. (1993b) - Copper and cadmium binding to fish gills: estimates of metals-gill stability constants and modelling of metal accumulation. - *Can. J. Fish Aquati. Sci.*, **50:** 2678-2687.

Postma, J. F., Kyed, M. & Admiraal, W. (1995) - Site specific differentiation in metal tolerance in the midge *Chironomus riparius* (*Diptera, Chironomidae*) - *Hydrobiol.*, **315:** 159-165.

Présing, M., V-.Balogh, K. & Salanki, J. (1993) - Cadmium uptake and dépuration in differents organs of *Lymnaea stagnalis* L. and effect of cadmium on the natural zinc level. - *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **24:** 28-34.

Price, N. M. & Morel, F. M. M. (1990) - Cadmium and cobalt substitutuion for zinc in a marine diatom. - *Nature*, **344:** 658-660.

Q.

Qiu, J. W., Qian, P. Y. & Wang, W. X. (2001) - Contribution of dietary bacteria to metal accumulation in Slipper limpet. - *Aquatic Microbial Ecology*, **25:** 151-151.

R.

Radwan, S., Kowalik, W. & Kornijow, R. (1990) - Accumulation of heavy metals in a lake ecosystem. - *Sci Total Environ*, **96:** 121-129.

Rai, L. C., Tyagi, B., Mallick, N. & Rai, P. K. (1995) - Interactive effects of UV-B and copper on photosynthetic activity of the cyanobacterium *Anabaena doliolum*. - *Environ. Exp. Bot.*, **35:** 177-185.

Rainbow, P. S. (1987) - Heavy metals in Barnacles. - In: Southward, A. J. (ed.): *Barnacle biology, Crustacean Issue 5.* - A.A. Balkema, Rotterdam, pp. 405-417.

Rainbow, P. S. (1988) - The significance of trace metal concentrations in decapods. - In: Fincham, A. A. & Rainbow, P. S. (eds.): *Aspects of decapod crustacean biology.* - Symposia of the Zoological Society of London., London, 59, pp. 291-313.

Rainbow, P. S. & White, S. L. (1989) - Comparative strategie of heavy metal accumulation by crustaceans, zinc, copper and cadmium in a decapod, an amphipod and a barnacle. - *Hydrobiol.*, **174:** 245-253.

Rainbow, P. S. (1990) - Heavy metal levels in marine invertebrates. - In: Furness RW, R. P. (ed.): *Heavy metals in marine environment.* - CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 67-79.

Rainbow, P. S. (1992) - The significance of trace metal concentration in marine Invertebrate. - In: R., D. & P.S., R. (eds.): *Ecotoxicology of metals in Invertebrates* - Boca Raton, 1, pp. 3-23.

Rainbow, P. S. (1993) - The significance of trace metal concentration in marine invertebrates. - In: Dallinger, R. & Rainbow, P. S. (eds.): *Ecotoxicology of metals in invertebrates.* - Lewis Publishers, Boca Raton, USA, pp. 4-23.

Rainbow, P. S. & Dallinger, R. (1993) - Metal uptake, regulation and excretion in freshwater invertebrates. - In: Dallinger, R. & Rainbow, P. (eds.): *Ecotoxicology of metals in Invertebrates.* - Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 119-132.

Rainbow, P. S. (1996) - Heavy metals in aquatic invertebrates. - In: Beyer, W. N., Heinz, G. A., & Redmon-Norwood, A. W. (eds.): *Environmental contaminants in wildlife: Interprating tissus concentrations.* - Lewis publisher, Boca Raton, pp. 405-425.

Rainbow, P. S. (1998) - Phylogeny of trace metal uptake of crustaceans. - In: Langston, W. J. & Bebiano, M. (eds.): *Metal metabolism in aquatic environments.* - Chapman and Hall, London, pp. 285-319.

Rainbow, P. S. (2000) - Ecophysiology and trace metal uptake in crabs and other crustaceans - *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **126:** 124.

Rainbow, P. S. & Wang, W.-X. (2001) - Comparative assimilation of Cr, SE and Zn by the barnacle *Elminius modestus* from phytoplankton and zooplankton diets. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **218:** 239-248.

Rainbow, P. S. (2002) - Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? - *Environ. Poll.*, **120:** 497-507.

Ramade, F. (1992) - Précis d'écotoxicologie - Masson, Paris, pp. 300.

Ramos, M. A., Fiol, S., Lopez, R., Antelo, J. M. & Arce, F. (2002) - Analysis of the effect of pH on Cu^{2+}-fulvic acid complexation using a simple electostatic model - *Environ. Sci. Technol.*, **36:** 3109-3113.

Rao, D. & Khan, M. A. Q. (2000) - Zebra mussels: Enhancement of copper toxicity by high temperature and its relationship with respiration and metabolism - *Water Environ Res*, **72:** 175-178.

Reed-Judkins, D. K. (1998) - Foodborne uptake and sublethal effects of copper and zinc to freshwater snails - *Hydrobiol.*, **364:** 105 - 118.

Reese, R. N. & Wagner, G. J. (1987) - Properties of tabacco (*Nicotina tabacum*) cadmium-binding peptide(s) unique non-metallothionein cadmium ligands. - *Biochem. J.*, **241:** 641-647.

Regnier, P. & Wollast, R. (1993) - Distribution of trace metals in suspended matter of the Scheldt estuary. - *Mar. Chem.*, **43:** 3-19.

Rehwoldt, R., Menapace, L. W., Nerrie, B. & Alessandrello, D. (1972) - The effect of increased temperature upon the acute toxicity of some heavy metal ions. - *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **8:** 91-96.

Reid, R. G. B., McMahon, R. F., Foighil, D. & Finnigan, R. (1992) - Anterior inhalant currents and pedal feeding in bivalves. - *The veliger*, **35:** 93-104.

Reinfelder, J. R. & Fisher, N. S. (1991) - The assimilation of elements ingested by marine copepods. - *Science*, **251:** 794-796.

Reinfelder, J. R. & Fisher, N. S. (1994a) - The assimilation of elements ingested by marine planktonic bivalve larvae. - *Limnol. Oceanogr.*, **39:** 12-20.

Reinfelder, J. R. & Fisher, N. S. (1994b) - The retention of elements absorbed by juvenile fish (*Menidia menidia, M. beryllina)* from zooplankton prey. - *Limnol. Oceanogr.*, **39:** 1783-1789.

Reinfelder, J. R., Fisher, N. S., Luoma, S. N., Nichols, J. W. & Wang, W.-X. (1998) - Trace element trophic transfer in aquatic organisms: A critique of the kinetic model approach - *Sci Total Environ*, **219:** 117-135.

Rijstenbil, J. W., Bakker, C., Jackson, R. H., Merks, A. G. A. & De Visscher, P. R. M. (1993) - Spatial and temporal variation in community composition and photosynthetic characteristics of phytoplankton in the upper Westerschelde Estuary (Belgium, SW Netherlands) - *Hydrobiol.*, **269-270:** 263-273.

Rijstenbil, J. W. & Gerringa, L. J. A. (2002) - Interactions of algal ligands, metal complexation and availability, and cell responses of the diatom *Ditylum brightwellii* with a gradual increase in copper - *Aquatic Toxicol. (Amsterdam, Netherlands)*, **56:** 115-131.

Ringwood, A. H. (1992) - Comparative sensitivity of gametes and early stages of a sea urchin species (*Echinometra mathaei*) and a bivalve species (*Isognomon californicum*) during metal exposures. - *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **22:** 288-295.

Robbe, D. (1981) - Pollution métallique du milieu naturel. Guide méthodologique de leur étude à partir des sédiments, Rapport de recherche LPC n°104., pp. 83.

Roesijadi, G. & Fellingham, G. W. (1987) - Influence of Cu, Cd, and Zn pre-exposure on Hg toxicity in the mussel *Mytilus edulis*. - *Can. J. Fish Aquati. Sci.*, **44:** 680-684.

Roesijadi, G. (1992) - Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals - *Aquatic Toxicol.*, **22:** 81-114.

Roesijadi, G. & Robinson, W. E. (1994) - Metal regulation in aquatic animals: mechanisms of uptake, accumulation and release. - In: Malin, D. C. & Ostrander, G. K. (eds.): *Aquatic Toxicol.* - CRC Press 9, pp. 387-420.

Romeo, M. & Gnassia-Barelli, M. (1995) - Metal distribution in different tissues and in subcellular fractions of the Mediterranean clam *Ruditapes decussatus* treated with cadmium, copper, or zinc - *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, **111:** 457-463.

Rose, A. W. & Bianchi-Mosquera, G. C. (1993) - Adsorption of Cu, Pb, Zn, Co, Ni and Ag on geothite and hematite: A control on metal mobilization from Red Beds into Stratiform Copper deposits. - *Econ. Geol.*, **88:** 1226-1236.

Rozan, T. F., Lassman, M. E., Ridge, D. P. & Luther, G. W. (2000) - Evidence for multinuclear Fe, Cu and Zn molecular sulfide cluster in oxic river waters. - *Nature.*, **406:** 879-882.

S.

Saeki, K., Kunito, T., Oyaizu, H. & Matsumoto, S. (2002) - Relationships between bacterial tolerance levels and forms of copper and zinc in soils - *J. Environ. Qual.*, **31:** 1570-1575.

Salomons, W. (1988) - Behaviour ad impact assessment of heavy metals in estuary and coastal zone. - In: Seeliger, U., De Lacerda, L. D., & Patchincelam, S. R. (eds.): *Metals in coastal environments of Latin America* - Springer, New York, pp. 159-198.

Santore, R. C., Di Toro, D. M. & Paquin, P. R. (1999) - A biotic ligand model of the acute toxicity in freshwater fish and *Daphnia.*, Environmental protection agency. Office of water regulations and standards.

Santore, R. C., Di Toro, D. M., Paquin, P. R., Allen, H. E. & Meyer, J. S. (2001) - Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 2. Application to acute copper toxicity in freshwater fish and *Daphnia.* - *Environ. Toxicol. Chem.*, **20:** 2397-2402.

Schecher, W. D. & McAvoy, D. C. (1992) - MINEQL+: Asoftware environment for chemical equilibrium modelling. - *Computer Environ Urban Syst*, **16:** 65-76.

Scheifler, R., Brahim, M. B., Gomot-de Vaufleury, A., Carnus, J.-M. & Badot, P.-M. (2003) - A field method using microcosms to evaluate transfer of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn from sewage sludge amended forest soils to *Helix aspersa* snails - *Environ. Poll.*, **122:** 343-350.

Schramel, O., Michalke, B. & Kettrup, A. (2000) - Study of the copper distribution in contaminated soils of hop fields by single and sequential extraction procedures. - *Sci Total Environ*, **263:** 11-22.

Schreiber, D. R., Millero, F. J. & Gordon, A. S. (1990) - Production of extracellular copper-binding compound by the heterotrophic marine bacterium *Vibrio alginolyticus.* - *Mar. Chem.*, **28:** 275-284.

Scott, D. M. & Major, C. W. (1972) - The effect of copper (II) on survival, growth, respiration and heart rate in the common blue mussel, *Mytilus edulis.* - *Biol. Bull.*, **14:** 679-688.

