



**HAL**  
open science

# Développement de bioessais sur sédiments et applications à l'étude, en laboratoire, de la toxicité de sédiments dulçaquicoles contaminés

C. Bonnet

► **To cite this version:**

C. Bonnet. Développement de bioessais sur sédiments et applications à l'étude, en laboratoire, de la toxicité de sédiments dulçaquicoles contaminés. Sciences de l'environnement. Doctorat Toxicologie de l'environnement, Université de Metz, 2000. Français. NNT: . tel-02579584

**HAL Id: tel-02579584**

**<https://hal.inrae.fr/tel-02579584>**

Submitted on 14 May 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THESE

présentée devant

l'Université de METZ  
UFR Sciences Fondamentales et Appliquées

pour l'obtention du grade de Docteur  
spécialité : Toxicologie de l'Environnement

par Corinne BONNET

## Développement de bioessais sur sédiments et applications à l'étude, en laboratoire, de la toxicité de sédiments dulçaquicoles contaminés

Soutenue le 26 septembre 2000

Devant le jury formé de :

- M. FERARD, Professeur à l'Université de METZ.
- Mme GARRIC, Directrice de recherche au *Cemagref*.
- M. LAGADIC, Chargé de recherche à l'INRA (rapporteur).
- Mme MERLE, Ingénieur Environnement à EDF.
- M. PARDOS, Maître assistant à l'Université de GENEVE (rapporteur).
- M. PRYGIEL, Ingénieur à l'Agence de l'Eau Arthois-Pircadie.
- M. THYBAUD, Ingénieur de recherche à l'INERIS.

Travaux réalisés au Laboratoire d'Ecotoxicologie  
Unité de recherche Biologie des Ecosystème Aquatiques. *Cemagref*, Lyon  
Disponible sur: [www.lyon.cemagref.fr/lyon/doc/these/thbonnet/hpthbonnet.html](http://www.lyon.cemagref.fr/lyon/doc/these/thbonnet/hpthbonnet.html)

SHORT COMMUNICATION

# REMERCIEMENTS

Bonnet Corinne

Laboratoire d'Ecotoxicologie, U.R. Biologie des Ecosystèmes Aquatiques, Cemagref, Lyon, FRANCE

Accepté le 26 septembre 2000

---

## Résumé

Cette note a pour objectif de remercier toutes les personnes sans qui cette thèse n'aurait pu aboutir : mon entourage, les instigateurs du projet dans lequel s'est inscrit mon travail, mes collègues de travail canadiens et français, les relecteurs et évaluateurs du travail et les quelques milliers de Chironomes, Hyalles et Hydres qui sont morts pour que la science progresse.

---

La thèse est un document paradoxal. Un seul auteur présente trois années, minimum, de travaux dans un document de plus de cent pages. Pourtant ce rapport de thèse ne peut exister sans la présence auprès de cet auteur (i) d'initiateurs du projet, (ii) de soutiens (financier, moral, et physique) tout au long du déroulement du travail et (iii) d'intervenants externes qui corrigent et jugent le travail accompli. J'évoque dans cette note les moyens mis en oeuvre pour que cette thèse aboutisse et remercie toutes les personnes sans qui ce travail n'aurait pu voir le jour, prendre son essor et aboutir.

## Matériels et méthodes

Le nerf de la guerre, l'argent, a été obtenu auprès des Agences de l'Eau, du *Cemagref* et d'Analex. Merci à eux.

Le matériel a été fourni, au Canada, par Analex et le Centre Saint Laurent (les hydres et les conseils qui vont avec) et en France, par le Cemagref et les Agences de l'eau (pour certains sédiments).

Les différents intervenants de cette thèse sont présentés dans le Tableau 1, avec leurs rôles respectifs.

## Résultats et discussion

Je suis tombée dans les sédiments en 1994, en réalisant mon DEA dans l'équipe de Bernard Montuelle. J'y ai étudié l'impact des rejets de station d'épuration sur la micro-faune bactérienne des sédiments. Quand un projet s'est présenté qui avait pour objet la recherche et la mise au point de bioessais permettant de caractériser la toxicité potentielle des sédiments, j'ai postulé. Dans un premier temps, je suis allée chercher ces bioessais au Canada, au sein de l'entreprise Analex et auprès du Centre Saint Laurent (l'équipe québécoise : Tableau 1) avant de les rapatrier en France, pour les valider sur des sédiments Français (l'équipe lyonnaise : Tableau 1), au sein de l'équipe Ecotoxicologie de Jeanne Garric.

Après 1 an ½ passé au contact enrichissant des québécois, mais loin de mon entourage (Tableau 1), je rentre pour 3 ans (classiques) de thèse en France. Trois ans c'est le temps qu'il me faudra pour entraîner dans les sédiments une grande partie de l'équipe Ecotox du Cemagref de Lyon (pourvu qu'ils me pardonnent un jour de les y avoir laissés !). Merci à eux pour leur gentillesse et leur aide précieuse. Quelques mois après la date prévue et un congé maternité plus loin, je boucle, avec l'aide de relecteurs attentifs (merci Bernard, et mes encadrants Jeanne et Jean-François), de certains de mes condisciples *Cemagrefiens*, et d'un mari qui connaît par cœur les moindres virgules de cette thèse, un document que les rapporteurs et les membres du jury cités dans le Tableau 1 auront la longue tâche de lire...

Le 26 septembre 2000 le document est soutenu à Metz. Le plus dur reste à faire, le blues de la thèse guette les nouveaux doctorants....paraît-il !

## Conclusions

En conclusion je remercie du fond du coeur toutes les personnes citées dans cette note et celles que j'ai pu oublier et qui m'ont aidé. Cette thèse aura été, pour moi, une expérience des plus enrichissante sur le point intellectuel et affectif. Merci à tous pour votre patience et vos encouragements et j'espère à bientôt pour de nouvelles recherches.

**Tableau 1 : liste des personnes à remercier pour leur contribution à la réussite de cette thèse.**

Groupe	Nom	Fonction
L'entourage	Bonnet Marie-Paule Bonnet Noëlle Bonnet Pascale Bonnet René Portemann Gilles Portemann Joris Roucaud Paul et Maryvonne Schubert Francis et Elisabeth	cousine traductrice mère soeur père mari (depuis 1997) fils (né en juin 1999) amis d'enfance initiateurs scientifiques
Les condisciples	Hélène, Christine, Eric, Patrick, Anne, Corinne, François, Alexandre, Xavier	donner des conseils et des coups de main, sorties et soirées...toujours disponibles
Les victimes	<i>Ceriodaphnia dubia</i> <i>Chironomus riparius</i> <i>Chironomus tentans</i> <i>Daphnia magna</i> <i>Hyalella azteca</i> <i>Hydra attenuata</i>	invertébrés sujets de mes travaux et morts pour la sciences
Les collègues de DEA	Camus Jean-Claude Montuelle Bernard Volat Bernadette	mise à l'étrier de la recherche appliquée
Les instigateurs de la thèse	Babut Marc Garric Jeanne Roy Yves	proposer un projet pour acquérir des bioessais permettant de caractériser la toxicité des sédiments
L'équipe canadienne	Yves, Sophie, Eric, les Sylvain, Jacques, Mario, Monique, Caroline, Dimitri, Mélanie, Julie, Louis, les Christians et tous les autres	m'apprendre le B-A-BA des bioessais sur sédiments et m'éduquer sur la culture québécoise
L'équipe lyonnaise	les Marcs, les Bernards, Philippe, Raphaël, Anne, Patrice, Hélène, Jeanne, Patrick Ghislaine, Hélène, Dominique, Jean-Louis,... Sandrine, Michèle et Edwige Samer, Freddy, Denis, Régis, Hervé... Marie-Pascale et Sébastien	les écotoxicologues et les EDSiens qui ont eu à subir mon projet de recherche  les chimistes qui m'ont apporté leur aide  les secrétaires qui nous aident tant les membres de l'équipe informatique les indispensables documentalistes
Le coturne	Flammarion Patrick	échanges fructueux sur tous les sujets, la promiscuité a été enrichissante
L'équipe messine	Maryline	secrétaire indispensable à tout étudiant loin de ses bases
Les membres du jury	Monsieur Férard (directeur de thèse) Madame Garric Monsieur Lagadic (rapporteur) Madame Merle Monsieur Pardos (rapporteur) Monsieur Prygiel Monsieur Thybaud	lire et juger une thèse, y apporter leur compétence
Les non cités et autres anonymes	ils se reconnaîtront	entre autres les préleveurs qui sont allés avec ou sans moi chercher des échantillons de sédiments par tous les temps, les personnels des laboratoires d'analyse (LDA de Valence,...),...

*Je tiens à remercier les amis québécois du Ministère de l'Environnement et de la Faune pour leurs conseils avisés et les virées en moto neige.*

# TABLE DES MATIERES

<b>CHAPITRE 1 : INTRODUCTION ET CONTEXTE.....</b>	<b>5</b>
1 INTRODUCTION .....	5
2 PROBLÉMATIQUE ET DÉMARCHE SCIENTIFIQUE.....	6
<b>CHAPITRE 2 : FACTEURS DE CONTRÔLE DE LA BIODISPONIBILITÉ DES CONTAMINANTS ET MÉTHODES DE MESURE DE LA TOXICITÉ DES SÉDIMENTS.....</b>	<b>9</b>
1 LES SÉDIMENTS ET LES CONTAMINANTS.....	9
1.1 Principales caractéristiques des sédiments.....	10
1.2 Contaminants métalliques et organiques.....	12
1.3 Interactions entre les sédiments et les contaminants.....	16
1.4 Devenir des contaminants dans les cas de remise en suspension de sédiments.....	29
2 ÉVALUATION DE LA QUALITÉ BIOLOGIQUE DES SÉDIMENTS.....	33
2.1 Préparation des échantillons.....	34
2.2 Les outils biologiques développés au laboratoire.....	37
<b>CHAPITRE 3 : MÉTHODOLOGIES D'ÉVALUATION DE LA TOXICITÉ DES SÉDIMENTS .....</b>	<b>53</b>
1 LES BIOESSAIS <i>C. RIPARIUS</i> ET <i>H. AZTECA</i> .....	54
1.1 Les protocoles d'élevage et d'essai.....	54
1.2 La sensibilité des organismes d'essai au cuivre.....	59
1.3 Le sédiment témoin.....	61
1.4 La sensibilité des organismes à la texture.....	68
1.5 La sensibilité des organismes en fonction de l'âge.....	70
1.6 La qualité de l'eau surnageante dans les bioessais .....	72
1.7 Le schéma expérimental et la sensibilité des bioessais .....	79
1.8 Synthèse sur les bioessais chironome et hyalèle.....	83
2 LE BIOESSAI <i>H. ATTENUATA</i> .....	87
2.1 Les protocoles d'élevage et d'essai.....	87
2.2 Sensibilité des hydres à quelques contaminants.....	88
2.3 Choix méthodologiques .....	92
2.4 Sensibilité des hydres aux eaux interstitielles.....	94
2.5 Synthèse sur le bioessai hydre .....	103
<b>CHAPITRE 4 : ÉVALUATION DE LA QUALITÉ DE SÉDIMENTS .....</b>	<b>105</b>
1 LES SITES ÉTUDIÉS.....	106
1.1 Présentation des sites .....	106
1.2 Localisation des sites.....	108
1.3 Variabilité temporelle des caractéristiques des sédiments .....	110
2 PRÉPARATION ET PROTOCOLES D'ÉTUDE DES SÉDIMENTS.....	110
2.1 Collecte et stockage des sédiments.....	111
2.2 Préparation des sédiments et des eaux interstitielles.....	111
2.3 Protocoles des bioessais .....	112

2.4 Analyses physico-chimiques et dosages des micropolluants .....	112
2.5 Analyses des données.....	113
3 LA DESCRIPTION DES SÉDIMENTS.....	113
3.1 Caractéristiques physico-chimiques des sédiments .....	113
3.2 Concentration en contaminants des sédiments .....	117
3.3 Interactions physico-chimie du sédiment et concentrations en contaminants.....	123
4 LA RÉPONSE DES ORGANISMES D’ESSAIS .....	124
4.1 <i>C. riparius</i> et <i>H. azteca</i> .....	124
4.2 <i>H. attenuata</i> .....	126
4.3 Sensibilité comparée des différents organismes .....	127
5 RELATION ENTRE RÉPONSES DES BIOESSAIS ET CARACTÉRISTIQUES DES SÉDIMENTS.....	131
5.1 Relation entre la physico-chimie des sédiments et la réponse des bioessais.....	131
5.2 Relation entre les concentrations en contaminants et la réponse des bioessais .....	132
5.3 Relation entre le potentiel toxique et la réponse des bioessais .....	134
6 CONCLUSION.....	142
<b>CHAPITRE 5 : IMPACTS DE REMISES EN SUSPENSION DE SÉDIMENTS.....</b>	<b>144</b>
1 CONTEXTE ET DÉMARCHE .....	144
2 FORMULATION DU PROBLÈME.....	147
2.1 Simulation d’un dragage de sédiments.....	147
2.2 Simulation d’une vidange de barrage.....	151
2.3 Evaluer le risque associé aux remises en suspension de sédiments.....	159
3 ANALYSE .....	161
3.1 Simulation d’un dragage.....	161
3.2 Simulation d’une vidange.....	163
4 CARACTÉRISATION DU RISQUE ET RETOUR D’EXPÉRIENCE .....	166
4.1 Etudes de cas.....	167
4.2 Limites de nos approches de laboratoire dans le cadre d’une démarche d’ERE.....	168
<b>CHAPITRE 6 : CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>172</b>
1 SYNTHÈSE DES RÉSULTATS.....	169
2 PERSPECTIVES.....	173
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>176</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>199</b>
1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES ORGANISMES <i>CHIRONOMUS RIPARIUS</i> ET <i>HYALELLA AZTECA</i> .....	73P.
2 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE SUR <i>HYDRA ATTENUATA</i> .....	14P.
3 PROTOCOLES D’ÉLEVAGE DE <i>C. RIPARIUS</i> , <i>H. AZTECA</i> ET <i>H. ATTENUATA</i> .....	14P.
4 MÉTHODES UTILISÉES POUR LES ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES.....	1P.
5 RÉPONSES DES BIOESSAIS HYDRES RÉALISÉS SUR LES EAUX INTERSTITIELLES ÉTUDIÉES DANS NOTRE LABORATOIRE .....	1P.
6 CARACTÉRISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES ET BIOLOGIQUES DES SÉDIMENTS ÉTUDIÉS DANS CETTE THÈSE .....	6P.
<b>ARTICLES .....</b>	<b>309</b>

# RESUME

## Développement de bioessais sur sédiments et applications à l'étude, en laboratoire, de la toxicité de sédiments dulçaquicoles contaminés.

La spéciation et le comportement des molécules contaminantes dans le sédiment sont relativement bien connus (Salomons et Stigliani, 1995; Calmano et Förstner, 1996; Christensen, 1998). L'ampleur et la complexité croissante de la pollution dans les sédiments par de nombreuses molécules toxiques rendent cependant indispensable l'étude de la qualité biologique de ce compartiment. Ainsi, l'objectif de ce travail a été de développer des bioessais sur sédiment pour caractériser la qualité biologique de divers sédiments contaminés.

Considérant la sensibilité, la pertinence écologique, les niveaux d'organisation biologique et trophique, trois bioessais ont été mis en oeuvre pour caractériser la toxicité de sédiments en place ou remis en suspension : *Chironomus riparius* 10j (diptère), *Hyalella azteca* 14j (amphipode) et *Hydra attenuata* 96h (cnidaire).

Dans une première étape nous avons :

- optimisé les conditions expérimentales des bioessais *C. riparius* et *H. azteca* (choix d'un sédiment témoin, âge des organismes, définition des conditions expérimentales,...) et précisé leur limite de validité,
- caractérisé la sensibilité d'*H. attenuata* à partir de l'étude de 33 eaux interstitielles et proposé des modifications du protocole afin d'améliorer la précision sur la réponse du bioessai.

Dans 16 sédiments, provenant de différents bassins (Rhône, Moselle, Loire), pour lesquels les 3 bioessais sont réalisés simultanément, *H. attenuata* a signalé une toxicité pour 10 d'entre eux. *H. azteca* a détecté 2 autres sédiments toxiques. *C. riparius* confirme la plupart des résultats précédents. Dans 24 sédiments, étudiés avec au moins un bioessai, la mise en regard de la réponse biologique et du potentiel toxique a confirmé la capacité de ces bioessais à discriminer les sédiments contaminés, et a permis de préciser la sensibilité des organismes d'essai à une série de facteurs physico-chimiques. L'analyse des corrélations entre caractéristiques physico-chimiques et résultats biologiques a été effectuée sur ces données.

Nous avons finalement intégré ces bioessais dans une démarche d'Evaluation de Risque Ecotoxicologique visant à estimer l'impact de remises en suspension de sédiments contaminés sur la qualité biologique de la colonne d'eau, d'une part, et de la zone de dépôt, d'autre part. Pour ce faire, nous avons étudié deux sédiments considérés comme très contaminé pour l'un et peu contaminé pour l'autre. Nous n'avons pas observé de modification de la toxicité des sédiments suite à la mise en suspension, mais un impact sur la colonne d'eau a été observé dans un cas avec *H. attenuata*.

En conclusion, ces travaux ont permis de montrer que les bioessais *C. riparius* 10j et *H. azteca* 14j sur sédiments bruts pourraient être intégrés dans le cadre de la gestion des sédiments, en France. Des connaissances restent à acquérir sur la sensibilité d'*H. attenuata*, sur l'utilisation de mesures d'effet plus précoces (biomarqueur) ou plus intégratives (bioindicateur) pour *C. riparius* et *H. azteca* et sur les voies d'exposition de ces trois organismes.

**Mots clés :** *sédiment, multicontamination eau interstitielle, bioessais, C. riparius, H. azteca, H. attenuata, analyses chimiques, évaluation de risque, impact de remises en suspension.*

# ABSTRACT

## Development of bioassays for sediments and their application to the laboratory study of freshwater contaminated sediment toxicity.

Speciation and behaviour of contaminants in sediments are relatively well known (Salomons et Stigliani, 1995; Calmano et Förstner, 1996; Christensen, 1998). The growing complexity and extent of sediment pollution by various toxic molecules have made it necessary to study the biological quality of sediments. So, the objective of our work was to develop sediment bioassays in view of characterizing the biological quality of different contaminated sediments.

Considering their sensitivity, environmental relevance and the biological and trophic organization levels, three bioassays were implemented in order to characterize the toxicity of bedded and suspended sediments : 10d test with *Chironomus riparius* (diptera), 14d test with *Hyalella azteca* (amphipoda) and 96h test with *Hydra attenuata* (cnideria).

In a first step, we :

- optimized the experimental conditions of the *C. riparius* and *H. azteca* bioassays (choice of a control sediment, age of organisms, definition of experimental conditions,...) and specified their validity limit,
- characterized the sensitivity of *H. attenuata* based on the study of 33 pore water samples and suggested modifications to be made to the protocol in order to enhance precision of the bioassay response.

Out of 16 sediments coming from various basins (of the Rhône, the Moselle, and the Loire rivers) and which were tested with all three bioassays, *H. attenuata*, tests indicated toxicity for 10 sediments. *H. azteca* allowed detection of two other toxic sediment whereas *C. riparius* tests confirm most of these results. For 24 sediments assessed using at least one bioassay, comparing the biological response and the potential adverse effect confirmed the ability of these bioassays to identify contaminated sediments and allowed us to specify the sensitivity of the assay organisms to a number of physico-chemical factors. Analysis of the correlation existing between the physico-chemical characteristics and the biological results was performed on those data.

We also integrated these bioassays into an ecological risk assessment approach aiming to estimating the incidence of resuspending contaminated sediments on the biological quality of the water column and the disposal area. For that purpose, we studied two different sediments, with high and low levels of contamination. No modification of toxicity was observed for the sediments after resuspension, but toxicity in the water column was reported in one case.

As a conclusion, this study allowed us to demonstrate that it is possible to integrate sediment 10d tests with *C. riparius* and 14d tests with *H. azteca* in the framework of sediment management in France.

Further information must be gathered regarding :

- the sensitivity of *H. attenuata*,
- both, the sensitive molecular and cellular endpoints and the ecosystem-relevant subchronic and chronic endpoints (such as reproduction) for *C. riparius* and *H. azteca*,
- the routes of exposure of these three organisms.

**Keywords** : sediment, pore water, bioassay, *C. riparius*, *H. azteca*, *H. attenuata*, chemical characterization, risk assessment, multicontamination, resuspension impact.

## ABREVIATIONS

ACP : Analyse en composantes principales.  
ANOVA : Analyse de variance.  
AVS : Acid-volatile sulfides.  
CE<sub>50</sub> : Concentration effectrice 50.  
CEC : Capacité d'échange cationique.  
CI<sub>50</sub> : Concentration inhibitrice 50.  
CL<sub>50</sub> : Concentration létale 50.  
CMEO : Concentration minimale produisant un effet observé.  
COC : Carbone organique colloïdal.  
COD : Carbone organique dissous.  
COP : Carbone organique particulaire.  
COT : Carbone organique total.  
CPG-ECD : Chromatographie en phase gazeuse avec détection en capture d'électron.  
CPG-FID : Chromatographie en phase gazeuse avec détection en ionisation de flamme.  
CPG-SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.  
CSE : Concentration seuil d'effet.  
CSEO : Concentration sans effet observé.  
DCA : Dichloroaniline.  
Eh : Potentiel d'oxydoréduction (mV).  
ERA (=ERE) : Ecological risk assessment.  
ERE : Evaluation de risque écotoxicologique.  
ERL : Effect range low.  
ERM : Effect range median.  
HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques.  
HPLC : High pressure liquid chromatography. Chromatographie en phase liquide couplée à un détecteur à barrette de diodes et à un détecteur de fluorescence.  
ICP : Inductively coupled plasma. Détecteur torche à plasma  
ICx : Intervalle de confiance à x%.  
IOBS : Indice oligochètes.  
IUPAC : International union of pure and applied chemistry.  
LOEC (=CMEO) : Lowest observed effect concentration .  
MDD : Minimum detectable difference.  
MES : Matières en suspension.  
NOEC (=CSEO) : No observed effect concentration .  
PCB : Polychloro-biphényles.  
PEL : Probable effect level.  
SEM : Simultaneously extracted metals.  
TC : Threshold concentration (voir CSE).  
TEL : Threshold effect level.  
YCT : Yeast Cerophyll® trout chow.  
μS : MicroSiemens.



## GLOSSAIRE

**Acides fulviques** : Acides organiques hydrosolubles tant en milieu acide que basique, de couleur ferrugineuse, formés par la décomposition en milieu acide de la cellulose et de la lignine provenant des végétaux morts.

**Acides humiques** : Acides organiques formés à partir de l'humine résultant de la décomposition de matières organiques mortes. Ils sont solubles en milieu basique mais précipitent en milieu acide.

**Aiguë** : Qui se manifeste sur une courte période (en secondes, en minutes, en heures ou en quelques jours) relativement à la durée du cycle de vie de l'organisme.

**Allochtone** : Qui provient d'un endroit différent.

**Amorphe** (état) : Etat qui n'est pas organisé, au niveau microscopique, selon une forme géométrique définie et ordonnée ( $\neq$  structure cristalline). Les oxydes de fer et de manganèse existent sous formes amorphes, microcristallines ou cristallines mais ce sont les formes amorphes qui sont de loin (plusieurs ordres de grandeur) les plus réactives par rapport aux formes cristallines (Nelson *et al.*, 1999).

**Anthropique** : Relatif à l'activité humaine.

**Apatite** : Phosphate de calcium en cristaux ou agrégats, à inclusions fréquentes de chlore (chlorapatite), de fluor, de silicium et de terres rares.

**Argile** : Silicates ( $\text{SiO}_2$ ) complexes d'aluminium et de divers métaux alcalins et alcalino-terreux, plus ou moins hydratés, caractérisés par leurs structures feuilletées, leur capacité d'échange cationique et leur surface spécifique, provenant de la décomposition des feldspaths, dont la taille moyenne des grains est inférieure à 2  $\mu\text{m}$ .

**Autochtone** : Qui n'a pas subi de transport (résultant de processus interne au milieu).

**Auxine** : Hormone de croissance végétale.

**AVS** : Sulfures présents en milieux réducteur et susceptibles de se lier aux métaux et de diminuer leur biodisponibilité. Ces sulfures doivent leur nom à la technique d'extraction à l'acide utilisée pour les extraire du sédiment.

**Batardeau** : Digue, barrage provisoire établi sur un cours d'eau pour assécher en aval le terrain où l'on a des travaux à faire.

**Benthique** (milieu) : Parties d'un écosystème aquatique constituées par la couche d'eau immédiatement au contact du sédiment, la surface de ce dernier, et le sédiment.

**Bioaccumulation** : Processus d'accumulation d'une substance dans tout ou partie d'un organisme.

**Biocénose** : Ensemble des être vivants qui peuplent un écosystème donné (Ramade, 1998).

**Biodisponibilité** : Possibilité qu'a un contaminant d'être toxique ou accumulé par les organismes (Landrum et Robbins, 1990).

**Bioessai** : expérimentation, effectuée en laboratoire, sur divers type d'êtres vivants afin de caractériser les activités biocides ou les particularités toxicologiques de produits chimiques ou de milieux contaminés.

**Biomarqueur et bioindicateur** : Indicateurs biologiques qui se distinguent par le niveau d'organisation biologique auquel ils s'adressent. Le biomarqueur concerne les niveaux moléculaire, subcellulaire, cellulaire ou tissulaire des organismes et mesure des modifications de nature chimique, physiologique ou histologique alors que le bioindicateur concerne les individus, espèces, populations ou communautés et évalue une modification du milieu (présence, comportement ou abondance des organismes affectés par les conditions environnementales) (Burgeot *et al.*, 1998).

**Bioturbation** : Ensemble des petits dérangements dans un sédiment sous l'action d'organismes se déplaçant ou creusant des cavités à l'intérieur de ceux-ci.

**C/N** : Rapport du carbone organique particulaire sur l'azote particulaire. Ce rapport est d'autant plus important que la matière organique est riche en résidus cellulosique et peu biodégradable. Il est de 5,6 pour le matériel planctonique et compris entre 10 et 20 pour le matériel humique. Il est de 8,5 dans les matières en suspension (MES) pour la moyenne mondiale et varie peu d'une rivière à l'autre (Pourriot et Meybeck, 1995).

**CE<sub>50</sub>** : Concentration à l'origine de 50% d'effet chez les organismes testés.

**CEC** : Quantité maximale de cations retenus et libérables dans un sédiment (équivalent/kg poids sec).

**Chronique** : Qui survient au cours d'une période relativement longue d'exposition, habituellement une fraction importante de la durée de vie de l'organisme, par exemple 10% au moins de cette dernière (Environment Canada, 1997).

**CI<sub>50</sub>** : Concentration pour laquelle 50% des organismes testés sont inhibés.

**CL<sub>50</sub>** : Concentration d'une substance létale pour 50% des organismes exposés.

**CMEO** : Concentration minimale d'exposition d'une substance pour laquelle un effet significatif est manifeste sur les organismes exposés.

**CSE** : Moyenne géométrique de la CSEO et de la CMEO.  $CSE = (CSEO * CMEO)^{1/2}$ .

**CSEO** : Concentration maximale d'une substance pour laquelle aucun effet significatif n'est observé sur les organismes exposés.

**Dalton** : Unité de masse égale à  $1,66 * 10^{-24}$  g.

**Différence minimale détectable** : Différence minimale pour laquelle des effets nocifs sont statistiquement discriminés dans un sédiment par rapport à la réponse des témoins.

**Diploblastique** : Se dit d'un organisme constitué de deux couches de cellules. Les principaux embranchements diploblastiques sont les spongiaires, les cnidaires et les cténaires.

**Dragage** : Prélèvement de matériaux ou d'objets au moyen d'une drague reliée à un navire. Le dragage est effectué soit pour améliorer les conditions de navigation (ports et leurs accès, estuaires ou chenaux), soit pour exploiter des ressources (sables, granulats marins, etc.), soit pour faire de la recherche scientifique : collecte d'échantillons.

**Ecosystème** : Association d'un environnement physico-chimique spécifique, le biotope, et d'une communauté vivante ou biocénose.

**Elutriation** : Opération consistant en un lavage à l'eau de sédiments en suspension, suivi d'une décantation et de l'évacuation du liquide surnageant. Cette opération peut être renouvelée plusieurs fois jusqu'à l'obtention du résultat désiré.

**ERL** : Seuil d'effet faible correspondant au 10<sup>ème</sup> percentile de la gamme de concentration toxique. Il représente une valeur seuil au-dessus de laquelle des effets défavorables sur des stades de vie ou des espèces sensibles commencent à apparaître.

**ERM** : Seuil d'effet médian correspondant au 50<sup>ème</sup> percentile de la gamme de concentration toxique. Il représente une valeur seuil au-dessus de laquelle on observe fréquemment, sinon toujours des effets toxiques chez la plupart des espèces.

**Eutrophe (milieu)** : Milieu aquatique dans lequel il existe une concentration naturellement élevée des éléments minéraux nutritifs, ce qui entraîne une importante production primaire liée à la prolifération des végétaux autotrophes (algues,...).

**Evaporites** : Dépôts riches en chlorures et sulfates alcalins.

**Exuvie** : Peau rejetée par un organisme lors d'une mue.

**Génitalia** : Chez les chironomes, paire de pinces à l'extrémité postérieure de l'abdomen.

**Génotoxique** : Substance qui, par son mode d'action, peut causer des effets néfastes au matériel génétique (Depledge, 1996). Par exemple, certaines molécules forment des adduits à l'ADN (fixation d'une molécule sur l'ADN), perturbant la synthèse protéique et le développement cellulaire.

**Imago** : adulte.

**Isomorphique (substitution)** : Remplacement, dans un composé, d'atomes ou de radicaux par d'autres atomes ou radicaux, sans changement de structure.

**Lixiviation** : Traitement faisant appel à une attaque chimique et une dissolution de certains constituants d'un matériau. Récupération de matières solubles d'un corps hétérogène par dissolution dans un liquide approprié.

**Métal de transition** : Élément atomique dont une sous-couche électronique interne est incomplète.

**Métal** : Corps simple, doué d'un éclat particulier, bon conducteur de chaleur et d'électricité et formant, par combinaison avec l'oxygène, des oxydes basiques.

**Métalloïde** : Corps simple, généralement dépourvu d'éclat, mauvais conducteur de la chaleur et de l'électricité et qui forme avec l'oxygène des composés acides ou neutres.

**Microcosme** : En limnologie et en écotoxicologie aquatique, installation de laboratoire consistant en un aquarium pourvu d'équipements plus ou moins complexes pour assurer le renouvellement de l'eau - ou sa régénération - et son oxygénation.

**Narcotique** : Substance dont le mode d'action est non spécifique. Les effets possibles sont la baisse du niveau de vigilance, la diminution de la sensibilité et du tonus musculaire,....

**Nématocyste (=cnidoblaste)** : Vésicule urticante des coelentérés, contenant un filament enroulé en forme de harpon.

**Neurotoxique** : Agent qui empoisonne ou détruit le tissu nerveux.

**Ocelle** : Oeil simple de nombreux arthropodes.

**Organisme bioindicateur de contamination** : Organisme ayant une forte aptitude à la bioconcentration et utilisé pour la surveillance de la contamination du milieu (Ramade, 1998). Ces organismes sont des indicateurs d'exposition. Exemple : les mollusques lamellibranches.

**Organisme sentinelle** : Organisme particulièrement sensible à un ou plusieurs types de contaminants, qui réagit à de faibles contaminations (Ramade, 1998). Ces organismes sont des indicateurs d'effet. Exemple : les Ephémères et les Perlides.

**Oxyanion** : Cation métallique associé à des anions hydroxydes (-OH) qui forme des composés chargés négativement ( $\text{Me}(\text{OH})_3^-$ ).

**Oxycline** : Interface zone riche en oxygène/ zone anoxique.

**PEL** : Moyenne géométrique entre le 50<sup>ème</sup> percentile du jeu de concentrations produisant un effet et le 85<sup>ème</sup> percentile sans effet. Le PEL représente la limite inférieure du niveau de concentrations chimiques habituellement ou toujours liées à des effets toxiques (Smith *et al.*, 1996).

**Péetrographique** : Relatif à la structure et à la composition des roches.

**Risque** : Du point de vue écotoxicologique, le risque est la probabilité d'apparition d'effets défavorables ou indésirables résultant d'une exposition à un ou plusieurs polluants ou nuisances pris isolément ou en combinaison. Risque = Danger \* Exposition.

**Salinité** : Teneur en sel (NaCl).

**Sédiment enrichi (=sédiment dopé)** : Sédiment auquel on ajoute une substance, un mélange de substances ou une matière d'essai (boue, sédiment contaminé,...), afin d'en déterminer en conditions contrôlées la toxicité potentielle ou les mécanismes d'action (Environnement Canada, 1995).

**Sédiment référence** : Sédiment naturel non contaminé, choisi pour ses propriétés (granulométrie, teneur en matière organique,...) qui correspondent à celles de l'échantillon à tester sauf en ce qui concerne la teneur en contaminants. Le sédiment référence permet de différencier l'effet imputable aux contaminants des effets potentiellement imputables aux caractéristiques du sédiment (Environnement Canada, 1995). En effet, dans certaines conditions le sédiment référence peut montrer une toxicité intrinsèque due à des propriétés naturelles biologiques, chimiques ou physiques (Burton, 1992).

**Sédiment témoin (contrôle)** : Sédiment non contaminé, naturel ou artificiel, de composition connue et de qualité constante (Burton, 1992).

**SEM** : Métaux simultanément extraits avec les AVS qui représentent la fraction des métaux piégés par les sulfures.

**Spéciation** : Distinction entre les différentes formes inorganiques ou organiques d'un élément présentes dans un échantillon (différents états d'oxydoréduction, formes méthylées, dissoutes, liées en phase solide, complexées avec différents ligands en solution,...) (Sigg *et al.*, 1992).

**Facteur de stress** : Terme générique pour décrire tous les dangers potentiels menaçant les écosystèmes (substances chimiques, changements climatiques, modifications des paysages,...) (Rivière, 1998).

**TEL** : Moyenne géométrique entre le 15<sup>ème</sup> percentile du jeu de concentrations produisant un effet et le 50<sup>ème</sup> percentile sans effet. Le TEL représente la limite supérieure du niveau de concentrations chimiques dans les sédiments associé à des données sans effet (Smith *et al.*, 1996).

**Texture** : proportion relative de sable, limon et argile présente dans un sédiment ou un sol.

**Totipotence** : Capacité d'une partie des cellules embryonnaires à développer la totalité de l'organisme vivant.

**Turbidité** : Teneur en Matière En Suspension (MES) dans l'eau (mg/L).

**Vidange** : Action de vider entièrement, en parlant d'opérations techniques, un ouvrage ou un appareil hydraulique. Evacuation dans un but déterminé, des eaux d'un barrage.

**Xénobiotique** : se dit d'une substance étrangère à l'organisme vivant.

**YCT** : Mélange combiné de levure sèche, de Cerophyll®, et de nourriture digérée pour truite (EPA, 1994).

## BIBLIOGRAPHIE

**Burgeot, T., Cerbelaud, E., Gallotti-Schmitt, S., Garric, J., Gonnet, J., Lambre, C., Lemaire, P. et Leonard, M. (1998)** Bioindicateurs et biomarqueurs: des outils pour la surveillance du milieu aquatique. Groupe Chimie Ecologie, Paris, FRA. 51p.

**Burton, G.A.J. (1992)** Sediment collection and processing: factors affecting realism. In Burton, G.A.J. (Eds). *Sediment toxicity assessment*, Lewis, Chelsea, MI, USA. 37-66.

**Depledge, M.H. (1996)** Genetic ecotoxicology: an overview. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **200**:57-66.

**Environment Canada (1997)** Biological test method. Test for growth and survival in sediment using larvae of freshwater midges (*Chironomus tentans* or *Chironomus riparius*). EPS 1/RM/32. Environment Canada, Ottawa, CAN. 133p.

**Environnement Canada (1995)** Document d'orientation sur la mesure de la précision des essais de toxicité sur sédiment de contrôle dopé avec un produit toxique de référence. SPE 1/RM/30. Ecological Services For Planning Ltd, Série de la Protection de l'Environnement, Québec, CAN. 58p.

**EPA (1994)** Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. EPA-600/R-94/024. Testing manual. U.S. Environment Protection Agency, Duluth, USA. 133p.

**Landrum, P.F. et Robbins, J.A. (1990)** Bioavailability of sediment associated contaminants to benthic invertebrates. In Baudo, R., Giesy, J.P. et Muntau, H. (Eds). *Sediments: chemistry and toxicity of in-place pollutants*, Chelsea, MI, USA. 237-263.

**Nelson, Y.M., Lion, L.W., Ghiorse, W.C. et Shuler, M.L. (1999)** Production of biogenic Mn oxides by *Leptothrix discophora* SS-1 in a chemically defined growth medium and evaluation of their Pb adsorption characteristics. *Applied and Environmental Microbiology*, **65**:175-180.

**Pourriot, R. et Meybeck, M. (1995)** *Limnologie générale*. Masson. Paris, FRA. 956p.

**Ramade, F. (1998)** *Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau*. Ediscience Paris, FRA. 785p.

**Rivière, J.L. (1998)** *Evaluation du risque écologique des sols pollués*. Lavoisier Tec and Co. Paris, FRA. 230p.

**Sigg, L., Stumm, W. et Behra, P. (1992)** *Chimie des milieux aquatiques*. Masson. Paris, FRA. 391p.

**Smith, S.L., Macdonald, D.D., Keenleyside, K.A., Ingersoll, C.G. et Field, L.J. (1996)** A preliminary evaluation of sediment quality assessment values for freshwater ecosystems. *Journal of Great Lakes Research*, **22**:624-638.