Secor, C. L., Mills, E. L., Harshbarger, J., Kuntz, H. T., Gutenmann, W. H. & Lisk, D. J. (1993) - Bioaccumulation of toxicants, element and nutrient composition, and soft tissue histology of zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) from New York State water. - *Chemosphere*, **26:** 1559-1579.

Shafer, M. M., Overdier, J. T., Phillips, H., Webb, D., Sullivan, J. R. & Armstrong, D. E. (1999) - Trace metal levels and partitioning in Wisconsin rivers - *Water, Air, and Soil Pollution*, **110:** 273-311.

Sharma, V. & Millero, F. (1988) - Oxidation of copper (I) in seawater. - *Environ sci Technol*, **22:** 768-771.

Sheenan, P., Miller, D. R., Butler, G. C. & Bourdeau, P. (1984) - Effects of pollutants at the ecosystem level. - Wiley J. & Sons, London, New York, pp. 443.

Shehata, F. H. A. & Whitton, B. A. (1981) - Fiels and laboratory studies on blue-green algae from aquatic sites with high levels of zinc. - *Verh Int Verein Limnol*, **21:** 1466–1471.

Sherba, M., Dunham, D. W. & Harvey, H. H. (2000) - Sublethal copper toxicity and food response in the freshwater crayfish *Cambarus bartonii* (Cambaridae, Decapoda, Crustacea) - *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **46:** 329-333.

Sholkovitz, E. R. (1985) - Redox-related geochemistry in lakes; alkali metals, alkaline earth elements, and ^{137}Cs. - In: Stumm, W. (ed.): *Chemical Processes in Lakes.* - John Wiley et Sons, New York, pp. 119-142.

Sigg, L., Sturm, M., Davis, J. & Stumm, W. (1982) - Metal transfer mechanisms in lakes. - *Thalassia Jugoslavica*, **18:** 293-311.

Sigg, L. (1985) - Metal transfer mechanisms in lakes: the role of settling particles. - In: Stumm, W. (ed.): *Chemical Processes in Lakes.* - John Wiley & Sons., New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore., pp. 283-289.

Sigg, L., Kuhn, A., Xue, H. & Kistler, D. (1995) - Cycles of traces elements (copper and zinc) in a eutrophic lake: Role of speciation and sedimentation, in aquatic chemistry: INterfacial and interspecies process. - *Adv. Chem. Ser.*, **244:** 213-247.

Silverberg, B. A., Stokes, P. M. & Ferstenberg, L. B. (1976) - Intranuclear complexes in copper tolerant green algae. - *J. Cell. Physiol.*, **69:** 210-214.

Simkiss, K. & Taylor, M. G. (1989a) - Convergence of cellular systems of metal detoxification. - *Mar. Environ. Res.*, **28:** 211-219.

Simkiss, K. & Taylor, M. G. (1989b) - Metal fluxes accross the membrane. - *Rev. Aquat. Sci.*, **1:** 173-188.

Simkiss, K. & Taylor, M. G. (1995) - Transport of metals accross membranes. - In: Tessier, A. & Turner, D. R. (eds.): *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems.* - Wiley, New york, pp.

Simpson, S. L., Simon, C. A. & Batley, G. E. (1998) - Effect of short term resuspension events on trace metal speciation in polluted anoxic sediments. - *Environ. Sci. Technol.*, **32:** 620-625.

Sinley, J. R., Goettl, J. P. & Davies, P. H. (1974) - The effects of zinc on rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in hard and soft water. - *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **12:** 193–201.

Slooff, W., De Zwart, D. & Marquenie, J. M. (1983) - Detection limit of a biological monitoring system for chemical water pollution based on mussel activity. - *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **30:** 400-405.

Smith, D. S., Bell, R. A. & Kramer, J. R. (2002) - Metal speciation in natural waters with emphasis on reduced sulfur groups as strong metal binding sites - *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicology & Pharmacology*, **133:** 65-74.

Snell, T. W., Moffat, B. D., Janssen, C. R. & Personne, G. (1991) - Acute toxicity tests using rotifers: IV. Effect of cyst age, temperature, and salinity on the sensitivity of *Brachinus calyciflorus*. - *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **21:** 308-317.

Soto, M., Ireland, M. P. & Marigomez, I. (1997a) - The contribution of metal/Shell-weight index in target tissus to metal body burdens in sentinel marine molluscs.I *Littorina littorea*. - *Sci Total Environ*, **198:** 135-147.

Soto, M., Ireland, M. P. & Marigomez, I. (1997b) - The contribution of metal/Shell-weight index in target tissus to metal body burdens in sentinel marine molluscs. *2 Mytilus galloprovincialis*. - *Sci Total Environ*, **198:** 149-160.

Soto, M., Ireland, M. P. & Marigomez, I. (2000) - Changes in mussel biometry on exposure to metals: implication in estimation of metal bioavailability in "Mussel-Watch" programmes - *Sci Total Environ*, **247:** 175-187.

Spear, P. A. (1981) - Zinc in the aquatic environment: chemistry, distribution, and toxicology. - In: National Research Council of Canada, A. c. o. s. c. f. e. q. (ed.): *Zinc in the aquatic environment: chemistry, distribution, and toxicology* - Publications NRCC/CNRC, Ottawa, NRCC 17589, pp 1–145.

Sprenger, M. D., Mac Intosh, A. W. & Hoenig, S. (1988) - Concentration of trace elements in yellow perch (*Perca flavescens*) from six acidic lakes. - *Water Air and Soil Pollution*, **37:** 375-388.

Spry, D. J. & Wiener, J. G. (1991) - Metal bioavailability and toxicity to fish in low-alkalinity lakes: A critical review. – *Environ. Pollut.*, **71:** 243-304.

Stauber, J. L. & Florence, T. M. (1985a) - The influence of iron on copper toxicity to the marine diatom, *Nitzchia closterium* (Ehrenberg) W. Smith - *Aquatic Toxicol.*, **6:** 297-305.

Stauber, J. L. & Florence, T. M. (1985b) - Interaction of manganese: a mechanism by which manganese alleviates copper toxicity to the marine diatom, *Nitzchia closterium* (Ehrenberg) W. Smith. - *Aquatic Toxicol.*, **7:** 241-254.

Stauber, J. L. & Florence, T. M. (1987) - Mechanism of toxicity of ionic copper and copper complexes to algae. - *Mar. Biol.*, **94:** 511-519.

Stiff, M. J. (1971) - The chemical states of copper in polluted freshwater and a scheme of analysis to differential them. - *Wat. Res.*, **5:** 585-599.

Strömgren, T. (1982) - Effects of heavy metals (Zn, Hg, Cd, Pb, Ni) on the growth on the length of *Mytilus edulis*. - *Mar. Biol.*, **72:** 69-72.

Strömgren, T. (1986) - The combined effect of copper and hydrocarbons on the length growth of *Mytilus edulis*. - *Mar. Environ. Res.*, **19:** 252-258.

Stuijfzand, S. C., Helms, M., Kraak, M. H. S. & Admiraal, W. (1999a) - Interacting effects of toxicants and organic matter on the midge *Chironomus riparius* in polluted river water. - *Environ. Poll.*, **106:** 115-121.

Stuijfzand, S. C., Jonker, M. J., van Ammelrooy, E. & Admiraal, W. (1999b) - Species-specific responses to metals in organically enriched river water, with emphasis on effects of humic acids - *Environ. Poll.*, **106:** 115-121.

Stumm, W. & Morgan, J. J. (1996) - Aquatic-Chemical equilibria and rates in natural waters. - In: Sons, J. W. (ed.): - New-york, pp. 1-1022.

Sunda, W. G. & Guillard, R. R. L. (1976) - The relationshipsbetween cupric ion activity and the toxicity of copper to phytoplankton. - *J. Mar. Res.*, **34:** 511-529.

Sunda, W. G. & Gessner (1989) - The production of extracellular copper-binding ligands by marine and estuarine fungi. - *Chem. Speciat. Bioavail.*, **1:** 65-70.

Sunila, I. & Lindström, R. (1985) - Survival, groth and shell deformities of copper- and cadmium-exposed mussels (*Mytilus edulis* L.) in brackish water. - *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **21:** 555-565.

Suter II, G. W. (1993) - Ecological risk assessment. - Lewis, Boca Raton.

Sydeman, W. J. & Jarman, W. M. (1998) - Trace metals in seabirds, Steller sea lion, and forage fish and zooplankton from central California. - *Mar. Pollut. Bull.*, **36:** 828-832.

Szarek-Gwiazda, E. & Mazurkiewicz-Boron, G. (2002) - Deposition of copper in the eutrophic, submontane Dobczyce dam Reservoir (southern Poland) - Role of speciation - *Water Air and Soil Pollution*, **140:** 203-218.

T.

Tachet, H., Bournaud, M. & Richoux, P. (1996) - Introduction à l'étude des macroinvertébrés des eaux douces (systèmatique élémentaire et aperçu écologique) - centre régional de documentation Pédagogique de l'académie de Lyon, LYON, pp. 150.

Tang, D. G., Hung, C. C., Warnken, K. W. & Santschi, P. H. (2000) - The distribution of biogenic thiols in surface waters of Galveston Bay. - *Limnol. Oceanogr.*, **45:** 1289-1297.

Tanner, C. C. & Clayton, J. S. (1990) - Persistance of arsenic 24 year after sodium arsenite herbicide application to Lake Rotoroa, Hamilton, New Zealand. - *Mar. Fresh. Res.*, **24:** 173-179.

Tao, S., Long, A., Liu, C. & Dawson, R. (2000) - The influence of mucus on copper speciation in the gill microenvironment of carp (*Cyprinus carpio)* - *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **47:** 59-64.

Tayel, F. T. R. & Shriadah, M. M. A. (1996) - Fe, Cu, Mn, Pb and Cd in some fish species from Western Harbour of Alexandria, Egyp. - *Bull. Nat. Inst. Oceanogr. Fish.*, **22:** 85-96.

Temminghoff, E. J. M., Van der Zee, S. E. A. T. M. & Keiser, M. G. (1994) - The influence of pH on the adsorption and speciation of copper in a sandy soil. - *Soil Sci.*, **158:** 398-408.

Tessier, A. (1979) - Sequential extraction procedure for the speciation of trace metals. - *Analytical Chemistry*, **51:** 844-851.

Tessier, A. & Campbell, P. G. C. (1987) - Partitioning of trace metals in sediments: relationships with bioavailability. - *Hydrobiol.*, **149:** 43-52.

Tessier, A., Couillard, Y., Campbell, P. G. C. & Auclair, J. C. (1993) - Modeling Cd partitioning in oxic lake sediments and Cd concentration in the freshwater bivalve *Anodonta grandis*. - *Limnol. Oceanogr.*, **38:** 1-17.

Tessier, A., Campbell, P. G. C., Auclair, J. C. & Bisson, M. (1994) - Relationship between the partitioning of trace metals in sediments and their accumulation in the tissues of the freshwater mollusc *Elliptio complanata* in a mining area. - *Can. J. Fish Aquati. Sci.*, **41:** 1463-1472.

Tien, C. J. (2002) - Biosorption of metal ions by freshwater algae with different surface characteristics - *Process Biochem.*, **38:** 605-613.

Timmermans, K. R., Van Hattum, B., Kraak, M. H. S. & Davids, C. (1989) - Trace metals in a littoral foodweb: concentrations in organisms, sediment and water. - *Sci Total Environ*, **87/88:** 477-494.

Timmermans, K. R. (1993) - Accumulation of trace metals in freshwater invertebrates. - In: Dallinger, R. & Rainbow, P. S. (eds.): *Ecotoxicology of metals in invertebrates* - pp. 133-148.

Tipping, E. (1994) - WHAM- a chemical equilibrium model and computer code for waters, sediments, and soils incorporating a discrete site/electrostatic model of ion-binding by humic substances. - *Computer Geosciences*, **20:** 65-76.

Tipping, E., Lofts, S. & Lawlor, A. J. (1998) - Modelling the chemical speciation of trace metals in the surface waters of the Humber system - *Sci Total Environ*, **210-211:** 63-77.

Tomasik, P., Magadza, C. H. D., Mhizha, S. & Chirume, A. (1995) - The metal-metal interactions in biological systems. Part III. *Daphnia magna*. - *Water Air and Soil Pollution*, **82:** 695-711.

U.

Ure, A. (1993) - Speciation of heavy metals in soils and sediments. An acount of the improvement and haronization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the CEC. - *Internat. J. Environ. Analyt. Chem.*, **51:** 135-151.

US EPA (1984) - Health effects assessment for zinc (and compounds). Environmental Protection Agency (EPA/540/1-86/048).

Usero, J., Gamero, M., Morillo, J. & Gracia, I. (1998) - Comparative study of three sequential extraction procedures for metals in marine sediments. - *Environ. Internat.*, **24:** 487-496.

V.

Van Den Berg, C. M. G., Merks, A. G. A. & Duursma, E. K. (1987) - Organic complexation and its control of the dissolved concentrations of copper and zinc in the Scheldt estuary. - *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **24:** 785-797.

Van-Balogh, K., Fernandez, D. S. & Salanki, J. (1988) - Heavy metal concentrations of *Lymnaea stagnalis* L. in the environs of lake Balaton (Hungary). - *Wat. Res.*, **22:** 1205-1210.

Vazelle, D. & Gaber, E. (1994) - Spéciation et toxicité du cuivre et du zinc, EDF-DER, pp. 18.

Vega, M. M., Marigomez, J. A. & Angulo, E. (1989) - Quantitative alterations in the structure of the digestive cell of *Littorina littorea* on exposure to cadmium. - *Mar. Biol.*, **103:** 547-553.

Verveij, W., De Haan, H., De Boer, T. & Voerman, J. (1989) - Copper complexation in eutrophic and humic lake Tjeukemeer, the Netherland. - *Freshwater Biology.*, **21:** 427-436.

Verveij, W., Glazewski, R. & DeHaan, H. (1992) - Speciation of copper in relation to its bioavailability. - *Chem. Speciat. Bioavail.*, **4:** 43-52.

Viarengo, A. (1989) - Heavy metals in marine invertebrates: mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. A review - *Aquatic Sciences*, **1:** 295-317.

Villareal-Trevino, C. M., Obregon-Morales, M. E., Lozano-Morales, J. F. & Villegas-Navarro, A. (1986) - Bioaccumulation of lead, copper, iron and zinc by fish in a transect of Santa Catarina River in Cadereyta Jimenez, Nuovo Leon, Mexico. - *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **37:** 395-401.

Vinot, I., Morhain, E., Wagner, P. & Pihan, J. C., (2000) - Circulation du cuivre dans une retenue d'eau artificielle (eau, sédiments, organismes). 6ième CILEF, Clermont-Ferrand, 17-21 juil.

Vinot, I. & Pihan, J. C. (2001) - Suivi hydrobiologique de la retenue du Mirgenbach., Université de Metz.

Vinot, I. & Pihan, J. C. (2002) - Suivi hydrobiologique de la retenue du Mirgenbach., Université de Metz.

Visiki, I. & Rachlin, J. W. (1994a) - Acute and chronic exposure of Dunaliella salina and chlamydomonas bullosa to copper and cadmium: effects on ultrastructure. - *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **26:** 154-162.

Vranken, G., Tiré, C. & Heip, C. (1988) - The toxicity of paired metal mixtures to the nematode *Monhystera disjuncta* (Bastian, 1865). - *Mar. Environ. Res.*, **26:** 161–179.

W.

Walker, C. D. & Welch, R. M. (1987) - Low molecular weight complexes of ainc and other trace metals in Luttece leaf. - *J. Agr. Food Chem.*, **35:** 721-727.

Walker, C. H., Hopkins, S. P., Sibly, R. M. & Peakall, D. B. (1996) - Principles of Ecotoxicology. - Taylor & Francis, London.

Wallace, W. K. & Lopez, G. R. (1996) - Relationships between suncellular cadmium distribution in prey and cadmium transfer to a predator. - *Estuaries*, **19:** 923-930.

Wallace, G. T. & Lopez, G. R. (1997) - Bioavailability of biologically sequestred cadmium and the implications of detoxification. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **140:** 91-113.

Wang, W. X., Fisher, N. S. & Luoma, S. N. (1995) - Assimilation of trace elements ingested by the mussel *Mytilus edulis:* effects of algal food abundance. - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **129:** 165-176.

Wang, W.-X., Fisher, N. S. & Luoma, S. N. (1996) - Kinetic determinations of trace element bioaccumulation in the mussel *Mytilus edulis* - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **140:** 91-113.

Wang, W.-X. & Fisher, N. S. (1996a) - Assimilation of trace elements and carbon by the mussel *Mytilus edulis:* effects of food composition - *Limnol Oceanogr*, **41:** 197-207.

Wang, W.-X. & Fisher, N. S. (1996b) - Assimilation of trace elements by the mussel *Mytilus edulis:* effects of diatom chemical composition - *Mar. Biol.*, **125:** 715-724.

Wang, W.-X. & Fisher, N. S. (1997a) - Modeling the influence of body size on trace element accumulation in the mussel *Mytilus edulis.* - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **161:** 103-115.

Wang, W.-X. & Fisher, N. S. (1997b) - Modeling metal bioavailability for marine mussels - *Environ. Contam. Toxicol.*, **151:** 39-65.

Wang, W.-X. & Fisher, N. S. (1998a) - Accumulation of trace elements in a marine copepod - *Limnol. Oceanogr.*, **43:** 273-283.

Wang, W.-X. & Fisher, N. S. (1998b) - Excretion of trace metal elements in marine copepods and its bioavailability to diatoms. - *Mar. Res.*, **56:** 713-729.

Wang, D., Couillard, Y., Campbell, P. G. C. & Jolicoeur, P. (1999) - Changes in subcellular metal partitioning in the gills of freshwater bivalves (Pyganodon grandis) living along an environmental cadmium gradient - *Can. J. Fish Aquati. Sci.*, **56:** 774-784.

Wang, W.-X. & Fisher, N. S. (1999a) - Effects of calcium and metabolic inhibitors on trace element uptake in two marine bivalves - *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **236:** 149-164.

Wang, W.-X. & Fisher, N. S. (1999b) - Delineating metal accumulation pathways for marine invertebrates - *Sci Total Environ*, **237-238:** 459-472.

Wang, W.-X. & Fishers, N. S. (1999c) - Assimilation efficiencies of chemical contaminants in aquatic invertebrates: A synthesis - *Environ. Toxicol. Chem.*, **18:** 2034-2045.

Warren, L. A. & Zimmerman, A. P. (1994) - Influence of temperature and NaCl on cadmium, copper and zinc partitioning among suspended particulate and dissolved phases in an urban river - *Wat. Res.*, **28:** 1921-1931.

Watson, T. A. & McKeown, B. A. (1976) - The effect of sublethal concentrations of zinc on growth and plasma glucose levels in rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson). - *J. Wildl. Dis.*, **12:** 263–270.

Way, C. M., Hornbach, D. J., Miller-Way, C. A., Payne, B. S. & Miller, A. C. (1990) - Dynamics of filter feeding in *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae) - *Limnol. Oceanogr.*, **43:** 753-762.

Weeks, J. M. & Rainbow, P. S. (1990) - A dual-labelling technique to measure the relative assimilation efficiencies of invertebrates taking up trace metals from food - *Functional Ecology*, **4:** 711-717.

Weeks, J. M. & Rainbow, P. S. (1991) - The uptake and accumulation of zinc and copper from solution by two species of talitrid amphipods (Crustacea) - *Mar. biol. assess. UK*, **71:** 811-826.

Weeks, J. M. & Rainbow, P. S. (1992) - The effect of salinity on copper and zinc concentrations in three species of talitrid amphipods (Crustacea) - *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Comparative Pharmacology and Toxicology*, **101:** 399-405.

Weeks, J. M. & Rainbow, P. S. (1993) - The relative importance of food and seawater as sources of copper and zinc to talitrid amphipods (Crustacea; Amphipoda: Talitridae) - *Journal of Applied Ecology*, **30:** 722-735.

Wells, M. L., Kozelka, P. B. & Bruland, K. W. (1998) - The complexation of 'dissolved' Cu, Zn, Cd and Pb by soluble and colloidal organic matter in Narragansett Bay, RI - *Mar. Chem.*, **62:** 203-217.

White, D. S., (1979) - The effect of lake-level fluctuations on *corbicula* and other pelecypods in Lake Tesoma, Texas and Oklahoma. First international *Corbicula* Symposium, Fort Worth: pp. 82-88.

White, S. L. & Rainbow, P. S. (1982) - Regulation and accumulation of copper, zinc and cadmium by the shrimp *Palaemon elegans.* - *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **8:** 95.

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.

Windom, H. L., Byrd, T., Smith, R. G. & Huan, F. (1991) - Inadequacy of NASQUAN data for assessing metal trends in the nation's rivers. - *Environ. Sci. Technol.*, **25:** 1137-1142.

Winner, R. W. & Gauss, J. D. (1986) - Relationship between chronic toxicity and bioaccumulation of copper, cadmium and zinc as affected by water hardness and humic acid. - *Aquatic Toxicol.*, **8:** 149–161.

Wood, A. (1983) - Available copper ligands and the apparent bioavailability of copper to natural phytoplankton assemblage. - *Sci Total Environ*, **28:** 51-64.

Wood, C. M. (1992) - Flux measurements as indices of H+ and metal effects, on freshwater fish. - *Aquatic Toxicology*, **22:** 239-264.

World Health Organization, 1998. Environmental health criteria 200 - Copper. Safety, I. p. o. c., (ed.), Geneve.

World Health Organization (2001) - Envrironmental health criteria 221 - Zinc -, Geneve.

Wurtsbaugh, W. A. & Horne, A. J. (1982) - Effects of copper on nitrogen fixation and growth of blue-green algae in natural plankton associations. - *Can. J. Fish Aquati. Sci.*, **39:** 1636-1641.