# CHAPITRE 1 :

## INTRODUCTION ET CONTEXTE

---

### 11 Introduction

L'écotoxicologie s'est développée dans le but d'étudier le devenir des molécules polluantes dans l'environnement (formes, localisation, flux) et les conséquences écologiques de ces contaminants (mécanismes d'action, effets) en fonction de leur biodisponibilité. Cette science utilise des analyses physico-chimiques pour décrire les milieux récepteurs, et mesurer les contaminants, et des organismes indicateurs d'exposition ou d'effet, respectivement des bioindicateurs de contamination ou des organismes sentinelles, pour caractériser la qualité biologique du milieu. Une des finalités actuelles de l'écotoxicologie est la prévision des effets potentiels de la pollution d'un écosystème donné par un produit chimique, un mélange de produits ou plus largement un processus perturbateur (Ramade, 1998). Dans ce dernier cas, il s'agit de prévoir l'impact que pourrait avoir un facteur de stress sur un milieu contaminé, en terme d'évolution des équilibres chimiques, de changements de formes et d'états des contaminants, de biodisponibilité et de toxicité.

Le sédiment est un récepteur naturel majeur de contaminants (Karickhoff *et al.*, 1979; Jain et Ram, 1997; Wen *et al.*, 1998). Pour de nombreux organismes, il est donc une source d'exposition aux contaminants et il peut jouer un rôle important dans leur intoxication. De plus, la remise en suspension de sédiments contaminés peut entraîner une augmentation transitoire de la teneur en matières en suspension contaminées dans l'eau, une remobilisation des contaminants sous forme dissoute, libre ou liée à la matière organique, et un déplacement de bancs de sédiment contaminés dans le cours d'eau (Calmano *et al.*, 1994; Borglin *et al.*, 1996; Mc Groddy *et al.*, 1996; Carvalho *et al.*, 1998; Cornelissen *et al.*, 1998a). Depuis quelques années, le compartiment sédimentaire fait donc l'objet de nombreuses études écotoxicologiques.

Les études menées sur les sédiments pollués l'ont d'abord été d'un point de vue physico-chimique, pour détecter la présence de polluants et évaluer leurs concentrations (Karickhoff *et al.*, 1979; Santschi, 1988; Förstner, 1990; Calmano *et al.*, 1996). L'étape suivante a été de développer des biomarqueurs ou des bioindicateurs de terrain ou des bioessais de laboratoire, permettant de déterminer le potentiel toxique des sédiments et la

biodisponibilité des polluants (Landrum et Robbins, 1990; Besser *et al.*, 1997; Ingersoll *et al.*, 1997).

Les indicateurs biologiques, classiquement utilisés *in situ*, permettent de décrire l'état des biocénoses du sédiment et de rendre compte de la réalité des impacts toxiques dans un écosystème, en intégrant également l'ensemble des caractéristiques écologiques, géomorphologiques, hydrodynamiques et trophiques du milieu.

Les bioessais de laboratoire permettent d'une part de s'affranchir des contraintes physiques et biologiques du milieu susceptibles d'interférer avec la réponse toxique et rendent d'autre part possible la comparaison de la toxicité de différents échantillons de sédiments naturels sur les mêmes espèces biologiques. De plus, les bioessais de laboratoire permettent de tester la toxicité de molécules vis-à-vis de différents organismes et d'évaluer à priori l'impact de perturbations sur l'écosystème sédimentaire. Ces perturbations peuvent être de type chimique : introduction de nouvelles molécules, accumulation de molécules polluantes, ou physique : remises en suspension de sédiments pollués suite à des phénomènes naturels ou anthropiques (Hoke *et al.*, 1990; Netzband *et al.*, 1997; Carvalho *et al.*, 1998; Vale *et al.*, 1998; Weyhenmeyer, 1998). Ils répondent, en principe, à des critères de simplicité, de rapidité d'exécution, de reproductibilité, de sensibilité, de représentativité des conditions naturelles et de coût économique faible. Cependant, certains critères, comme la représentativité par exemple, sont difficiles à réunir. En effet, aucun bioessai, aussi performant soit-il, ne peut représenter la réponse d'un écosystème aquatique pris dans son ensemble.

## **12 Problématique et démarche scientifique**

Les mesures d'effet biologiques sont un point clé dans la gestion des sédiments contaminés, que ce soit pour caractériser le risque que représente un sédiment en place, ou pour étudier l'impact d'une mise en suspension de sédiments sur la qualité du milieu récepteur.

A l'issue de l'étude, la juste évaluation du risque dépendra directement :

- de la pertinence écologique des organismes, par rapport à la structure et au fonctionnement de l'écosystème,
- de la pertinence de ces modèles biologiques au regard des formes et des associations des contaminants, en particulier pour le sédiment, les formes dissoutes ou adsorbées des contaminants,
- de la sensibilité de ces modèles vis-à-vis de la pollution,
- des limites d'interprétation des résultats obtenus au laboratoire dans les conditions expérimentales mises en œuvre,
- de la pertinence de ces modèles par rapport aux objectifs de la gestion.

De nombreuses méthodologies sont disponibles pour estimer la toxicité des eaux ou celle des sédiments bruts. Les organismes utilisés dans ces bioessais appartiennent aux grands groupes du règne animal : bactéries, algues, plantes, invertébrés,... (Bonnet et Garric, soumis).

Dans cette panoplie, nous avons fait des choix méthodologiques et des choix de variables biologiques pour permettre la meilleure analyse possible du danger toxique pour l'écosystème, dû à la présence ou à la gestion de sédiments multicontaminés. Nous avons recherché des outils biologiques sensibles et écologiquement pertinents, résidant dans les sédiments ou susceptibles d'être exposés aux eaux interstitielles, et retenu trois organismes dont les niveaux d'organisation biologique et trophique sont différents : un macroinvertébré fouisseur détritivore benthique (*Chironomus riparius*), un macroinvertébré détritivore épibenthique (*Hyalella azteca*), et un microinvertébré aquatique fixé se nourrissant de proies vivantes (*Hydra attenuata*). Ces organismes sont susceptibles d'être exposés aux contaminants par contact direct avec les membranes cellulaires externes, l'exosquelette ou les surfaces branchiales ou, suite à l'ingestion de nourriture ou de sédiment contaminé, à travers les membranes digestives.

Ces choix méthodologiques effectués, nous avons eu pour objectifs dans le cadre de ce travail de thèse de :

- définir les conditions expérimentales nécessaires au bon déroulement des bioessais, ainsi que les limites d'interprétation des résultats obtenus,
- caractériser sur nos organismes les éventuels biais d'interprétation, compte tenu de quelques caractéristiques géochimiques de différents sédiments, et préciser, dans un contexte de multicontamination, les éventuelles spécificités de réponse des organismes,
- dans le cadre d'une démarche générale d'évaluation de risque, mettre en œuvre notre batterie de bioessais en vue de l'analyse de l'impact toxique de la mise en suspension de sédiment multicontaminé sur le milieu récepteur.

Notre document s'organise en différents chapitres :

⇒ Préalablement à la réalisation de nos travaux, nous avons fait une synthèse des informations disponibles sur l'évaluation écotoxicologique de la qualité des sédiments (**chapitre 2**).

Après avoir présenté les principales caractéristiques des sédiments et des contaminants, nous avons décrit les interactions existant entre le compartiment sédimentaire et les molécules polluantes, et l'effet de la remise en suspension de sédiments sur la spéciation et la toxicité des contaminants.

Nous avons évoqué la représentativité des échantillons de sédiment étudiés au laboratoire, en rappelant les effets du prélèvement, du stockage et de la préparation sur les caractéristiques des sédiments, avant de présenter la biologie, l'écologie, les voies d'exposition et la sensibilité des outils biologiques utilisés pour évaluer la dangerosité des sédiments : le diptère *C. riparius*, l'amphipode *H. azteca* et le cnidaire *H. attenuata*.

⇒ Puis nous avons précisé les conditions d'essai (mise au point d'un sédiment témoin, choix du nombre d'organismes et de réplicats nécessaires pour discriminer de manière raisonnable des sédiments contaminés toxiques,...) dans lesquelles les bioessais *C. riparius* et *H. azteca* sont réalisés au laboratoire et déterminé notre capacité à détecter un effet en fonction des conditions d'essai (**chapitre 3**).

Pour le bioessai *H. attenuata*, notre objectif a été d'apporter des informations concernant la sensibilité de cet organisme à quelques toxiques et à des eaux interstitielles de sédiments contaminés, de discuter des conditions d'essais et notamment des critères d'effet, létaux et sublétaux, et du protocole d'essai (**chapitre 3**).

⇒ L'application de ces bioessais dans une démarche d'évaluation de la qualité biologique de plusieurs sédiments, principalement issus des bassins du Rhône et de la Moselle (**chapitre 4**), nous a permis de mettre en regard la sensibilité respective des différents organismes et de caractériser leur capacité à discriminer les niveaux de contamination.

⇒ Au delà de la simple caractérisation d'un site contaminé, les bioessais peuvent être intégrés dans des démarches d'évaluation de risque. Lors de phénomènes de mises en suspension, les caractéristiques intrinsèques des sédiments (physico-chimiques, structurelles et biologiques) peuvent être violemment perturbées, et la question qui se pose alors est celle de l'impact de ces phénomènes de mise en suspension à court terme sur l'environnement immédiat et à plus long terme sur l'aval du cours d'eau, compte tenu du transport et de la sédimentation des sédiments contaminés.

Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes plus particulièrement intéressés à deux cas particuliers d'impact de remise en suspension de sédiments contaminés, représentant les principaux types d'activité anthropique perturbatrice de part les volumes de sédiment impliqués<sup>1</sup> : le cas d'un dragage de sédiment portuaire fluvial et le cas d'une vidange de barrage (**chapitre 5**).

Pour étudier l'impact de ces phénomènes sur le milieu récepteur, nous avons décidé de développer une démarche d'évaluation de risque écotoxicologique (ERE) qui permet d'évaluer la vraisemblance d'apparition d'un effet néfaste dans un écosystème lors de l'exposition à un ou plusieurs facteurs de stress (EPA, 1998a). Pour chacun des deux cas étudiés, à partir des informations disponibles, nous avons proposé un scénario, défini des données pertinentes d'exposition et d'effet, et élaboré un protocole expérimental pour simuler en laboratoire les remises en suspension de sédiment et pour étudier leurs impacts.

⇒ Nous avons finalement proposé une conclusion générale (**chapitre 6**) qui reprend les résultats obtenus à partir desquels quelques axes de recherches sont suggérés pour des travaux à venir.

---

<sup>1</sup> A titre indicatif, le barrage de Serre-Ponçon (Alpes de Haute Provence) voit sa capacité diminuer de 3 Mm<sup>3</sup>/an sous l'effet de l'envasement (Ramade, 1998), et les besoins en curage d'entretien pour les voies navigables, hors domaine maritime, en France représentent 9 Mm<sup>3</sup>/an (comité technique national sur la gestion des sédiments, 7 juin 1999).

# **CHAPITRE 2 :**

## **FACTEURS DE CONTROLE DE LA**

### **BIODISPONIBILITE DES**

#### **CONTAMINANTS ET METHODES DE**

##### **MESURE DE LA TOXICITE DES**

###### **SEDIMENTS**

---

## **21 Les sédiments et les contaminants**

Dans les sédiments, la toxicité révélée par un organisme vivant est fonction du comportement et des caractéristiques physiologiques de l'animal et de la biodisponibilité des composés toxiques dans les sédiments. De manière générale, la biodisponibilité est définie comme la possibilité qu'a un contaminant, adsorbé sur des particules sédimentaires ou présent dans l'eau interstitielle, d'atteindre les interfaces des organismes vivants qui permettent l'absorption de celui-ci (Férard, com. pers.) et d'être toxique ou accumulé par les organismes (Landrum et Robbins, 1990). La biodisponibilité est un phénomène complexe qui est fonction, entre autres, i) des formes chimiques du contaminant (spéciation), ii) des surfaces adsorbantes environnantes et iii) de l'organisme vivant lui-même (chronobiodisponibilité) et enfin du type d'interactions entre le contaminant, le milieu environnant et l'organisme vivant (Férard, comm. pers.; Förstner, 1989b).

## 21.1 Principales caractéristiques des sédiments

Un sédiment est un dépôt de matériaux détritiques minéraux et organiques. La composition et la nature de ce dépôt sont partiellement liées à la constitution pétrographique des bassins versants et à la structure du couvert végétal. Ces dépôts sont d'origine allochtone quand ils sont issus de l'érosion du bassin versant par des agents dynamiques externes comme l'eau ou le vent et d'origine autochtone quand ils sont constitués par la précipitation de composés minéraux (carbonates, évaporites,...) et organiques (fragments végétaux aquatiques, algues planctoniques mortes,...) (Ramade, 1998). L'occupation humaine de bassins versants peut influencer cette composition naturelle.

Le sédiment peut être décrit par sa composition et sa structure.

### 21.1.1 Composition

Le sédiment est une matrice relativement hétérogène constituée d'eau, de matériaux inorganiques et organiques et de composés anthropiques (Power et Chapman, 1992). Les sédiments sont composés à 80% d'éléments chimiques "principaux" (Si, Al, K, Na, Mg) et à 20% d'éléments carbonatés ( $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{MgCO}_3$ ,...) de nutriments (carbone organique, N, P) et d'éléments mobiles (Mn, Fe, S). Les éléments traces (Hg, Cd, Pb, Zn, Cu, Ni, Ag,...) représentent moins de 0,1% des éléments présents dans les sédiments (Garrivier, 1995).

L'eau interstitielle représente entre 20 et 90% du volume des sédiments de surface selon que ceux-ci sont plus ou moins sableux, la teneur en eau étant d'autant plus importante que la texture du sédiment est fine (Campy et Meybeck, 1995).

La **matière inorganique** est formée de rocs, de coquilles et de composés minéraux. Les composés inorganiques constituant le sédiment sont les argiles, les carbonates et les silicates (Tableau 1). La taille de ces particules s'étend sur plusieurs ordres de grandeur, avec des diamètres inférieurs à  $0,1 \mu\text{m}$  jusqu'à plusieurs mm (Sigg *et al.*, 1992). Ces composants sont généralement recouverts de substances organiques et d'oxyhydroxydes de fer et de manganèse.

La **matière organique** occupe un petit volume mais est un composant essentiel du sédiment en raison de son rôle trophique vis-à-vis du compartiment microbien et des invertébrés, et de son rôle dans l'adsorption des contaminants et le contrôle de leur biodisponibilité (Landrum *et al.*, 1987; Kukkonen et Landrum, 1996; Razak *et al.*, 1996; Tye *et al.*, 1996). La matière organique naturelle est classée, selon sa taille, en carbone organique particulaire (COP), colloïdal (COC) et dissous (COD)<sup>1</sup>. C'est un matériel macromoléculaire polymérisé hétérogène (en taille et en poids) constitué de centaines de molécules différentes (des protéines, des polysaccharides, des lipides, des acides humiques et fulviques). Cette matière offre l'intérêt de posséder à la fois des sites hydrophiles et hydrophobes qui lui permettent de s'adsorber à la surface des particules minérales et de complexer, dans les phases aqueuses et particulaires, des contaminants organiques hydrophobes, des métaux sous forme ionique et des molécules non chargées (Santschi *et al.*, 1999).

<sup>1</sup> COP >  $0,22 \mu\text{m}$  ;  $1 \text{ kDa} < \text{COC} < 0,22 \mu\text{m}$  ; COD <  $1 \text{ kDa}$  (Santschi *et al.*, 1999).

Tableau 1 : Principaux minéraux composants les sédiments d'eau douce, d'après Hakanson et Jansson (1983) et Ramade (1998).

MINÉRAUX	DÉNOMINATION	FORMULE CHIMIQUE
SILICATES	Quartz (=Silice)	SiO <sub>2</sub>
	Mica	K(Mg, Fe, Al) <sub>3</sub> AlSi <sub>3</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>2</sub>
	Feldspath	(Na, Ca, K)AlSi <sub>3</sub> O <sub>8</sub>
	Amphibole	(Ca, Mg, Fe, Al) <sub>3</sub> Si <sub>4</sub> O <sub>11</sub> (OH)
	Pyroxène	(Ca, Mg, Fe) <sub>2</sub> Si <sub>2</sub> O <sub>6</sub>
	ARGILES	Illite
Smectite (= Montmorillonite)		XMgAlSiO <sub>10</sub> (OH) <sub>2</sub>
Chlorite		Mg <sub>5</sub> Al <sub>2</sub> Si <sub>3</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>8</sub>
Kaolinite		Al <sub>3</sub> Si <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (OH) <sub>4</sub>
CARBONATES	Calcite	CaCO <sub>3</sub>
	Dolomite	CaMg(CO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
	Sidérite	FeCO <sub>3</sub>
(HYDR)OXYDE de FER	Goethite	FeOOH
	Magnétite	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
PHOSPHATES	Apatite	Ca <sub>5</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> (OH, F)
	Vivianite	Fe <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .8H <sub>2</sub> O
SULFURE	Pyrite	FeS <sub>2</sub>

### 21.1.2 Structure

L'analyse granulométrique (texture) permet de décrire le sédiment à partir de différentes fractions minérales regroupées en classes: les argiles de taille inférieure à 2 µm, les limons de 2 à 50 µm et les sables de 50 µm à 2 mm. Les sédiments peuvent alors être typés selon la teneur respective de ces trois composés en utilisant, par exemple, un système de coordonnées triangulaires (Figure 1).

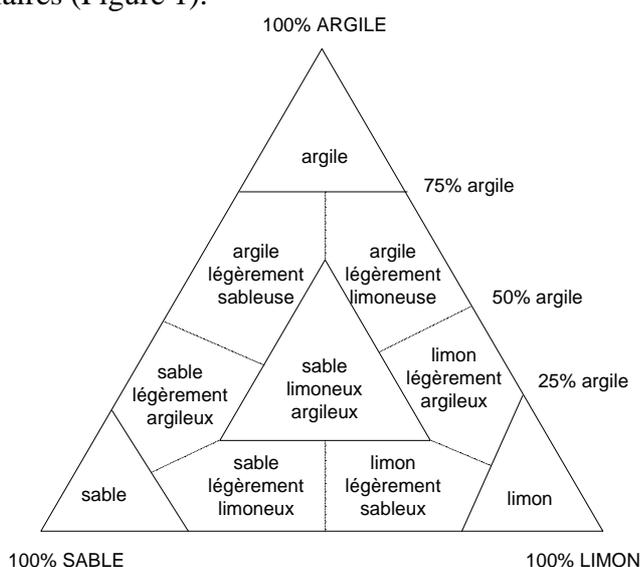


Figure 1 : Diagramme triangulaire de classification des sédiments en fonction de leur texture, d'après Campy et Meybeck (1995).

Outre le découpage granulométrique, le sédiment peut être caractérisé par sa stratification verticale, fonction de la teneur en oxygène (Gaillard, 1995). La structure de cette zone stratifiée peut varier en fonction de la saison, comme le montre la Figure 2. L'oxygène joue un rôle important tant pour des processus biologiques que pour de nombreuses réactions chimiques. Il régule au niveau de l'oxycline la solubilité, et donc la mobilité, de nombreux éléments (fer, manganèse, ...) comme plus largement décrit dans la Figure 7 par Meyer *et al.* (1994).

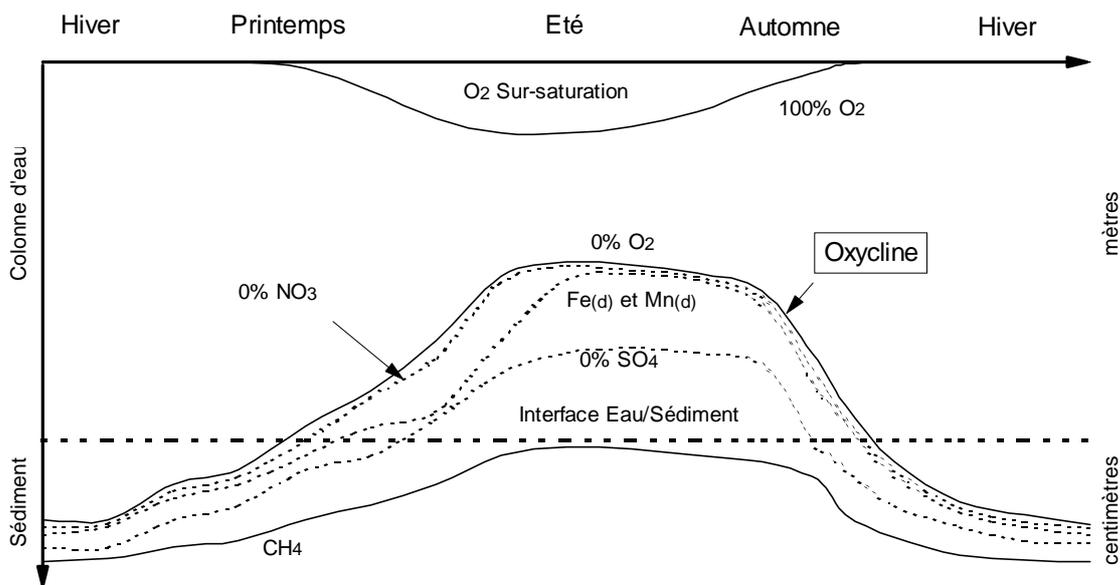


Figure 2 : Courbes iso-concentrations de l'oxygène dissous (% de saturation) en fonction d'un cycle annuel, d'après Gaillard (1995). Les domaines de variations de certaines espèces réduites et de nutriments sont présentés. (d) : dissous.

## 21.2 Contaminants métalliques et organiques

Les contaminants présents dans l'environnement peuvent être naturellement présents dans le milieu ou être d'origine anthropique : métaux issus des industries minières et métallurgiques, produits organiques issus des industries agro-alimentaires et des rejets industriels, domestiques et urbains.

### 21.2.1 Les métaux

Les métaux sont naturellement présents dans les sols, l'eau et les sédiments. Certains éléments, présents à l'état de trace, sont essentiels pour les organismes vivants (Cu, Zn, Co, Fe, Mn, Ni, Cr, V, Mo, Se, Sn) mais l'augmentation de leur concentration peut aboutir à des phénomènes de toxicité. D'autres éléments ne peuvent produire que des effets néfastes (Pb, Hg, Cd) (Phillips, 1993).

Les effets des métaux traces sur les organismes vivants sont fonction des caractéristiques physico-chimiques de ces molécules, de leur biodisponibilité et de leur spéciation. D'autre part, leur concentration et leur mode d'action en font des métaux plus ou moins dangereux pour les organismes (Tableau 2). Ce sont généralement les formes libres ou ioniques dissoutes des métaux qui sont les plus toxiques. Elles peuvent agir en se fixant sur les

récepteurs membranaires physiologiquement actifs (Campbell, 1995) ou, après transport actif dans le milieu intracellulaire, en inactivant les mécanismes enzymatiques (les formes divalentes des métaux réagissant rapidement avec les groupes carboxylique, alcool, amino-, imino- et thiol- des protéines), en formant des métalloenzymes à la place des éléments essentiels, en chélatant ou précipitant des métabolites (Nieboer et Richardson, 1980; Förstner, 1990). Dans les sédiments, les processus de compétition avec les éléments essentiels, d'adsorption sur des particules, de complexation, de précipitation ou/et d'oxydoréduction peuvent réduire la biodisponibilité des composés métalliques toxiques (Chapman *et al.*, 1998).

Tableau 2 : Classification de quelques métaux (en gras) et métalloïdes (non gras) selon leur toxicité et leur solubilité, d'après Förstner (1989a).

Peu dangereux			Toxiques mais rares ou insolubles		Très toxiques et relativement solubles		
<b>Li</b>	<b>Na</b>	<b>Mg</b>	<b>Ti</b>	<b>Ga</b>	<b>Be</b>	<b>Cr</b>	<b>Co</b>
<b>Al</b>	<b>Si</b>	<b>P</b>	<b>Zr</b>	<b>Ru</b>	<b>Ni</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>
<b>S</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Rh</b>	<b>Ba</b>	As	Se	<b>Pd</b>
<b>Mn</b>	<b>Fe</b>	<b>Rb</b>	<b>La</b>	<b>Hf</b>	<b>Ag</b>	<b>Cd</b>	Sn
<b>Sr</b>			<b>Ta</b>	<b>W</b>	Sb	Te	<b>Pt</b>
			<b>Re</b>	<b>Os</b>	<b>Au</b>	<b>Hg</b>	<b>Tl</b>
			<b>Ir</b>		<b>Pb</b>	<b>Bi</b>	

## 21.2.2 Les produits organiques

La gamme des produits organiques synthétisés par l'homme est large (Tableau 3 et Calow, 1994). Les composés organiques, sont généralement associés aux particules selon la composition de leurs groupes fonctionnels, de leur taille, de leur forme et s'il y a lieu de leur charge. Pour évaluer la répartition de ces produits organiques entre l'eau et les particules des coefficients de partage ont été proposés.

Le  $K_{ow}^1$ , coefficient de partage octanol/eau décrit la lipophilie d'un composé et diminue quand la solubilité du produit dans l'eau augmente (Chiou *et al.*, 1977). L'adsorption des composés organiques sur la matière organique est d'autant plus importante que leur  $K_{ow}$  est élevé.

Le  $K_p^2$ , proposé par Karickhoff *et al.* (1979), est un coefficient de partage des produits organiques et métalliques mesurés entre l'eau et les particules. Le  $K_p$  du composé est d'autant plus grand que sa polarité est faible.

Pour les produits organiques non polaires, la phase de liaison principale est la matière organique et cet auteur a proposé un coefficient de partage, normalisé par le carbone organique, pour en tenir compte : le  $K_{oc}^3$  ( $K_{oc}=K_p/\text{fraction de carbone organique}$ ) (Karickhoff, 1984).

<sup>1</sup>  $K_{ow} = (\mu\text{g produit/mL } n\text{-octanol}) / (\mu\text{g produit/mL eau})$ .

<sup>2</sup>  $K_p (\text{L/kg}) = C_s / C_{ei} (\mu\text{g produit adsorbé/kg sédiment}) / (\mu\text{g produit dissous/L solution})$ .

<sup>3</sup>  $K_{oc} (\text{L/kg CO}) = (\mu\text{g produit adsorbé/kg carbone organique}) / (\mu\text{g produit dissous/L solution})$ .

Les molécules organiques ont des cibles et des effets plus ou moins spécifiques et très variés. Elles peuvent être narcotiques, génotoxiques (HAPs), neurotoxiques (insecticides chlorés), inhibitrices de croissance (herbicides mimant l'action des auxines)... Les formes non ionisées des molécules organiques sont généralement plus toxiques que les formes ionisées car elles pénètrent plus facilement à travers les membranes cellulaires par transport passif au travers de la bicouche lipidique (Howe *et al.*, 1994).

*Tableau 3 : Principaux composés organiques présentés d'après leur structure et leur présence dans les sédiments, d'après Förstner (1989a) et Ramade (1998).*

---

#### **Les hydrocarbures aliphatiques**

Groupe de molécules linéaires ou ramifiées en longues chaînes. Les hydrocarbures aliphatiques sont assez volatils et sont peu présents dans les sédiments (niveaux non détectables ou mineurs).

---

#### **Les hydrocarbures aromatiques monocycliques**

Le benzène, le toluène et certains de leurs dérivés sont modérément volatils et solubles dans l'eau, ils ne sont pas présents à de fortes doses dans les sédiments. Des substitués chlorés ou azotés (dichlorobenzène, hexachlorobenzène, dinitrotoluène...) peuvent être présents à de fortes concentrations dans les sédiments proches de certaines industries.

---

#### **Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs)**

Groupe d'hydrocarbure dont la molécule est constituée par fusion d'un nombre variable de cycles benzéniques (naphtalène,..., coronène). Des composés aromatiques non substitués tels le benzo[a]pyrène, le fluoranthène, le pyrène et l'anthracène sont présents en fortes concentrations dans les sédiments proches de zones industrielles et de plates-formes pétrolières.

---

#### **Les pesticides organochlorés, les polychlorobiphényles (PCBs)**

Composés de synthèse obtenus par chloration de divers hydrocarbures insaturés (cyclopentadiènes chlorés, dichloroaniline, lindane, DDT, PCBs,...). Les cyclopentadiènes chlorés les plus connus sont le dieldrine, le chlordane, l'aldrine, l'heptachlor, l'endosulfan. Les PCBs sont des mélanges de biphényles à divers degrés de chloration (4 à 8 chlores/molécule). Le temps de demi-vie de ces agents est très long (excède souvent 10 ans) et leur biodégradabilité est quasi-nulle (sauf le lindane). Même les produits dont la production a été arrêtée (DDT) posent problème dans les sédiments. Bien que la concentration des PCBs baisse depuis plusieurs années, ces composés posent toujours problème dans les sédiments, car ils ont largement été utilisés dans les industries plasturgiques et électriques.

---

#### **Les pesticides organophosphorés**

Substances organiques de synthèse neurotoxiques douées de propriétés anticholinestérasiques, généralement dérivés de l'acide orthophosphorique (parathion, malathion, ...).

---

#### **Les carbamates**

Pesticides dérivés de l'acide carbamique (HO-CO-NH<sub>2</sub>): insecticides neurotoxiques doués de propriétés anticholinestérasiques (carbaryl, aldicarbe, ...) et fongicides (manèbe, zinèbe, ferbame,...).

---

#### **Les pyréthroides**

Insecticides synthétiques renfermant un noyau cyclopropane dans leur squelette moléculaire et dont la molécule est stabilisée par l'addition de radicaux halogénés, chlorés, bromés (deltaméthrine,) ou fluorés (cyperméthrine, cyfluthrine). Les pyréthroides sont très toxiques pour les poissons et autres vertébrés à sang froid.

---

#### **Les phénols**

Composés hydroxylés aromatiques dérivés du benzène ou de ses homologues supérieurs comme le naphtalène (DNOC, DNPB,...). Le penta-, le tétra- et le trichlorophénol sont présents dans certains sédiments contaminés.

---

#### **Les dibenzo-p-dioxines polychlorés (PCDDs, PCDFs, ...)**

Composés organiques produits lors de la combustion incomplète de substances organiques de synthèse. L'incinération des aromatiques chlorés est une source de dioxine et de dibenzofurane qui s'accumulent dans les sédiments.

---

## 21.3 Interactions entre les sédiments et les contaminants

### 21.3.1 La répartition des contaminants dans les sédiments

Le sédiment est une matrice complexe qui possède de multiples possibilités d'association avec les contaminants (Förstner, 1989a; Salomons et Stigliani, 1995; Calmano et Förstner, 1996; Chapman *et al.*, 1998). La répartition des contaminants dans les différentes composantes du sédiment (particules, eau, organismes) est contrôlée par des processus physiques, chimiques ou biologiques (Figure 3).

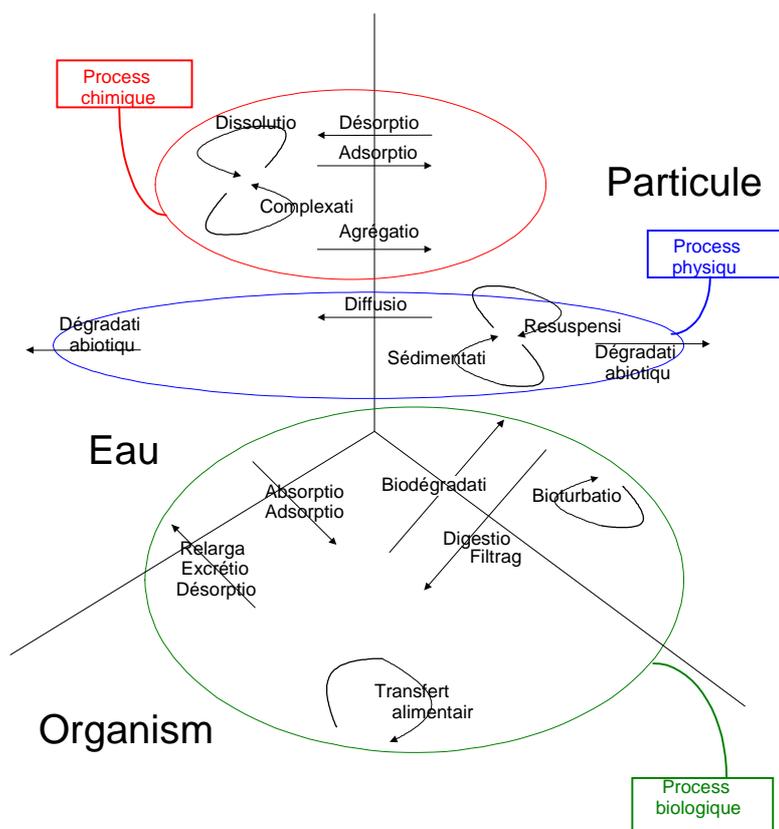


Figure 3 : Principaux processus contrôlant le cycle des contaminants dans le milieu aquatique, d'après Förstner (1989a).

Dans le compartiment aqueux, les contaminants peuvent être présents sous forme dissoute ou complexée. Ils peuvent être transférés dans la phase solide suite à l'agrégation de matériaux dissous ou par adsorption sur des particules. Au sein des particules, des processus de resuspension-sédimentation peuvent modifier l'association des contaminants avec les particules. Les contaminants associés aux particules peuvent retourner dans la phase aqueuse sous l'effet de processus physiques (diffusion) ou chimiques (désorption). Les organismes vivants modifient les caractéristiques physico-chimiques du milieu (bioturbation, biodégradation), ils accumulent les contaminants à partir des phases

aqueuses et particulaires par absorption. Les contaminants peuvent alors être transférés dans la chaîne alimentaire.

### 21.3.2 Les facteurs de contrôle de la répartition des contaminants

Nous venons de voir que, sous l'effet de processus physiques, chimiques et biologiques, les contaminants se répartissent entre différentes formes (dissoutes, complexées, adsorbées, absorbées...) dans les principaux composants du sédiment (phase aqueuse, particulaire, biologique). La Figure 4 présente quelques facteurs de contrôle de la répartition des contaminants dans les sédiments : les paramètres physico-chimiques (pH, potentiel d'oxydoréduction, capacité d'échange cationique, salinité,...) et les constituants sédimentaires (particules inorganiques, matière organique, sulfures, oxydes de fer et de manganèse,...). La réflexion bibliographique, qui permet de discuter des principaux facteurs de contrôle dans les paragraphes suivants, s'appuie en grande partie sur les publications de Förstner *et al.* (1987; 1989a).

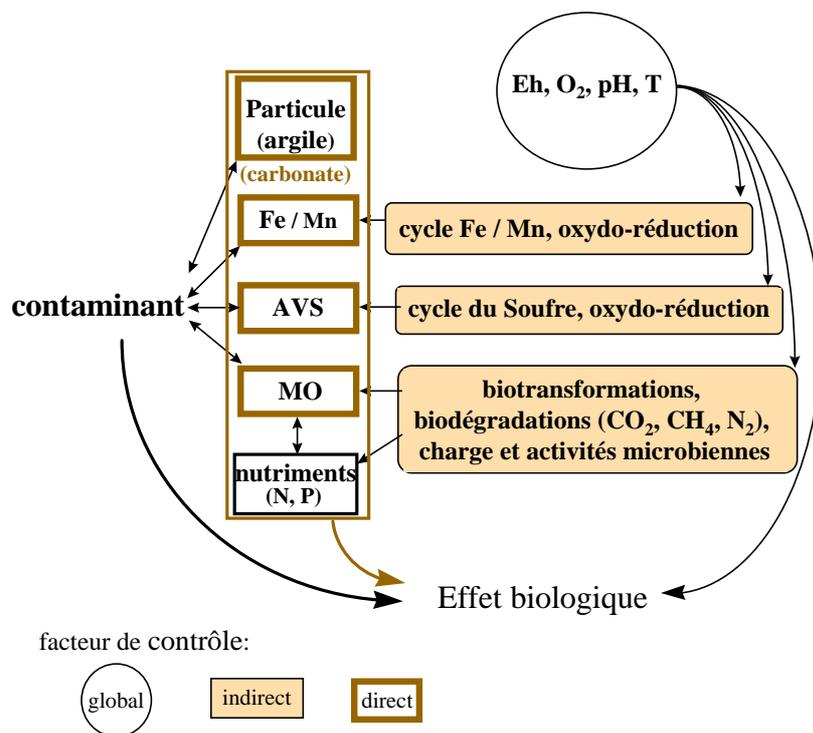


Figure 4 : Principaux facteurs contrôlant la biodisponibilité des contaminants et influençant la réponse biologique, d'après Montuelle (comm. pers.).

#### 21.3.2.1 Les paramètres physico-chimiques

- Le pH

Dans les sédiments, le pH est contrôlé par les activités biologiques et dépend de la capacité tampon du système (équilibre  $\text{CO}_3^{2-}/\text{HCO}_3^-$ ...). La réduction des sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) en sulfure (S) entraîne une augmentation du pH alors que la dénitrification (réduction des nitrates ( $\text{NO}_3$ ) en azote ( $\text{N}_2$ )) entraîne une diminution du pH (Meyer *et al.*, 1994).

Les métaux de transition et les métalloïdes, principalement présents sous forme d'oxyanions, voient leur concentration augmenter dans la phase aqueuse quand le pH augmente (Figure 5). A l'opposé, les métaux cationiques, présents sous forme dissoute à pH acide, s'adsorbent ou précipitent quand le pH augmente, mais seulement jusqu'à une certaine limite au delà de laquelle ils sont à nouveau solubilisés<sup>1</sup> (Figure 5).

Cependant, dans des conditions complexantes favorables (présence de matière organique), les métaux cationiques (Cu, Pb,...) qui ont une forte affinité avec la matière organique se comportent comme des anions et restent piégés dans la phase solide à pH acide (Serpaud *et al.*, 1994; Bourg et Loch, 1995).

Evidemment, le pH contrôle les équilibres entre les formes non ionisées et les formes ionisées des molécules organiques (Figure 6). En conditions alcalines, la proportion de forme ionisée (moins toxique) des nitrophénols augmente et les organophosphates sont hydrolysés en sous-produits moins toxiques que les molécules mères (sauf quelques cas comme le trichlorfon dont l'hydrolyse produit à pH alcalin du dichlorvos qui est 3 à 350 fois plus toxique) (Howe *et al.*, 1994). Cependant, le pH affecte de manière limitée la structure des molécules qui possèdent peu de groupes polaires (pyrène, ...) (Wildi *et al.*, 1994).

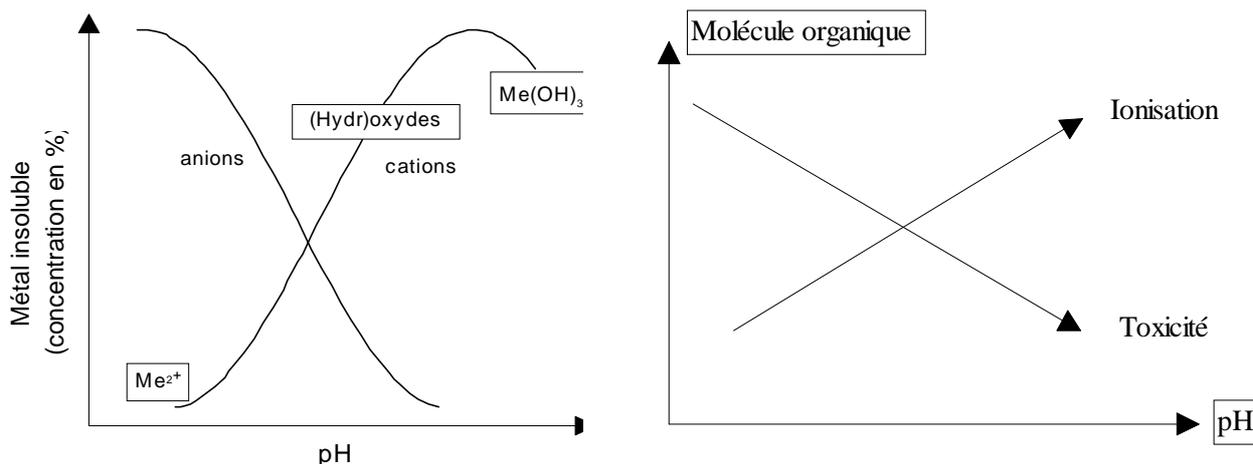


Figure 5 : Solubilité des cations et anion métalliques en fonction du pH, d'après Bourg et Loch (1995).

Figure 6 : Comportement schématique de la toxicité de micropolluants organiques en fonction du pH, d'après Howe *et al.* (1994).

#### • Le potentiel d'oxydoréduction

Le potentiel d'oxydoréduction ou potentiel redox (Eh en millivolts) mesure l'aptitude à l'oxydation -ou à la réduction- d'une solution et permet de déterminer les possibilités de mise en solution ou de précipitation de divers composés minéraux présents dans les sédiments (Ramade, 1998).

<sup>1</sup> Exemple du fer : les hydroxydes de fer se resolubilisent au delà de pH 9.

La Figure 7 présente les principaux cycles biogéochimiques en fonction du potentiel redox. La dégradation de la matière organique par les bactéries entraîne une diminution du potentiel redox et une augmentation des conditions réductrices dans le sédiment (Meyer *et al.*, 1994). Les conditions redox ont une influence significative sur la solubilité de certains métaux comme le fer, le manganèse ou le chrome<sup>1</sup>. D'autres métaux, qui ne sont normalement pas affectés par le potentiel redox du milieu, voient leur mobilité indirectement influencée par la disponibilité d'éléments complexants, comme les hydroxydes de fer et de manganèse et certains anions (sulfures). Ainsi, en conditions réductrices, l'excès de sulfure limite la mobilité des métaux et ils coprécipitent (fer,...). Lorsque les conditions deviennent oxydantes, les sulfures sont oxydés et les métaux cationiques sont relargués sous forme dissoute (Figure 7) (Bourg et Loch, 1995).

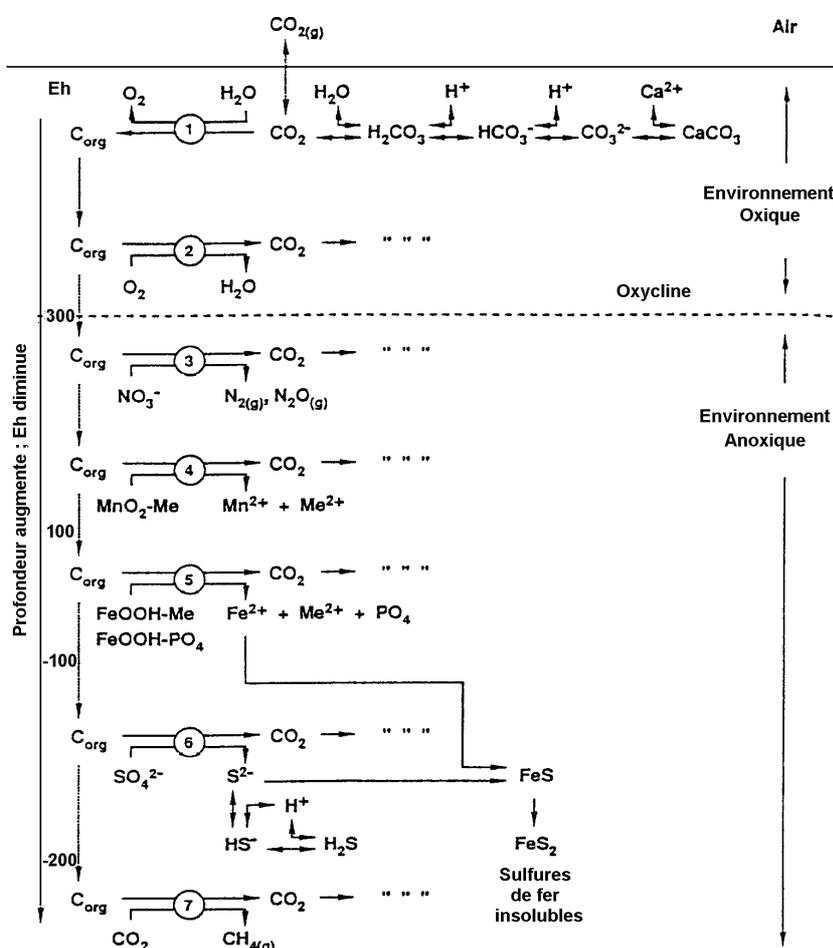


Figure 7 : Hypothèses simplifiées des principaux cycles biogéochimiques dans les systèmes sédimentaires d'eau douce en fonction du potentiel d'oxydoréduction (Eh en millivolt), incluant les ions métalliques (Me), le phosphate (PO<sub>4</sub>) et les oxydes de fer et de manganèse, d'après Meyer *et al.* (1994). Avec : ① photosynthèse, ② métabolisme oxydatif, ③ dénitrification, ④ réduction du manganèse, ⑤ réduction du fer, sulfato-réduction, ⑦ méthanisation.

<sup>1</sup> Un environnement réducteur favorise la solubilisation du fer et du manganèse et diminue celle du chrome.

- **La capacité d'échange cationique et la surface spécifique**

La réactivité des particules est d'autant plus grande que leur capacité d'échange cationique (CEC) et leur surface spécifique ( $m^2/g$ ) sont importantes.

La capacité d'échange cationique de la fraction solide est fonction de l'importance et de la distribution des charges dans sa structure<sup>1</sup>, des cations adsorbés, généralement le sodium, le potassium ou le calcium et de la nature des cations remplaçants (Calmano *et al.*, 1996). La surface spécifique est inversement proportionnelle au diamètre des particules (Sigg *et al.*, 1992). Les argiles sont des composés particulièrement réactifs (la montmorillonite a une structure plus réactive que la kaolinite qui est un silicate d'aluminium pur).

- **La dureté**

La dureté peut influencer la disponibilité des contaminants. Ce phénomène peut être du à une augmentation de la compétition entre  $Ca^{2+}$  et  $Me^{2+}$  sur les sites récepteurs des organismes ou à une coprécipitation des ions métalliques (Gauss *et al.*, 1985).

- **La salinité**

La salinité<sup>2</sup> peut être un facteur particulièrement critique pour la répartition de certains contaminants entre la phase dissoute et la phase solide. Ainsi certains métaux dissous (Cd, Zn,...) peuvent se complexer avec l'ion chlorure et précipiter (Förstner, 1989a).

### **21.3.2.2 La fraction minérale**

Les particules inorganiques n'interviennent de manière prépondérante dans la répartition des contaminants que si la teneur en matière organique des sédiments est inférieure à 0,2%. Au delà de cette valeur c'est la teneur en matière organique de chacune des phases qui contrôle la répartition des contaminants organiques (fluoranthène, di- et tri-chlorobenzène, indole)<sup>3</sup> (Rebhun *et al.*, 1992). La fraction inorganique grossière n'est généralement pas associée aux contaminations chimiques.

Les problèmes associés à des contaminations chimiques sont souvent localisés dans des zones de dépôt sédimentaire où les sédiments sont fins (Piérard *et al.*, 1996; Razak *et al.*, 1996; Jain et Ram, 1997; Christensen, 1998). En effet, de par ses caractéristiques (structure, composition, capacité d'échange cationique et surface spécifique), la fraction argilo-limoneuse des sédiments est souvent plus réactive chimiquement que le matériel grossier : elle peut former des complexes argilo-humiques avec la matière organique décomposée (acides humiques) et est plus souvent le siège de phénomènes de sorption et de désorption pour les contaminants (cations organiques, molécules organiques polaires et ions métalliques). Ainsi, des PCBs peuvent être associés à l'argile (Christensen, 1998). En fonction de leur diamètre ionique, certains métaux (Ni, Zn, Cd) peuvent se substituer aux cations majeurs des argiles (généralement le sodium, le potassium ou le calcium) dans les

---

<sup>1</sup> L'argile et les composés humiques sont chargés négativement : ils peuvent échanger des cations.

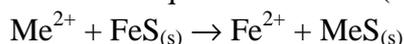
<sup>2</sup> Les eaux douces superficielles ont une salinité moyenne de 0,12 g/L, les eaux saumâtres ont une salinité comprise entre 3 et 22 g/L.

<sup>3</sup> La constante d'adsorption sur la matière organique ( $K_{oc}$ ) est 8 à 20 fois plus grande que la constante d'adsorption sur l'argile ( $K_m$ ).

unités octaédriques de ces minéraux argileux (Förstner, 1987). Ce processus devient prépondérant en l'absence de sites de liaison sur les oxyhydroxydes.

Les oxydes de fer et de manganèse amorphes des sédiments sont les premiers intervenants dans les processus d'adsorption (Serpaud *et al.*, 1994). Ils ont une forte capacité de substitution isomorphique et ils lient les composés organiques et inorganiques (Wen et Allen, 1999).

Les sulfures se forment dans les sédiments anoxiques par dégradation anaérobie de la matière organique ou par réduction des sulfates. Le rôle majeur de ces sulfures dans le piégeage de certains métaux divalents (Cd, Ni, Zn, Cu, Pb) a été montré par plusieurs auteurs (Di Toro *et al.*, 1990; Ankley *et al.*, 1991a; Berry *et al.*, 1996; Calmano *et al.*, 1996; Hansen *et al.*, 1996; Liber *et al.*, 1996; Sibley *et al.*, 1996). A l'équilibre il y a formation de sulfures métalliques insolubles par coprécipitation des ions sulfures  $S^{2-}$  avec les ions métalliques relargués à partir de la matière organique ou de la surface des particules. Le fer, très répandu dans les sédiments, domine le pool des sulfures métalliques mais il possède moins d'affinité que la plupart des métaux traces (avec par ordre croissant d'affinité :  $Ni^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ) et il est donc facilement échangé dans un rapport mole à mole selon l'équation suivante (Di Toro *et al.*, 1990) :



### 21.3.2.3 La fraction organique

Dans la fraction particulaire des sédiments, les surfaces organiques pouvant interagir avec les contaminants sont de trois types : les microorganismes vivants (bactéries, algues,...), les détritiques végétaux ou animaux et les agrégats de molécules organiques formant un matériel de haut poids moléculaire, et les molécules organiques de faible poids moléculaire qui sont adsorbées sur les argiles et les oxydes métalliques (Förstner, 1987).

A la limite de la fraction dissoute, les colloïdes organiques sont des polymères d'acides humiques principalement chargés négativement, contenant des groupes fonctionnels -COOH, -OH, -C=O, -NH<sub>2</sub> et -SH qui forment des complexes avec les contaminants par exemple par chélation pour les contaminants métalliques, et par protonation, force de Van der Waals, complexation ou liaisons hydrophobes pour les contaminants organiques. Certains colloïdes organiques qui sont facilement biodégradables par des processus microbiens, sont une source potentielle de contamination pour les organismes par relargage de substances chimiques dissoutes (Santschi *et al.*, 1999).

Les composés métalliques et organiques peuvent s'adsorber sur la fraction organique des sédiments (Karickhoff *et al.*, 1979; Landrum *et al.*, 1987; Serpaud *et al.*, 1994; Kukkonen et Landrum, 1996; Razak *et al.*, 1996; Tye *et al.*, 1996; Christensen, 1998; Santschi *et al.*, 1999). Dans les sédiments oxiques, l'affinité de la matière organique pour les métaux est généralement inférieure à celle des oxydes métalliques et supérieure à celle des argiles (Förstner, 1987; Santschi, 1988). Cependant, la quantité et la qualité des différents pools de ligand modulent l'affinité des métaux pour ces différentes phases.

### 21.3.2.4 La composante biologique

Le compartiment biologique (microorganismes, invertébrés, végétaux,...) peut accumuler, transformer (méthylation des métaux) et métaboliser (biodégradation des PCBs) les contaminants, par contact des surfaces cellulaires et tissulaires externes avec le sédiment contaminé ou, suite à l'ingestion de particules contaminées, par extraction des produits dans le tractus intestinal.

Les organismes benthiques peuvent modifier la biodisponibilité des contaminants adsorbés aux particules en les redistribuant à travers les différentes couches des sédiments (Kure et Forbes, 1997), en modifiant leur équilibre par simple perturbation physique, en les biodégradant ou en les bioaccumulant (avec une bioamplification possible à travers la chaîne alimentaire) ou en les concentrant dans leurs déchets (Förstner, 1987).

### 21.3.3 La biodisponibilité et la toxicité des contaminants

Les organismes vivants peuvent s'intoxiquer aussi bien à partir de la phase dissoute (absorption via les surfaces branchiales ou corporelles) que de la phase particulaire (ingestion et désorption dans le tractus gastro-intestinal). Il est donc important de connaître la répartition des contaminants à l'équilibre entre ces deux phases pour les molécules organiques et pour les métaux.

#### 21.3.3.1 Les molécules organiques

Le modèle du partage à l'équilibre, initialement proposé par Karickhoff *et al.* (1979) et plus amplement développé par Di Toro *et al.* (1991), permet de modéliser l'absorption/pénétration des contaminants par les organismes en observant leur répartition entre la phase dissoute et la phase particulaire (carbone organique) (Figure 8).

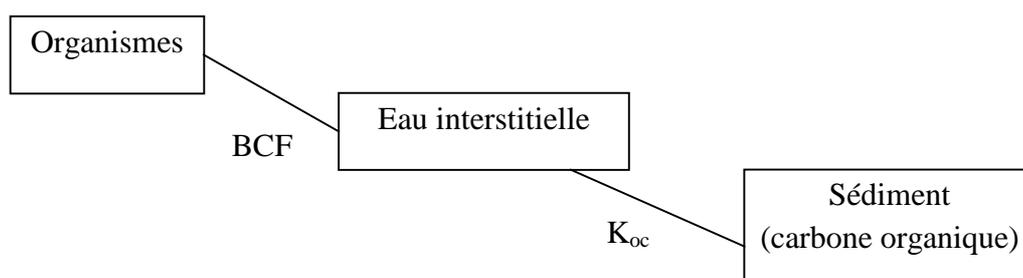


Figure 8 : Modèle du partage à l'équilibre pour les molécules organiques hydrophobes non ioniques.  $K_{oc}$  coefficient de partage carbone organique - eau (L/kg carbone organique), BCF facteur de bioconcentration, d'après Sijm *et al.* (2000).

A partir de l'équation ci-dessous, qui décrit la répartition des contaminants entre la phase particulaire et la phase dissoute, connaissant la concentration en contaminant dans un compartiment, le  $K_{oc}$ , le  $f_{oc}$  et le BCF, on peut en déduire la concentration dans les deux autres compartiments :

$$C_{ei} = C_s / (K_{oc} * f_{oc}) \quad (\text{Hoke } et al., 1994)$$

avec :  $C_{ei}$  : concentration dans l'eau interstitielle ( $\mu\text{g/L}$ ).  
 $C_s$  : concentration dans le sédiment ( $\mu\text{g/kg}$  sédiment poids sec).  
 $K_{oc}$  : coefficient de partage carbone organique - eau ( $\text{L/kg CO}$ ).  
 $f_{oc}$  : fraction de carbone organique du sédiment ( $\text{kg CO/ kg sédiment poids sec}$ ).

Cependant, ce modèle du partage à l'équilibre est affecté (a) par la physiologie, l'habitat et le comportement des organismes (Wildi *et al.*, 1994; Sijm *et al.*, 2000), (b) par les caractéristiques physiques et chimiques du sédiment, par exemple, la présence de fortes concentrations en colloïdes dans les eaux interstitielles, et (c) par la quantité de contaminants présente et le temps de contact contaminants/particules (Reid *et al.*, 2000). Par exemple, la diminution du pH entraîne une augmentation de la production de mucus par les larves de Chironomidae qui diminue la biodisponibilité des HAPs (pyrène) (Wildi *et al.*, 1994).

La bioaccumulation des contaminants organiques présents dans le sédiment sous forme adsorbée est plus lente que la bioaccumulation des contaminants dissous (Reid *et al.*, 2000), elle peut être due, pour les molécules organiques les plus hydrophobes, à une solubilisation, dans l'intestin, des contaminants adsorbés (Weston et Mayer, 1998).

Un modèle, dit de la troisième phase, a été proposé pour expliquer la présence de contaminants dans la phase dissoute à des concentrations largement supérieures à la solubilité de ces composants. Ce modèle, fait intervenir les colloïdes et considère que la concentration mesurée dans l'eau interstitielle ( $C_{ei}$ ) est la résultante de la concentration en produit dissous et de la concentration en produit adsorbé sur les colloïdes (Villholt, 1999). Les colloïdes présents en phase dissoute (fraction  $<0,22 \mu\text{m}$ ) peuvent ainsi expliquer la présence, dans l'eau interstitielle, de PCBs en concentration largement supérieure à la solubilité de ces composants (Förstner, 1989a).

Le  $K_{oc}$  augmente avec le temps de contact particules-contaminants<sup>1</sup> et diminue lorsque les concentrations en contaminant augmentent (Figure 9). En outre, dans un sédiment, la relation entre la quantité adsorbée d'un contaminant, normalisée par la teneur en carbone organique du sédiment, et la quantité dissoute de ce contaminant dans l'eau interstitielle n'est pas linéaire (Cornelissen *et al.*, 1997a).

---

<sup>1</sup> Dans un sédiment, lorsque le temps de contact particules-contaminants augmente la teneur en contaminants dans les sédiments augmente et la proportion de composés organiques biodisponible diminue (Reid *et al.*, 2000).

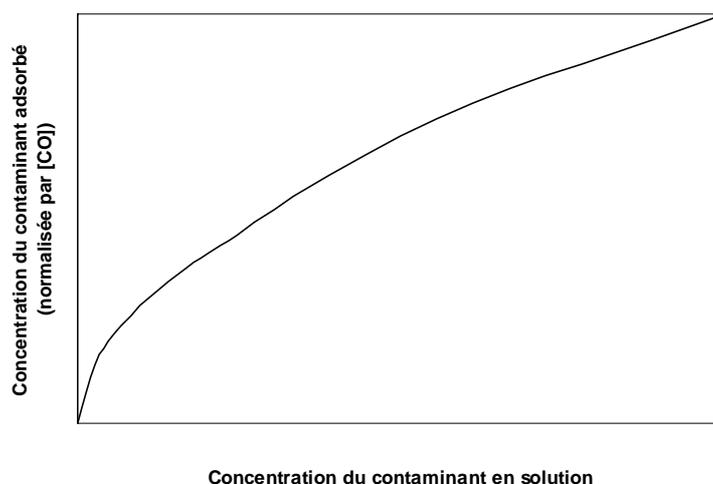


Figure 9 : Exemple théorique de relation d'adsorption non linéaire, d'après Cornelissen *et al.* (1997a).

De plus, l'hypothèse que des niveaux élevés de carbone organique dans les sédiments devraient atténuer les effets des toxiques organiques doit aussi tenir compte des propriétés particulières des contaminants et notamment de leur affinité pour la matière organique (représentée par le  $K_{oc}$ ). Par exemple, Nebeker *et al.* (1989) ont montré que, si la toxicité du DDT ( $K_{oc} = 4 \cdot 10^6$ ) diminue bien avec l'augmentation de la teneur en matière organique des sédiments, le contenu en carbone organique total des sédiments a peu d'effet sur la toxicité de l'endrine ( $K_{oc} = 1.7 \cdot 10^3$ ).

### 21.3.3.2 Les métaux

Comme pour les molécules organiques, l'adsorption sur les surfaces solides est un mécanisme important de contrôle des concentrations métalliques dissoutes.

Dans les sédiments oxydiques, outre la matière organique, les oxydes de fer et de manganèse sont des phases piégeantes dont l'importance est à mettre en relation avec l'abondance relative dans les sédiments (chapitre 2, §1.3.2.2) (Tessier *et al.*, 1985; Young et Harvey, 1992). Un modèle faisant intervenir ces trois phases a été proposé :

$$[M^{n+}] = [M_{ads}] / (K_{Fe} \cdot [FeOx] + K_{Mn} \cdot [MnOx] + K_{MO} \cdot [MO]) \quad (\text{Shea, 1988})$$

avec :  $[M^{n+}]$  : concentration dans l'eau interstitielle en métaux libres dissous ( $\mu\text{g/L}$ ).

$[M_{ads}]$  : concentration dans le sédiment en métaux adsorbés ( $\mu\text{g/kg}$  sédiment poids sec).

$K_{Fe}$ ,  $K_{Mn}$ ,  $K_{MO}$  : constantes d'équilibre du métal sur la phase adsorbante correspondante (L/kg phase piégeante), dépendantes du pH.

$[FeOx]$ ,  $[MnOx]$ ,  $[MO]$  : concentration des phases adsorbantes du sédiment (kg phase piégeante/ kg sédiment poids sec).

Dans les sédiments anoxiques, le modèle SEM/AVS, développé par Di Toro *et al.* (1990), rend compte de la non biodisponibilité des métaux. Quand le rapport SEM/AVS est  $< 1$ , les métaux présents sont potentiellement tous associés aux sulfures dans la phase particulaire

et aucune toxicité n'est observée dans les sédiments<sup>1</sup> (Ankley *et al.*, 1991a; Ankley *et al.*, 1996a). Des études récentes suggèrent que le carbone organique peut être une source supplémentaire de piègeage des métaux (Ankley et Mount, 1996; Mahony *et al.*, 1996).

La bioaccumulation de métaux (cadmium, zinc, nickel et argent) par des organismes benthiques peut être contrôlée par le comportement et le régime alimentaires des organismes (Lee *et al.*, 2000).

### 21.3.3.3 Toxicité de la phase aqueuse

Quand les conditions sont réunies pour que les modèles de partage particules-eau soient valides, la toxicité peut être exprimée à partir de la concentration des contaminants dans l'eau interstitielle. Divers auteurs (Swartz *et al.*, 1990; Di Toro *et al.*, 1991; Hansen *et al.*, 1996) ont montré que la toxicité de contaminants organiques non ioniques (pesticides, HAPs) et de métaux cationiques envers les organismes benthiques était corrélée aux concentrations de contaminants mesurées dans l'eau interstitielle. Ankley *et al.* (1991b) observent que 80% des bioessais réalisés sur eau interstitielle avec *H. azteca* et *L. variegatus* donnent des réponses en accord avec les réponses obtenues sur bioessais en phase solide, et Green *et al.* (1993) considèrent que les organismes benthiques et épibenthiques s'exposent principalement aux contaminants par la phase aqueuse, via les surfaces branchiales par exemple. Landrum et Robbins (1990) ont différencié les parts respectives de l'eau interstitielle et des particules ingérées dans la biodisponibilité des contaminants et ils ont montré que leurs pourcentages respectifs de contribution varient avec la nature des contaminants (Tableau 4). Ainsi, l'eau interstitielle peut être la voie d'exposition dominante pour l'accumulation par l'amphipode *Pontoporeia hoyi* de certains HAPs et PCBs associés aux sédiments.

Tableau 4 : Contribution estimée de l'eau interstitielle et des particules ingérées pour l'apport de contaminants vis-à-vis de *Pontoporeia hoyi*, d'après Landrum et Robbins (1990).

Composé	Log	(structure)	Source	
			Eau interstitielle	Particules ingérées
Benzo(a)pyrène	NR	(5 cycles)	0%	100%
Pyrène	5,2	(4 cycles)	74%	26%
Phénanthrène	4,4	(3 cycles)	88%	12%
Hexachlorobiphényl	6,7	(2 cycles, 6 Cl)	52%	48%
Tetrachlorobiphényl	5,9	(2 cycles, 4 Cl)	80%	20%

NR : non renseigné.

Cependant l'exposition des organismes à des extraits aqueux peut mésestimer la toxicité du sédiment brut. Les organismes par leur comportement (alimentation sélective, activité de

<sup>1</sup> La différence SEM-AVS est parfois proposée au lieu du ratio SEM/AVS. Cette différence permet d'évaluer la capacité de piègeage encore disponible (valeur négative) ou l'importance du dépassement de la capacité de piègeage (valeur positive) avec dans ce cas l'étude de l'importance d'autres ligands (Hansen *et al.*, 1996).

bioturbation, construction de l'habitat,...) peuvent être sous-exposés ou sur-exposés aux contaminants.

La mésestimation de la toxicité dans les eaux interstitielles par rapport à la toxicité mesurée dans les sédiments peut s'expliquer, d'une part, par des artefacts expérimentaux, et d'autre part, par des écarts entre les conditions d'exposition expérimentales dans les bioessais et les expositions *in situ*.

Ainsi, l'extraction de l'eau interstitielle peut entraîner une augmentation de pH de 0,5 à 1 unité et augmenter le potentiel toxique de composés comme l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) (Burton et Mcpherson, 1995). Alors que, dans le cas de pollutions par des molécules organiques ou des métaux cationiques, l'augmentation de pH peut entraîner une diminution du potentiel toxique (les contaminants s'adsorbent sur les particules) (Ankley *et al.*, 1991b; Howe *et al.*, 1994). Pour des durées d'exposition dépassant la semaine, les concentrations en contaminants auxquelles s'exposent les organismes diffèrent entre les deux phases : en phase aqueuse, il y a une tendance à l'épuisement du stock de contaminants biodisponibles (précipitation, chélation, adsorption sur les colloïdes, biodégradation, photodégradation,...) alors que dans un bioessai sur sédiment brut le pool de contaminants présents dans la phase aqueuse est relativement stable (Harkey *et al.*, 1994b).

Un bioessai en eau seule peut entraîner une surexposition des organismes aux contaminants (dans le cas des chironomes notamment, l'absence de tubes protecteurs peut surexposer les organismes aux contaminants) (Harkey *et al.*, 1994b) et l'absence de substrat peut entraîner un stress supplémentaire pour des organismes benthiques comme *Chironomus* sp. ou *Lumbriculus variegatus* (Harkey *et al.*, 1994b). De plus, l'intoxication peut venir de la phase particulaire : les contaminants peuvent intoxiquer les organismes suite au contact organisme-particules ou à l'ingestion des particules contaminées. Dans ce cas là, l'exposition à la phase aqueuse ne peut pas correctement représenter le potentiel toxique des sédiments.

### **21.3.4 Exemple de l'arsenic : spéciation et localisation dans les sédiments**

Pour présenter un cas concret de spéciation dans les sédiments nous présentons ici la spéciation de l'arsenic. Ce choix se justifie par le fait que l'arsenic est un contaminant majeur dans le sédiment que nous avons utilisé pour étudier l'impact d'un processus de remise en suspension sur la toxicité du milieu (chapitre 5).

L'arsenic est un métalloïde classé dans le groupe 1 (espèce cancérogène pour l'homme) par le Centre International de Recherche sur le Cancer (Ledrans et Grossier, 1998). Les principales formes de l'arsenic en fonction de son degré d'oxydation sont présentées dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Principales formes de l'arsenic en fonction de son degré d'oxydation, d'après le Canada National Research Council (1978).

Nombre d'oxydation	Espèces		
	molécules minérales	ions	molécules organoarséniées
-III (arsine)	H <sub>3</sub> As		(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> As
0 (élément)	As		
+III (arsénite)	H <sub>3</sub> AsO <sub>3</sub> AsCl <sub>3</sub> As <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> AsO <sub>3</sub> <sup>-</sup> HAsO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> AsO <sub>3</sub> <sup>3-</sup> CH <sub>3</sub> AsHO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	CH <sub>3</sub> AsO <sub>2</sub> H <sub>2</sub>
+V (arséniate)	H <sub>3</sub> AsO <sub>4</sub> As <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	H <sub>2</sub> AsO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HAsO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> AsO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> CH <sub>3</sub> AsHO <sub>3</sub> <sup>-</sup> CH <sub>3</sub> AsO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> AsO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	CH <sub>3</sub> AsO <sub>3</sub> H <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> AsO <sub>2</sub> H (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> AsO arsénobétaine arsénocholine

Dans les cours d'eau, l'arsenic est essentiellement présent sous forme liée dans les sédiments. Les formes solubles d'arsénite (As III) et d'arséniate (As V) présentes dans l'eau ont de multiples possibilités d'association, elles peuvent coprecipiter avec les oxydes de fer, de manganèse ou d'aluminium (Belzile, 1988; Cornett *et al.*, 1992), s'adsorber sur la matière organique en suspension ou se chélater sur les constituants humiques dans les sédiments (Ferguson et Gavis, 1972; Canada national research council, 1978).

Globalement, la spéciation et la localisation de l'arsenic dans les sédiments est fonction du pH<sup>1</sup> et du potentiel redox du milieu, de la présence de ligands et de matériel colloïdal, de processus de précipitation et d'adsorption sur les particules (Blanck *et al.*, 1989). La Figure 10 présente, sous une forme simplifiée, les formes majeures de l'arsenic et leurs associations dans le milieu sédimentaire d'eau douce. Les paragraphes qui suivent discutent des formes et des associations possibles de l'arsenic dans l'eau et dans les sédiments en fonction des principales caractéristiques de ce métalloïde et des matrices aqueuses et particulaires.

<sup>1</sup> Pour des valeurs de pH diminuant de 11 à 2, l'arséniate se transforme en arsénite.

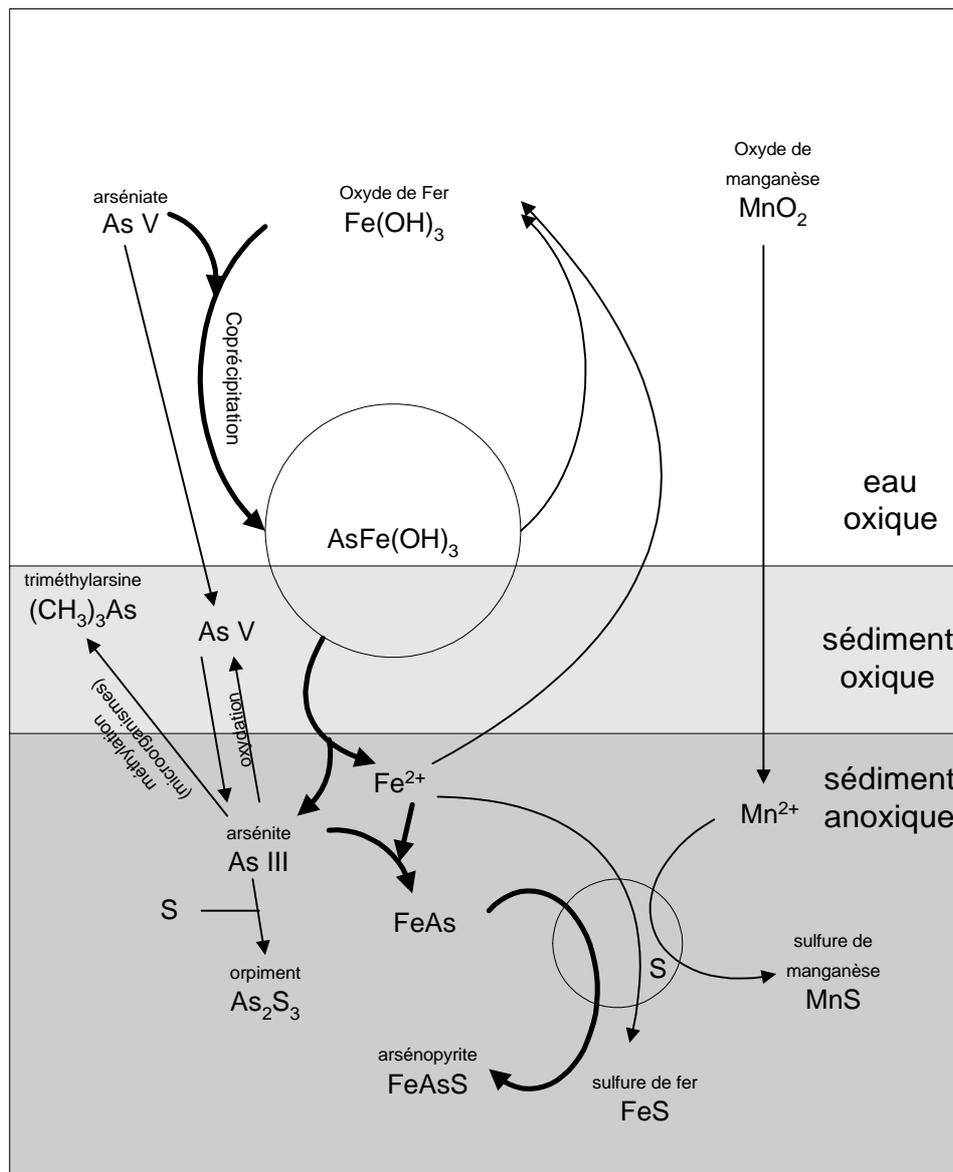


Figure 10 : Spéciation simplifiée de l'arsenic dans les milieux naturels d'eau douce.

• **L'arsenic dans la phase aqueuse**

L'arsenic inorganique représente de l'ordre de 90% de l'arsenic total présent en solution. Les organo-arseniés (10% de l'arsenic total en solution) sont instables en conditions oxydantes en raison de l'oxydation de la partie organique de la molécule (Ferguson et Gavis, 1972).

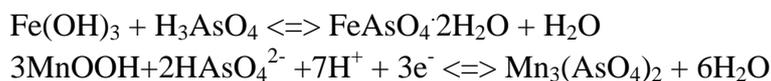
En conditions oxiques, les complexes pentavalents sont les formes thermodynamiquement les plus stables alors que ce sont les formes trivalentes qui deviennent majoritaires en conditions anoxiques (Blanck *et al.*, 1989). Cependant, dans les eaux de surface, l'arsénite peut quand même représenter 10% de l'arsenic total. En effet, l'oxydation de l'arsénite en

arséniate est un processus abiotique lent<sup>1</sup> et les micro-organismes jouent un rôle mineur dans ce système (Oscarson *et al.*, 1980).

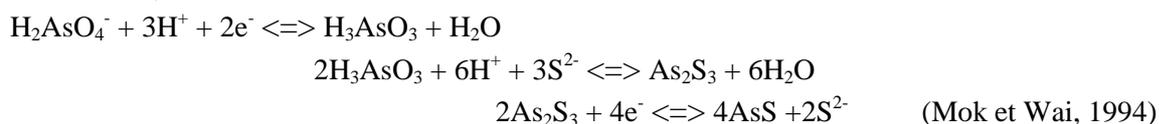
#### • L'arsenic dans les sédiments

Dans les sédiments la majorité de l'arsenic se retrouve associée aux oxydes de fer, chélatée à l'humus ou piégée dans des colloïdes (aluminosilicates, organosilicates) (Canada national research council, 1978). Les substances humiques réfractaires, de par leurs propriétés complexantes, acido-basiques et adsorbantes, peuvent jouer un rôle important dans la rétention de l'arsenic par les sédiments, surtout en milieu acide. Les acides fulviques dissous peuvent piéger l'arsenic et peuvent être une cause d'augmentation de la teneur en arsenic dans l'eau (Mok et Wai, 1994). L'arsenic peut, comme le phosphate, s'adsorber sur les groupes aluminium des argiles<sup>2</sup> ou sur les hydroxydes les recouvrant (Blanck *et al.*, 1989). Dans les sédiments anoxiques, la présence de phosphate peut donc, par compétition, retarder l'adsorption ou l'immobilisation de l'arsenic et l'arrivée de détergents ou de fertilisants (phosphates) dans un cours d'eau pollué à l'arsenic peut entraîner un relargage de ce métalloïde (Mok et Wai, 1994).

Les articles de Reuther (1992) et Masscheleyn *et al.* (1991) permettent de discuter de l'influence de paramètres physico-chimiques tels que le pH, le potentiel redox, la teneur en oxygène dissous de l'eau et la charge en arsenic sur la spéciation et la localisation de l'arsenic dans les sédiments. Reuther montre dans son étude que le comportement de l'arsenic inorganique dissous est probablement couplé au devenir des composés ferriques. Pour un potentiel redox inférieur à 0 V dans le sédiment, et une teneur en oxygène dissous dans l'eau surnageante inférieure à 70%, il détecte la formation et la précipitation de Fe (II) et de Mn (II) dans les sédiments. Ces éléments piègent et adsorbent l'arsenic dissous de l'eau interstitielle (Reuther, 1992) selon les réactions suivantes (Mok et Wai, 1994) :



De manière plus générale, lorsque la concentration en oxygène dissous de l'eau interstitielle et le potentiel redox du sédiment diminuent (conditions d'anoxie), il y a relargage d'arsenic dissous (sa concentration augmente dans l'eau interstitielle), puis réadsorption de l'arsenic sous forme d'orpiment ( $\text{As}_2\text{S}_3$ ) ou piégeage de l'arsenic dans des sulfures de fer amorphes sous forme d'arséno-pyrite ( $\text{FeAsS}$ ). En effet, l'arsenic a une forte affinité pour les sulfures et les sulfures d'arsenic sont stables dans des conditions de faible potentiel redox, avec de fortes concentrations en sulfures (Ferguson et Gavis, 1972; Slooff *et al.*, 1990) :



<sup>1</sup> Cependant ce processus peut être accéléré par la présence catalytique d'oxyde de manganèse (Slooff *et al.*, 1990).

<sup>2</sup> Dans les sols argileux, l'arsenic est faiblement mobile, alors que dans les sols sableux ou limoneux sa mobilité est accrue (Scow *et al.*, 1982).