Xu, Y. & Wang, W.-X. (2002) - The assimilation of detritus-bound metals by the marine copepod *Acartia spinicaula:* a note - *Limnol. Oceanogr.*, **47:** 604-610.

Xue, H.-B. & Sigg, L. (1990) - Binding of Cu (II) to algae in a metal buffer. - *Wat. Res.*, **24:** 1129-1136.

X.

Xue, H., Gonçalves, M. L., Reutlinger, M., Sigg, L. & Stumm, W. (1991) - Copper (I) in fogwater: Determination and interactions with sulfite. - *Environ. Sci. Technol.*, **25:** 1716-1722.

Xue, H. & Sigg, L. (1993) - Free cupric ion concentration and copper (II) speciation in a eutrophic lake - *Limnol. Oceanogr.*, **38:** 1200-13.

Xue, H., Kistler, D. & Sigg, L. (1995) - Competition of copper and zinc for strong ligands in a eutrophic lake. - *Limnol. Oceanogr.*, **40:** 1142-1152.

Y.

Yan, H. & Pan, G. (2002) - Toxicity and bioaccumulation of copper in three green microalgal species - *Chemosphere*, **49:** 471-476.

Yang, M. S. & Thompson, J. A. J. (1996) - Binding of endogenous copper and zinc to cadmium-induced metal-binding proteins in various tissues of *Perna viridis*. - *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **30:** 267-273.

Z.

Zadhin, V. I. (1965) - Mollusks of fresh and brackish waters of USSR (Transplanted from Russian). - *Academy of Sciences of the USSR*, p.368.

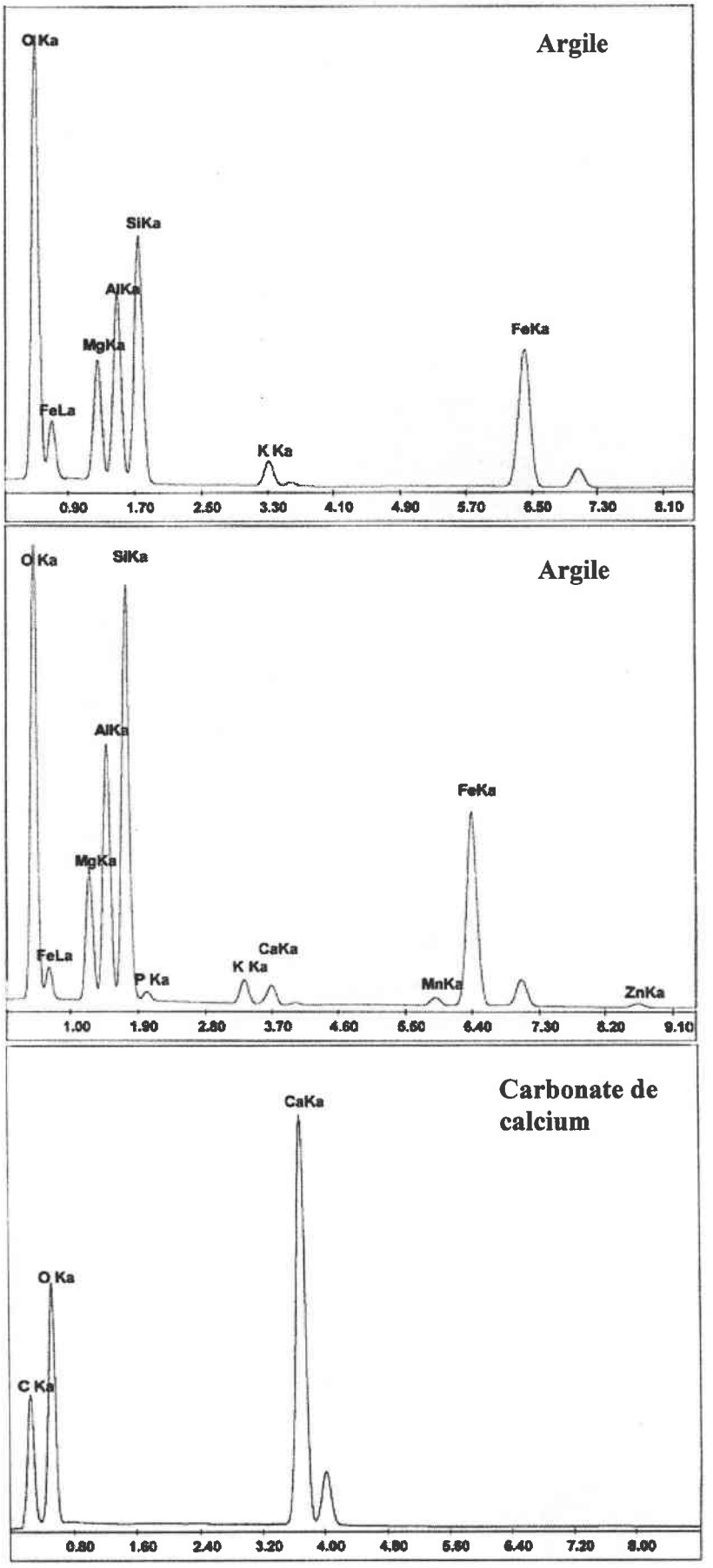
Zhang, H. & Davison, W. (1995) - Performance Characteristics of diffusion Gradients in Thin Films for in Situ Measurement of Trace Metals in Aqueous Solution. - *Anal. Chem.*, **67:** 3391-3400.

Zhou, J. L., Huang, P. L. & Lin, R. G. (1998) - Sorption and desorption of Cu and Cd by macroalgae and microalgae - *Environ. Poll.*, **101:** 67-75.

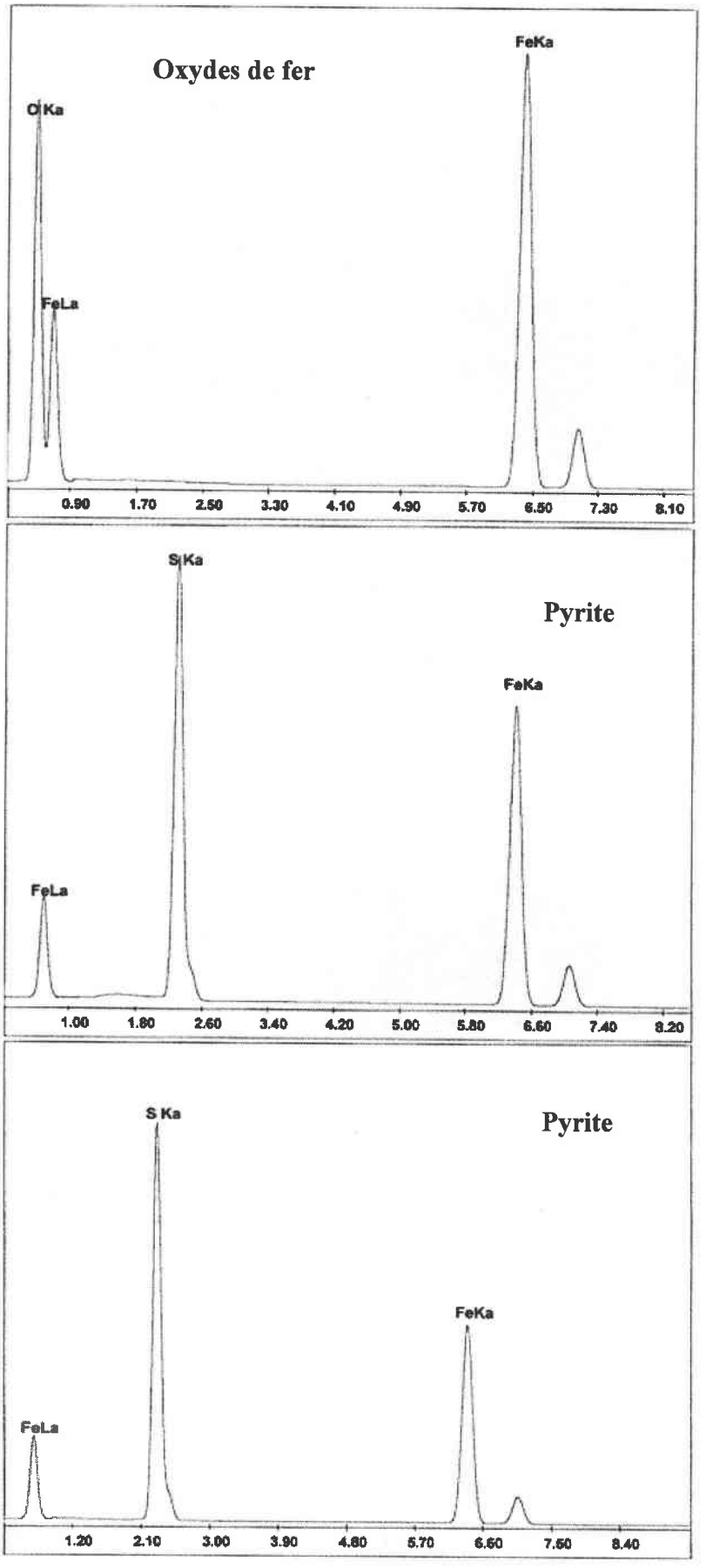
Zou, E. & Bu, S. (1994) - Acute toxicity of copper, cadmium, and zinc to the water flea, *Moina irrasa* (Cladocera). - *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **52:** 742–748.

ANNEXE I

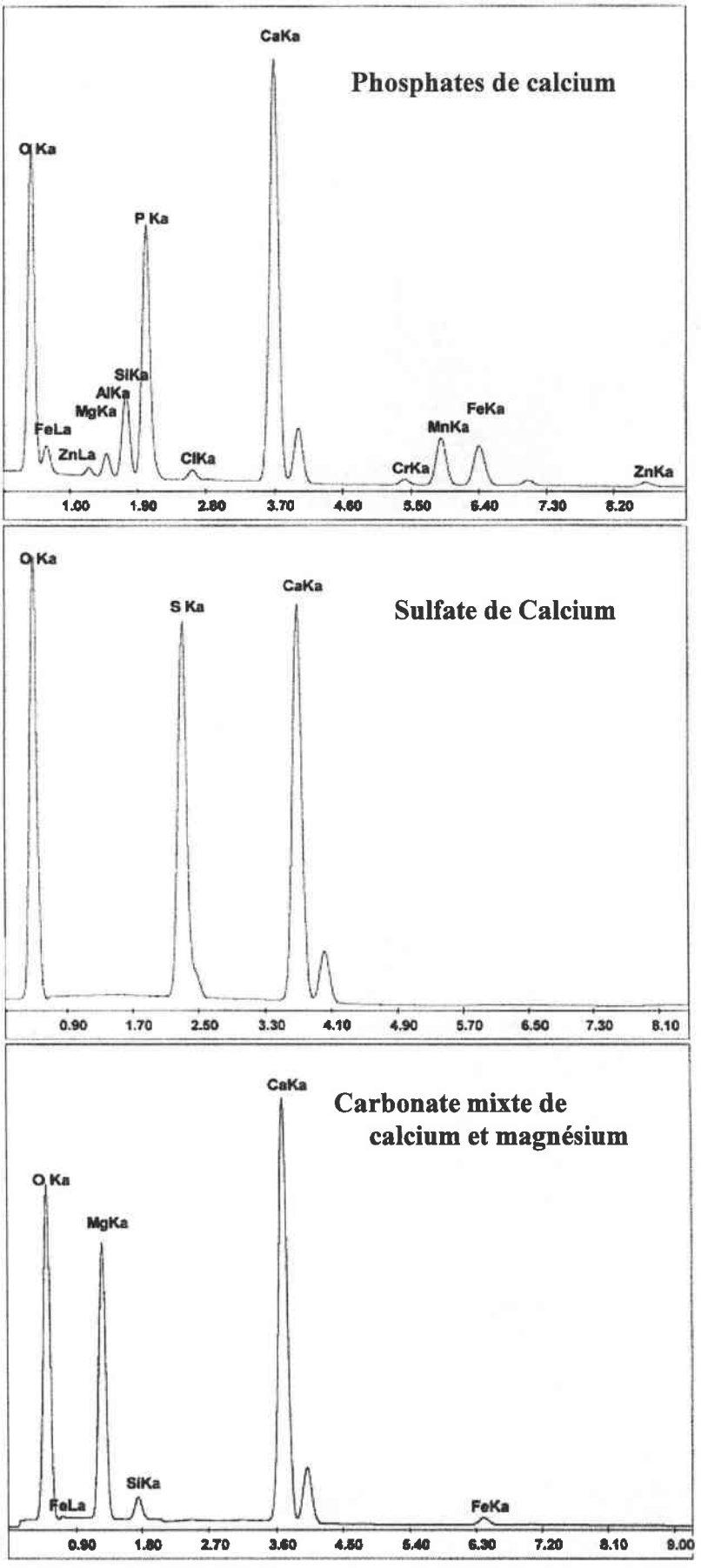
Annexes I



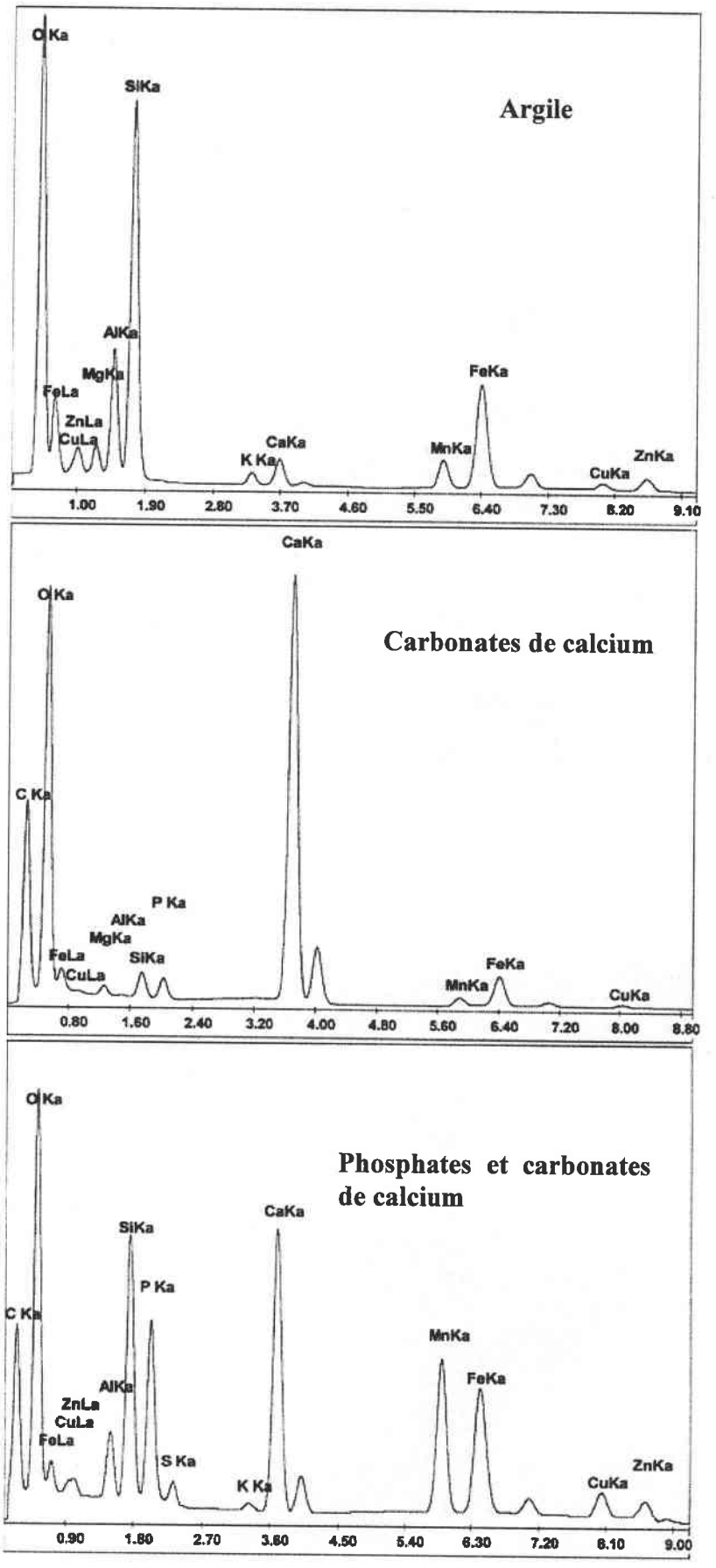
Annexe Ia. Spectres d'argiles et carbonate de calcium sans cuivre tels qu'ils sont observés dans les sédiments en station Mos1.



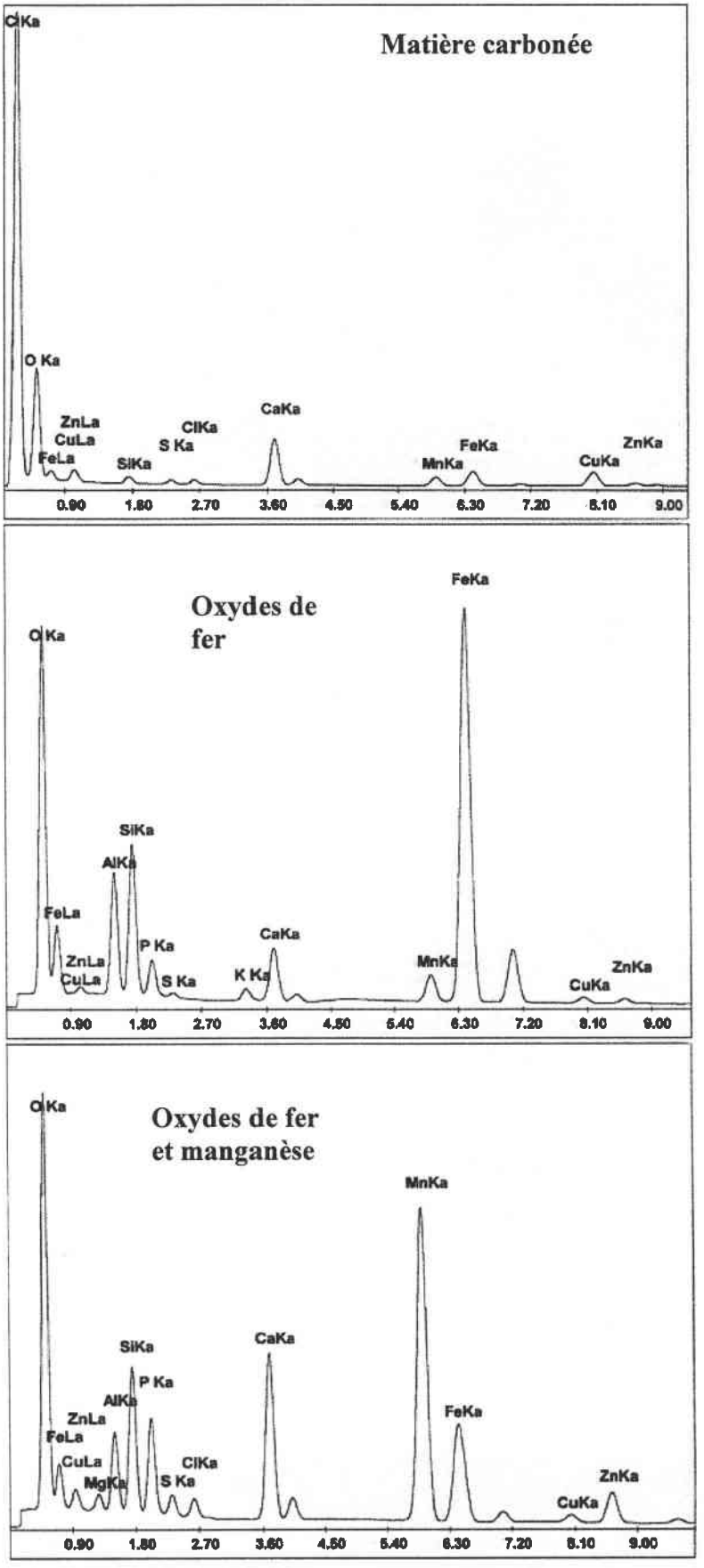
Annexe Ib. Spectres d'oxyde de fer et de sulfures de fer (pyrite) purs observés dans les sédiments collectés en station Mos 1 et dans l'eau d'appoint du circuit tertiaire.