Une étude citée par Scow *et al.* (1982) révèle la répartition suivante de l'arsenic dans des sédiments oxydés de lac (4,9 mg/kg) : 39% associé aux oxydes de fer et d'aluminium, 16% aux carbonates, 26% aux apatites et silicates et 16% à la matière organique.

## **21.4 Devenir des contaminants dans les cas de remise en suspension de sédiments**

Les sédiments dulçaquicoles sont souvent le siège de perturbations. Dans ces conditions connaître les caractéristiques des sédiments, celles des contaminants et pouvoir décrire leurs interactions dans un état stable n'est pas suffisant, il faut aussi pouvoir prévoir les changements de phase et d'état des contaminants sous l'effet de processus perturbateurs, comme les mises en suspension qui déplacent les masses de sédiment et modifient les équilibres physico-chimiques.

### **21.4.1 Les phénomènes de remise en suspension des sédiments**

La mise en suspension des sédiments dulçaquicoles peut être due à des phénomènes naturels (bioturbation, crues d'orage) ou maîtrisés (vidanges, dragages) et leur impact est très variable quantitativement et qualitativement. La mise en suspension peut affecter des volumes plus ou moins importants de sédiment, sur des zones plus ou moins étendues. Restreinte mais non négligeable à l'échelle du benthos pour la bioturbation (Reynoldson, 1987; Reible *et al.*, 1996), la perturbation devient majeure dans les cas de crues ou d'interventions humaines. Ces perturbations majeures posent problème à différents niveaux : elles entraînent une diminution momentanée de la qualité de la colonne d'eau et un déplacement des sédiments avec risque de remobilisation de contaminants (dans les cas de vidange de barrage au sein du réservoir et en aval de la retenue ; dans le cas de dragage dans la colonne d'eau et sur la zone de dépôt des sédiments).

### **21.4.2 Les processus associés à une mise en suspension des sédiments**

Une mise en suspension de sédiment a pour premier effet d'accroître la turbidité et les concentrations en éléments dissous (ammoniac, matière organique, sulfate) et de diminuer la teneur en oxygène dissous dans la colonne d'eau (Garric *et al.*, 1990; Revaclier, 1995). Les pontes de poissons, la faune et la flore benthiques peuvent être détruites ou perturbées par l'augmentation de la turbidité et le colmatage de la zone de dépôt (Toumazis, 1995). Et, bien que les organismes pélagiques aient plus de facilité pour éviter les panaches de matières en suspension ils peuvent être touchés lors de changements brutaux de conditions (Revaclier, 1995).

Dans le cas de sédiments contaminés, la mise en suspension peut entraîner des changements de phase<sup>1</sup> (distribution) ou d'état<sup>2</sup> (structure) des micropolluants et donc modifier leur biodisponibilité soit directement par la modification de caractéristiques physico-chimiques, soit indirectement par la reprise d'activités microbiennes. Ces activités bactériennes peuvent entraîner une baisse de la toxicité, par méthylation de l'arsenic par exemple (Groupe Chimie Ecologie, 1997) ou par minéralisation de métabolites issus de la déchloration des PCBs (Beurskens et Stortelder, 1995) ; ou une augmentation de la toxicité par déchloration de dibenzo-dioxines polychlorées (PCDDs) par exemple (Beurskens *et al.*, 1995).

### 21.4.2.1 Mobilisation des métaux

Le processus de suspension/oxydation des sédiments induit dans une première phase une désorption des métaux, suivie si l'oxydation se prolonge du maintien d'un équilibre des métaux à l'état dissous ou d'une réadsorption sur les particules (Figure 11) (Calmano *et al.*, 1994). La Figure 12 (Calmano *et al.*, 1994) présente les principaux phénomènes qui vont influencer la mobilité des métaux au cours des différentes étapes d'un processus de remise en suspension/oxydation de sédiment. Durant la phase de relargage (I), la répartition des métaux entre phase particulaire et phase dissoute est principalement contrôlée par des processus d'oxydation des sulfures amorphes et des pyrites, la décomposition de matériaux organiques, et peut être limitée par l'adsorption sur des surfaces organiques et l'adsorption/coprécipitation avec les oxydes de fer et de manganèse ; durant la phase de transition (II) les sulfures amorphes s'épuisent, la décomplexation des particules minérales s'amorce, l'oxydation des pyrites et la décomposition des matériaux organiques continuent et la réadsorption devient plus importante du fait de la formation des phosphates, issus de la dégradation de la matière organique, qui vont coprécipiter avec les métaux ; durant la phase de piégeage (III) l'importance des processus de relargage diminue et les processus de piégeage deviennent prépondérants ; enfin, à l'état d'équilibre (IV) les processus de relargage et de piégeage ont atteint un nouvel équilibre, les taux de relargage sont équivalents aux taux de piégeage, et les concentrations en métaux dissous sont constantes. La redistribution des métaux et la formation de nouvelles espèces métalliques solides a lieu pendant cette période de diagénèse précoce.

---

<sup>1</sup> Changement de phase : relargage de micropolluants de la phase particulaire vers la phase dissoute, ou au sein du sédiment transfert de contaminants entre différents ligands (matière organique, colloïdes, argile, sulfure, hydroxydes de fer et de manganèse,...).

<sup>2</sup> Changement d'état : modification structurelle de contaminants sous l'effet de processus biologiques (dégradation, méthylation, ...) ou physico-chimiques (oxydation, réduction, ...).

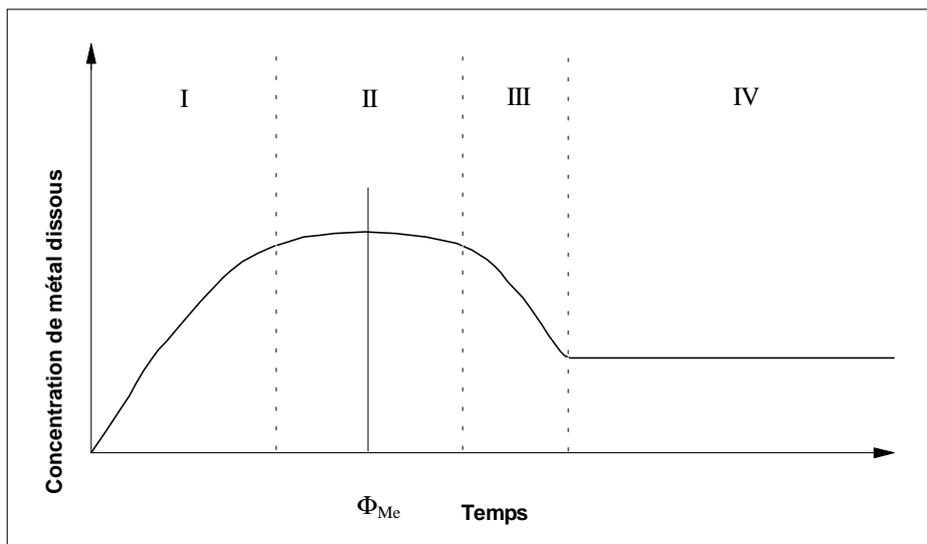


Figure 11 : Evolution schématique de la concentration dissoute d'un métal au cours de processus de remise en suspension et d'oxydation d'un sédiment anoxique contaminé, d'après Calmano et al. (1994). Les phases I, II, III et IV représentent respectivement l'étape de relargage (I), l'étape de transition entre le relargage et le piégeage (II), l'étape de piégeage (III) et l'étape d'équilibre (IV). OmégaMe ( $\Phi_{Me}$ ) représente le temps pour lequel la concentration de métal dissous relarguée est maximale. Quelques valeurs de  $\Phi_{Me}$  :  $\Phi_{Pb} < 10$  h,  $\Phi_{Cu} \approx 350$  h,  $\Phi_{Zn}$ ,  $\Phi_{Cd}$ ,  $\Phi_{As}$  et  $\Phi_{Cr} > 600$  h.

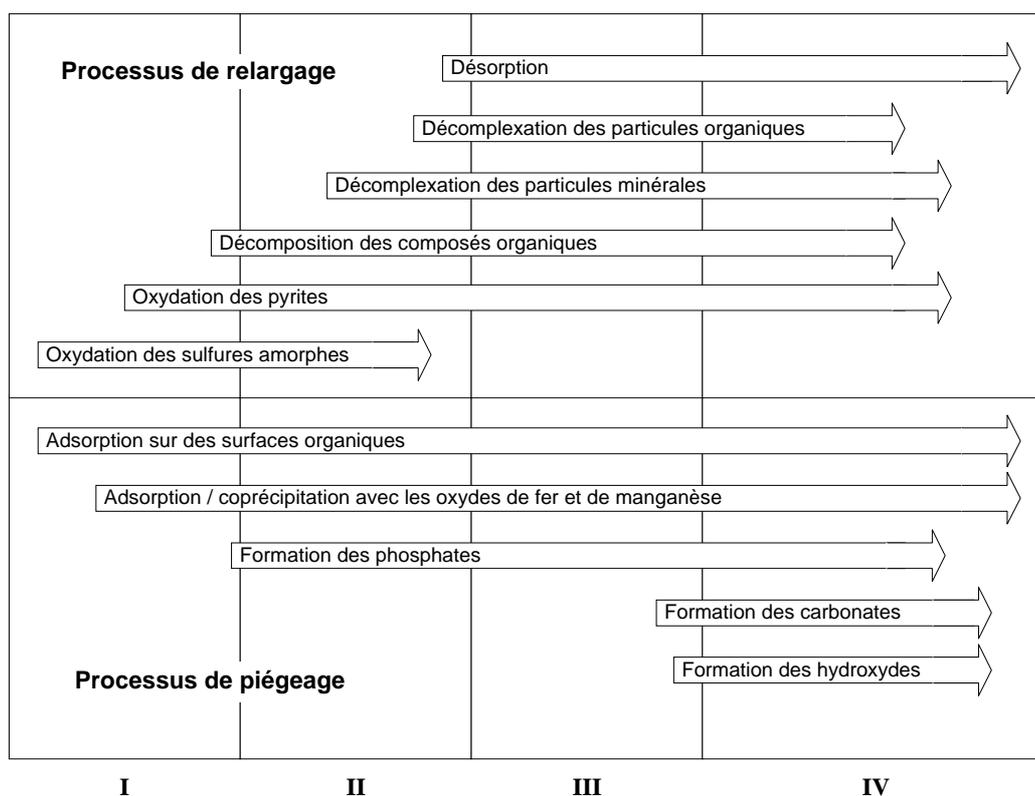


Figure 12 : Principales réactions chimiques et biochimiques intervenant dans la libération et le piégeage des métaux lors de processus de remise en suspension et d'oxydation de sédiments, d'après Calmano et al. (1994).

### 21.4.2.2 Mobilisation des produits organiques

La désorption des produits organiques, à partir des sédiments, peut être décomposée, selon que le contaminant soit en association plus ou moins stable avec le substrat, en cinétique rapide et lente selon l'équation (Cornelissen *et al.*, 1998a) :

$$S_t/S_0 = F_{rap} \exp(-k_{rap}t) + F_{slow} \exp(-k_{slow}t)$$

avec  $S_t$  et  $S_0$  les quantités de contaminant adsorbées au temps  $t$  et au temps zéro.

$F_{rap}$  et  $F_{slow}$  les fractions désorbées rapidement et lentement.

$k_{rap}$  et  $k_{slow}$  les constantes de désorption rapide et lente ( $h^{-1}$ ).

De manière générale, la capacité de mobilisation d'un contaminant organique à partir d'un sédiment est d'autant moins grande que l'hydrophobicité et l'affinité avec la matière organique ( $K_{oc}$ ) du contaminant sont importantes, que le sédiment possède une teneur en matière organique élevée et une texture fine (Borglin *et al.*, 1996; Cornelissen *et al.*, 1998b) et que le temps de contact particule-molécule<sup>1</sup> augmente (Cornelissen *et al.*, 1997b; Gess et Pavlostathis, 1997; Reid *et al.*, 2000). Globalement les constantes de désorption rapide et lente des HAPs, PCBs et chlorobenzènes sont du même ordre de grandeur ( $k_{rap} = 10^{-1}/h$  et  $k_{low} = 10^{-3}/h$ ) (Cornelissen *et al.*, 1997b). Les composés hydrophobes chlorés (chlorobenzènes, hexachlorobutadiène,...) se désorbent très lentement et une large part de ces contaminants peut apparaître réfractaire à la désorption (Gess et Pavlostathis, 1997). De plus, ces composés sont très difficilement biodégradables, ils peuvent donc persister dans les sédiments sur de longues périodes même si les sédiments ont été soumis à des processus de remise en suspension/oxydation. La disparition de certains composés de type PCDDs, PCBs et hexachlorobenzènes peut prendre plusieurs années ou dizaines d'années (processus bactérien de déchloration - minéralisation) (Beurskens *et al.*, 1995).

Dans un sédiment remis en suspension, même en condition d'anaérobiose, les processus microbiens peuvent entraîner une biodégradation des molécules organiques : sur une période de 50 jours certains HAPs (2-méthyl-naphtalène, acénaphène, fluorène et phénanthrène) peuvent être dégradés à plus de 70%. Cette dégradation est d'autant plus importante que les HAPs sont de faible poids moléculaire (Johnson et Ghosh, 1998). La fraction de HAPs rapidement désorbable représente relativement bien la fraction potentiellement biodégradable des HAPs dans les sédiments (Cornelissen *et al.*, 1998a).

Les connaissances acquises dans ce sous-chapitre nous permettent de cibler les paramètres physico-chimiques majeurs à mesurer lors d'une étude d'impact de processus de mises en suspension de sédiments contaminés, initialement dans les sédiments, dans la colonne d'eau lors du processus perturbateur et dans le sédiment redéposé.

La texture, la teneur en matière organique, le rapport C/N du sédiment et les concentrations en ammoniac et en carbone organique (dissous et colloïdal) présentes dans l'eau interstitielle doivent être mesurés initialement. Ces paramètres permettent, entre autres, de caractériser le type de matière organique présent dans les sédiments et sa biodégradabilité,

---

<sup>1</sup> Une molécule se désorbe d'autant moins rapidement qu'elle est de grande taille, hydrophobe et qu'elle est en association étroite avec les particules.

la capacité des sédiments à libérer de l'ammoniac et à induire une forte consommation d'oxygène dans l'eau durant la mise en suspension.

En fonction de la typologie de la contamination (métallique, organique, mixte,...) et des concentrations en contaminants du sédiment brut, certains contaminants dissous sont recherchés dans l'eau interstitielle et l'évolution de leurs concentrations dans l'eau de brassage est étudiée.

La mesure du potentiel d'oxydoréduction du sédiment permet de déterminer quel est son degré d'anoxie. En présence de contaminants métalliques, la connaissance du potentiel redox permet de cibler les phases piègeantes majeures et de les étudier plus précisément : pour un  $Eh > -100$  mV les métaux se complexent aux oxyhydroxydes de fer et de manganèse, pour un  $Eh < -100$  mV ce sont les sulfures qui vont intervenir (chapitre 2, Figure 7).

Lors de la mise en suspension, outre les paramètres déjà évoqués, la teneur en MES, en oxygène dissous, en COD et COC (fractions  $< 1$  kDa et  $< 0,22$   $\mu$ m) et le pH sont suivis. Ces paramètres peuvent influencer la concentration, la spéciation et la répartition des contaminants dans les phases aqueuses et particulaires.

Les paramètres physico-chimiques mesurés dans le sédiment redéposé sont les mêmes que ceux mesurés dans le sédiment initial.

## 22 Evaluation de la qualité biologique des sédiments

Certaines études évaluent la qualité biologique de sédiments *in situ*, en étudiant la biocénose benthique, peu mobile. En effet, soumise à une pollution, la composition faunistique des sédiments se modifie, certaines espèces se raréfient ou disparaissent au profit d'autres plus résistantes. Bien qu'il n'existe pas à ce jour d'indices normalisés pour quantifier le degré de pollution présent dans des sédiments, un indice oligochète de bioindication des sédiments (IOBS<sup>1</sup>), équivalent à l'indice biologique global normalisé (IBGN) pour le milieu aquatique, a été proposé, sur la base d'un échantillonnage de la macrofaune benthique d'oligochètes, pour établir une échelle approximative de pollution dans les sédiments (Rosso-Darmet et Lafont, 1998; Prygiel *et al.*, 1999). Cet indice, qui varie de 0 (toxicité maximale) à 3 ou plus (qualité du milieu acceptable à bonne), est basé sur l'étude qualitative et quantitative de populations d'invertébrés appartenant à la taxocénose des oligochètes<sup>2</sup>. Ces organismes sédentaires, peu mobiles, dont tous les stades

---

<sup>1</sup> IOBS =  $10 * S * T^{-1}$ , avec S nombre total d'espèces par échantillon, T pourcentage du groupe dominant de *Tubificidae*, avec ou sans soies capillaires (formes matures et immatures confondues). Le protocole d'extraction et de tri des oligochètes à partir des sédiments pour le calcul de l'indice oligochète est décrit dans la thèse d'A. Rosso (1995). Après le tri, les oligochètes sont montés entre lame et lamelle en vue d'un examen microscopique et ils sont déterminés à l'espèce (Rosso *et al.*, 1994; Rosso, 1995).

<sup>2</sup> La classe des oligochètes fait partie de l'embranchement des annélides. Des différentes familles dulçaquicoles, les *Lumbriculidae*, les *Enchytraeidae*, les *Naïdidae* et les *Tubificidae* figurent parmi les plus importantes, cette dernière famille étant bio-indicatrice de pollution des eaux.

de vie sont aquatiques et qui présentent à la fois des espèces sensibles et résistantes à la pollution, intègrent à court et moyen termes les perturbations physiques et chimiques que subit leur habitat.

Cependant les approches *in situ*, en décrivant l'état des biocénoses du sédiment, ne rendent compte qu'à posteriori de la réalité des impacts toxiques dans un écosystème, en intégrant l'ensemble des caractéristiques écologiques, géomorphologiques, hydrodynamiques et trophiques du milieu. Dans ces études il existe un facteur de confusion entre la variabilité naturelle et les perturbations anthropiques. Certaines études ont montré qu'à cet égard les bioessais de laboratoire, bien qu'effectués sur un échantillon de sédiment remanié, peuvent être plus sensibles que la composition des communautés benthiques pour discriminer des sédiments pollués (Besser *et al.*, 1996; Canfield *et al.*, 1996).

Les bioessais permettant de mesurer les effets toxiques dus à la présence de contaminants dans les sédiments peuvent être effectués soit sur phase solide (sédiment brut) soit sur phase liquide (eau interstitielle). Dans l'article " Les bioessais de laboratoire utilisés pour la mesure de la toxicité des sédiments d'eau douce " les principaux outils biologiques utilisés à ce jour sont présentés ainsi que les paramètres majeurs qui influencent la réponse des organismes et qui contrôlent la biodisponibilité des contaminants dans les sédiments (Bonnet et Garric, soumis).

Dans ce sous-chapitre, nous présentons l'effet que peut avoir la préparation des sédiments sur la biodisponibilité des contaminants et sur la toxicité des échantillons avant d'explicitier le choix des organismes tests sélectionnés et de développer leurs principales caractéristiques (cycle de vie, voie d'exposition, sensibilité,...).

## **22.1 Préparation des échantillons**

Il a été clairement démontré que le prélèvement, la conservation et la préparation des sédiments pour la mise en oeuvre de bioessais perturbent l'intégrité du sédiment (Burton, 1992; ASTM, 1994a; Burton, 1995; Day *et al.*, 1995), modifiant les gradients, la spéciation et la complexation des composés toxiques (Schuyttema *et al.*, 1989; Moore *et al.*, 1995).

### **22.1.1 Prélèvement et conditionnement des sédiments**

#### **22.1.1.1 Le prélèvement**

Il existe de nombreux modes de prélèvement et il est maintenant possible de définir un mode de prélèvement en accord avec les conditions environnementales et l'objectif de l'étude (Environment Canada, 1994). D'une manière générale, l'échantillonnage par carottier permet de conserver la structure et l'intégrité de la surface du sédiment et de prélever sur une certaine profondeur, mais il compresse les horizons du sédiment verticalement et son utilisation est assez limitée pour le prélèvement des sédiments sableux (ASTM, 1994a). Le prélèvement par benne, type Ponar, Ekman Van Veen, Shipek ou Peterson, permet de collecter de grandes quantités de sédiment, mais il perturbe le profil vertical de l'échantillon et entraîne la perte des particules superficielles fines et des composés hydrosolubles et volatils (Burton, 1995; Burton et Mcpherson, 1995). D'autre

part, dans les méthodes de prélèvement les plus courantes, les couches inférieures anoxiques sont exposées à l'oxygène lors de la collecte du sédiment. Cette exposition entraîne la conversion de formes réduites en complexes oxydés en quelques heures, ces derniers ont alors moins d'impacts biologiques (les éléments dissous relargués sont complexés avec les colloïdes, les oxydes de fer et de manganèse, adsorbés aux particules, coprécipités avec les phosphates,... chapitre 2, §1.4). Pour notre part, compte tenu des quantités de sédiment dont nous avons besoin, nous avons prélevé la plupart des sédiments à la benne Eckman (chapitre 4, §2.1).

### **22.1.1.2 La conservation**

Pour les sédiments où des substances organiques sont en cause la conservation doit être effectuée dans des contenants en borosilicate alors que pour ceux où il y a des métaux on utilise plutôt du polytetrafluoroéthylène (PTFE), relativement inerte (Environnement Canada, 1994).

Le séchage, la congélation et la réfrigération affectent tous la toxicité et la biodisponibilité des contaminants (Gauss *et al.*, 1985; Burton, 1991; ASTM, 1994a; Environnement Canada, 1994; Burton et Mcpherson, 1995). La congélation rapide a été recommandée pour des analyses de métaux et de produits organiques mais elle affecte la structure du sédiment, inhibe l'oxydation de composés réduits manganeux et ferreux (Burton, 1991) et modifie la biodisponibilité et la toxicité de contaminants organiques dans les sédiments (Schuytema *et al.*, 1989). Le stockage à 4°C, recommandé pour les tests toxicologiques, n'arrête pas la métabolisation, qui continue avec la disponibilité des nutriments dans le milieu et selon les conditions microenvironnementales<sup>1</sup> (Burton et Mcpherson, 1995), et entraîne une coagulation et une précipitation du matériel humique en moins d'une semaine dans l'eau interstitielle avec une diminution de la biodisponibilité des éléments piégés (xénobiotiques organiques) (Landrum *et al.*, 1987).

Les durées de stockage doivent être considérées en fonction de la composition du sédiment et des contaminants qu'il contient. Elles ont des effets variables et non prévisibles sur l'intégrité des sédiments et leur toxicité (Dave et Nilsson, 1996). La conservation des sédiments peut être de l'ordre de quelques jours à un an (Burton, 1992; ASTM, 1994a). Ainsi, les sédiments contaminés avec des composés organiques non ioniques et non volatils évolueront certainement peu durant leur stockage en raison de la relative résistance à la biodégradation et de l'adsorption aux solides de ces toxiques. Alors que les sédiments contaminés par les métaux et métalloïdes peuvent voir leur toxicité relative être affectée par les variations de potentiel redox, l'oxydation ou le métabolisme microbien<sup>2</sup>.

---

<sup>1</sup> Beaucoup de sédiments d'eau douce restent à basse température tout au long de l'année. Cela implique que la communauté microbienne qui s'y développe est principalement psychrotrophe et qu'à ce titre elle métabolise bien à basse température.

<sup>2</sup> Dans des protocoles standards (type ASTM) le temps de stockage recommandé pour des sédiments enrichis avec des métaux est de 2 à 5-7 jours jusqu'à moins de 2 semaines.

Des sédiments pluricontaminés, avec des gammes de concentrations allant du sédiment peu contaminé au sédiment très fortement chargé en contaminants, conservés de 112 jours à 101 semaines à 4°C, n'ont pas montré de changements significatifs dans leur chimie et leur toxicité (Othould *et al.*, 1991; Moore *et al.*, 1995; DeFoe et Ankley, 1998), alors que d'autres études ont observé des variations significatives sur une échelle de temps de quelques jours jusqu'à plusieurs mois sur des sédiments enrichis au cadmium (Sae-Ma *et al.*, 1998) ou pluricontaminés avec des concentrations très variables de contaminants (Burton, 1992; Dillon *et al.*, 1994; Becker et Ginn, 1995; Beiras *et al.*, 1998).

Les sédiments montrant le plus de variabilité dans les réponses biologiques au cours du temps sont les sédiments moyennement contaminés (sédiments de "zone grise"), les sédiments faiblement contaminés non toxiques restent non toxiques et les sédiments fortement contaminés et toxiques restent toxiques (Becker et Ginn, 1995; DeFoe et Ankley, 1998).

L'ASTM (1994a) préconise de conserver le sédiment à 4°C, sur une durée de préférence inférieure à 6 semaines et de débiter les bioessais moins de 2 semaines après la collecte du sédiment. Dans notre cas, chaque fois que cela a été possible nous avons débuté les bioessais 4 jours après le prélèvement des sédiments (conservés à 4°C). Dans tous les cas les bioessais ont débuté moins de 2 semaines après le prélèvement.

### **22.1.2 Préparation des sédiments**

Bien que cela affecte les caractéristiques du sédiment et qu'il faille éviter au maximum de perturber son intégrité, il est parfois nécessaire de traiter l'échantillon avant son utilisation dans le bioessai pour écarter les débris organiques et minéraux (graviers) et les organismes indigènes présents en quantité trop importante (Reynoldson *et al.*, 1994).

L'autoclavage, la congélation, le rayonnement gamma, la stérilisation chimique ou encore les traitements antibiotiques peuvent être utilisés pour inhiber l'activité biologique naturelle des sédiments (Environment Canada, 1994). Mais les effets de ces techniques sur les caractéristiques physico-chimiques et biologiques des sédiments sont assez mal connus. Outre le fait qu'elles éliminent les organismes indigènes, elles peuvent aussi inhiber l'activité microbienne, entraîner un passage en anoxie, modifier la toxicité, les équilibres physico-chimiques et détruire des molécules.

Les effets de divers traitements utilisables pour l'élimination des organismes indigènes de sédiments non contaminés et contaminés (la congélation à -20°C ; le tamisage sur 2 mm, 500 et 250 µm ; l'autoclavage et l'irradiation gamma) ont été évalués à la fois sur la chimie du sédiment (nutriments, métaux, HAPs et PCBs) et vis-à-vis de leur toxicité sur trois espèces d'invertébrés inféodées au sédiment (*H. azteca*, *C. riparius* et *T. tubifex*) (Day *et al.*, 1995). *H. azteca* est l'organisme le plus sensible aux effets des diverses manipulations réalisées, et présente une diminution de survie dans les sédiments stérilisés. La survie du chironome *C. riparius* n'est pas affectée par les traitements, tandis que sa croissance est améliorée dans les sédiments autoclavés. La distribution des tailles de particules, des métaux, nutriments et HAPs varient peu avec la manipulation (Day *et al.*, 1995).

En dehors des techniques de collecte à la main, les techniques les moins perturbatrices sont le tamisage et l'irradiation au rayon gamma (Day *et al.*, 1995) et dans le cas de *Hyalella* et *Chironomus* il est conseillé d'utiliser une maille de 0,25 mm ou moins pour écarter les organismes autochtones (Lydy *et al.*, 1990; ASTM, 1994a). Dans le cadre de nos travaux, nous avons décidé d'enlever à la main les gros débris présents dans les sédiments avant de tamiser les sédiments humides sur tamis Inox® de maille 2 mm.

### **22.1.3 Préparation de l'eau interstitielle**

Jusqu'au développement des bioessais sédiments, il a été plus facile de caractériser la toxicité des eaux interstitielles que celle des sédiments bruts. En effet, la toxicité des eaux interstitielles peut être étudiée en adaptant légèrement les bioessais mis au point pour évaluer la toxicité des effluents. De plus, l'eau interstitielle permet une observation des organismes exposés qui n'est pas possible sur matrice solide et elle permet de travailler sur des relations concentration-réponse. De manière générale la toxicité de l'eau interstitielle correspond mieux que les éluviats ou les lixiviats à la toxicité du sédiment brut (Ankley *et al.*, 1991b; Schubauer-Berigan et Ankley, 1991).

L'extraction de l'eau interstitielle doit permettre d'obtenir un échantillon le plus proche possible du milieu naturel.

L'eau interstitielle peut être extraite des sédiments *in situ* (dialyse et succion-filtration sur le terrain) ou au laboratoire (centrifugation, filtration,...) (Schubauer-Berigan et Ankley, 1991; Ankley et Schubauer-Berigan, 1994). Les techniques de prélèvement *in situ* permettent de collecter une eau aux caractéristiques plus proches de l'eau interstitielle à l'équilibre dans les sédiments que les techniques de laboratoire, mais elles sont beaucoup plus lourdes à mettre en oeuvre (temps, matériel,...) (Bufflap et Allen, 1995; Burton, 1995). Au laboratoire, l'extraction doit être réalisée à basse température (4°C) et sous atmosphère inerte car les phénomènes d'oxydation modifient la spéciation de nombreux composés chimiques (métaux,...) (Ankley et Schubauer-Berigan, 1994; Bufflap et Allen, 1995). La filtration peut entraîner la perte de contaminants responsables de la toxicité : les composés organiques non polaires se répartissent mécaniquement sur le verre fritté et les filtres en fibre de verre ou en Nylon®, les métaux s'adsorbent sur les filtres Nylon® (Schubauer-Berigan et Ankley, 1991). La centrifugation basse vitesse (2500 g) permet de recueillir une eau interstitielle bien plus chargée en contaminants que celle extraite par centrifugation haute vitesse (10000 g) mais une partie des contaminants, extraits à 2500 g, n'est pas biodisponible (certainement piégée sur des colloïdes) (Ankley et Schubauer-Berigan, 1994). Toutes les techniques d'extraction altèrent la chimie de l'eau interstitielle, mais la centrifugation est celle qui l'altère le moins (Distworth et Schults, 1990). De nombreux auteurs conseillent de collecter les eaux interstitielles à basse température (4°C) par centrifugation à haute vitesse (10000 g, 30 min) sans filtration ultérieure (Schubauer-Berigan et Ankley, 1991; Ankley et Schubauer-Berigan, 1994; ASTM, 1994a; Environment Canada, 1994). C'est cette dernière technique que nous avons décidé d'appliquer dans le cadre de cette thèse.

## 22.2 Les outils biologiques développés au laboratoire

Parmi tous les organismes disponibles à ce jour pour évaluer la qualité biologique des sédiments nous en avons sélectionné trois, et utilisé, avec quelques modifications, les macrobioessais normalisés *Chironomus riparius* et *Hyalella azteca* et le microbioessai *Hydra attenuata*. Ce choix est basé sur un certain nombre de critères développés plus précisément dans les paragraphes qui suivent :

- ces organismes ont une certaine importance écologique, en terme quantitatif et qualitatif (densité, rôle dans la chaîne trophique,...),
- ils ont des structures biologiques, des cycles de vie et des comportements différents,
- *C. riparius* et *H. azteca* peuvent permettre de déterminer la toxicité du sédiment brut et *H. attenuata* celle de la phase aqueuse,
- ils permettent de réaliser des bioessais chroniques, l'exposition des organismes couvrant une partie importante de leur cycle de vie,
- ils permettent de mesurer différentes variables biologiques : la survie, la taille, le poids, l'émergence, la reproduction pour *C. riparius*, la survie, la taille, le poids, la reproduction pour *H. azteca*, la survie, les changements morphologiques, la reproduction pour *H. attenuata*.

Les annexes 1 et 2 présentent en détail, respectivement les informations sur les chironomes, les hyalles et les hydres en terme de biologie, d'écologie, d'utilisation dans les bioessais et de sensibilité vis-à-vis des contaminants. Nous en résumons ici les principales caractéristiques.

### 22.2.1 Ecologie des organismes tests

*Chironomus riparius* et *Hyalella azteca* font partie de l'embranchement des arthropodes, respectivement, de la classe des insectes (O. Diptère) et des crustacés (O. Amphipode) (Pennak, 1978; Tachet *et al.*, 1980). *Hydra attenuata* appartient au phylum des Coelentérés, elle fait partie de l'Embranchement des Cnidaires, famille des *Hydridae* (Tachet *et al.*, 1980; Lenhoff, 1983).

Ces organismes sont des composants majeurs de la chaîne alimentaire : ils peuvent être un vecteur important dans les transferts de contaminants, et leur disparition suite à une intoxication peut affecter la composition et la structure de la chaîne alimentaire. Les larves de chironomes sont recherchées aussi bien par les oiseaux, les poissons et les batraciens que par les invertébrés aquatiques, et les imagos sont la proie d'insectes carnassiers et d'oiseaux (Tokeshi, 1995). L'amphipode *H. azteca* est une source importante de nourriture pour les poissons, les gibiers d'eau, les salamandres et les gros invertébrés (De March, 1981b). Quant à *H. attenuata*, c'est un organisme carnivore qui se nourrit de micro-invertébrés aquatiques.

Ils sont présents dans tous les types de milieux aquatiques et de manière abondante dans les cours d'eau et les lacs eutrophes et mésotrophes (De March, 1981b; Townsend *et al.*, 1981; France, 1993; Environment Canada, 1997a).

### **22.2.1.1 *Chironomus* sp.**

La famille des Chironomidae est le groupe d'insecte le plus ubiquiste et le plus abondant parmi tous les types dulçaquicoles (Winnell et Jude, 1984; Griffiths, 1992; Environment Canada, 1997a) : il existe plus de 15000 espèces de Chironomides dans le monde (mais leur classification s'arrête souvent au niveau du genre car seuls les imagos et les exuvies permettent une détermination fiable). *C. tentans* et *C. riparius* sont des organismes benthiques communs dans les zones mi-continentales de l'Amérique du nord et de l'Europe (Autriche, Belgique, France, Grande Bretagne, Italie, Scandinavie, Allemagne). Les ruisseaux de taille moyenne et petite peuvent facilement abriter 50000 individus/m<sup>2</sup>. Les lacs et les étangs eutrophes contiennent au minimum 50 espèces différentes de Chironomides (Coffman, 1978).

### **22.2.1.2 *Hyalella azteca***

Contrairement à *Chironomus* sp., *H. azteca* n'est pas présente sur le continent européen. Nous avons cependant retenu cet organisme épibenthique pour étudier la toxicité des sédiments. En effet, aucun bioessai facilement applicable n'existe à ce jour sur des amphipodes d'eau douce européens. L'amphipode *Gammarus* sp. est parfois utilisé pour évaluer la qualité des sédiments, mais peu de données sont disponibles sur cet organisme, son élevage est loin d'être maîtrisé et il est principalement utilisé pour des caractérisations *in situ* (Borgmann *et al.*, 1989). Il semble que la sensibilité de plusieurs amphipodes exposés à des contaminants par la phase aqueuse soit relativement similaire (les concentrations en cadmium et en PCP entraînant une mortalité différent au maximum d'un facteur trois entre *H. azteca* et *G. fasciatus*) (Borgmann *et al.*, 1989). La manipulation et l'utilisation (élevage, bioessai) de *H. azteca* sont précisément décrites dans des protocoles nord-américain normalisés (EPA, 1994b; ASTM, 1995b; Environment Canada, 1997b) et cet organisme est très abondant dans les lits de cours d'eau, les lacs et les étangs colonisés par les plantes aquatiques (France, 1993).

### **22.2.1.3 *Hydra attenuata***

Tout d'abord utilisée pour des essais de tératogénicité (Fu *et al.*, 1991b), l'hydre *Hydra attenuata* (groupe *vulgaris*) est l'espèce que nous utilisons dans nos bioessais (Centre Saint-Laurent, 1996). Une identification du groupe est possible sur la base de l'origine géographique, et l'espèce se détermine en fonction de critères tels que la présence ou l'absence d'algues symbiotiques, la disposition des tentacules et la morphologie des nématocystes.

Les représentants de cet embranchement sont ubiquistes. Ils sont présents, dans les eaux douces lenticules, pas ou peu polluées et peu profondes.

## **22.2.2 Morphologie et cycle de vie**

Les cycles de vie de *C. tentans* ou *C. riparius*, *H. azteca* et *H. attenuata* sont très différents. Alors que *H. azteca* et *H. attenuata* sont des organismes totalement aquatiques,

le cycle de vie des chironomes est partiellement aérien (les imagos quittent le milieu aquatique).

### 22.2.2.1 *Chironomus*

Le cycle de vie de *Chironomus* se décompose en quatre stades de développement différents (Figure 13) : l'oeuf, le stade larvaire, le stade nymphal et le stade imago (Coffman, 1978).

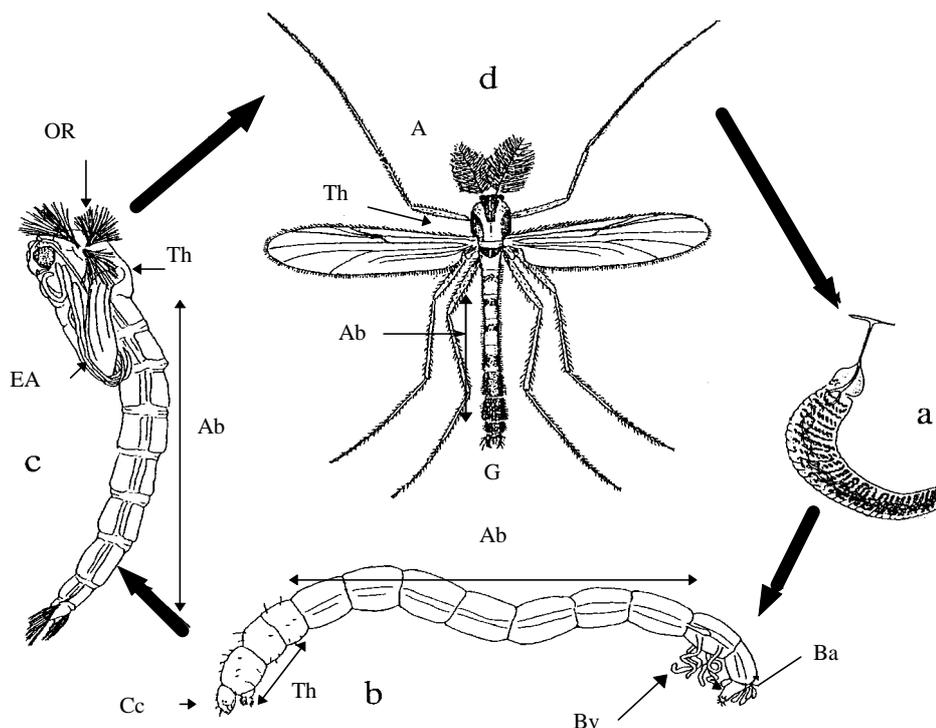


Figure 13 : Schéma des différents stades de développement de *Chironomus* : **a** oeuf ; **b** larve avec sa capsule céphalique (Cc), ses 3 segments thoraciques (Th), ses 9 segments abdominaux (Ab), ses branchies ventrales (Bv) et anales (Ba) ; **c** nymphe avec ses organes respiratoires (OR) thoraciques (apparaissant comme une touffe de filaments juste derrière la tête), ses 8 segments abdominaux (Ab), ses organes natatoires et ses étuis alaires (EA) (Townsend et al., 1981) ; **d** adulte mâle avec ses antennes (A), son thorax (Th), ses 8 segments abdominaux (Ab) et ses génitalia (G).

Les femelles chironomes pondent une série d'oeufs enrobés d'un manteau mucilagineux<sup>1</sup> appelée masse qui prend une forme en C caractéristique au contact de l'eau.

Après l'éclosion des oeufs, les larves restent dans la masse et consomment le matériel mucilagineux, puis s'enfouissent dans le sédiment. Le cycle larvaire des chironomes se décompose en 4 stades distincts :

- les larves du premier stade sont d'un blanc crémeux. La tête (avec ses antennes et ses mandibules), trois segments thoraciques et neufs segments abdominaux sont facilement observables,
- durant le second stade larvaire, des branchies ventrales apparaissent sur le huitième segment abdominal et la larve initie la production d'hémoglobine (elle devient rose),
- au troisième stade, les larves prennent une couleur rouge vif typique,

<sup>1</sup> formé d'une substance composée de pectines, ayant la propriété de gonfler dans l'eau.

- au quatrième stade les larves ont un corps rouge vif alors que la tête est brun jaunâtre et les ocelles noires. C'est à la fin de ce stade que la larve mue en nymphe<sup>1</sup>.

Les nymphes de Chironomides quittent après la nymphose le tube construit par la larve dans le sédiment pour nager à la surface de l'eau où le processus d'émergence est rapide (environ 15 secondes).

L'émergence des imagos est bimodale : les mâles se développent plus vite que les femelles (Pascoe *et al.*, 1989). A 20°C, les mâles *C. tentans* commencent à émerger 21 jours après l'éclosion alors que les femelles émergent 23 jours après l'éclosion. Cet écart de deux jours a aussi été observé pour *C. riparius*. Il y a en moyenne 1,5 mâles pour 1 femelle (ASTM, 1995b). Les adultes vivent quelques jours pendant lesquels ils cherchent à se reproduire et à se disperser.

La durée d'un cycle de vie est fonction de l'espèce et de paramètres environnementaux (température, prédation, nourriture, contamination). Dans des conditions équivalentes, le cycle de vie de *C. riparius* est généralement plus court que celui de *C. tentans* (15 à 30 jours contre 24 à 36 jours en moyenne).

Quelques données sur la croissance (taille, poids,...) et sur les durées des différents stades de vie de *Chironomus riparius* sont présentées dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Quelques données concernant les différents stades de vie de *C. riparius*.

Stade de vie	Quelques caractéristiques
Oeuf	Durée du stade : 2-4 jours <sup>(1)</sup> Nombre d'oeuf dans une masse : 150-600 <sup>(1)(a)</sup>
Stade larvaire	
1 <sup>er</sup>	Durée du stade : 4-7 jours <sup>(1)</sup> Taille de la capsule céphalique (mm) : 0,10 (0,07-0,12) <sup>(1)</sup>
2 <sup>ème</sup>	Durée du stade : 4-7 jours <sup>(1)</sup> Taille de la capsule céphalique (mm) : 0,19 (0,13-0,24) <sup>(1)</sup>
3 <sup>ème</sup>	Durée du stade : 4-7 jours <sup>(1)</sup> Taille de la capsule céphalique (mm) : 0,33 (0,26-0,40) <sup>(1)</sup>
4 <sup>ème</sup>	Durée du stade : 4-7 jours <sup>(1)</sup> Taille de la capsule céphalique (mm) : 0,55 (0,43-0,60) <sup>(1)</sup> Longueur du corps (mm) : 16 <sup>(1)</sup> ; 11,8 <sup>(2)</sup> ; 14,0 (±0,3) <sup>(3)</sup> Poids (mg sec) : 0,4 <sup>(2)</sup> ; 1,2 (±0,1) <sup>(3)</sup>
Nymphe	Durée du stade : 3 jours <sup>(1)</sup> Longueur du corps (mm) : 10 <sup>(1)</sup>
Adulte	Date de début d'émergence (à partir de l'éclosion des oeufs) : 19 jours à 20°C <sup>(2)</sup> ; 13-15 jours à 20°C <sup>(5)</sup> Durée du stade : 4-11 jours <sup>(1)</sup>
Cycle total	Durée du cycle total : 28 jours à 18°C et 49 jours à 12 °C <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> (Environment Canada, 1997a)

<sup>(2)</sup> (Ristola *et al.*, 1999)

<sup>(3)</sup> (Naylor et Rodrigues, 1995)

<sup>(4)</sup> (Sibley *et al.*, 1998)

<sup>(5)</sup> (OECD, 1998)

<sup>1</sup> La nymphe est recouverte d'un tégument kératinisé dans lequel se développe l'adulte (Coffman, 1978). La nymphe de *C. riparius* est jaune brunâtre.

### 22.2.2.2 *Hyalella azteca*

*H. azteca* est un organisme épibenthique (Figure 14) dont l'ensemble du cycle de vie se déroule à la surface des sédiments. Ce cycle peut être divisé en trois stades distincts: un stade immature (les 5 premières intermues), un stade juvénile (incluant les intermues 6 et 7) et un stade adulte (l'intermue 8 et les suivantes) (ASTM, 1995b; Nelson et Brunson, 1995).

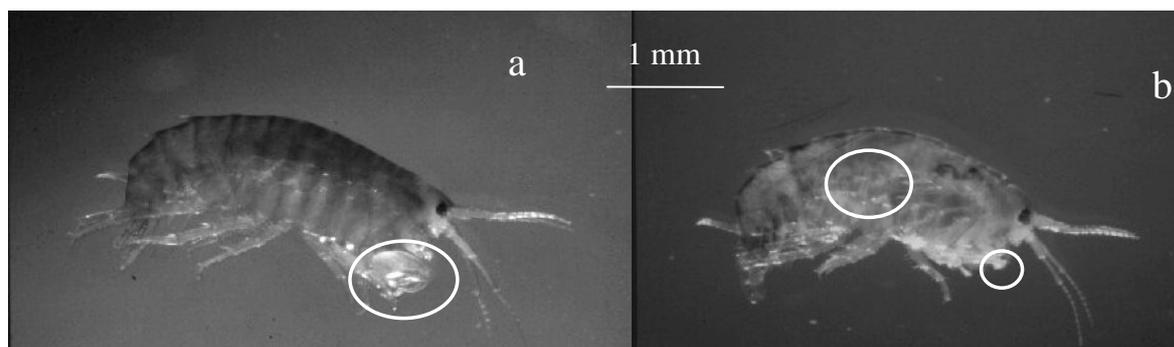


Figure 14 : *H. azteca* mâle (a) facilement reconnaissable à sa seconde paire de gnathopodes très larges et *H. azteca* femelle (b) portant une série d'oeufs dans sa poche incubatrice et dont la seconde paire de gnathopodes est beaucoup moins développée (photos B. Vollat, laboratoire d'Ecotoxicologie, Cemagref, Lyon).

Un cycle de vie complet se déroule, à 25°C, en 12 à 14 semaines. La période de reproduction commence quand l'organisme est âgé de 5 à 6 semaines, atteint un pic à l'âge de 8 à 12 semaines et décroît avec la mortalité des adultes (Borgmann et Munawar, 1989; Borgmann *et al.*, 1989; Borgmann et Norwood, 1993; Borgmann, 1994). Les femelles matures peuvent libérer de 1 à 30 jeunes à chaque mue, ce nombre étant relié à la taille de la mère.

Quelques données sur le temps de gestation, la durée de l'accouplement et plus généralement la croissance de *H. azteca* sont présentées dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Quelques données concernant le cycle de vie de *H. azteca*, d'après De March <sup>(a)</sup> (1981a) et Nelson et Brunson <sup>(b)</sup> (1995).

<b>Durée d'incubation des oeufs avant éclosion :</b> la naissance des jeunes est d'autant plus retardée que la température est basse. nombre de jours = $1/((0,00864 * ^\circ\text{C}) - 0,759)$	<sup>(a)</sup> à 15°C	26 jours		
	à 20-22°C	18-22 jours		
	à 20°C	12 jours		
	à 24-25°C	8-9 jours		
	à 26-28°C	5-10 jours		
<b>Taille moyenne (mm) des organismes en fonction de l'âge :</b>	<sup>(a)</sup> à 0 jours	1,27 mm		
	à 10 jours	1,63 mm		
	à 20 jours	2,04 mm		
	à 40 jours	3,20 mm		
	à 80 jours	6,40 mm		
<b>Longueur du corps (mm), nombre de segments antennaires et maturité sexuelle des organismes (%) en fonction de l'âge :</b> (température 20°C, photopériode 16h/8h)	<sup>(b)</sup> semaine	longueur	antenne	maturité
	0	1,3	11,7	--
	2	1,6	12,9	--
	3	1,8	13,3	--
	4	1,9	14,0	--
	5	2,6	15,6	5
	6	3,0	17,1	43
	7	3,5	18,8	79
	8	3,7	19,7	85
<b>Longueur du corps (mm) des mâles et des femelles en fonction de leur stade de vie :</b> (température 20°C, photopériode 16h/8h) Pour une intermue donnée, la taille des mâles et des femelles n'est pas significativement différente. La taille des organismes est significativement différente entre chaque intermue.	<sup>(b)</sup> intermue n°	mâle	femelle	
	5	2,2	2,1	
	6	3,3	3,0	
	7	4,0	4,1	
	8	4,7	4,8	
	9	5,4	5,3	
<b>Apparition du premier accouplement :</b>	<sup>(a)</sup> à 15°C	98 jours		
	à 20°C	26 jours		
	à 25°C	33 jours		
<b>Durée moyenne de l'accouplement :</b>	<sup>(a)</sup> à 10°C	plusieurs semaines		
	à 20-25°C	1-5 jours		
	à 26°C	1 nuit		
<b>Durée moyenne des intermues (jours) :</b> (température 20°C, photopériode 16h/8h)	<sup>(b)</sup> mue n°	durée intermue	min-max	
	1	6,1	5-8	
	2	4,4	3-6	
	3	4,5	3-6	
	4	4,7	4-5	
	5	4,6	4-6	
	6	4,7	4-6	
	7	5,8	4-8	
	8	9,9	6-13	

### 22.2.2.3 *Hydra attenuata*

Les hydres sont des polypes tubulaires, nus, solitaires, de quelques millimètres (5-20 mm de long pour 0,3-1 mm de large) (Figure 15). Ils possèdent, en couronne autour de l'orifice buccal, des tentacules fins, parfois contractés, et, leur colonne comporte une région gastrique, une zone de bourgeonnement et un disque basal par lequel l'hydre se fixe au

substrat en sécrétant un mucus adhésif. Les hydres sont des organismes diploblastiques, leur structure est primaire (ectoderme, mésoderme, endoderme) et leurs cellules épithéliales sont en contact direct avec le milieu aqueux environnant. Grâce à des cellules totipotentes les hydres sont capables de régénération, mutilées ou décapitées elles peuvent régénérer les parties manquantes et donner naissance à de nouveaux individus (Bode *et al.*, 1978).

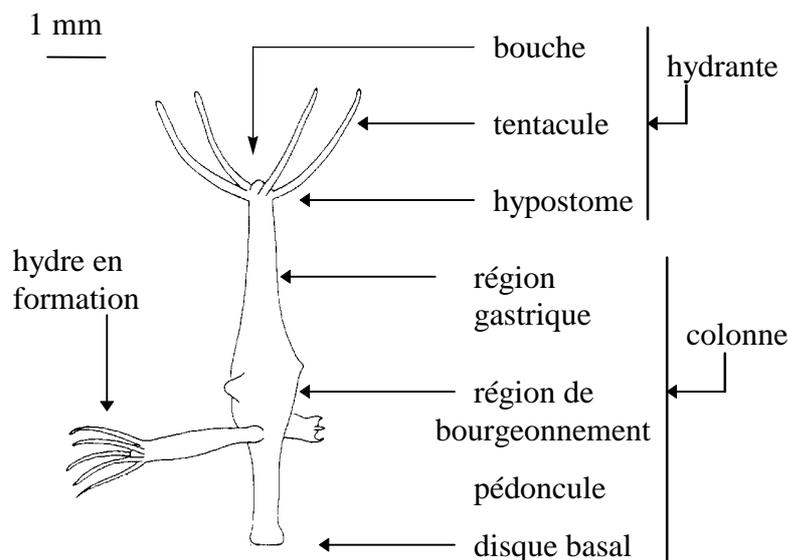


Figure 15 : Schéma général d'une hydre, d'après Lenhoff (1983).

La reproduction des hydres est principalement asexuée et elles se multiplient par bourgeonnement. Cependant, les hydres stressées développent une reproduction sexuée. Les gonades, issues de la spécialisation de certaines cellules de l'ectoderme, se situent le long de la région gastrique. Les testicules apparaissent comme une protubérance bulbée translucide sous l'hypostome et l'oocyte apparaît comme un amas distendu de cellules épithéliales dans la région de bourgeonnement. La reproduction asexuée redevient le mode de multiplication prédominant dès que les conditions s'améliorent. Le temps nécessaire à la population d'*H. attenuata* pour doubler est d'environ 3-4 jours (soit un taux de croissance,  $k$ , de 0,17-0,23).

### 22.2.3 Voies d'exposition

Si la biodisponibilité des contaminants présents dans les sédiments dépend des caractéristiques intrinsèques des molécules contaminantes et de la physico-chimie de la matrice, la bioaccumulation va être aussi fonction du temps d'exposition et de la physiologie de l'organisme (Sijm *et al.*, 2000).

Les organismes peuvent s'exposer aux contaminants par contact externe (adsorption sur les membranes cellulaires externes ou l'exosquelette, par absorption à travers les surfaces branchiales) ou suite à l'ingestion de matériel contaminé et la diffusion des contaminants à travers les membranes digestives (Reynoldson, 1987). Un schéma simplifié des voies d'exposition des organismes est proposé dans la Figure 16.

La nature complexe des échantillons de sédiments et le mode de vie des organismes peuvent rendre l'étude du rôle des voies d'exposition dans l'intoxication des organismes d'essai difficile, quelques données sont cependant disponibles sur le sujet. La voie d'exposition majeure pour de nombreux organismes qui n'ingèrent pas les particules est l'eau interstitielle (Adams *et al.*, 1985) mais la phase particulaire peut prendre de plus en plus d'importance si l'exposition se prolonge. Les contaminants adsorbés sur les particules, plus persistants, moins mobiles et présents à plus fortes concentrations que dans les eaux interstitielles (Larson, 1989), peuvent avoir un effet non négligeable à long terme sur les organismes.

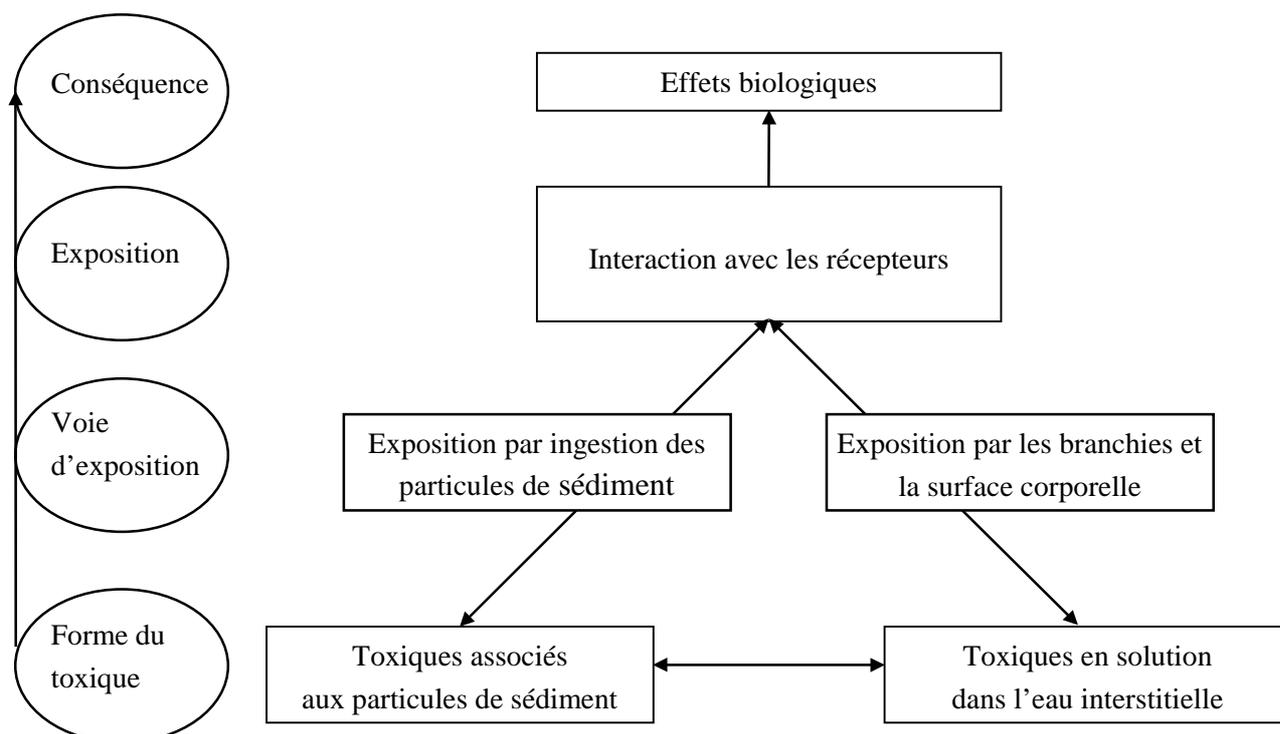


Figure 16 : Interactions schématisées des toxiques présents dans la phase particulaire et la phase aqueuse avec les organismes vivants en contact avec les sédiments, d'après Power et Chapman (1992).

### 22.2.3.1 Chironomus

La voie d'exposition majeure des chironomes est fonction du contaminant et elle dépend des conditions d'essais.

Des études ont démontré que l'eau interstitielle est la voie d'exposition principale des chironomes pour certains insecticides (perméthrine et kepone) (Adams *et al.*, 1985), pour des métaux (cuivre, cadmium) (Dodge et Theis, 1979; Kosalwat et Knight, 1996) et pour l'ammoniac (Whiteman *et al.*, 1996). Adams *et al.* (1985) expliquent ce phénomène par le fait que les chironomes, généralement enfouis dans les premiers centimètres des sédiments, conservent un contact étroit avec l'eau de surface pour combler leurs besoins en nourriture et en oxygène. Par des mouvements ondulatoires, les chironomes pompent dans leurs tubes d'importants volumes d'eau pour couvrir leur besoin en oxygène. Ces quantités

importantes d'eau qui traversent les branchies des chironomes peuvent expliquer le rôle majeur que peut jouer l'eau interstitielle dans leur intoxication.

D'autres auteurs ont cependant montré que les extraits aqueux ne représentent pas précisément l'exposition observée aux contaminants organiques et métalliques dans le sédiment brut, pour les chironomes : l'extrait aqueux sous-expose généralement ces organismes par rapport au sédiment brut (Harkey *et al.*, 1994b; Warren *et al.*, 1998). Ceci s'explique à la fois par la répartition phase aqueuse/phase particulaire des contaminants<sup>1</sup> et par la biologie et le mode de vie des organismes. *Chironomus*, qui construit des tubes dans les sédiments à partir de particules inorganiques et de débris organiques, est en contact très étroit avec les particules de sédiment (Sankarperumal et Pandian, 1992). De plus, il se nourrit d'une grande variété de particules alimentaires (algues, débris végétaux, bactéries, champignons,...) qu'il aspire dans son tube en créant un courant d'eau, qu'il collecte à la surface du sédiment (Naylor et Rodrigues, 1995), ou dans la couche superficielle du sédiment (Baker et Ball, 1995). En même temps que des particules alimentaires, les larves peuvent ingérer des particules de limon. Les chironomes peuvent donc s'exposer par la voie particulaire à de fortes concentrations en contaminants et bioaccumuler et métaboliser les molécules organiques (benzo(a)pyrène) (Borchert *et al.*, 1997) et métalliques (Krantzberg, 1989; Suedel *et al.*, 1997) à partir des contaminants adsorbés dans les sédiments.

L'exposition par la phase particulaire des chironomes, peut avoir des conséquences très variables selon les contaminants et la situation. Ainsi, les chironomes peuvent :

- s'intoxiquer en ingérant des particules de nourriture contaminées (cas du cadmium (Pascoe *et al.*, 1990; Postma *et al.*, 1994) et du pyrène (Harkey *et al.*, (1994a)),
- ne pas s'intoxiquer si, en raison d'une association particule-contaminant très forte, les particules contaminées ne font que transiter dans l'intestin de l'organisme (cas du cuivre (Kosalwat et Knight, 1996) et du DDT (Harkey *et al.*, 1994a)),
- ingérer préférentiellement de la nourriture exogène non contaminée et éviter les contaminants associés aux particules sédimentaires (cas du chrysène (Harkey *et al.*, 1994a)).

### **22.2.3.2 *Hyalella azteca***

*Hyalella azteca* est un organisme épibenthique qui a été utilisé pour tester des extraits aqueux de sédiments (eau interstitielle ou éluatriat). Tout comme pour *Chironomus*, la voie d'exposition majeure des *H. azteca* est fonction du contaminant et dépend des conditions d'essais.

Comme l'ont montré certaines études, la phase aqueuse peut être considérée comme une voie d'exposition importante à certains contaminants métalliques (métaux cationiques) organiques (HAPs, pesticides, ammoniac,...) pour *H. azteca* (Stephenson et Mackie, 1989; Borgmann *et al.*, 1990; Ankley *et al.*, 1991b; Whiteman *et al.*, 1996).

---

<sup>1</sup> Dans les sédiments, certains contaminants organiques ont une solubilité réduite et une densité plus importante que l'eau et sont préférentiellement associés aux particules de sédiments.

*H. azteca*, même si elle est capable de nager et de se maintenir dans la colonne d'eau, passe la plupart de son temps au contact des sédiments où elle creuse des galeries en surface. *H. azteca* est un organisme détritivore, brouteur qui ne filtre pas l'eau (Strong, 1972) et qui se nourrit principalement de bactéries, de diatomées et d'algues présentes sur le sédiment ingéré (De March, 1981b; Wellborn, 1994; ASTM, 1995b). Jusqu'à 60% du cadmium absorbé par *H. azteca* peut ainsi être d'origine nutritionnelle (via le periphyton) (Stephenson et Turner, 1993). Et Ingersoll *et al.* (1994) ont montré en étudiant les concentrations métalliques mesurées chez *H. azteca* que les particules peuvent être une source de métal pour les organismes.

### **22.2.3.3 *Hydra attenuata***

L'exposition de *Hydra attenuata* se fait uniquement par la phase aqueuse. Il semble de fait difficile d'exposer l'hydre au sédiment brut car nous avons observé que, sur des supports où une fine couche de particules est présente, l'hydre se décroche du support pour chercher une zone sans particule. Si elle ne peut la trouver, elle est capable de venir s'installer à l'interface eau-air (tête en bas). De plus les organismes restant en place créent, à l'aide de leurs tentacules, des zones dégagées de particules.

## **22.2.4 Réponses biologiques**

### **22.2.4.1 *Chironomus* et *Hyalella azteca***

Il ne s'agit pas dans ce paragraphe de développer toutes les mesures biologiques qui sont utilisées ou utilisables chez *Chironomus* et *H. azteca* pour évaluer la dangerosité des sédiments, mais plutôt de discuter de la sensibilité respective des principales mesures existantes. En effet, il faut savoir que de très nombreuses variables biologiques peuvent être mesurées chez les hyalles<sup>1</sup> et chez les chironomes, aussi bien au niveau des stades larvaires<sup>2</sup> que des imagos<sup>3</sup> (annexe 1).

Dans le cadre de ce travail il a fallu faire un compromis entre la sensibilité et la faisabilité du bioessai. Nous avons décidé de ne pas utiliser la bioaccumulation comme mesure biologique car cette mesure n'est pas, à proprement parler, un indicateur d'effet mais plutôt un indicateur d'exposition (elle rend compte de la biodisponibilité des contaminants en évaluant les concentrations en contaminants dans l'organisme). Nous avons décidé de travailler sur des bioessais de toxicité chronique (durée du bioessai 10 jours pour *C. riparius* et 14 jours pour *H. azteca*) (Environment Canada, 1997b; Environment Canada, 1997a).

---

<sup>1</sup> La mortalité, la croissance, le comportement, la bioaccumulation, la reproduction, les activités enzymatiques (acétylcholinestérase,  $\beta$ -glucuronidase).

<sup>2</sup> La mortalité, la croissance, la bioaccumulation, la génotoxicité, les activités enzymatiques (acétylcholinestérase, cytochrome P450), les malformations.

<sup>3</sup> L'émergence et la reproduction.

Quelques études qui permettent de comparer ou d'associer des variables biologiques, dans ce type d'exposition, donnent des résultats contradictoires. Alors que Becker *et al.* (1995) montrent que la survie, le poids et la taille donnent des résultats similaires en terme de sensibilité et de capacité discriminatoire pour *C. tentans* et *H. azteca*, d'autres auteurs trouvent que les mesures sublétales sont plus pertinentes que la mesure de la mortalité pour détecter la présence de toxiques. Ainsi, la taille et le poids des larves seraient des paramètres plus efficaces que la survie pour *Chironomus* (Pascoe *et al.*, 1989; Taylor *et al.*, 1991; Hoke *et al.*, 1995; Postma *et al.*, 1995a; Call *et al.*, 1999) et la taille, le poids et la production de jeunes seraient des paramètres plus efficaces que la survie pour *H. azteca* (Nebeker *et al.*, 1992; Kemble *et al.*, 1994; Kubitz *et al.*, 1995). Nous avons décidé de prendre en compte à la fin des bioessais un effet léthal et un effet sublétal. Pour *C. riparius* nous mesurons le poids moyen des larves en fin d'essais et pour *H. azteca* nous mesurons la taille. Cette différence de choix peut s'expliquer par la nature des organismes et par les connaissances existant sur ces mesures sublétales. Naylor et Howcroft (1997) ont montré que le poids sec est un critère d'effet plus sensible que la longueur des larves de *C. riparius* pour mesurer l'effet de la 3,4-dichloroaniline. Alors que pour l'amphipode, Steevens et Benson (1998) ont montré que la mesure de la longueur des organismes est un critère d'effet sublétal beaucoup plus sensible que le poids. Ces choix sont aussi fonction de la capacité du laboratoire à mesurer certains paramètres. En ce qui concerne le poids des amphipodes par exemple, il est en moyenne 10 fois plus faible que celui des chironomes en fin d'essai : de l'ordre de 0,15 mg sec/organisme (Becker *et al.*, 1995). Cette mesure biologique nécessite l'utilisation d'un appareillage de précision 10 fois plus sensible que celui qui convient pour la mesure du poids des chironomes, ce qui dans notre cas n'a pas été possible et elle peut être biaisée par le contenu du tractus intestinal (Chapman, 1985; Neumann *et al.*, 1999).

#### **22.2.4.2 *Hydra attenuata***

Les hydres possèdent des caractéristiques intéressantes pour l'évaluation de la toxicité d'extraits aqueux : ce sont des organismes de manipulation aisée, dont les conditions d'élevage sont simples, qui permettent de travailler avec de faibles volumes, qui possèdent une structure biologique relativement simple et dont le cycle de vie est rapide. L'essai hydre, tel que nous l'utilisons, est un essai basé sur une exposition des adultes pendant 4 jours qui permet d'évaluer les effets toxiques létaux et sublétaux des contaminants. Les paramètres d'effet, basés sur l'observation de changements morphologiques chez l'adulte sont la concentration létale (CL<sub>50</sub>) et la concentration seuil d'effet (CSE). La CSE est la moyenne géométrique de la concentration maximale sans effet observé (CSEO), qui correspond à la plus forte concentration pour laquelle aucun effet nocif n'est observé, et de la concentration minimale avec effet observé (CMEO), qui correspond à une concentration pour laquelle des effets nocifs statistiquement significatifs sont détectés (apparition de formes d'hydre bulbée, courte, tulipe et désagrégée) (Trottier, 1997). Les organismes dont la désignation morphologique correspond au stade tulipe ou désagrégé (Figure 18 : c et d) sont considérés comme non viables et sont pris en compte dans l'estimation de la CL<sub>50</sub>, les

individus dont la désignation morphologique correspond au stade bulbé ou court (Figure 18 : a et b) sont considérés comme intoxiqués mais n'interviennent pas dans le calcul de la  $CL_{50}$ , car ces effets morphologiques sont réversibles.



Figure 17 : Hydre normale avec ses tentacules, sa bouche, son tronc sur laquelle bourgeonnent deux jeunes hydres (photographie B. Vollat, Laboratoire d'Ecotoxicologie, Cemagref, Lyon).

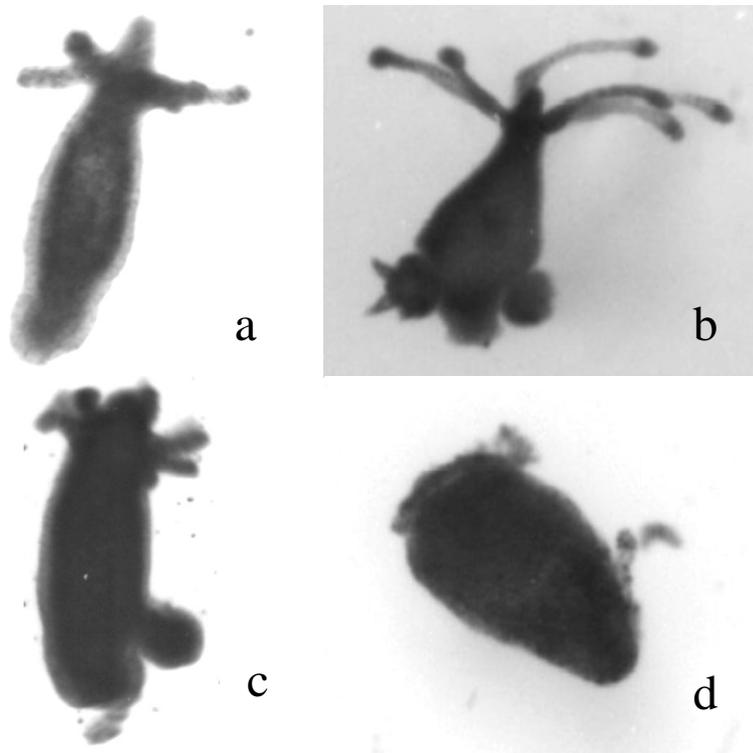


Figure 18 : Différents niveaux d'intoxication d'une hydre : stade court (a), stade bulbé (b), stade tulipe (c) et stade désagrégé (d) (photographie B. Vollat, Laboratoire d'Ecotoxicologie, Cemagref, Lyon).

## 22.2.5 Sensibilité

En ce qui concerne la sensibilité de *C. riparius* et *H. azteca* à des contaminants ou à des sédiments pluricontaminés, l'annexe 1 offre quelques données sur le sujet.

### 22.2.5.1 *Chironomus*

*Chironomus* sp. n'est pas toujours l'organisme le plus sensible aux contaminants et il est tolérant à l'eutrophisation (ASTM, 1995b). Il semble que les Chironomides soient capables de réguler l'accumulation des métaux (Cu, Ni, Zn) et de les piéger (Zn, Cu, Cd, Hg) dans leur tissus à l'aide de métallothionéines augmentant la concentration en métal nécessaire à l'induction d'un effet (Suedel *et al.*, 1997). Mais, de part son contact direct avec la matrice sédimentaire et ses caractéristiques biologiques, le chironome est un organisme intéressant dans l'évaluation de la qualité des sédiments. Il semble qu'il soit assez sensible à beaucoup de contaminants associés aux sédiments (principalement des contaminants organiques).

Exposé durant 10 jours à une contamination par voie aqueuse, en présence d'un substrat neutre, *C. tentans* est deux fois plus sensible au fluoranthène que le micro-crustacé *Daphnia magna* (Suedel *et al.*, 1993) et sept fois plus sensible à la dieldrine que *H. azteca* (Hoke *et al.*, 1995). Sur une exposition de 48 heures, avec le même type de protocole, *C. tentans* est plus sensible que *H. azteca* et *D. magna* à l'aldicarbe et au chlordane et 200 fois plus sensible que le poisson *P. promelas* au chlorpyrifos (Moore *et al.*, 1998).

### 22.2.5.2 *Hyalella azteca*

*Hyalella azteca* est sensible aux métaux et à un plus large spectre de toxiques que *Chironomus*. Elle représente relativement bien la sensibilité des autres espèces aquatiques et elle est occasionnellement parmi les espèces les plus sensibles (Phipps *et al.*, 1995). Borgmann *et al.* (1989) ont démontré que les amphipodes sont très sensibles aux métaux et au moins aussi sensibles que la daphnie au pentachlorophénol en exposition chronique par l'eau.

Des expositions par voie aqueuse ont confirmé que *H. azteca* est plus sensible au cadmium que *P. promelas*, *C. dubia*, *D. magna* et *C. tentans* (Suedel *et al.*, 1997), plus sensible au fluoranthène (HAP) que *C. tentans*, *D. magna* et l'oligochète *S. lacustris* (Suedel et Rodgers, 1996), 3,5 fois plus sensibles que *D. magna* et plus de 200 fois plus sensible que *P. promelas* au chlorpyrifos (insecticide) (Moore *et al.*, 1998).

En essai sur sédiment entier, une étude a déterminé que les organismes testés les plus sensibles sont dans l'ordre décroissant *Hyalella*, *Chironomus*, la truite puis la daphnie (Kemble *et al.*, 1994) et une étude portant sur 29 sédiments différents a confirmé que *H. azteca* est plus sensible que *P. promelas*, *C. dubia*, et l'oligochète *L. variegatus* (Ankley *et al.*, 1991b).

### 22.2.5.3 *Hydra attenuata*

L'hydre a largement été utilisée pour évaluer les processus de morphogénèse (Otto et Campbell, 1977), les mécanismes de communication cellulaires et les effets tératogènes de nombreuses molécules (Lesh-Laurie, 1982). Son utilisation dans des bioessais pour

détecter la toxicité de molécules ou d'échantillons naturels, vis-à-vis d'organismes adultes, est assez récente et encore peu développée.

Peu de connaissances sont actuellement disponibles sur la sensibilité des hydres vis-à-vis des molécules organiques et métalliques.

De manière générale, l'hydre semble moins sensible aux composés organiques que d'autres espèces d'invertébrés (Pollino et Holdway, 1999)<sup>1</sup>. L'hydre aurait tendance à accumuler les molécules organiques hydrophobes au niveau de sa structure lipidique et serait incapable de métaboliser les HAPs (Fu *et al.*, 1994).

D'un autre côté, l'hydre semble au moins aussi sensible que d'autres invertébrés (daphnies, gammarès,...) aux éléments métalliques (Trottier et Blaise, 1997; Beach et Pascoe, 1998; Pollino et Holdway, 1999).

L'étude de la toxicité de mélanges complexes, comme des eaux naturelles (Fu *et al.*, 1991a), des effluents miniers, urbains ou industriels (Fu *et al.*, 1994; Rippon *et al.*, 1994; Blaise et Kusui, 1997; Trottier, 1997; Trottier *et al.*, 1997a) et des eaux interstitielles (Côté *et al.*, 1998a; Côté *et al.*, 1998b) confirme la sensibilité du bioessai hydre à ce type d'échantillons. Les hydres semblent cependant relativement sensibles à l'ammoniac qui est un contaminant présent dans de nombreux échantillons naturels (Rippon *et al.*, 1994; Côté *et al.*, 1998a).

---

<sup>1</sup> Une étude menée dans notre laboratoire du Cemagref a donné les mêmes résultats (Bonneris, 1999).

# CHAPITRE 3 :

## METHODOLOGIES D'EVALUATION DE LA TOXICITE DES SEDIMENTS

---

Parmi les organismes et bioessais existant pour évaluer la qualité des milieux dulçaquicoles, les larves de chironomes et les amphipodes sont des outils biologiques adaptés à l'étude du compartiment sédimentaire et les hydres peuvent être plus particulièrement utilisées pour la description de la qualité des eaux interstitielles.

Les chironomes et les amphipodes sont utilisés depuis de nombreuses années pour évaluer la qualité biologique des sédiments contaminés (Wentzel *et al.*, 1977; Nebeker *et al.*, 1984a; Nebeker *et al.*, 1986; Giesy *et al.*, 1988; Borgmann et Munawar, 1989). Des protocoles normalisés de bioessais utilisant ces organismes ont été proposés (EPA, 1994b; Environment Canada, 1997b; Environment Canada, 1997a) et nous nous sommes largement basés sur ces documents pour définir les conditions d'élevage et les protocoles expérimentaux d'essai appliqués au laboratoire.

Certains choix d'élevage étant laissés à la discrétion de l'expérimentateur (type et volumes d'eau et de substrat, densité d'organisme, type et quantité de nourriture, élevage en continu ou par cycle,...), le laboratoire doit préciser les conditions nécessaires au maintien d'un élevage de qualité constante, par exemple avec un toxique de référence.

De même, les protocoles d'essai normalisés laissent à l'expérimentateur le choix quant à la qualité de l'eau surnageante et son taux de renouvellement, à la préparation du substrat témoin et au nombre de réplicats. Cette liberté dans la définition des conditions d'essai implique de s'assurer que le protocole fixé est bien en mesure de permettre :

- une survie et une croissance des organismes supérieures aux critères d'acceptabilité fixés par les normes dans les sédiments témoins ou non contaminés (Environment Canada, 1997b; Environment Canada, 1997a),
- la détection d'un effet dans les sédiments contaminés.