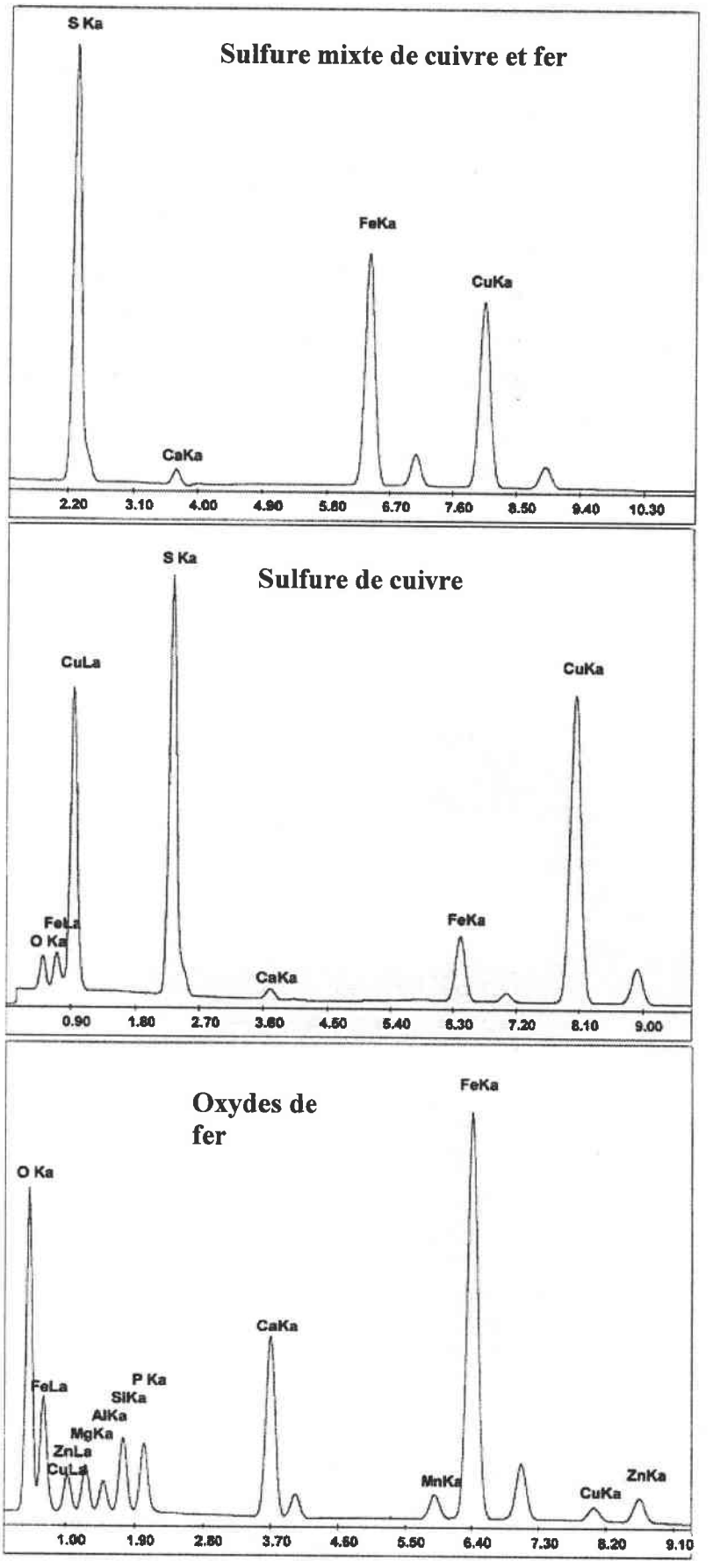
Annexe Ic. Spectres de phosphate de calcium, sulfate de calcium et carbonate mixte de calcium et magnésium observés dans les sédiments des stations Mos1 et C1.



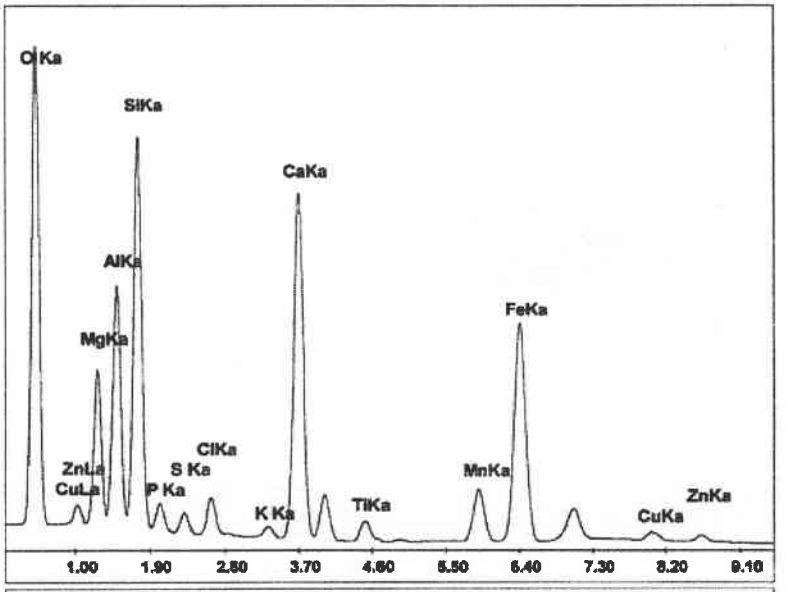
Annexe Id. Spectres d'argile, de carbonate de calcium et phosphate et carbonates de calcium avec des traces de cuivre et zinc observés dans les sédiments de la station C2.



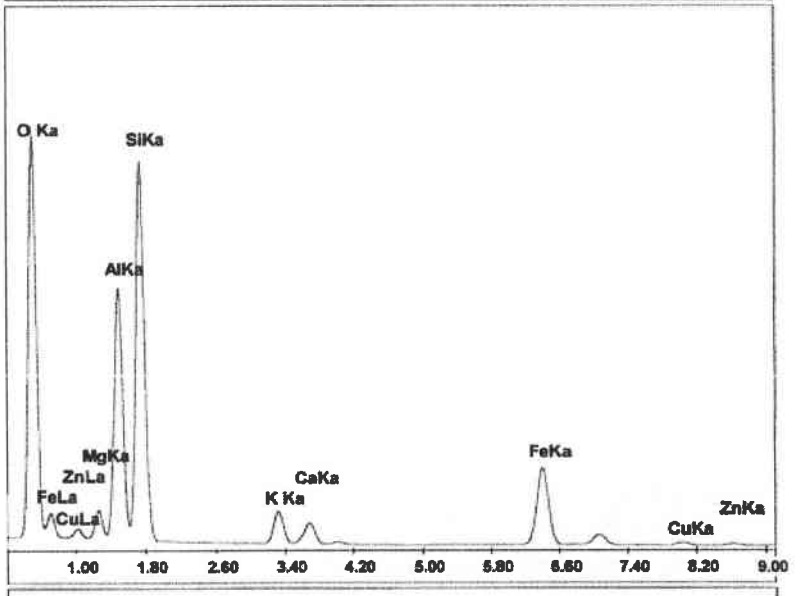
Annexe Ie. Spectres de matière carbonée, oxydes de fer et oxydes de fer et manganèse présentant des traces de cuivre, de zinc et de soufre dans les sédiments de la station C2.



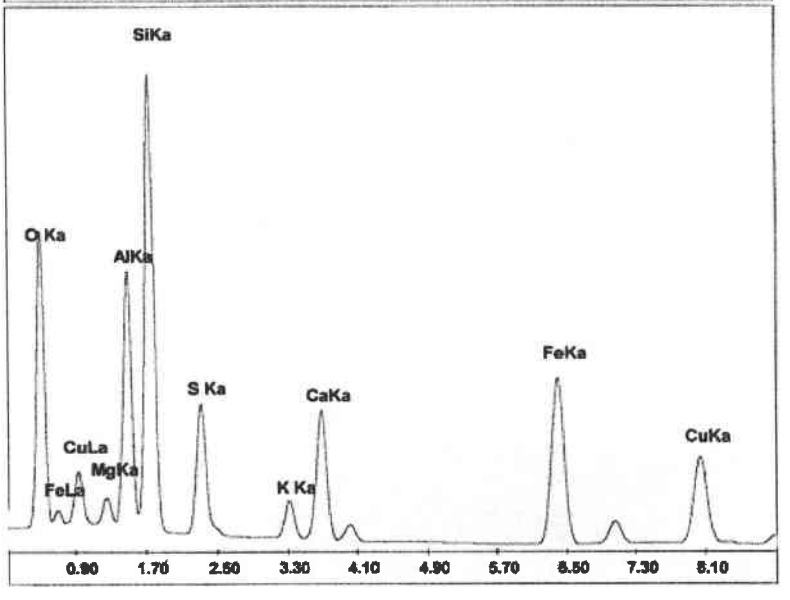
Annexe If. Spectres de sulfure mixte de cuivre et fer et d'oxyde de fer présentant des traces de cuivre et de sulfure de cuivre tels qu'ils sont observés à la station C2.



Composé mixte d'oxydes de fer et argile avec des traces de sulfure de cuivre

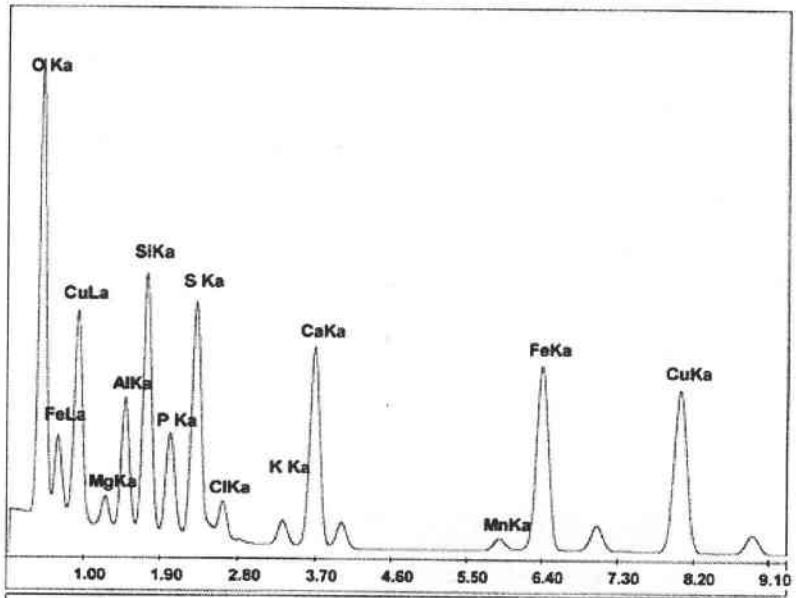


Composé mixte d'argile et oxydes de fer avec des traces de cuivre, sans soufre

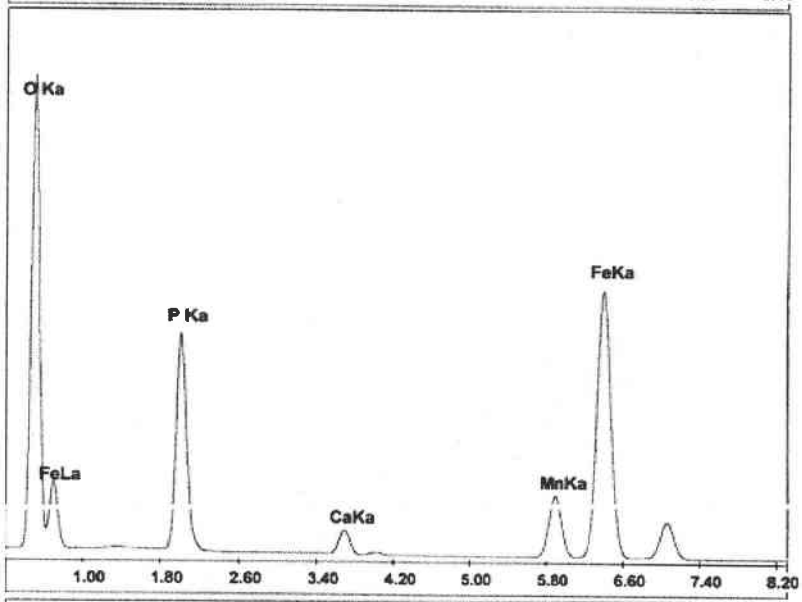


Composé mixte d'argile, oxydes de fer et sulfure de uivre.