D'autres paramètres, bien que proposés dans la norme, peuvent être modifiés en fonction des besoins. Il s'agit :

- de l'intensité lumineuse et de la photopériode,
- de la température d'essai,
- du type, de la dose et de la fréquence des apports de la nourriture,
- des volumes d'eau et de sédiment,
- de l'âge des organismes exposés,
- du nombre d'organismes par réplicats.

Si de telles modifications sont faites, elles doivent être justifiées et expressément signalées comme modifications par rapport au protocole normalisé.

Une première étape de notre travail, avant d'utiliser les bioessais *C. riparius* et *H. azteca* dans l'étude de la qualité biologique des sédiments contaminés, a donc consisté à définir nos conditions d'élevage et d'essai, et à préciser, dans les conditions fixées, la validité et la capacité discriminante des témoins, et la sensibilité des organismes aux caractéristiques intrinsèques des sédiments et aux conditions d'essai.

Le bioessai hydre (Trottier *et al.*, 1997b) a démontré sa sensibilité dans la caractérisation de mélanges complexes naturels tels que les eaux naturelles ou les effluents (Fu *et al.*, 1991a; Rippon *et al.*, 1994; Blaise et Kusui, 1997), mais son utilisation pour étudier la toxicité des eaux interstitielles est plus récente (Côté *et al.*, 1998a; Côté *et al.*, 1998b) et les connaissances existant sur la sensibilité des hydres vis-à-vis de contaminants spécifiques (métaux, HAPs, PCBs,...) sont limitées.

Avant d'appliquer le bioessai hydre dans l'évaluation de la toxicité d'eaux interstitielles, nous discutons :

- de la sensibilité intrinsèque des hydres aux métaux, aux produits organiques et à l'ammoniac,
- de deux points méthodologiques qui peuvent modifier les caractéristiques physico-chimiques et la toxicité de l'eau interstitielle, à savoir : la conservation des échantillons de sédiments et la préparation des échantillons d'eau interstitielle auxquels les hydres sont exposées.

L'étude des réponses des hydres exposées à une série d'eaux interstitielles (N=33) nous permet aussi de discuter de la spécificité de réponse du bioessai hydre.

---

Remarque préliminaire : des données physico-chimiques et des résultats de bioessais sur quelques sédiments naturels et eaux interstitielles sont utilisés dans ce chapitre. Pour des raisons de lisibilité nous n'exposons pas l'ensemble des données concernant ces sédiments et ces eaux interstitielles mais seulement les caractéristiques utiles à la discussion sur la sensibilité des bioessais. Ces sédiments sont plus finement caractérisés dans le chapitre 4.

---

## 31 Les bioessais *C. riparius* et *H. azteca*

### 31.1 Les protocoles d'élevage et d'essai

#### 31.1.1 Les conditions d'élevage

L'annexe 3 expose l'ensemble des matériaux et conditions d'élevage concernant *C. riparius* et *H. azteca* ainsi que les modes d'obtention et de préparation des organismes pour les bioessais aigus (96h) et chroniques (10j pour *C. riparius* et 14j pour *H. azteca*).

Les élevages de *C. riparius* et *H. azteca* sont maintenus en permanence au laboratoire dans des aquariums de 25 L contenant environ 23 L d'eau, à 23°C, avec une photopériode de 16h de jour et 8h de nuit. L'eau d'élevage<sup>1</sup> (pH=6,5-7 ; conductivité=300-320 µS/cm ; dureté=120-170 mg CaCO<sub>3</sub>/L) est un mélange d'eau naturelle de forage (pH=7,3 ; conductivité=1125 µS/cm ; dureté=530 mg CaCO<sub>3</sub>/L) et d'eau osmosée (rapport ¼ ; ¾). Elle est renouvelée en continu (4 renouvellements d'eau par jour, soit un débit d'environ 3,8 L/h). Les hyalelles sont élevées en présence de supports plastiques (annexe 3) et sont alimentées avec du SéraMikron®, du TetraMin®, du NovoTab® et des larves sèches de diptère. Du sable de Fontainebleau propre (Ø=150-210 µm) est fourni aux chironomes en guise de substrat pour la construction de leurs tubes, sur une hauteur de 2-3 cm (représentant environ 2 L de substrat), et un apport quotidien de TetraMin® est réalisé.

#### 31.1.2 Le contrôle de la qualité des élevages : vérification de la sensibilité des organismes

Des bioessais réguliers nous permettent d'établir des cartes de contrôle regroupant les CL<sub>50</sub>-96h des bioessais et de vérifier ainsi, au cours du temps, la stabilité de la sensibilité des organismes d'élevages au toxique de référence. Pour ce faire, les organismes sont exposés, durant 96h, à un toxique de référence (CuSO<sub>4</sub>) introduit par l'eau, en présence d'un substrat neutre : monocouche de sable de Fontainebleau pour les chironomes et carré de 6,25 cm<sup>2</sup> de Nitex® pour les hyalelles.

Le Tableau 8 résume les protocoles développés au Cemagref pour les bioessais 96h *C. riparius* et *H. azteca*. Par rapport au protocole d'Environnement Canada (1997b) qui utilise des amphipodes de 2 à 9j d'âge nous avons décidé de travailler avec des organismes âgés de 7 à 14j en début d'essai. La sensibilité au cuivre de ces deux classes d'âge est la même (Collyard *et al.*, 1994) et les organismes de 7 à 14j d'âge sont plus faciles à manipuler.

---

<sup>1</sup> La dénomination utilisée dans le laboratoire pour cette eau d'élevage est l'eau FOS (pour Forage et OSmosée).

Tableau 8 : Protocoles des bioessais 96h avec *C. riparius* et *H. azteca*, développés au Cemagref avec le toxique de référence ( $\text{CuSO}_4$ ), d'après les protocoles d'Environnement Canada (1997a, 1997b).

Paramètre	Conditions
Type d'essai	eau seule, 96 h, statique
Fréquence	en même temps qu'un bioessai si moins d'un bioessai réalisé par mois, ou une fois par mois si plus d'un bioessai réalisé dans le mois
Solutions d'essai	1 solution témoin et au moins cinq concentrations d'essai
Température	$23 \pm 1^\circ\text{C}$
Eclairage	intensité lumineuse de 500-1000 lux, photopériode de 16 h
Récipient d'essai	400 mL
Volume eau	200 mL
Substrat neutre	<i>H. azteca</i> : 2,5*2,5 cm de Nitex® (maille 450 $\mu\text{m}$ ) <i>C. riparius</i> : monocouche de sable de Fontainebleau
Age des organismes (j)	<i>H. azteca</i> : 7 à 14j <i>C. riparius</i> : 4j
Nombre d'organismes / réplicat	10
Nombre de réplicats	4
Alimentation	1 mL de TetraMin® (4 g/L) aux jours 0 et 2 pour <i>C. riparius</i> 0,5 mL de SeraMikron® (0,6 g/L) aux jours 0 et 2 pour <i>H. azteca</i>
Aération	aucune
Eau d'essai	eau naturelle d'élevage <sup>(a)</sup>
Mesures qualité de l'eau <sup>(b)</sup>	début et fin d'essai : température, dureté, pH, conductivité, oxygène dissous
Paramètres de mesure	survie ( $\text{CL}_{50}$ ) après 96 h
Validité de l'essai	> 90% survie dans le témoin

<sup>(a)</sup> pH=6,5-7 ; conductivité =300-320  $\mu\text{S}/\text{cm}$  ; dureté=120 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ .

<sup>(b)</sup> Appareillage et méthodes de mesures en annexe 4.

### 31.1.3 Les bioessais chroniques (*C. riparius* 10j et *H. azteca* 14j)

Les protocoles des bioessais chroniques *C. riparius* 10j et *H. azteca* 14j décrits dans le Tableau 9 sont ceux proposés par Environnement Canada (1997a; 1997b). Certains paramètres, en gras dans le tableau, sont précisés et discutés dans les paragraphes suivants pour aboutir à la définition du protocole d'essai appliqué au Cemagref.

Tableau 9 : Protocoles du bioessai 10j avec *C. riparius* et du bioessai 14j avec *H. azteca*, proposé par Environnement Canada (1997a, 1997b).

Paramètre	Conditions
Type d'essai	mesure de la toxicité sur sédiment brut
<b>Sédiment témoin</b>	<b>sédiment naturel ou artificiel</b>
Durée d'essai	<i>H. azteca</i> : 14j <i>C. riparius</i> : 10j
Récipient d'essai	400 mL, Ø 7cm environ, couvert en condition statique
Volume eau	175 mL
Volume de sédiment	100 mL
<b>Température</b>	<b>23 ± 1°C</b>
Eclairage	intensité lumineuse de 500-1000 lux, photopériode de 16 h
<b>Age des organismes (j)</b>	<i>H. azteca</i> : 7 à 14j <i>C. riparius</i> : <2j
Nombre d'organismes / réplicat	10
<b>Nombre de réplicats</b>	<b>minimum 5</b>
<b>Alimentation / réplicat</b>	<i>H. azteca</i> : 1,5 mL d'une suspension d'YCT quotidiennement <i>C. riparius</i> : 1,5 mL de TetraFin® ou de NutraFin® (4 g/L) quotidiennement
<b>Eau d'essai</b>	<b>eau synthétique ou naturelle (souterraine, de surface, du lieu de prélèvement,...)</b>
<b>Renouvellement d'eau</b>	<b>aucun renouvellement (sauf pour compenser les pertes dues à l'évaporation) à deux renouvellements par jours</b>
<b>Aération</b>	<b>oui en statique et non en semi-statique sauf si la teneur en oxygène chute sous 40%</b>
Mesures qualité de l'eau	au moins trois fois par semaine : température, oxygène dissous début et fin d'essai : dureté, pH, conductivité, teneur en ammoniac
<b>Paramètres de mesure</b>	<i>H. azteca</i> : survie, poids <i>C. riparius</i> : survie, poids
Validité de l'essai	<i>H. azteca</i> : > 80% survie <i>C. riparius</i> : >70% survie, >0,5 mg sec/organisme

Dans le cadre de ce travail, la température, la qualité de la nourriture, le taux de renouvellement d'eau, et l'âge des chironomes exposés ont été modifiés par rapport aux protocoles des bioessais *C. riparius* et *H. azteca* d'Environnement Canada (Tableau 9) :

- nous travaillons à 21°C contre 23°C pour Environnement Canada,
- nous donnons du TetraMin® pour les deux organismes contre de l'YCT pour *H. azteca* et du TetraFin® pour *C. riparius* dans le protocole d'Environnement Canada,
- nous délivrons 700 mL/j en continu contre 350 mL/j en semi-dynamique (2 renouvellements/j) pour Environnement Canada,
- nous travaillons avec des *C. riparius* de 4j d'âge contre des organismes d'au maximum 2j pour Environnement Canada.

La modification de la température et de la qualité de la nourriture n'a pas d'effet néfaste sur les organismes et les choix effectués sont largement utilisés dans la littérature (ASTM, 1994b; Environnement Canada, 1997a; Environnement Canada, 1997b).

En ce qui concerne le taux de renouvellement de l'eau, nous avons suivi les recommandations d'Ankley *et al.* (1993) qui préconisent un taux de 4 volumes/j. Nous avons écarté la possibilité de réaliser des bioessais en conditions statiques compte tenu de la difficulté avérée de maintenir des conditions physico-chimiques acceptables dans l'eau surnageante pour des sédiments fortement contaminés ou chargés en matière organique (Ingersoll et Nelson, 1990; Ankley *et al.*, 1993). En conditions statiques, l'augmentation de la dureté, de l'alcalinité, de la conductivité dans l'eau surnageante peuvent influencer la toxicité de contaminants inorganiques ou organiques (EPA, 1994b). L'augmentation de la dureté peut, par exemple, entraîner une diminution de la toxicité du cuivre pour les chironomes (Gauss *et al.*, 1985).

Nous avons choisi d'effectuer un renouvellement continu de l'eau surnageante, à l'aide de pompes péristaltiques, plutôt qu'un renouvellement semi-continu deux fois par jour à la main à l'aide de pipettes. Nous avons testé ces deux modes opératoires dans des manipulations préliminaires et nous n'avons pas observé de différences en terme de lourdeurs de manipulation, les charges de travail se répartissant différemment : plutôt en début et en fin d'essai pour le renouvellement en continu, et tous les jours pour le renouvellement semi-continu. Dans ces conditions, le renouvellement continu permet un balayage lent et régulier des sédiments alors que le renouvellement semi-continu est plus proche d'un phénomène de chasse où l'eau est changée puis laissée en place.

L'eau est apportée, à partir d'un bac d'alimentation thermostaté, en continu, à débit constant, par une pompe péristaltique multicanaux (Ismatec5 40CX, France), dans tous les réplicats en parallèle, et évacuée par un déversoir (Figure 19) dans un bac de récupération. Les prélèvements pour analyses chimiques (ammoniac, nitrite, dureté) sont réalisés à la pipette (10 mL) à mi-hauteur du bécher, et les mesures physiques (pH, dureté, température, oxygène dissous) sont réalisées dans les béchers. Les sondes y sont introduites à mi-hauteur et rincées entre chaque mesure.

L'eau utilisée dans les bioessais<sup>1</sup> est un mélange d'eau de forage et d'eau osmosée (rapport ½ ; ½) dont les caractéristiques principales sont pH=8 ; conductivité =700-800 µS/cm ; dureté =280 mg CaCO<sub>3</sub>/L. L'appareillage et les méthodes de mesures appliquées pour l'évaluation de la qualité de l'eau sont fournis en annexe 4.

Considérant notre incapacité à mesurer le poids des hyalles avec précision, et compte tenu du fait que ce paramètre est moins sensible que la taille (Steevens et Benson, 1998), nous avons choisi de mesurer la taille des amphipodes. Cette mesure étant optionnelle dans les protocoles normalisés existants, nous n'avons pas de seuil d'acceptabilité. Nous noterons cependant que des organismes dont l'âge (20j) correspond à l'âge moyen de nos hyalles en fin d'essai (entre 16 et 23j) mesurent 2,04 mm dans les élevages de De March (1981a) (chapitre 2, tableau 7), et que, dans nos élevages, les hyalles âgées de 21j mesurent en moyenne 2,35 (± 0,41) mm.

---

<sup>1</sup> La dénomination couramment utilisée dans le laboratoire pour cette eau d'essai est l'eau FMG.

A la fin de l'essai les larves de chironomes sont regroupées par réplicat, séchées à 60°C durant 24 heures (jusqu'à obtention d'un poids constant) (Hoke *et al.*, 1995), et pesées, sur une balance de précision (Sartorius BP211D, précision 0,01 mg). Les valeurs reportées sont les poids secs moyens en mg par larve survivante. Les hyalles sont conservées, regroupées par réplicat, dans 5 mL d'un mélange eau-glycérol à 5% à -80°C, avant leur mesure individuelle en mm (de la base de la première antenne à la base du troisième uropode, annexe 1) sur lecteur de microfiche (grossissement 60x).

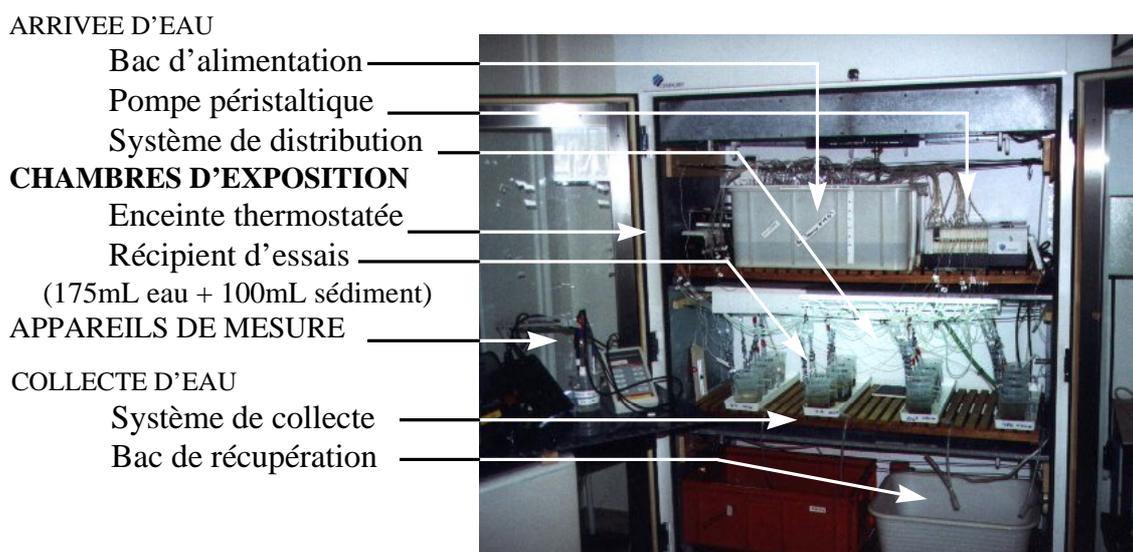


Figure 19 : Système expérimental d'exposition pour la réalisation de bioessais normalisés avec *C. riparius* et *H. azteca* et appareillage pour le suivi de la qualité de l'eau surnageante (paramètres physico-chimiques) au cours du bioessai.

### 31.1.4 Le traitement statistique des résultats

Le modèle log logistique a été utilisé pour traiter les résultats des bioessais sur 96h, exposition en eau seule, à l'aide d'une macro élaborée sous Excel 5 (Microsoft®) (Vindimian *et al.*, 1999). Ce programme permet de tracer les courbes concentration-réponse et de calculer les  $CL_{10}$  et  $CL_{50}$  associées. Les intervalles de confiance sont calculés par simulation de type Monte-Carlo (bootstrap, (Efron, 1981)). Nous avons décidé d'utiliser le modèle log logistique qui est au moins aussi pertinent que des modèles plus classiques (Probit) pour estimer des  $CE_x$  (Moore et Caux, 1997).

Les tests statistiques utilisés pour évaluer la réponse des bioessais chroniques (*C. riparius* 10j et *H. azteca* 14j) sont les tests non paramétrique U de Mann-Whitney (au seuil  $p < 0,05$ ) pour la survie de *C. riparius* et *H. azteca* et paramétrique (t de Student, au seuil  $p < 0,05$ ) pour le poids de *C. riparius* et pour la taille de *H. azteca*.

Si d'autres tests statistiques sont utilisés, ils sont précisés au cas par cas.

## 31.2 La sensibilité des organismes d'essai au cuivre

Dans une première étape nous évaluons la sensibilité des organismes d'essais, élevés au laboratoire, vis-à-vis d'une molécule toxique (le cuivre), afin de contrôler la stabilité de la réponse des organismes provenant des élevages de *C. riparius* et *H. azteca* dans le temps. Une dérive de la sensibilité des organismes pourrait traduire une dérive génétique de nos populations d'organismes.

Dans ce chapitre, les bioessais ont été réalisés suivant le protocole défini dans le chapitre 3, §1.1.2, et les  $CL_{50-96h}$  sont calculées comme défini dans le chapitre 3, §1.1.4. Nous réalisons une série de bioessais aigus (96h) tout au long de l'année avec des *C. riparius* et des *H. azteca* âgés respectivement de 4j et 7 à 14j. L'ensemble des résultats est regroupé dans des cartes de contrôle (Figure 20).

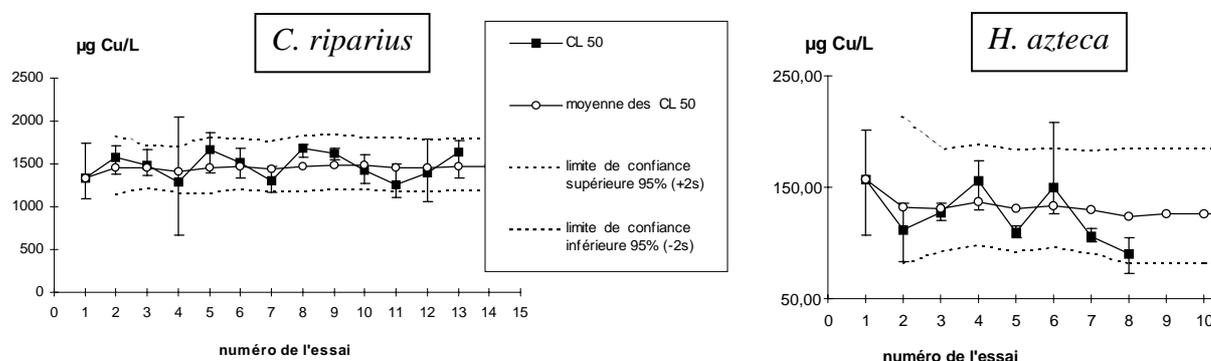


Figure 20 : Carte de contrôle de la sensibilité de *C. riparius* et *H. azteca* au toxique de référence  $CuSO_4$ , regroupant les résultats de bioessais 96h en exposition phase aqueuse (les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance 95%).

Pour des raisons techniques, les bioessais n'ont pas été réalisés une fois par mois, comme conseillé dans les protocoles normalisés. Ils couvrent cependant les deux ans et demi d'expérimentation durant lesquels nous avons utilisé des organismes issus de notre élevage pour réaliser des bioessais chroniques avec des sédiments contaminés.

Les cartes de contrôle établies pour *C. riparius* et *H. azteca* (Figure 20) montrent que la sensibilité des organismes de l'élevage est restée constante sur la durée de nos expérimentations. Dans nos conditions d'essai, *H. azteca* ( $CL_{50-96h}=125\pm 25$  µg Cu/L) est en moyenne 10 fois plus sensible au cuivre que *C. riparius* ( $CL_{50-96h}=1475\pm 150$  µg Cu/L).

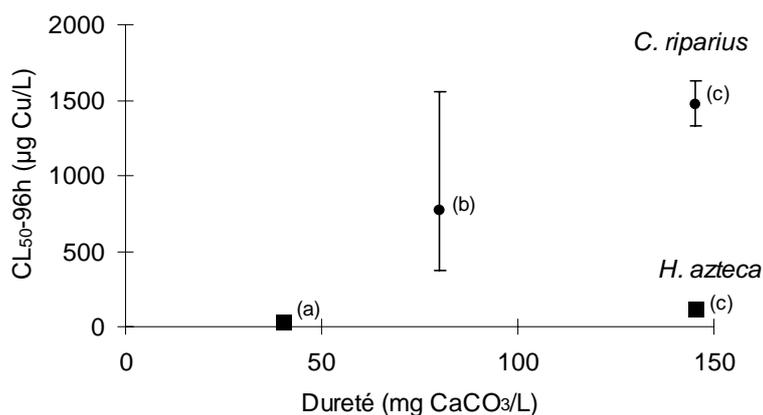


Figure 21 : Toxicité du cuivre ( $\mu\text{g/L}$ ) vis-à-vis de *C. riparius* (●) et de *H. azteca* (■) en fonction de la dureté ( $\text{mg CaCO}_3/\text{L}$ ) de l'eau d'essai, d'après nos résultats <sup>(c)</sup> et ceux de Collyard *et al.* <sup>(a)</sup> (1994) et Nebeker *et al.* <sup>(b)</sup> (1984b).

La Figure 21, établie à partir de nos résultats et de ceux de Collyard *et al.* (1994) et Nebeker *et al.* (1984b), nous permet de confirmer que la toxicité est d'autant plus faible que la dureté est élevée pour *C. riparius* et *H. azteca*, dans une gamme de dureté comprise entre 40 et 140  $\text{mg CaCO}_3/\text{L}$ . Cette observation traduit une compétition accrue entre les ions métalliques et le calcium au niveau des récepteurs membranaires lorsque la dureté augmente.

### 31.3 Le sédiment témoin

Après avoir choisi, parmi les différentes formulations de sédiment qui existent à ce jour, la composition de notre sédiment témoin artificiel, nous chercherons dans ce paragraphe :

- à définir une technique de préparation pour laquelle la survie et la croissance des organismes sont supérieures aux critères d'acceptabilité,
- à comparer les réponses des bioessais réalisés avec ces témoins à celles des bioessais effectués sur des sédiments naturels de bonne qualité biologique (indice IOBS > 3, chapitre 2, §2), pour déterminer si nos témoins nous permettent d'obtenir des réponses proches de celles obtenues dans des substrats naturels,
- à savoir si les réponses biologiques sont reproductibles.

Les bioessais ont été réalisés suivant le protocole défini précédemment (chapitre 3, §1.1.3) et les résultats sont traités comme défini dans le chapitre 3, §1.1.4.

Les résultats des bioessais exploités ci-dessous ont été obtenus, pour la plupart, dans le cadre de l'étude des sédiments naturels (chapitre 4) au cours de la période de janvier 97 à décembre 98.

#### 31.3.1 Choix d'un sédiment témoin

La première étape de notre travail consiste à définir un sédiment témoin permettant d'atteindre les critères d'acceptabilité fixés dans les protocoles normalisés (chapitre 3,

§1.1.3). Ce sédiment ne doit pas obligatoirement être représentatif des sédiments naturels mais il doit être de préparation simple.

Deux choix sont possibles : rechercher un sédiment naturel non contaminé ou utiliser un sédiment artificiel. Nous avons écarté la première solution car utiliser un sédiment naturel signifie disposer d'un sédiment issu d'un site protégé (qui ne subirait pas de pollutions accidentelles), stable (qui ne serait pas sujet à dépôt ou à chasse), facile d'accès (qui permettrait une utilisation régulière), pourvu en sédiment (qui ne risquerait pas de s'épuiser en quelques années) et dont la qualité est homogène sur tout le site. Un sédiment possédant l'ensemble de ces caractéristiques apparaît difficile, sinon impossible, à trouver. Nous avons donc décidé d'utiliser un témoin artificiel.

De nombreux auteurs proposent des formulations de sédiment artificiel (Tableau 10). Selon que l'objectif de l'étude est de contrôler la qualité d'un lot d'organismes, de servir de référence par rapport aux sédiments contaminés, ou d'étudier par des techniques d'enrichissement, la biodisponibilité de substances chimiques vis-à-vis d'organismes benthiques, épibenthiques ou aquatiques, la composition des sédiments artificiels peut être simple et tendre à se perfectionner pour essayer de correspondre le plus possible à la composition de sédiments naturels (associations de composés de nature et de granulométrie variables pour les particules inorganiques, en présence de matière organique, de phases complexantes et de composés tampons naturels). Cependant, quelle que soit la composition du sédiment artificiel choisi, elle aura des lacunes en terme de complexité, de représentativité et de stabilité (Suedel et Rodgers, 1994a; Kemble *et al.*, 1999; Lacey *et al.*, 1999).

Bien que l'USEPA propose en 1994 une formulation de sédiment artificiel pouvant être utilisé en tant que contrôle, Environnement Canada en 1997 considère " qu'il est actuellement prématuré de recommander une formulation de sédiment artificiel qui convienne à un essai de mesure de la survie et de la croissance en 10 jours à l'aide de larves de chironomidae ou en 14 jours à l'aide d'*Hyaella azteca* ”.

Dans ces conditions, nous avons délibérément choisi d'utiliser un sédiment témoin, de composition simple et dont la préparation est facile. En effet, notre objectif n'est pas d'avoir un sédiment artificiel représentatif d'un sédiment naturel, nous désirons simplement être en possession d'un sédiment témoin qui permet une bonne survie et une bonne reproduction des organismes.

Nous avons décidé de travailler avec un substrat siliceux. Ce type de substrat, de composition neutre, a déjà été utilisé avec succès (Burgess *et al.*, 1994; Chapman *et al.*, 1999). Il s'agit du sable de Fontainebleau (#47460, particules de diamètre moyen 150 à 210 µm, Elvetec Services, 69637 Vénissieux).

Tableau 10 : Composition de quelques sédiments artificiels.

Complexité

Substances inorganiques	Substances organiques	Substances complexantes et tampons	Référence
sable $\varnothing < 250 \mu\text{m}$			(Chapman <i>et al.</i> , 1999)
sable $50 \mu\text{m} < \varnothing < 2 \text{mm}$			(Burgess <i>et al.</i> , 1994)
Papier filtre (Whatman®)			(Pascoe <i>et al.</i> , 1990)
sable $\varnothing < 250 \mu\text{m}$ kaolin	Mousse de sphaigne		(Watts et Pascoe, 1996)
sable $\varnothing = 300 \mu\text{m}$ sable Sil-Co-Sil® ( $\varnothing$ inconnu) Attacotte®, Attasorb®, ASP400®, ASP600®, ASP900®	$\alpha$ -cellulose Feuilles de pommier Mousse de tourbe		(Lacey <i>et al.</i> , 1999)
sable mystic whyte #45 ( $\varnothing = 300 \mu\text{m}$ ) Attasorb®, Attagel®, ASP400®,	Sphaigne Acide humique		(Weber <i>et al.</i> , 1996)
sable Q-mix®, $30 \mu\text{m} < \varnothing < 2 \text{mm}$ Attacotte®, Attasorb®, ASP400®, ASP600®, ASP900®, Attagel®	Sphaigne		(Watzin <i>et al.</i> , 1994)
sable $105 \mu\text{m} < \varnothing < 500 \mu\text{m}$ limon $2 \mu\text{m} < \varnothing < 100 \mu\text{m}$ argile naturelle $< 2 \mu\text{m}$		AVS (mélange de sulfure de sodium, sulfates de fer et de manganèse)	(Gonzalez, 1996)
sable mystic whyte #90 et #18 ( $50 \mu\text{m} < \varnothing < 2 \text{mm}$ ) Montmorillonite, ASP400®, ASP600®, ASP900®	Humus	Dolomite (tampon)	(Suedel et Rodgers, 1994a; Suedel <i>et al.</i> , 1996)
sable $50 \mu\text{m} < \varnothing < 200 \mu\text{m}$ kaolin	Mousse de sphaigne	Carbonate de calcium (tampon)	(OECD, 1998)
sable kaolin	Mousse de sphaigne	Carbonate de calcium (tampon)	(Naylor et Rodrigues, 1995)
sable $50 \mu\text{m} < \varnothing < 500 \mu\text{m}$ ASP400®	sphaigne ou humus	Carbonate de calcium (tampon)	(EPA, 1994b)
sable whyte quartz ASP400®	$\alpha$ -cellulose	Dolomite (tampon)	(Kemble <i>et al.</i> , 1999)
sable $50 \mu\text{m} < \varnothing < 250 \mu\text{m}$ ASP400®	Mousse de sphaigne et acide humique	Dolomite (tampon)	(Harrahy et Clements, 1997)
Mélange de sédiments naturels			(Kwan et Dutka, 1996)

Limon : ASP400® ( $\varnothing=4,8 \mu\text{m}$ ) et Attacotte ( $\varnothing=18 \mu\text{m}$ ).Argile : Attasorb® ( $\varnothing=2 \mu\text{m}$ ), ASP900® ( $\varnothing=1,5 \mu\text{m}$ ), ASP600® ( $\varnothing=0,6 \mu\text{m}$ ), et Attagel® ( $\varnothing=0,01 \mu\text{m}$ ), Kaolin, Montmorillonite.

### 31.3.2 Effet de la qualité du sédiment témoin sur la survie et la croissance des organismes

Deux types de préparation ont été successivement mis en œuvre pour le sédiment témoin artificiel utilisé dans les bioessais *C. riparius* et *H. azteca* :

- certains auteurs stockent les constituants du sédiment et réalisent leurs mélanges à sec puis humidifient le sédiment artificiel la veille de son utilisation (Burgess *et al.*, 1994; Weber *et al.*, 1996; Chapman *et al.*, 1999; Kemble *et al.*, 1999).

En procédant comme eux, 24h avant l'utilisation du sédiment témoin, nous réalisons 10 lavages successifs à l'eau déminéralisée avant de le maintenir entre 3 et 5 heures sous un flux d'eau déminéralisée. Le sédiment est ensuite mis à tremper dans l'eau d'essai jusqu'à son utilisation. Le sédiment témoin ainsi préparé est appelé sédiment non conditionné.

- d'autres auteurs (Suedel et Rodgers, 1994a; Watzin *et al.*, 1994; Suedel *et al.*, 1996) conditionnent le sédiment témoin artificiel dans une eau naturelle pour permettre sa colonisation par différents types d'organismes (diatomées, algues, bactéries, microinvertébrés...), respectivement, durant 7, 10 et 14 jours avant utilisation.

En s'inspirant de leur démarche nous nettoignons le sédiment artificiel témoin comme précédemment à l'eau déminéralisée puis nous l'enrichissons avec de la matière organique sous forme de TetraMin® qui sert de source de nutriments pour les microorganismes (240 mg de TetraMin®/L de sédiment, apportés en suspension, sous forme broyée, dans 40 mL d'eau déminéralisée). La dose choisie, qui correspond à 4 doses journalières de TetraMin® dans un bioessai, représente une charge de matière organique faible (moins de 1‰ de la masse totale du sédiment) qui ne perturbe pas la qualité du milieu. Le substrat est ensuite déposé dans un contenant en plastique inerte avec 3 volumes d'eau naturelle d'élevage (pH=6,5-7 ; conductivité=300-320  $\mu$ S/cm ; dureté=120-170 mg CaCO<sub>3</sub>/L) pour un volume de sédiment. Une aération continue permet de conserver une teneur en oxygène dissous élevée, un pH et une dureté stables. L'eau d'évaporation est remplacée par de l'eau déminéralisée. Cette préparation est effectuée 15 à 21j avant le début des bioessais et le sédiment ainsi préparé est appelé sédiment conditionné.

Une première expérience avec des bioessais réalisés en parallèle sur sédiments conditionnés et non conditionnés avec des organismes issus d'un même lot (Tableau 11), montre que, bien que les réponses biologiques ne soient pas significativement différentes, les résultats sont meilleurs dans le sédiment artificiel conditionné, excepté pour la croissance des hyalelles. Ces derniers résultats pourraient peut-être traduire un effet de compétition pour la nourriture.

Tableau 11 : Survie et croissance mesurées dans un bioessai sur *C. riparius* et un bioessai sur *H. azteca*, réalisés avec des organismes issus d'un même groupe d'individus, avec un sédiment artificiel témoin non conditionné et un sédiment artificiel témoin conditionné.

	Moyenne (ET)		p
	Sédiment Non Conditionné	Sédiment Conditionné	
<b><i>C. riparius</i></b>			
Survie (%)	56 (±13)	77 (±10)	0,0513
Poids (mg sec)	1,20 (±0,44)	1,45 (±0,19)	0,223
<b><i>H. azteca</i></b>			
Survie (%)	87 (±17)	95 (±10)	0,273
Taille (mm)	3,15 (±0,60)	3,03 (±0,56)	0,715

En réalisant plusieurs bioessais sur ces deux types de sédiments artificiels (non conditionné et conditionné), nous constatons que l'incubation de la silice nous permet d'accroître significativement la survie de nos organismes de 18 à 22% en moyenne, d'atteindre environ 90% de survie dans les témoins, et d'être plus reproductible d'un essai sur l'autre (Tableau 12). Ceci nous permet de passer les critères d'acceptabilité biologiques fixés pour ces bioessais dans les protocoles normalisés (Environment Canada, 1997b; Environment Canada, 1997a). Cependant, que ce soit pour *H. azteca* ou pour *C. riparius*, la croissance n'est pas différente entre les deux types de substrat utilisés.

Tableau 12 : Survie et croissance mesurées dans une série de bioessais sur *C. riparius* et *H. azteca* avec des sédiments artificiels témoins non conditionnés ou conditionnés.

Nombre de bioessais		Moyenne (ET)			p
Sédiment Non Conditionné	Sédiment Conditionné	Sédiment Non Conditionné	Sédiment Conditionné		
<b><i>C. riparius</i></b>					
11	14	Survie (%)	70,2 (±10,6)	88,7 (±7,1)	0,0003*
10	14	Poids (mg sec)	1,00 (±0,14)	1,30 (±0,55)	0,2416
<b><i>H. azteca</i></b>					
13	7	Survie (%)	72,0 (±23,1)	93,00 (±4,8)	0,0055*
7	7	Taille (mm)	2,89 (±0,45)	2,51 (±0,41)	0,2248

\* : une différence significative est détectée sur le paramètre mesuré entre le substrat témoin conditionné et le non conditionné (avec le test U de Mann-Whitney, au seuil  $p < 0,05$ ).

La réalisation d'un comptage bactérien (marquage au DAPI<sup>1</sup> de l'ensemble des bactéries non lysées du sédiment) nous permet d'observer que le témoin non conditionné contient  $6,1 \cdot 10^3$  bactéries/g sec contre  $1,7 \cdot 10^7$  bactéries/g sec dans le témoin conditionné. Bien que cette dernière valeur soit inférieure d'un facteur 10 à 100 aux concentrations bactériennes généralement présentes dans les sédiments (de l'ordre de  $10^8$ - $10^9$  bactéries/g sec de sédiment), elle peut jouer un rôle, dans les bioessais. La concentration bactérienne observée dans le sédiment non conditionné correspond sans doute aux bactéries apportées par l'eau

<sup>1</sup> DAPI : colorant diamidino-2-phénylindole, comptage au microscope à épifluorescence grossissement 1000x.

naturelle dans laquelle le témoin est immergé pour la nuit. Les bactéries peuvent être une source de nourriture pour *C. riparius* et *H. azteca*, et elles peuvent contribuer à l'établissement de conditions micro-environnementales équilibrées dans le témoin avant son utilisation (implantation d'une microflore nitrifiante, biodégradation de la matière organique sous une forme plus facilement assimilable par les larves,...)(Sankarperumal et Pandian, 1992). La durée de notre incubation (2 à 3 semaines) est supérieure aux 7 à 14 jours préconisés dans la littérature et peut être considérée comme suffisante.

Dans le sable de Fontainebleau conditionné, la survie de *C. riparius* est en moyenne de 89% (poids moyen 1,3 mg) et celle de *H. azteca* de 93% (longueur moyenne 2,51 mm) (Tableau 12). Ce substrat artificiel nous permet d'obtenir une survie et une croissance acceptables des organismes d'essai et il peut donc être utilisé comme témoin.

### 31.3.3 Comparaison des résultats obtenus sur témoins conditionnés et dans des sédiments naturels non toxiques

Pour savoir si le sédiment témoin conditionné permet d'obtenir une réponse biologique comparable à celle obtenue dans un milieu naturel de référence avec *C. riparius* et *H. azteca*, nous comparons les survies et croissances de ces organismes obtenues dans les témoins à celles mesurées dans deux sédiments naturels considérés comme des sédiments de référence PG (Ain) et J (Rhône) (

Figure 424). La qualité biologique *in situ* de ces sédiments, déterminée par l'indice IOBS, est considérée comme acceptable (IOBS>3) (chapitre 2, §2) (Lafont *et al.*, 1996). L'ensemble des résultats est présenté dans la Figure 22 et la Figure 23.

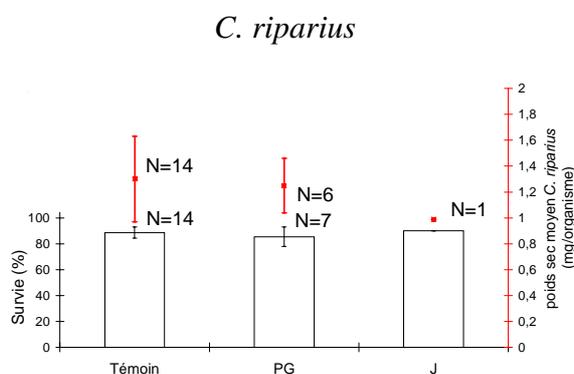


Figure 22 : Comparaison des survies (histogramme) et croissances (■) de *C. riparius* dans un substrat témoin conditionné et dans deux sédiments références (PG et J).

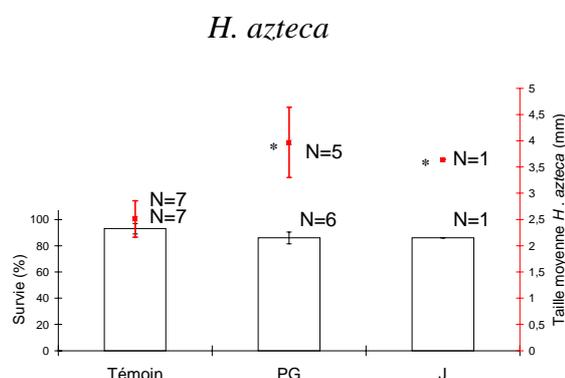


Figure 23 : Comparaison des survies (histogramme) et croissances (■) de *H. azteca* dans un substrat témoin conditionné et dans deux sédiments références (PG et J).

N : nombre de bioessais réalisés. Les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance 95%. \* : valeur significativement différente de celle du substrat témoin.

La survie et la croissance des *C. riparius* sont aussi satisfaisantes dans nos témoins artificiels que dans les sédiments naturels PG et J. Pour *H. azteca* la réponse doit être plus

nuancée : la survie dans les témoins est aussi élevée que dans les sédiments PG et J, mais la taille est significativement inférieure. Kemble *et al.* (1999) observent, sur des bioessais 10j, que la croissance des amphipodes dans des sédiments artificiels est souvent inférieure à la croissance d'organismes exposés à des sédiments témoins naturels. Ils proposent comme piste de recherche d'étudier l'effet du conditionnement des témoins artificiels sur la croissance des organismes. En effet, leur sédiment artificiel est préparé et conservé sec et mis en eau la veille du début de l'essai (aucune colonisation bactérienne n'est initiée). En considérant que la population bactérienne est un paramètre important pour le développement des organismes, dans nos bioessais, la plus faible densité bactérienne associée au sédiment témoin artificiel peut contribuer à la moindre croissance des hyalles. Bien qu'inférieures aux tailles des hyalles exposées aux sédiments naturels PG et J, les tailles des hyalles exposées à nos sédiments témoins conditionnés sont équivalentes aux tailles d'organismes élevés par ailleurs (De March, 1981a) et qui ont le même âge que nos organismes en fin d'essai.

En conclusion, le sable de Fontainebleau conditionné permet d'obtenir des réponses biologiques proches de celles mesurées lors d'exposition à des sédiments naturels de référence.

### 31.3.4 Distribution des réponses des bioessais sur témoins conditionnés

Le Tableau 13 résume l'information représentant la distribution des données concernant la survie et la croissance de *C. riparius* et *H. azteca* dans les sédiments témoins conditionnés.

Tableau 13 : Valeurs décrivant la survie et la croissance de *C. riparius* et *H. azteca* dans les témoins conditionnés (valeur minimale, maximale, intervalle de confiance décrivant la répartition de 95% des échantillons, moyenne et médiane).

Variable	Critère d'acceptabilité	Valeur minimale	Intervalle de confiance inférieur (95%)	Valeur médiane	Valeur moyenne	Intervalle de confiance supérieur (95%)	Valeur maximale
<i>C. riparius</i> (N=14 observations)							
Survie (%)	70% <sup>(a)</sup>	74,0	84,6	89,0	88,7	92,8	98,0
Poids (mg)	0,50 <sup>(a)</sup>	0,82	0,98	1,13	1,30	1,61	2,51
<i>H. azteca</i> (N=7 observations)							
Survie (%)	80% <sup>(b)</sup>	86,0	88,6	94,0	93,0	97,4	100,0
Taille (mm)	2,04 <sup>(c)</sup>	1,95	2,13	2,62	2,51	2,89	3,03

<sup>(a)</sup> : protocole normalisé (Environment Canada, 1997a).

<sup>(b)</sup> : protocole normalisé (Environment Canada, 1997b).

<sup>(c)</sup> : valeur indicative (De March, 1981a).

Nous constatons que pour ces deux bioessais les réponses biologiques des témoins sont reproductibles et permettent d'atteindre, dans tous les cas, les critères d'acceptabilité fixés

dans les protocoles d'Environnement Canada (1997a; 1997b). Par exemple, 95% des réponses des bioessais *C. riparius* sont comprises entre 85 et 95% de survie (Tableau 13) et dans 95% de nos bioessais la taille moyenne des hyaelles est supérieure à 2,04 mm (De March, 1981a).

### 31.4 La sensibilité des organismes à la texture

Il s'agit dans ce paragraphe de s'assurer que la texture, notamment celle de notre substrat témoin, n'influence pas la survie et la croissance des chironomes et des hyaelles dans nos conditions d'essais.

Pour être sûr de ne tester que l'effet taille de particules nous travaillons avec des composés siliceux inertes qui ne contiennent pas ou peu de nutriments (matière organique) et de composés toxiques (ammoniac, nitrite, sulfures,...). L'apport quotidien, durant le bioessai, d'un complément nutritionnel (TetraMin®) permet de ne pas affecter la croissance des chironomes qui sont généralement sensibles à l'absence de matière organique (Suedel et Rodgers, 1994b).

Dans une première étape, nous comparons, dans N bioessais réalisés successivement, les réponses des organismes dans notre substrat témoin artificiel (sable de Fontainebleau<sup>1</sup>; Ø=150-210 µm) à celles obtenues dans un autre substrat siliceux de composition plus grossière (sable de Loire; Ø=500-2000 µm; diamètre moyen 750 µm; silice G4, Société Dousselin, 69270 Couzon au Mont d'Or) (Figure 24 et Figure 25).

Dans une seconde étape nous testons plus finement, sur une série de bioessais, l'effet de différentes tailles de particules en séparant à sec ces deux sables en sous-fractions (<50 et >50 µm pour *H. azteca* et <50, 50<x<200, 200<x<500, 500<x<800 et >800 µm pour *C. riparius*), sur des tamis Inox® dont l'ouverture de maille correspond aux gammes à tester (50, 200, 500 et 800 µm) (Figure 26 et Figure 27).

Ces deux sables et leurs fractions sont conditionnés selon le protocole défini dans le chapitre 3, §1.3.2, puis les bioessais sont réalisés selon le protocole défini dans le chapitre 3, §1.1.3, enfin et les résultats sont traités statistiquement selon les conditions fixées dans le chapitre 3, §1.1.4.

Survie (%)	<i>C. riparius</i>	Poids mg sec/organisme
------------	--------------------	------------------------

<sup>1</sup> La texture du sable de Fontainebleau, étudiée par granulométrie laser (Cilas HR 850), est la suivante : 2,6% : < 2 µm, 10,1% : 2 <x< 20 µm, 44,1% : 20 <x< 50 µm, 43,1% : 50 <x< 200 µm, moins de 1% : > 200 µm.

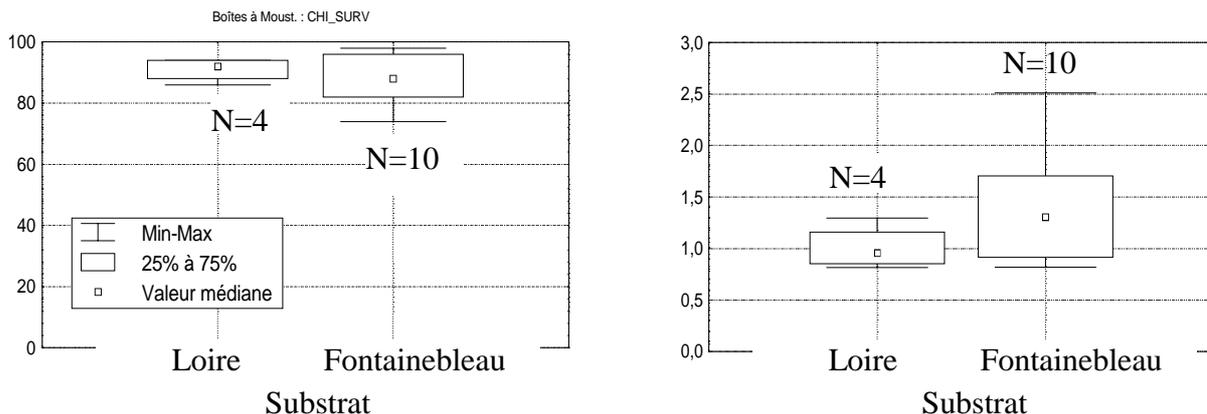


Figure 24 : Comparaison du pourcentage de survie et du poids de *C. riparius* sur sable de Loire et sable de Fontainebleau. N : nombre de bioessais réalisés.

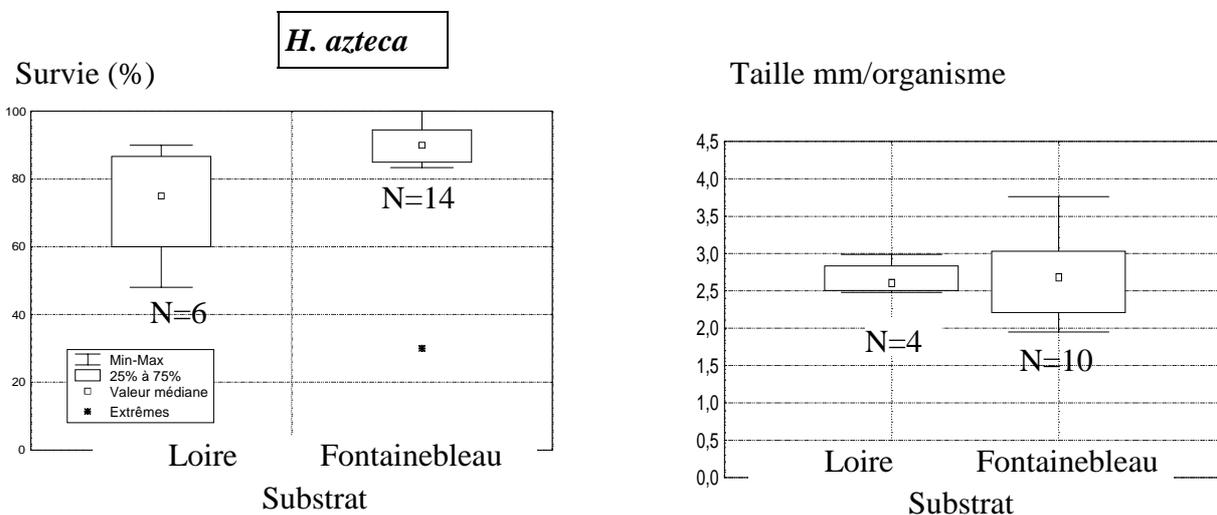


Figure 25 : Comparaison du pourcentage de survie et de la taille de *H. azteca* sur sable de Loire et sable de Fontainebleau. N : nombre de bioessais réalisés.

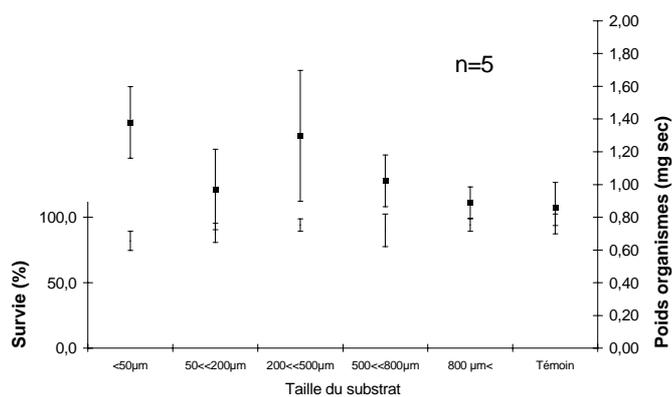


Figure 26 : Effet de la granulométrie d'un substrat inerte sur la survie (histogramme) et la croissance (■) de *C. riparius*.

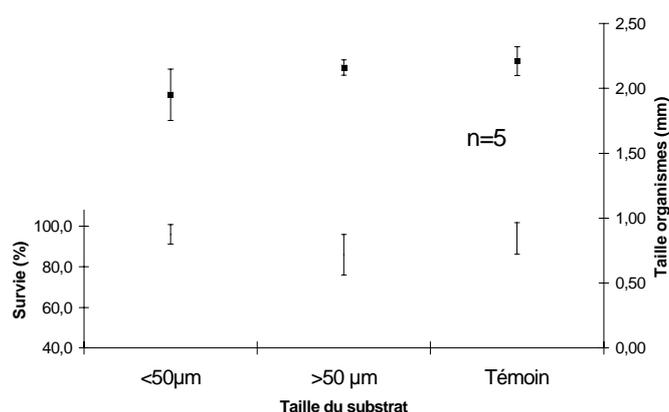


Figure 27 : Effet de la granulométrie du sable de Fontainebleau sur la survie (histogramme) et la croissance (■) de *H. azteca*.

*n* : nombre de réplicats par traitement. Les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance 95% calculés sur les valeurs. Témoin = sable de Fontainebleau conditionné.

Nous n'observons pas de différence significative sur la survie des organismes comme sur la croissance (poids 10j pour *C. riparius* ou taille 14j pour *H. azteca*), entre les deux sables (Figure 24 et Figure 25). Et, quel que soit l'organisme (*C. riparius* et *H. azteca*), nous constatons que la survie et la croissance ne sont pas significativement différentes dans les témoins et les différentes fractions des substrats siliceux (Figure 26 et Figure 27). La forte variabilité dans le poids des chironomes observée dans la fraction 200<x<500 s'explique par un réplicat dont le poids est supérieur à 2 mg sec/organisme. En l'absence d'explications (organismes de taille normale à première vue et absence de grains de sables dans la coupelle de pesée par exemple) nous n'avons pas écarté ce réplicat dans notre estimation de la moyenne.

Cependant, si les critères d'acceptabilité sont toujours passés pour les chironomes dans les deux sables ce n'est pas le cas pour la survie des hyalelles. En effet, bien que la survie de *H. azteca* soit exceptionnellement inférieure à 80% dans le sable de Fontainebleau (1 cas sur les 14 bioessais réalisés), elle l'est une fois sur deux dans le sable de Loire (3 bioessais invalides sur les 6 réalisés) (Figure 25).

Si certains organismes, comme l'insecte *Hexagenia* sp. ou l'amphipode *Rhepoxynius abronius*, sont sensibles à la taille des particules (Suedel et Rodgers, 1994b), le premier préférant les sédiments vaseux alors que le second évite les sédiments fins, chargés en matière organique, de nombreux auteurs (Ingersoll et Nelson, 1990; Suedel et Rodgers, 1994b; American Petroleum Institute, 1995; ASTM, 1995b; Sibley *et al.*, 1998) signalent que *H. azteca* et *C. riparius* sont tolérants à une large gamme de tailles de particules.

Nos résultats sont en accord avec ces auteurs, mais il faut nuancer le propos pour *H. azteca* dont la survie pourrait être perturbée dans un sédiment de texture trop grossière (>500 µm).

Nous venons de nous assurer que la texture assez fine ( $\varnothing=150-210 \mu\text{m}$ ) du sédiment témoin artificiel conditionné, n'affecte ni la survie ni la croissance des organismes et que ces mesures sont supérieures aux critères d'acceptabilité fixés par Environnement Canada (1997a, 1997b) et l'USEPA (1994b). Dans ce substrat, les hyalles comme les chironomes sont aisés à retrouver à la fin des bioessais.

Si pour *C. riparius* l'utilisation d'un substrat témoin sableux de granulométrie plus grossière que celle du sable de Fontainebleau peut être envisagée ( $>500 \mu\text{m}$ ), il faut être prudent avec *H. azteca* en ce qui concerne l'utilisation de substrats sableux grossiers qui pourraient affecter la croissance des amphipodes dans les témoins.

### 31.5 La sensibilité des organismes en fonction de l'âge

Afin d'obtenir une réponse optimale dans le témoin à la fin du bioessai, tout en utilisant des organismes dont l'âge en début d'essais permet d'exposer le stade de vie le plus sensible possible, nous réalisons une série de bioessais chroniques sur sédiments témoins conditionnés, avec les deux classes d'âge généralement utilisées dans la littérature :

- 2j d'âge, soit le premier stade larvaire, (durée du bioessai 10j ou 28j) (Environnement Canada, 1997a; OECD, 1998) et 4j d'âge, soit le second stade larvaire, (durée du bioessai 96h) (Environnement Canada, 1997a) pour *C. riparius*.
- 2 à 9j d'âge (Environnement Canada, 1997b) et 7 à 14j d'âge (EPA, 1994b; ASTM, 1995b) pour *H. azteca*.

Les bioessais sont réalisés selon le protocole défini précédemment, et les résultats sont traités statistiquement selon les conditions fixées précédemment.

La Figure 28 résume les résultats obtenus dans les bioessais *C. riparius* et *H. azteca* selon que les organismes sont âgés, respectivement, de 2 ou 4j ou de moins d'une semaine à plus d'une semaine.

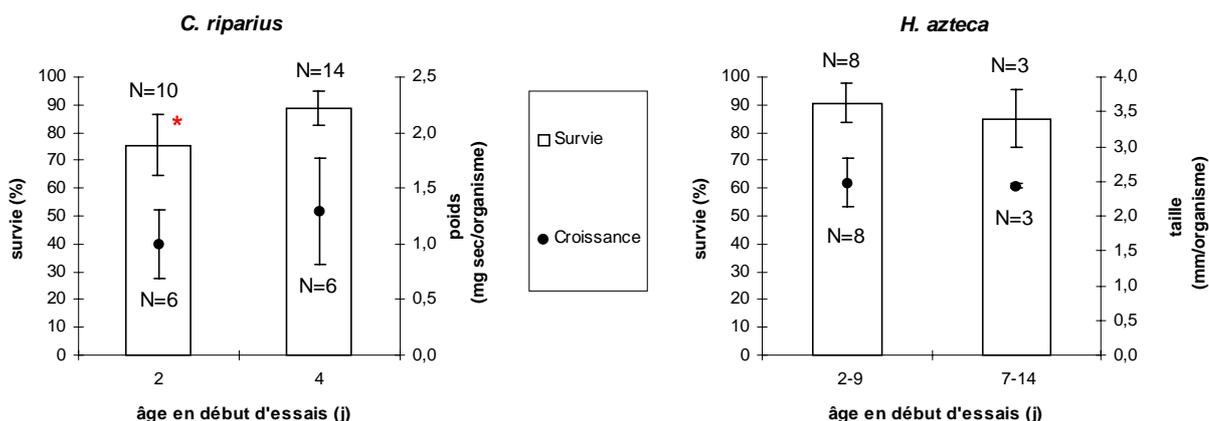


Figure 28 : Survie moyenne et croissance de *C. riparius* (bioessai 10j) et de *H. azteca* (bioessai 14j) en fonction de l'âge des organismes en début d'essais, sur des témoins colonisés. Ages comparés : pour *C. riparius* 2j (premier stade larvaire) et 4j (deuxième stade larvaire) ; pour *H. azteca* 2 à 9j d'âge et 7 à 14j d'âge. \* : la survie de *C. riparius* est significativement différente pour les 2 stades larvaires. N : nombre de bioessais réalisés. Les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance 95%.

### 31.5.1 *Chironomus riparius*

Dans les sédiments témoins conditionnés, la survie des chironomes est significativement plus faible pour les organismes exposés au stade le plus précoce (Figure 28) et deux bioessais débutés avec des larves du premier stade ne passent pas les critères d'acceptabilité au bout de 10j d'exposition, alors que la survie est toujours supérieure à 70% en fin d'essai si les organismes sont âgés de 4j (second stade larvaire). Ce résultat a déjà été observé. Il peut s'expliquer par une sensibilité plus importante du premier stade larvaire par rapport au deuxième, et une augmentation transitoire de la sensibilité des organismes lors du changement de stade larvaire. La manipulation des chironomes peut entraîner un stress, mortel à plus ou moins long terme, qui augmente la variabilité des témoins (Chappie et Burton, 1997). Nebeker *et al.* (1984b) ont observé, en exposant différents stades larvaires de *C. tentans* à du cuivre, que de nombreuses larves du premier stade larvaire sont piégées à la surface de l'eau et meurent, faussant totalement les résultats. En suivant à partir de l'éclosion des oeufs, la survie des larves de *C. riparius*, Pascoe *et al.* (1989) observent une mortalité de l'ordre de 20% du premier stade larvaire dans leur témoin. L'EPA (1994b) et l'ASTM (1994b) évitent d'utiliser le premier stade larvaire de *C. tentans* et l'EPA (1994b) préconise l'utilisation du second stade larvaire pour réaliser des bioessais 10j sur sédiment et du troisième stade larvaire pour réaliser des bioessais 96h sur phase aqueuse. De plus, Naylor et Howcroft (1997) observent, sur un bioessai 10j dont la survie des témoins est égale à 100%, une faible différence de sensibilité à la dichloroaniline, entre le premier stade larvaire de *C. riparius* et le second, et recommandent d'utiliser des larves de 4j d'âge, plus faciles à manipuler. Ces résultats ne sont pas valables pour tous les toxiques et le premier stade larvaire de *C. riparius* est 127 fois plus sensible que le second à des expositions aiguës au cadmium (Williams *et al.*, 1986).

Le poids des *C. riparius* n'est pas significativement différent entre les deux séries de bioessai (Figure 28) : les organismes âgés de 2j au début de l'essai pèsent en moyenne 1,26 ( $\pm 0,24$ ) mg à la fin de l'essai alors que ceux âgés de 4j au début de l'essai pèsent en moyenne 1,30 ( $\pm 0,55$ ) mg à la fin de l'essai. La période critique des premiers jours étant passée, les organismes se développent tous normalement et bien qu'ayant deux jours d'écart, le poids n'est pas discriminant, au quatrième stade larvaire, entre les deux populations.

Les chironomes sont d'autant plus sensibles à la manipulation et aux contaminants qu'ils sont jeunes. Dans ces conditions, nous avons décidé d'utiliser dans les bioessais le second stade larvaire, qui est plus sensible que les stades ultérieurs (Krantzberg, 1989), et qui permet, sur un essai de 10j, d'exposer deux mues (Nebeker *et al.*, 1984b), afin d'optimiser la survie des organismes dans les témoins tout en conservant une sensibilité suffisante des organismes d'essais.

### 31.5.2 *Hyalella azteca*

Sur substrat témoin colonisé, la survie et la taille des hyalles ne sont pas significativement différentes en fin d'essais entre les populations initialement âgées de 2 à 9j et celles âgées de 7 à 14j (Figure 28). Et, les deux classes d'âge comparées ont une survie excellente. Cette absence de différence entre les survies d'amphipodes immatures d'âges variables a déjà été observée (Collyard *et al.*, 1994).

Les 80% de survie dans les témoins sont atteints pour les 8 bioessais réalisés avec des amphipodes âgés de 2-9j d'âge en début d'essai. De ce fait nous avons décidé d'exposer cette classe d'âge.

## 31.6 La qualité de l'eau surnageante dans les bioessais

Les réponses biologiques peuvent être influencées, non seulement par la présence de toxiques, mais aussi par des conditions défavorables en terme de qualité physico-chimique de l'eau surnageante (température, oxygène dissous, pH,...). De plus l'apport quotidien de nourriture peut entraîner d'éventuelles surcharges en substances azotées.

Nous désirons caractériser dans ce chapitre la plage des concentrations en composés azotés, ainsi que la plage de variation de différents paramètres physico-chimiques n'entraînant pas de modifications significatives des variables biologiques. Ceci afin d'être en mesure de proposer des critères d'acceptabilité des essais sur ces paramètres.

La variabilité de la qualité physico-chimique de l'eau surnageante, au cours d'un bioessai a été étudiée dans les sédiments témoins, dans les sédiments naturels non contaminés (PG et J) et dans les sédiments naturels contaminés (CR, SV, Q). Les charges contaminantes de ces différents sédiments naturels sont présentées dans le chapitre 4, §3.2 (Figure 52 et Figure 53). Nous avons travaillé avec un témoin conditionné, une eau de dureté 280 mgCaCO<sub>3</sub>/L et des organismes âgés au début de l'essai de 4j d'âge pour *C. riparius* et de 2 à 9j d'âge pour *H. azteca*. Dans les sédiments non contaminés (PG et J), les survies et croissances mesurées à la fin des bioessais sont toujours supérieures aux valeurs recommandées pour des témoins par les protocoles (Tableau 9).

La reproductibilité des conditions expérimentales d'un essai sur l'autre est étudiée dans une série de bioessais réalisés sur sédiment témoin conditionné.

Le Tableau 14 récapitule les tolérance et sensibilité relative connues des chironomes et des hyalles aux caractéristiques physico-chimiques de l'eau d'essai.

Tableau 14 : Tolérance et sensibilité relative des chironomes et des hyalelles aux caractéristiques physico-chimiques de l'eau en laboratoire.

	<i>Chironomus</i> spp.	Référence	<i>Hyaella</i> <i>azteca</i>	Référence
Température (°C)	0-33	(ASTM, 1995a)	0-33	(ASTM, 1995a)
Oxygène dissous (mg/L)	0,2-8,2	(Environment Canada, 1997a)	CL <sub>50</sub> -30j <0,3	(Nebeker <i>et al.</i> , 1992)
pH	5-9	(ASTM, 1995a)	6-8	(De March, 1981b)
Conductivité (µS/cm)	481-4136	(Environment Canada, 1997a)	NR	
Dureté (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	NR		NR	
Salinité (‰)	NR		≤15	(Environment Canada, 1997b)
Ammoniac (mg/L)	CL <sub>50</sub> -96h= 82-370	(Schubauer-Berigan <i>et al.</i> , 1995)	CL <sub>50</sub> -96h= 20-200	(Ankley <i>et al.</i> , 1996b)
Sulfures d'hydrogène (mg/L)	<0,3	(Environment Canada, 1997a)	NR	

NR : non renseigné.

Sur une série de bioessais avec *C. riparius* et *H. azteca*, réalisés en suivant le protocole général défini dans le chapitre 3, §1.1.3, les mesures physico-chimiques sont prises dans l'eau surnageante régulièrement. Les conditions de mesure, fréquence et nombre de réplicats étudié, sont précisées au cas par cas dans les paragraphes qui suivent. Les méthodes utilisées pour réaliser ces mesures physico-chimiques sont décrites dans l'annexe 4.

### 31.6.1 La qualité de l'eau dans les bioessais sur sédiment témoin

#### • Evolution de la qualité de l'eau dans un bioessai sur sédiment témoin

Il s'agit ici de décrire l'évolution des paramètres physico-chimiques, mesurés dans l'eau surnageante (température, pH, conductivité, oxygène dissous, ammoniac, nitrite), dans un bioessai sur sédiment témoin conditionné, en réalisant des mesures quotidiennes dans tous les réplicats (n=5). Dans ces bioessais, la survie et la croissance des deux organismes passent les seuils d'acceptabilité fixés (Tableau 9).

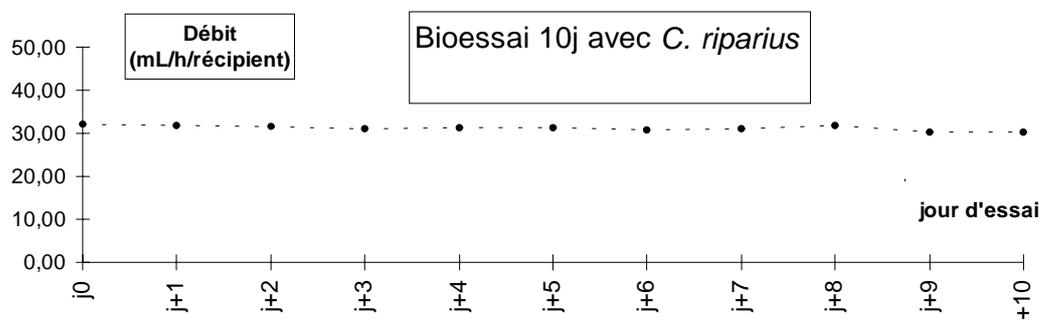


Figure 29 : Suivi du débit dans un bioessai *C. riparius* 10j. Valeur journalière correspondant à la moyenne de deux séries de mesures effectuée matin et soir sur 5 récipients d'essai au niveau de l'évacuation d'eau sur une période de 15 minutes.

Une première étape, avant d'étudier l'évolution des variables physico-chimiques, consiste à s'assurer que nous sommes capables de maîtriser le renouvellement de l'eau d'essai, tout au long du bioessai. Les paramètres physico-chimiques de l'eau surnageante dans les récipients d'essai peuvent être influencés par la qualité de l'eau apportée en continu et par le taux de renouvellement de cette eau. Les caractéristiques de l'eau des récipients sont d'autant plus proches de l'eau d'essai que le temps de séjour dans les récipients est court. Dans des conditions de fonctionnement standard (sans problèmes de pompe ou de colmatage de tuyaux), nous observons que notre système expérimental nous permet de maintenir un débit constant tout au long de l'essai (Figure 29) très proche de la valeur correspondant aux 4 renouvellements/jour préconisés par Ankley *et al.* (1993) (29 mL/h).

Avec un débit maîtrisé, la température, le pH, la conductivité et l'oxygène dissous, évoluent peu au long d'un bioessai (Tableau 15, CV compris entre 0,9 et 8,5%). Les concentrations en ammoniac et en nitrite sont comprises entre 0 et 0,2 mg N/L pour *C. riparius* et 0 et 0,4 mg N/L pour *H. azteca* (Figure 30).

Dans ces bioessais *C. riparius* et *H. azteca* nous sommes loin d'atteindre des valeurs néfastes pour la survie ou la croissance de *C. riparius* et *H. azteca* (Tableau 14).

Tableau 15 : Variations des paramètres d'essais au cours d'un bioessai *C. riparius* ou *H. azteca* dans le substrat témoin. *n* : nombre de réplicats par traitement.

variations durant les 10 ou 14j d'un essais	<i>Chironomus</i> (n=5)					<i>Hyaella</i> (n=5)				
	moyenne	ET	min	max	CV	moyenne	ET	min	max	CV
Température (°C)	21,7	0,8	19,5	22,2	3,7	22,2	0,2	21,5	22,7	0,9
pH	8,02	0,15	7,60	8,20	1,87	8,05	0,08	7,90	8,20	0,99
Conductivité (µS/cm)	800	22	764	852	3	803	28	772	866	3
Oxygène dissous (mg/L)	6,95	0,59	5,90	7,70	8,49	7,28	0,56	6,20	8,70	7,69
Ammoniac (mg N-NH <sub>4</sub> /L)	0,13	0,05	0,05	0,22	38,46	0,15	0,06	0,03	0,26	40,00
Nitrite (mg N-NO <sub>2</sub> /L)	0,09	0,07	0,00	0,27	77,78	0,19	0,14	0,00	0,44	73,68

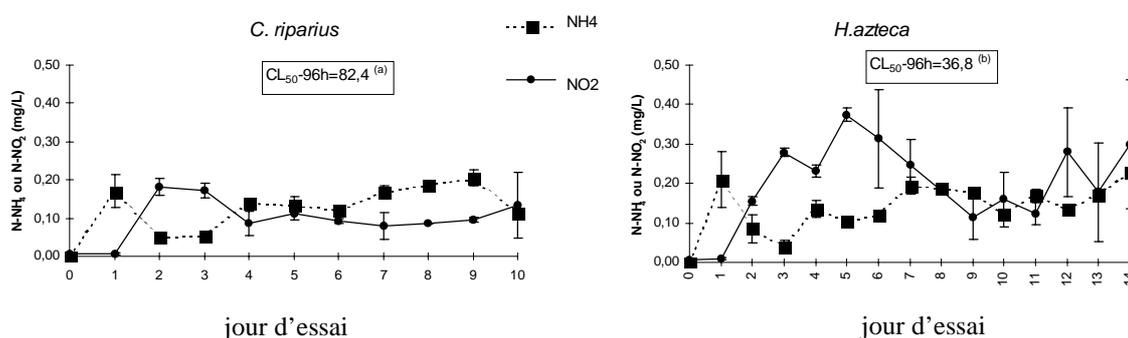


Figure 30 : Evolution des concentrations en ammoniac et en nitrite dans un bioessai *C. riparius* (10j) et *H. azteca* (14j) sur sédiment témoin. En encadré dans les graphiques les  $CL_{50-96h}$  de l'ammoniac exprimé en mg N-NH<sub>4</sub>/L à pH 8. <sup>(a)</sup> au laboratoire et <sup>(b)</sup> par Ankley *et al.* (1996b). Les intervalles de confiance sont calculés sur *n*=5 réplicats.

- **La reproductibilité des conditions d'essai**

Compte tenu du fait que les mesures physico-chimiques (température, pH, conductivité, oxygène dissous, ammoniac et nitrite) sont reproductibles d'un jour sur l'autre dans tous les réplicats, nous avons décidé, pour diminuer la lourdeur de l'expérimentation, de mesurer les variables physico-chimiques tous les jours, excepté les week-end, dans trois réplicats (différents d'un jour sur l'autre) par sédiment étudié (Tableau 16).

Pour caractériser le degré de maîtrise de nos conditions d'essai, nous comparons les valeurs moyennes des mesures physico-chimiques de l'eau surnageante recueillies dans une série de bioessais (N=11 pour *C. riparius* et N=4 pour *H. azteca*) réalisés sur sédiment témoin conditionné.

Tableau 16 : Variations des paramètres physico-chimiques de l'eau surnageante dans une série de bioessais, tous réalisés dans les mêmes conditions, avec *C. riparius* ou *H. azteca*. N : nombre de bioessais réalisés.

variation d'un essais à l'autre	<i>Chironomus</i> (N=11)			<i>Hyaella</i> (N=4)		
	moyenne	ET	CV	moyenne	ET	CV
Température (°C)	19,5	0,9	4,6	21,2	0,7	3,3
pH	8,20	0,10	1,22	8,01	0,09	1,10
Conductivité (µS/cm)	716	29	4	557	236	42
Oxygène dissous (mg/L)	7,76	0,71	9,15	6,70	1,23	18,41
Ammoniac (mg N-NH <sub>4</sub> /L)	0,16	0,05	31,25	0,32	0,41	128,53
Nitrite (mg N-NO <sub>2</sub> /L)	0,13	0,03	23,08	0,14	0,11	81,87

Dans tous les bioessais pris en compte dans cette étude, la survie et la croissance des deux organismes passent les critères d'acceptabilité (Tableau 9).

En comparant les valeurs moyennes obtenus dans plusieurs bioessais consécutifs réalisés sur sédiment témoin conditionné, nous constatons que les conditions d'essais sont reproductibles (Tableau 16). Les concentrations en sels ammoniacaux et en nitrites sont les paramètres les plus variables, autant dans un essai (Tableau 15) qu'entre différents essais (Tableau 16) : les CV allant de 23 à 128%. Ces variations de concentration portent sur des concentrations faibles ce qui limite le risque toxique associé.

- **La plage sans effet biologique dans les sédiments témoins**

Le Tableau 17 ci-dessous résume l'information concernant les valeurs maximales et minimales qu'ont pu atteindre les variables physico-chimiques suivies dans nos bioessais sur sédiment témoin conditionné avec une précision de la durée pour les valeurs les plus néfastes. Ceci nous permet de cerner des concentrations et des temps d'exposition maximum sans effet néfaste pour les organismes dans nos conditions d'essai.

Tableau 17 : Valeurs physico-chimiques minimales et maximales mesurées sur une série de bioessais (N) dans l'eau surnageante des sédiments témoins conditionnés.

Paramètre	<i>C. riparius</i> (N=11)			<i>H. azteca</i> (N=4)		
	Minimum	Maximum	Durée (j) <sup>(a)</sup>	Minimum	Maximum	Durée (j) <sup>(a)</sup>
Température (°C)	19	22,3	NR	18,8	22,7	NR
pH	7,4	8,5	NR	7,4	8,4	NR
Conductivité (µS/cm)	611	903	NR	682	866	NR
Oxygène dissous (mg/L)	4,8	8,7	1	6,0	8,7	1
Ammoniac (mg N-NH <sub>4</sub> /L)	0,00	1,87	3	0,00	1,09	2
Nitrite (mg N-NO <sub>2</sub> /L)	0,00	1,07	2	0,00	0,66	1

NR : non référencé.

<sup>(a)</sup> Durée donnée pour la valeur la plus néfaste : valeur minimale pour l'oxygène dissous et valeur maximale pour l'ammoniac et les nitres.

### 31.6.2 La qualité de l'eau dans les bioessais sur sédiments naturels

Notre mode opératoire nous permet de maintenir des conditions acceptables dans l'eau surnageante des témoins (paramètre physico-chimiques non néfastes à la survie et à la croissance des organismes). En est-il de même pour un sédiment naturel, quelle que soit sa composition (notamment en terme de charge organique...)? En effet, des teneurs défavorables en oxygène dissous ou en ammoniac dans l'eau surnageante peuvent être des facteurs de confusion dans l'interprétation de résultats, si l'on désire relier une réponse biologique à la présence de contaminants.