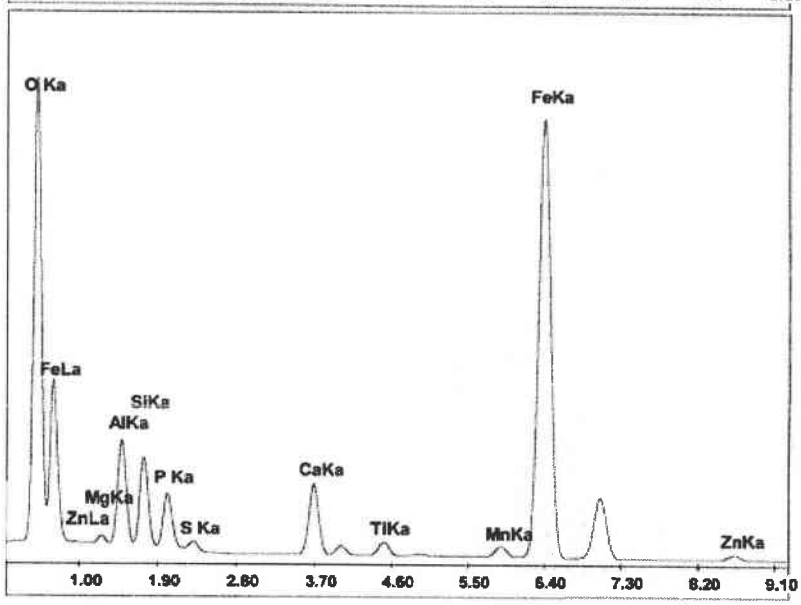
Annexe Ig. Spectres de composés mixtes d'argiles, oxyde de fer et sulfure de cuivre observés dans les sédiments de la station Mir inj.



Composé mixte d'oxyde de fer, argile et sulfure de cuivre

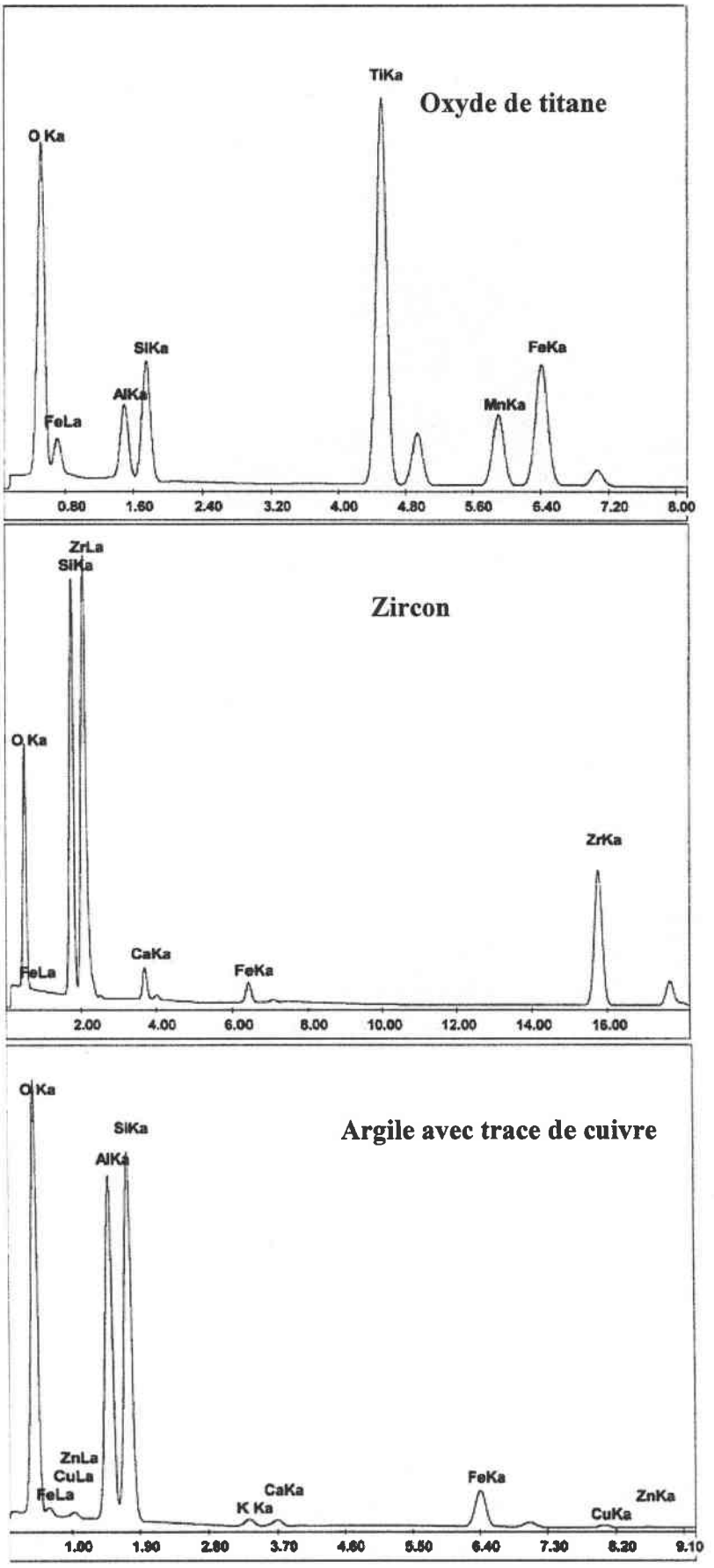


Minerai de Fer de Lorraine

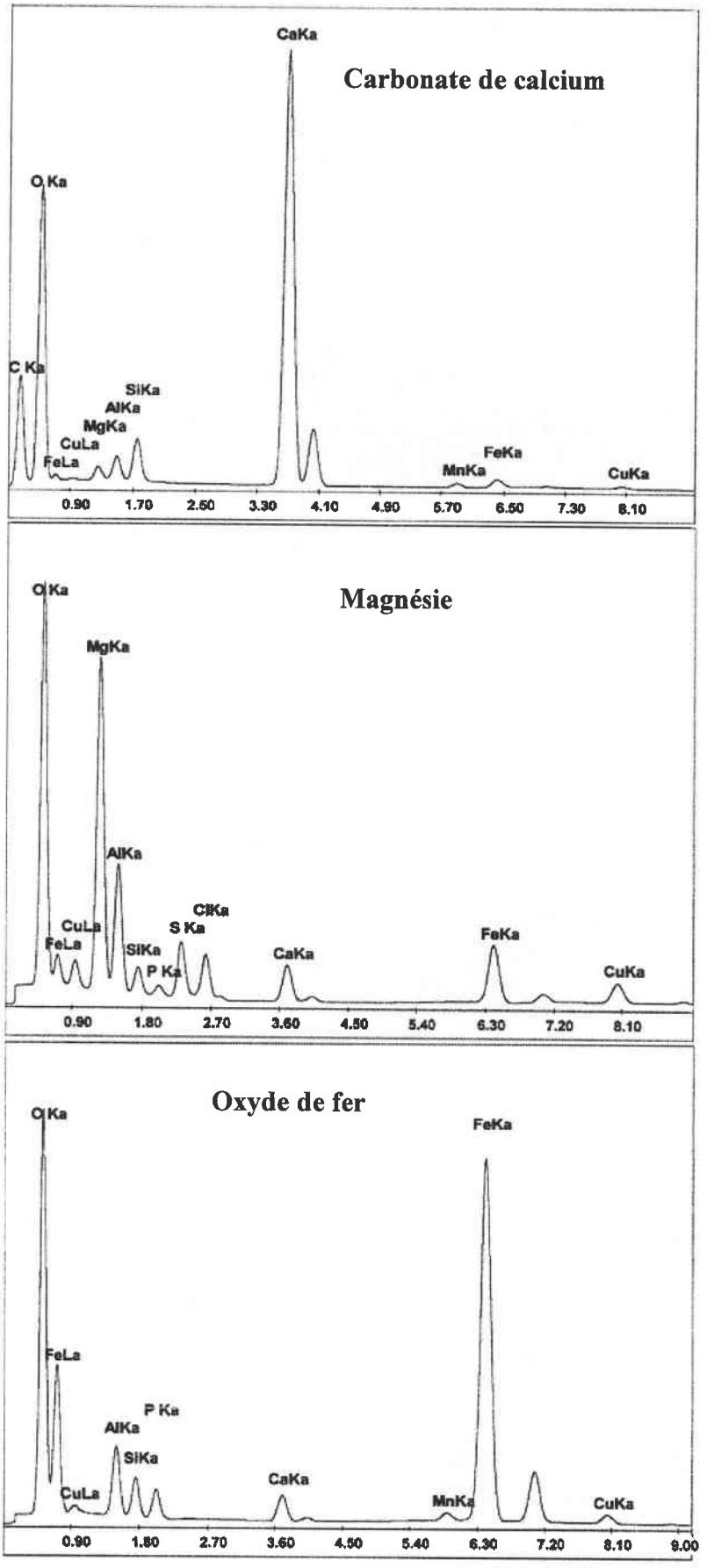


Oxyde de Fer (coating argileux)

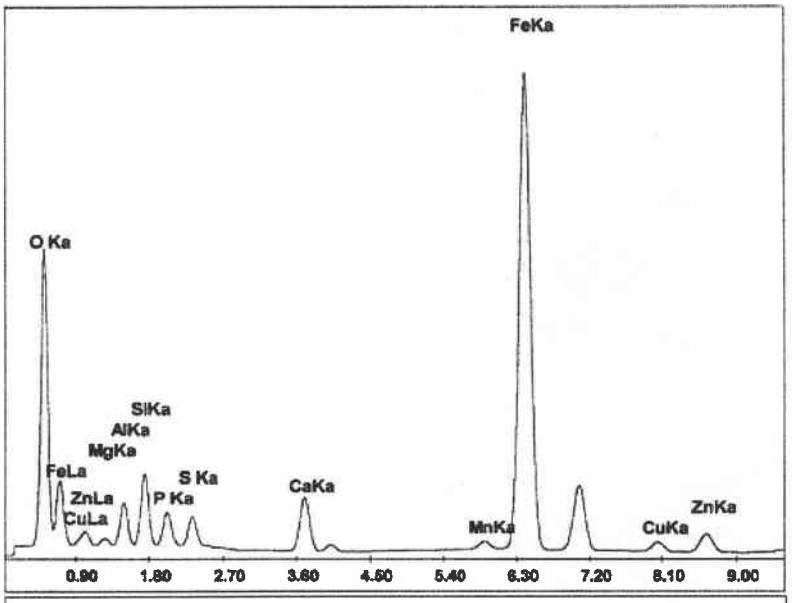
Annexe Ih. Spectres de composé mixte d'argile, oxyde de fer et sulfure de cuivre ; Spectre du minerai de fer lorrain et d'oxydes de fer sans cuivre, observés dans les sédiments de Mir inj.



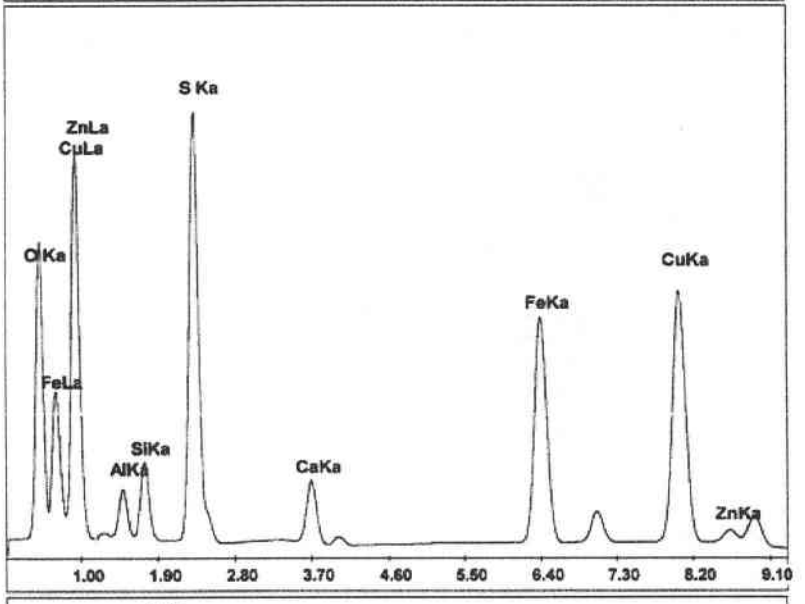
Annexe Ii. Spectres d'oxyde de titane et de Zircon présents dans les sédiments de la station Mir M et d'argile présentant des traces de cuivre et zinc observée dans les MD de Mir M.



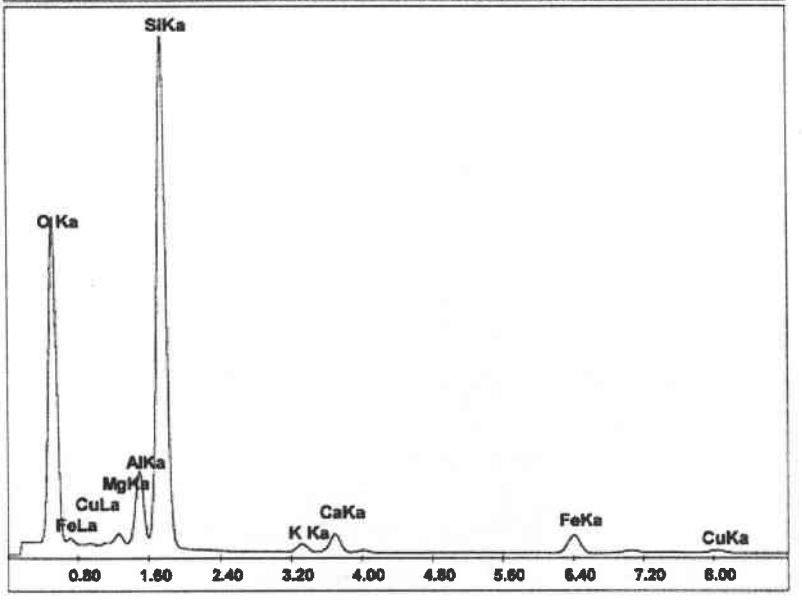
Annexe Ij. Spectres de carbonate de calcium, de magnésie et d'oxyde de fer présentant des traces de cuivre observés dans les MD de Mir M.



Oxydes de Fer

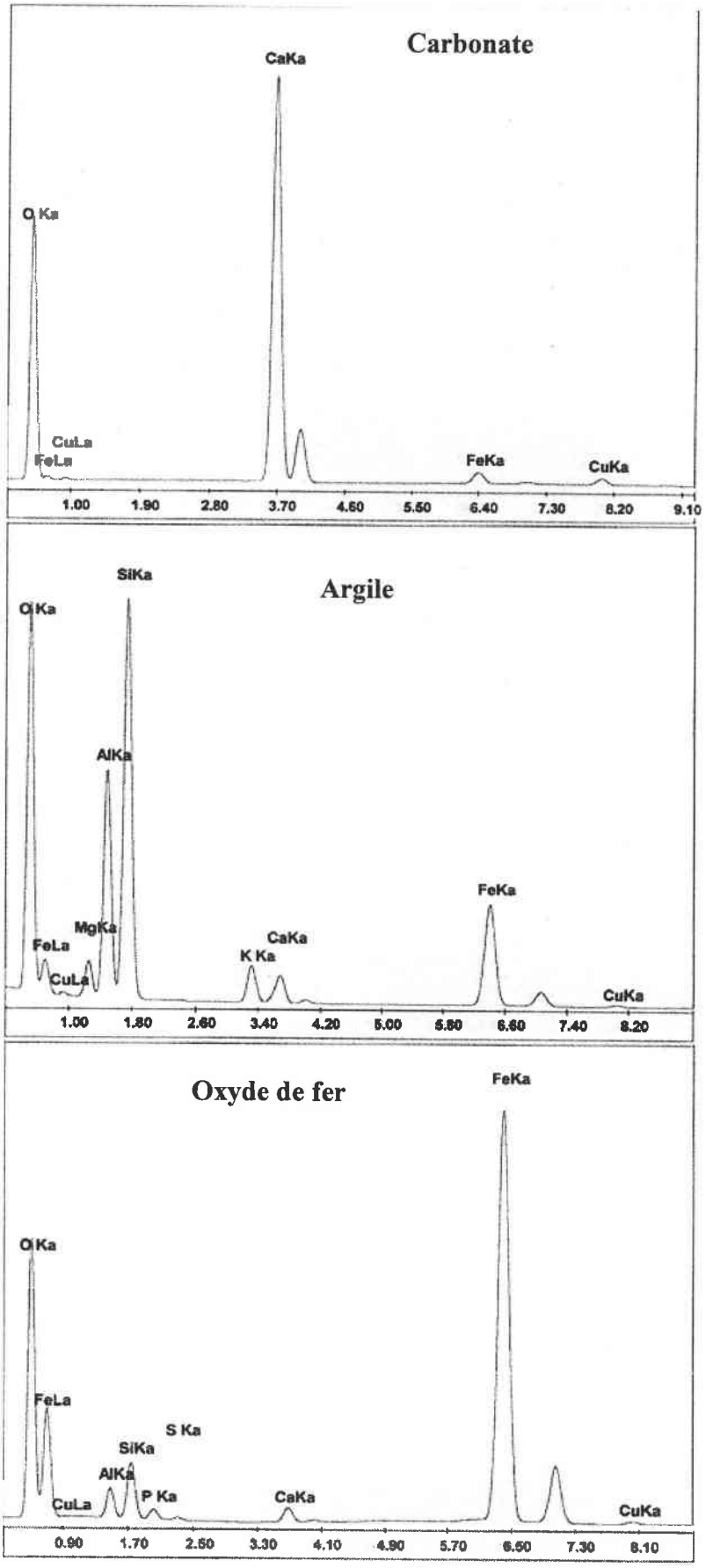


Composé mixte d'oxyde de fer et sulfure de cuivre

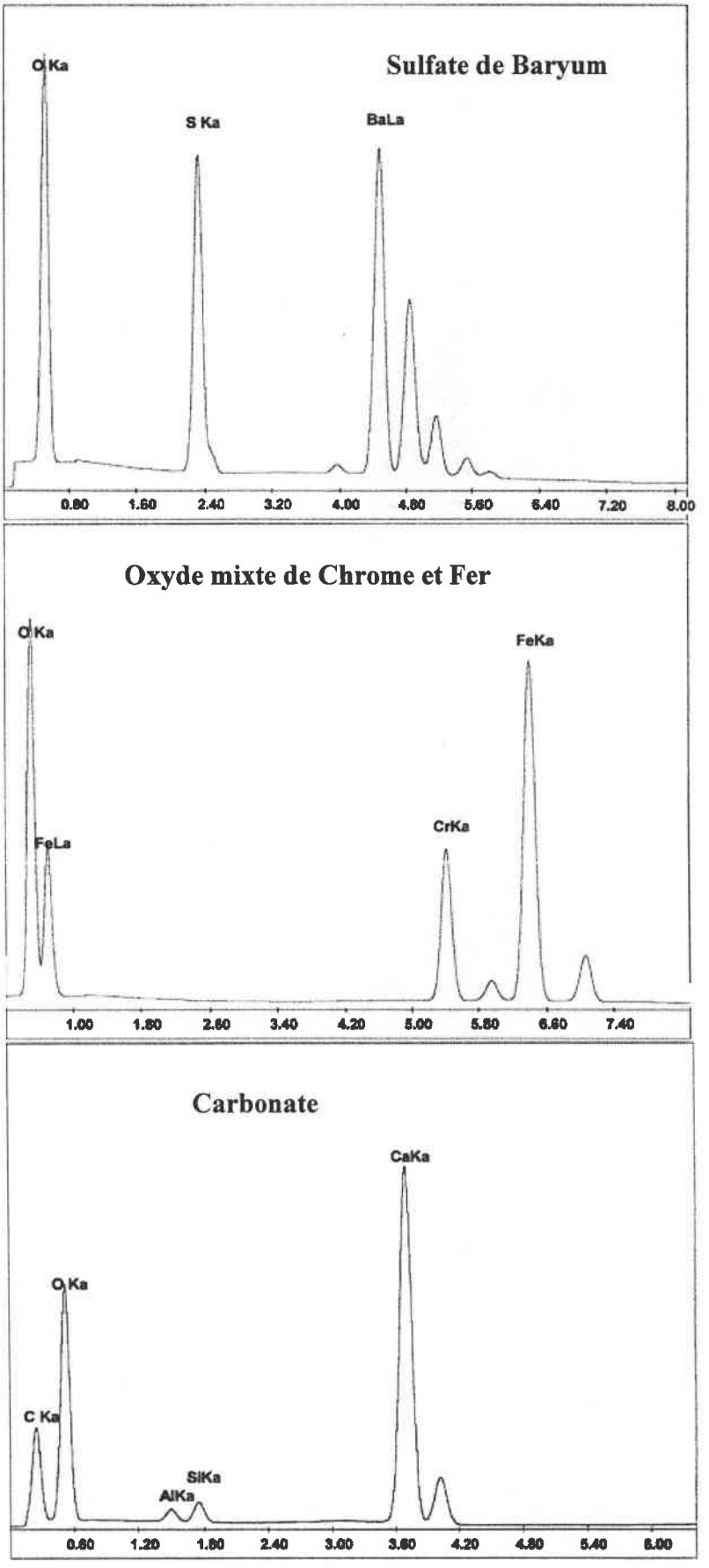


Fragment de diatomée

Annexe Ik. Spectres d'oxydes de fer associés à du cuivre, du zinc et du soufre, spectre d'un composé mixte d'oxydes de fer et de sulfure de cuivre (b) et observation d'un fragment de diatomée présentant des traces de cuivre et zinc observés dans les MD de Mir M.



Annexe II. Spectres de carbonate, d'argile et d'oxydes de fer observés dans les sédiments de Mir rep.



Annexe Im. Spectres de sulfate de baryum, d'oxyde mixte de chrome et fer et de carbonate observés dans les sédiments de Mos2.

ANNEXE II

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 (µg/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.

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 (µg/12 individus) dans les moules zébrées.

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 (µg/g de poids sec) dans les mousses aquatiques.

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 (μg/g de poids sec) dans la moule zébrée.

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).