Nous travaillons sur deux sédiments non contaminés (PG et J) et trois sédiments contaminés (CR, SV et Q) dont les teneurs en matières organiques encadrent les gammes observées sur l'ensemble des sédiments étudiés dans cette thèse. Travailler sur une large gamme de teneurs en matière organique nous permet d'étudier une gamme potentielle d'effets étendue en terme de demande en oxygène, de relargage en nitrite, et en ammoniac. Les sédiments étudiés ont des COT allant de 15 à 75 mg/g (J : 15, CR : 20-30, PG : 20-35, SV : 30, Q : 75 mg/g) et des concentrations en ammoniac allant de 4 à 20 mg NH<sub>4</sub>/L (J : 4,1, PG : 5-6, SV : 12, CR : 11-20, Q : 18 mg NH<sub>4</sub>/L).

La fréquence des mesures physico-chimiques est fixée en fonction de la lourdeur de l'expérimentation : quand peu de bioessais sont réalisés simultanément les paramètres sont mesurés tous les jours dans les cinq réplicats, et, quand plusieurs sédiments sont étudiés simultanément, les paramètres sont pris tous les jours excepté les week-end, dans trois réplicats (différents d'un jour sur l'autre) par sédiment étudié.

Tableau 18 : Caractéristiques générales de l'eau surnageante dans les bioessais *C. riparius* et *H. azteca* sur des sédiments non contaminés (PG et J). N : nombre de bioessais réalisés.

Moyenne (ET)	Chironomus		Hyalella	
	PG (N=7)	J (N=1)	PG (N=6)	J (N=1)
Température (°C)	21,5 (± 1)	20,9	21,3 (± 0,6)	21,6
pH	8,00 (± 0,11)	8,27	8,00 (± 0,11)	8,29
Conductivité (µS/cm)	667 (± 148)	739	705 (± 33)	708
Oxygène dissous (mg/L)	7,0 (± 1,0)	7,5	7,2 (± 0,8)	7,6
Ammoniac (mg N-NH <sub>4</sub> /L)	0,19 (± 0,18)	0,68	0,12 (± 0,11)	0,53
Nitrite (mg N-NO <sub>2</sub> /L)	0,05 (± 0,02)	0,15	0,08 (± 0,05)	0,16

Tableau 19 : Caractéristiques générales de l'eau surnageante dans les bioessais *C. riparius* et *H. azteca* sur des sédiments contaminés (CR, SV, Q). N : nombre de bioessais réalisés.

Moyenne (ET)	Chironomus			Hyalella		
	CR (N=4)	SV (N=2)	Q (N=1)	CR (N=4)	SV (N=2)	Q (N=1)
Température (°C)	20,9 (± 1,3)	21,2 (± 2,9)	21,4	21,4 (± 1,1)	21,8 (± 2,0)	21,6
pH	8,0 (± 0,1)	8,1 (± 0,2)	7,5	8,0 (± 0,2)	7,9 (± 0,3)	7,6
Conductivité (µS/cm)	760 (± 40)	835 (± 80)	405	730 (± 45)	830 (± 95)	415
Oxygène dissous (mg/L)	6,1(± 0,1)	6,0 (± 0,3)	6,4	6,9 (± 0,6)	6,0 (± 1,9)	7,0
Ammoniac (mg N-NH <sub>4</sub> /L)	1,10(± 1,10)	0,20	1,75	0,70 (± 0,80)	0,20	0,50
Nitrite (mg N-NO <sub>2</sub> /L)	0,70(± 0,70)	0,20	0,11	0,60 (± 0,70)	0,20	0,30

Sur l'ensemble des sédiments étudiés (PG, J, CR, SV et Q), en comparant les résultats obtenus sur plusieurs bioessais, nous constatons que les mesures physico-chimiques obtenues sont proches de celles obtenues sur témoins conditionnés (Tableau 18 et Tableau 19).

Les paramètres de l'eau surnageante les plus affectés par les sédiments sont la teneur en oxygène et en ammoniac. Mais les valeurs maximales et minimales de ces paramètres sont comprises dans la fourchette de tolérance des organismes définie dans le Tableau 14. A elles seules, elles ne pourraient pas expliquer les effets observés sur la survie ou la croissance des organismes (par comparaison avec les données du Tableau 14).

Il n'y a pas d'évolution brusque d'un jour sur l'autre de la concentration en oxygène dissous (données non montrées). Selon que la consommation d'oxygène par le sédiment est supérieure à la concentration apportée par le renouvellement d'eau ou que le sédiment produise de l'oxygène (présence d'algues à la surface du sédiment), la teneur en oxygène va diminuer ou monter graduellement de 2 à 3 mg/L entre le début et la fin du bioessai.

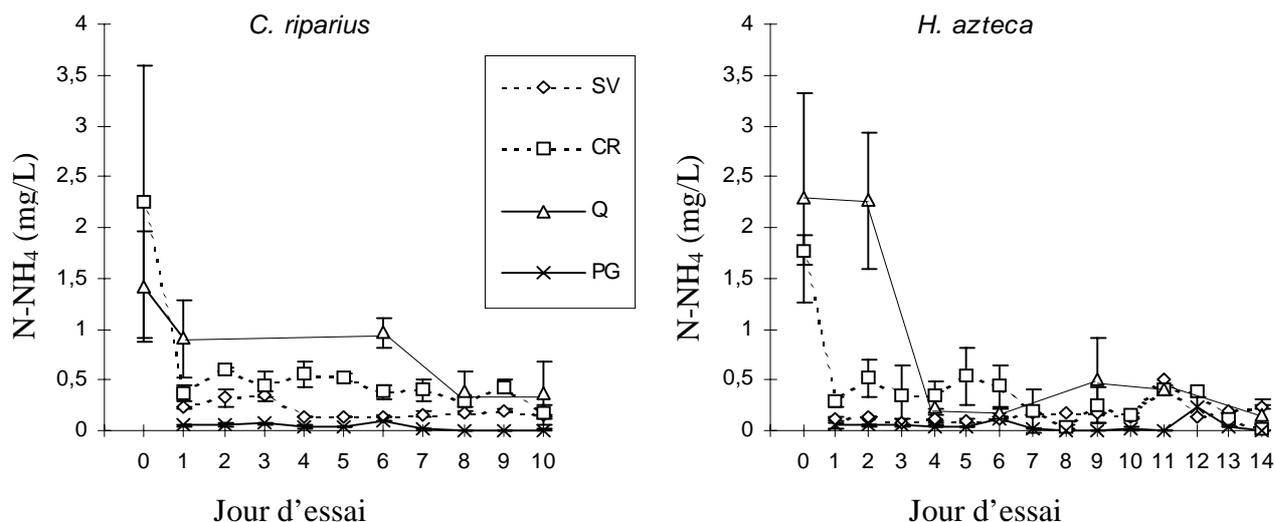


Figure 31 : Evolution des concentrations en ammoniac et en nitrite dans les bioessais *C. riparius* et *H. azteca* pour quelques sédiments naturels contaminés (SV, CR, Q,) ou non contaminé (PG). Pour le sédiment Q certaines mesures n'ont pu être prises aux jours prévus (sur les 10j d'essai avec *C. riparius*, les paramètres ont pu être pris 5 fois et sur les 14j d'essai avec *H. azteca* les paramètres ont pu être pris 8 fois).

En observant plus précisément l'évolution des concentrations en ammoniac dans des bioessais avec *C. riparius* et *H. azteca*, sur des sédiments non contaminés (PG) ou contaminés (CR, SV, Q) nous constatons que, même si la teneur en ammoniac peut être supérieure au mg/L au début du bioessai, elle tombe en quelques jours à des concentrations inférieures à 0,5 mg/L et reste relativement stable jusqu'à la fin du bioessai (Figure 31). Cette teneur initiale en ammoniac est sans doute imputable à un relargage de composés azotés à partir du sédiment et de l'eau interstitielle, puis un équilibre entre azote ammoniacal du sédiment et de l'eau surnageante se crée en quelques jours, sous l'effet du renouvellement continu d'eau.

### • Conclusion

Bien que plus lourd à mettre en place qu'un simple système d'aération, le renouvellement de 4 volumes d'eau/jour, nous permet de maintenir une qualité physico-chimique de l'eau surnageante acceptable au cours du bioessai dans les témoins et dans les sédiments naturels non contaminés (PG, J) et contaminés (CR, SV, Q), sans avoir à aérer (les valeurs les plus basses mesurées en oxygène dissous dans nos bioessais sont supérieures aux 40% de saturation qui nécessiteraient l'installation d'une aération). En travaillant en condition statique, les teneurs en ammoniac et en oxygène dans l'eau surnageante pourraient être sans doute moins favorables aux organismes. Par exemple, en statique, dans les sédiments qui relarguent de l'ammoniac dans l'eau surnageante, la concentration relarguée pourrait rester constante tout au long du bioessai et représenter un danger pour les organismes (EPA, 1994b). Nous avons constaté dans nos bioessais que le flux d'eau permettait en deux à trois jours d'atteindre une concentration en ammoniac stable et inférieure à 0,5 mg/L (Figure 31). De plus, en travaillant en statique, l'aération devient obligatoire (ce qui peut

représenter des inconvénients en terme de stress pour les organismes et de fluctuation du pH).

En n'observant pas tous les jours, tous les réplicats, il peut exister un risque de manquer l'observation d'une concentration néfaste en oxygène ou en ammoniac. D'après les observations quotidiennes que nous avons réalisées dans les premiers bioessais sur sédiments témoins et naturels, nous pensons que ce risque est minime. En effet, si évolution des paramètres il y a, nous avons observé qu'elle était graduelle et étalée sur plusieurs jours, excepté pour certains sédiments qui relarguent de l'ammoniac dans les premiers jours avant de voir la concentration redescendre en dessous du mg/L, ou en présence de problèmes techniques (tuyaux usés qui ne permettent pas d'atteindre le débit de 29 mL/h).

Dans les sédiments témoins et dans les sédiments naturels non contaminés, quelle que soit la concentration en ammoniac, les survies moyennes de *C. riparius* et *H. azteca* et le poids de *C. riparius* sont toujours supérieurs aux valeurs recommandées (Tableau 9), la taille moyenne des hyalles, âgées de 16 à 23j en fin d'essai, est toujours supérieure à 1,95 mm et équivalente à celle donnée dans la bibliographie pour des organismes de cet âge : 2,04 mm en moyenne pour des organismes âgés de 20j (De March, 1981a).

### 31.7 Le schéma expérimental et la sensibilité des bioessais

L'objectif d'un bioessai est de déterminer si la réponse biologique d'un échantillon de sédiment diffère de celle du contrôle. A cette fin, des hypothèses sont émises et testées statistiquement avec le risque de commettre des erreurs (Tableau 20). Les composants critiques du schéma expérimental, associés au test d'hypothèse présenté dans le Tableau 20, qui peuvent influencer notre capacité à discriminer deux échantillons, sont : le nombre de réplicats (n) et le nombre d'organismes exposés par réplicat, les risques de première et deuxième espèces ( $\alpha$  et  $\beta$ ), et la variance ( $\sigma^2$ ) entre les différents réplicats (EPA, 1994b).

Tableau 20 : Les risques de première et deuxième espèces d'un test statistique dans le cadre d'une étude de la qualité des sédiments, d'après l'EPA (1994b). Les deux hypothèses de départ sont :  $H_0$  : les deux échantillons sont identiques,  $H_1$  : les deux échantillons sont différents.

	$H_0$ est vraie	$H_1$ est vraie
<b><math>H_0</math> acceptée</b>	Bonne décision (Probabilité=1- $\alpha$ ) : considérer un site propre à raison	<b>Erreur de seconde espèce <math>\beta</math></b> : risque pour l'environnement : considérer un site propre alors qu'il est pollué FAUX NEGATIF
<b><math>H_0</math> rejetée</b>	<b>Erreur de première espèce <math>\alpha</math></b> : risque pollueur (nettoyer un site à tort) : considérer un site pollué alors qu'il est propre FAUX POSITIF	Bonne décision (Probabilité=1- $\beta$ ; puissance du test) : considérer un site pollué à raison

Il s'agit ici de déterminer quelle est la différence minimale (MDD) que les bioessais *C. riparius* et *H. azteca* sont statistiquement capables de détecter (test paramétrique *t*), dans nos essais, entre deux réponses biologiques moyennes (celle du témoin et celle de l'échantillon testé). La MDD est exprimée par le pourcentage d'écart par rapport à la

réponse moyenne du témoin. Elle est définie par la formule :  $MDD = (2\sigma^2/n)^{1/2} * (t_{\alpha,v} + t_{\beta,v})$ , avec  $\sigma^2$  = variance de la population,  $n$  = nombre de réplicats,  $v$  = degré de liberté et  $t$  = valeur critique (Becker *et al.*, 1995), et est fonction des valeurs de  $n$ ,  $\sigma^2$ ,  $\alpha$  et  $\beta$ .

Dans ce chapitre, les bioessais ont été réalisés dans le cadre de plusieurs études de sédiments naturels (chapitre 4), en suivant le protocole défini dans le chapitre 3, §1.1.3.

### 31.7.1 Choix des risques $\alpha$ et $\beta$ et puissance du test

Le risque de première espèce  $\alpha$ , représente le risque que l'on prend de déclarer un sédiment contaminé alors qu'il ne l'est pas, le risque de deuxième espèce  $\beta$  représente le risque que l'on prend à déclarer un site non pollué alors qu'il l'est (Tableau 20). Pour un risque  $\alpha$  donné, l'augmentation de la puissance du test ( $1-\beta$ ) permet de minimiser les cas où un site, dont la qualité est dégradée, est déclaré " propre ". La valeur la plus communément utilisée est de 0,05 pour  $\alpha$  (EPA, 1994b) et certains auteurs considèrent qu'une puissance convenable est obtenue dès que  $1-\beta > 0,8$  (Buhl-Mortensen, 1996).

Nous avons donc décidé de fixer  $\alpha$  et  $\beta$ , respectivement, à 0,05 et 0,2 pour notre étude.

### 31.7.2 Choix du nombre de réplicats et du nombre d'organismes exposé par réplicat

Dans son protocole, l'EPA (1994b) propose d'utiliser 10 organismes par réplicat et recommande d'effectuer entre 4 et 8 réplicats par sédiment étudié.

En ce qui concerne le nombre d'organismes, nous nous sommes alignés sur ces recommandations<sup>1</sup>.

Le choix du nombre de réplicats a, quant à lui, été conditionné par la faisabilité (logistique et économique) du bioessai. De manière générale nous avons réalisé 5 réplicats par sédiment.

### 31.7.3 Estimation de la différence minimale détectable dans les témoins (MDD)

Les bioessais ont été réalisés suivant le protocole défini au chapitre 3, §1.1.3, avec 10 organismes/réplicat et 5 réplicats par bioessai. Le Tableau 21 résume, pour *C. riparius* et *H. azteca*, les coefficients de variation ( $CV = 100\% * (\text{écart type} / \text{moyenne})$ ) sur les différentes variables biologiques mesurées, calculés à partir d'une série de bioessais réalisés sur substrat témoin artificiel colonisé.

---

<sup>1</sup> Le nombre d'organismes ne pouvant être augmenté que si la preuve est fournie que l'accroissement de charge dans un réplicat n'induit pas une modification de la biodisponibilité des contaminants et que les critères d'acceptabilité du test sont respectés.

Tableau 21 : CV calculés sur l'ensemble des bioessais témoins *C. riparius* 10j (âge des organismes en début d'essais : 4j) et *H. azteca* 14j (âge des organismes en début d'essais : 2 à 9j).

	<i>C. riparius</i> survie	<i>C. riparius</i> poids	<i>H. azteca</i> survie	<i>H. azteca</i> taille
Nombre d'essai	14	14	6	6
CV moyen% (ET)	11,7 (5,7)	24,9 (12,9)	8,6 (3,1)	10,80 (6,9)
CV <sub>median</sub> (percentile 50)%	11,4	20,7	9,3	9,0
CV <sub>75</sub> (percentile 75)%	13,8	31,4	9,5	15,9
CV <sub>90</sub> (percentile 90)%	18,3	38,6	11,4	18,9
CV <sub>min</sub> %	4,6	12,0	5,7	3,1
CV <sub>max</sub> %	24,6	57,1	13,3	20,4

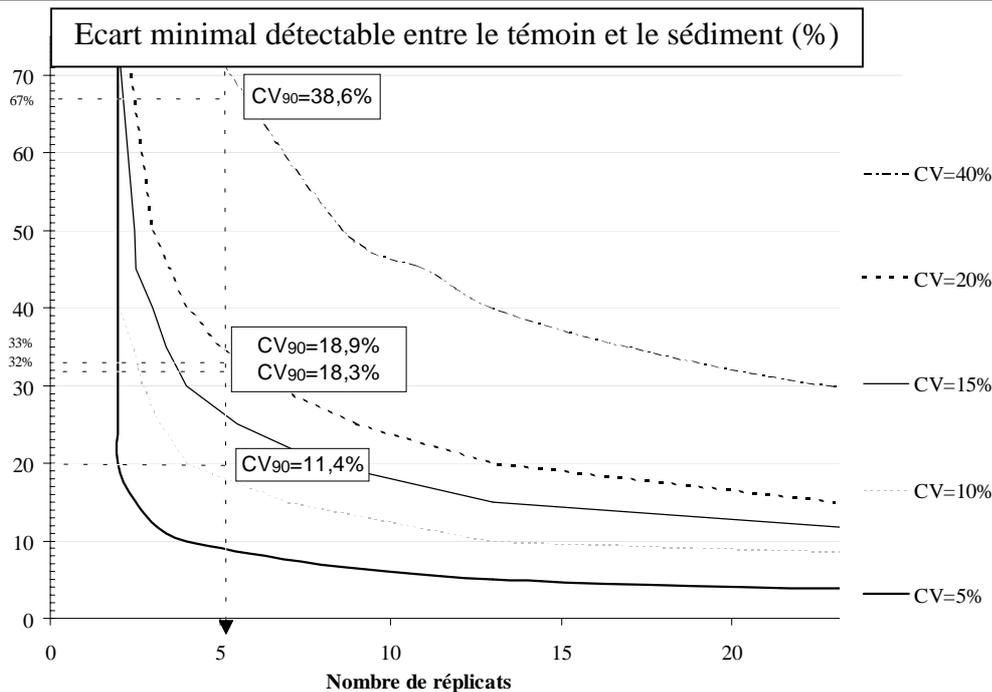


Figure 32 : Ecart minimal de survie ou de croissance détecté dans la réponse du sédiment par rapport à la moyenne du témoin en fonction du nombre de réplicats et du coefficient de variation pour  $(\alpha ; \beta) = (0,05 ; 0,2)$ . Application aux données de cette thèse du document EPA (1994b), calculs d'après Tomassone et al. (1993).

Pour des risques  $\alpha$  et  $\beta$  donnés (0,05 ; 0,2), nous pouvons proposer une représentation graphique (Figure 32), de la distribution des CVs, en fonction du nombre de réplicats et de la diminution minimale de survie ou de croissance que nous désirons détecter par rapport au témoin. Cette représentation graphique nous permet, pour une variable biologique donnée, de déterminer la différence minimale significative que nous sommes capables de détecter entre le témoin et le sédiment. La MDD est d'autant plus faible que le CV est petit et que le nombre de réplicats est grand (Figure 32).

Nous pouvons estimer la diminution minimale de croissance ou de survie que nous sommes capables de détecter dans 9 cas sur 10 entre le sédiment et le témoin pour *C. riparius* et *H. azteca*, en utilisant les CV<sub>90</sub> des différentes variables biologiques (Tableau 21). Dans ces conditions la MDD est respectivement de 32% et 20% pour la survie de

*C. riparius* et *H. azteca* et de 67% et 33% pour le poids des chironomes et la taille des hyalelles (Figure 32).

D'autres auteurs ont proposé des MDD pour ces mêmes organismes sans préciser pour leurs calculs la valeur de percentile du CV (Tableau 22). Par défaut nous comparons leurs valeurs de MDD aux valeurs de MDD obtenues avec le CV<sub>90</sub> dans notre étude, en considérant que la valeur de MDD calculée à partir du CV<sub>90</sub> permet de discriminer suffisamment d'échantillons différents du témoin (90%).

Tableau 22 : Valeurs de la différence minimale détectable, MDD, (%) obtenue dans notre étude et par différents auteurs.

<i>Chironomus sp.</i>		<i>H. azteca</i>		n ; $\alpha$ ; $\beta$	Références
survie	poids	survie	taille		
32	67	20	33	5 ; 0,05 ; 0,2	<i>Cemagref</i> <sup>(a)</sup>
42	27	20	NC	5 ; 0,05 ; 0,2	(Becker <i>et al.</i> , 1995) <sup>(b)</sup>
38	46	30	10	5 ; 0,05 ; 0,1	(Fuchsman <i>et al.</i> , 1998) <sup>(b)</sup>

NC : non calculé.

<sup>(a)</sup> Calculs réalisés à partir du CV<sub>90</sub> (Tableau 21, Figure 32) pour *C. riparius*.

<sup>(b)</sup> Bioessais réalisés avec *C. tentans*.

Par rapport aux résultats de Becker *et al.* (1995) et Fuchsman *et al.* (1998), nos bioessais sont aussi sensibles, en terme de survie. Mais, en terme d'effet subléta, l'écart nécessaire à la détection d'un effet est plus important dans notre étude. Et si, 5 réplicats nous suffisent pour détecter, 9 fois sur 10, un écart de 20% entre la survie de *H. azteca* dans le témoin et dans le sédiment, il en faudrait respectivement 11, 12 et 46 selon qu'il s'agisse de détecter le même écart (20%) pour la survie des chironomes, la taille des hyalelles ou le poids des chironomes. La réalisation de 8 réplicats, quand cela est possible permettrait d'améliorer la sensibilité statistique de l'essai. Dans ce cas, une différence de 24% et 50% entre le témoin et l'échantillon, serait significative, respectivement, pour la survie et le poids des chironomes, et de 15% et 25% entre le témoin et l'échantillon, respectivement, pour la survie et la taille des hyalelles.

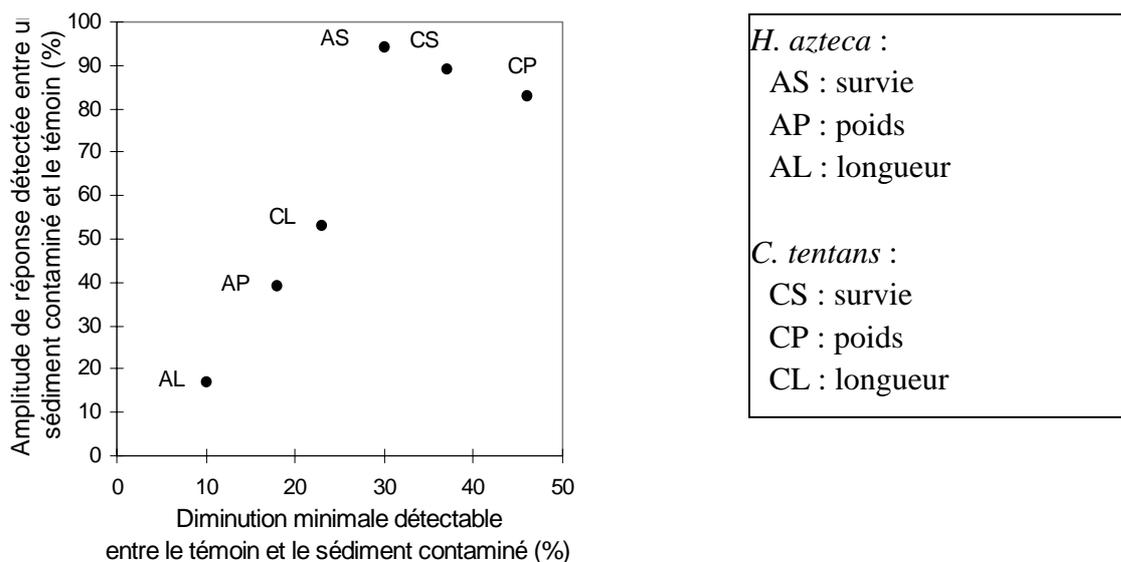


Figure 33 : Comparaison de la différence minimale détectable et des gammes d'effets toxiques pour quelques variables biologiques d'après les résultats de Becker et al. (1995). Est-il vraiment nécessaire de chercher à réduire les valeurs de MDD obtenues dans notre étude en augmentant, par exemple, le nombre de réplicats ?

Les variables biologiques possédant des valeurs de MDD différentes devraient avoir une capacité discriminante différente. Dans notre étude par exemple, la survie des amphipodes dont la MDD est de 20% devrait permettre de détecter un effet toxique statistiquement significatif plus souvent que le poids des chironomes dont la MDD est de 67%. Nous constatons pourtant que ces deux réponses sont aussi discriminantes dans notre étude (chapitre 4). Dans 40% des sédiments étudiés, le poids des *C. riparius* est significativement différent de celui des témoins, et dans 44% des sédiments étudiés la survie des *H. azteca* est significativement différente de celle des témoins. Becker *et al.* (1995) expliquent la similitude des capacités discriminantes des différentes variables biologiques (survie, poids et longueur pour *C. tentans* et *H. azteca*) par l'existence d'une corrélation positive significative entre la MDD et l'amplitude des réponses des différentes variables biologiques (

Figure 33). Une variable avec une faible MDD a un degré de précision important, mais une amplitude de réponse réduite limite sa capacité discriminante. Une variable ayant une forte MDD et donc un niveau de précision moindre, grâce à une amplitude de réponse plus large peut avoir une capacité discriminante importante. Il en résulte une capacité discriminante équivalente pour toutes les mesures biologiques étudiées (

Figure 33).

### 31.8 Synthèse sur les bioessais chironome et hyalelle

L'application de protocoles normalisés, nous amène souvent à considérer que les résultats obtenus sont fiables. Cependant, le protocole appliqué dans un laboratoire comporte toujours des différences avec celui appliqué dans un autre. Cela est principalement imputable à certains choix méthodologiques, qui sont laissés à la discrétion de

l'expérimentateur, ou à des modifications apportées par rapport aux conditions préconisées, en raisons de contraintes liées au laboratoire par exemple.

Avant de réaliser un bioessai sur sédiment contaminé et d'en exploiter les résultats pour caractériser la qualité biologique du sédiment étudié, tout expérimentateur, même s'il réalise un bioessai sur la base d'un protocole normalisé, doit s'assurer :

- que ses conditions d'élevage sont fiables et qu'elles permettent d'obtenir des organismes sensibles tout au long de l'année. L'originalité de nos élevages de *C. riparius* et *H. azteca* est principalement liée à une maintenance en continu, sur plusieurs mois, d'aquariums dans lesquels la qualité physico-chimique de l'eau d'élevage reste stable, grâce à un renouvellement continu de l'eau, et où le turn-over des organismes permet d'avoir d'une semaine sur l'autre des organismes prêts pour la réalisation de bioessais sur sédiments. Des cartes de contrôle représentant la sensibilité de *C. riparius* et *H. azteca* exposés à du cuivre, réalisées au laboratoire nous permettent de confirmer la maîtrise de nos conditions d'élevages.

- qu'il est en possession d'un sédiment témoin dans lequel la survie et la croissance des organismes sont supérieures aux critères d'acceptabilité existants (Environment Canada, 1997a; Environment Canada, 1997b). Dans notre cas l'utilisation d'un substrat siliceux (sable de Fontainebleau, Ø 150 à 210 µm) nous amène à conditionner le sédiment avant son utilisation (incubation en présence d'eau naturelle d'élevage, 15j avec un apport de matière organique de type TetraMin®).

- que les conditions d'essais permettent de maintenir une qualité de l'eau surnageante qui n'affecte ni la survie, ni la croissance de *C. riparius* et *H. azteca*. En suivant notre protocole d'essai, que ce soit en présence de sédiment naturel contaminé (Tableau 23) ou avec le sédiment témoin (Tableau 17), la qualité de l'eau surnageante n'a pas atteint de valeurs néfastes pour les organismes pour les principaux paramètres affectant directement (oxygène, ammoniac) ou indirectement (pH) la santé des organismes.

Tableau 23 : Valeurs physico-chimiques et biologiques minimales et maximales mesurées sur une série de bioessais (N) dans l'eau surnageante de sédiments naturels.

Paramètre	<i>C. riparius</i> (N=15)			<i>H. azteca</i> (N=8)		
	Minimum	Maximum	Durée (j) <sup>(a)</sup>	Minimum	Maximum	Durée (j) <sup>(a)</sup>
Survie (%)	74	98	NR	86	100	NR
Croissance (mg ou mm / organisme)	0,82	2,51	NR	1,95	3,03	NR
Température (°C)	18,8	23,2	NR	18	23,4	NR
pH	7,20	8,5	NR	7,5	8,41	NR
Conductivité (µS/cm)	583	841	NR	599	854	NR
Oxygène dissous (mg/L)	3,5	9,9	3,0	3,8	10,7	1,0
Ammoniac (mg N-NH <sub>4</sub> /L)	0,00	7,53	1,00	0,00	2,01	2,00
Nitrite (mg N-NO <sub>2</sub> /L)	0,02	1,35	1,00	0,00	0,90	1,00

NR : non référencé.

<sup>(a)</sup> Durée donnée pour la valeur la plus néfaste : valeur minimale pour l'oxygène dissous et valeur maximale pour l'ammoniac et les nitrites.

- que la réponse des organismes exposés au sédiment n'est influencée que par la présence de contaminants et que d'autres facteurs de stress n'interviennent pas. Parmi les facteurs de stress, nous avons étudié l'effet de la texture du sédiment témoin et celui de la manipulation des organismes en fonction de leur âge. Nous nous sommes assurés que la texture du sédiment témoin ne perturbe ni la croissance ni la survie des chironomes et des amphipodes. Nous avons vérifié que les réponses des bioessais *H. azteca* passent les critères d'acceptabilité lorsque les amphipodes sont âgés de 2 à 9 jours en début d'essai (Environment Canada, 1997b). Nous avons décidé d'exposer des chironomes du deuxième stade larvaire (4j d'âge) en début d'essai car ceux du premier stade semblaient sensibles à la manipulation et leur survie dans les témoins pouvait être inférieure au critère d'acceptabilité (70%) fixé dans les protocoles existants (EPA, 1994b; Environment Canada, 1997a).

- que la différence minimale détectable (MDD) puisse permettre de discriminer des sédiments toxiques. Dans nos conditions d'essais (n=5 réplicats,  $\alpha=0,05$  et  $\beta=0,8$ ), nous sommes capables de détecter 9 fois sur 10 un écart entre le témoin et le sédiment étudié de 20% pour la survie de *H. azteca*, de 32% pour la survie de *C. riparius*, de 33% pour la taille de *H. azteca* et de 67% pour le poids de *C. riparius*. Le poids des chironomes est la mesure biologique pour laquelle la différence la plus importante est nécessaire à la détection d'un effet.

Les connaissances acquises dans ce paragraphe nous permettent de proposer des protocoles d'essai chronique *C. riparius* 10j et *H. azteca* 14j aptes à évaluer la qualité biologique des sédiments (Figure 34). Ces protocoles sont ceux qui sont appliqués tout au long de ce travail (par la suite, seules les exceptions sont signalées).

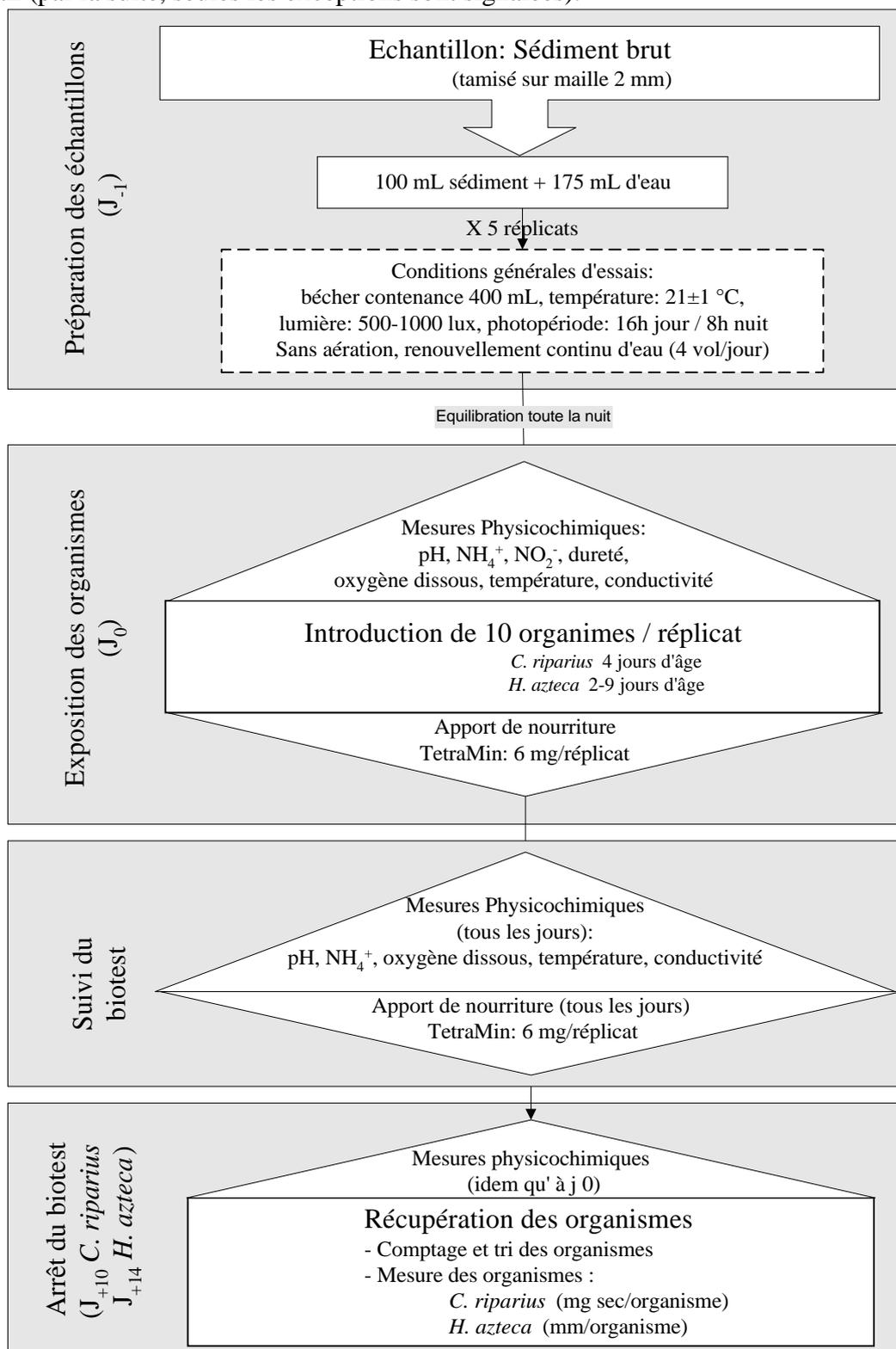


Figure 34 : Protocole des bioessais *C. riparius* ou *H. azteca* en condition de renouvellement d'eau continu.

## 32 Le bioessai *H. attenuata*

### 32.1 Les protocoles d'élevage et d'essai

#### 32.1.1 Les conditions d'élevage

L'élevage de *H. attenuata* est maintenu au laboratoire dans des cristallisoirs en Pyrex® de 2 L, à 20°C, avec une photopériode de 16h de jour et 8h de nuit. L'eau d'élevage est la même que celle utilisée pour les élevages de chironomes et d'amphipodes (chapitre 3, §1.1.1 ; pH=6,5-7 ; conductivité=300-320 µS/cm ; dureté=120-170 mg CaCO<sub>3</sub>/L). Elle est totalement renouvelée tous les jours. Les hydres étant carnivores, elles sont alimentées tous les jours en *Artemia salina* vivantes. L'entretien des élevages est relativement simple, mais un soin particulier doit y être apporté car la croissance des hydres peut être perturbée par les développements bactériens (Lenhoff et Brown, 1970; Lesh-Laurie, 1982). Aucun support particulier n'est nécessaire aux hydres, elles se fixent par leur sole pédieuse sur le fond du récipient. L'annexe 3 expose l'ensemble des matériaux et conditions d'élevage concernant *H. attenuata* ainsi que le mode d'obtention et de préparation des organismes pour les bioessais.

#### 32.1.2 Les bioessais 96h

Tableau 24 : Protocoles des bioessais *H. attenuata* développés au Cemagref, d'après Trottier et al. (1997b).

Paramètre	Conditions
Type d'essai	eau seule, 96 h, statique
Solutions d'essai	1 solution témoin et 7 concentrations d'essai
Température	20 (±1) °C
Eclairage	obscurité
Récipient d'essai	microplaques 12 puits (Falcon® n°3043)
Volume essai	4 mL
Substrat	aucun
Nombre d'organismes / réplicat	3
Nombre de réplicats	3
Alimentation	aucune
Aération	aucune
Eau d'essai	eau naturelle d'élevage
Observations	à 24, 48, 72 et 96 h au microscope (grossissements 6x*10x)
Mesures qualité de l'eau	début et fin d'essai : température, dureté, pH, conductivité
Paramètres de mesure	CSE, CL <sub>10</sub> et CL <sub>50</sub> après 96 h
Validité de l'essai	> 90% survie

Le protocole du bioessai *H. attenuata* 96h décrit ci-dessus (Tableau 24) est celui qui a été appliqué tout au long de ce travail. Il s'agit du protocole proposé par Trottier et al. (1997b).

Les paramètres de mesure observés dans le bioessai hydre, la concentration seuil d'effet (CSE) qui intègre l'apparition d'effet subléta et les concentrations létales ( $CL_{10}$  et  $CL_{50}$ ), sont présentés dans le chapitre 2, §2.2.4. La gamme de dilution testée des eaux interstitielles est arithmétique dans les fortes dilutions et logarithmique dans les dilutions plus faibles : 100 ; 75 ; 50 ; 25 ; 10 ; 1 ; 0,1%.

### 32.1.3 Le traitement statistique des résultats

Les concentrations seuil d'effet indiquent l'apparition d'un effet subléta et sont calculées en appliquant la formule  $CSE=(CMEO \cdot CSEO)^{1/2}$ .

Le modèle log logistique a été utilisé pour traiter les résultats (macro élaborée sous Excel 5, Microsoft®, (Vindimian *et al.*, 1999)).

Cependant, dans les bioessais où aucune mortalité partielle n'est observée (Figure 39), nous calculons les  $CL_{10}$  et  $CL_{50}$  par interpolation linéaire entre la concentration où la survie est totale et la concentration où la survie est nulle (EPA, 1994b), en appliquant les formules  $CL_{10}=x_1+(x_2-x_1)/10$  et  $CL_{50}=x_1+(x_2-x_1)/2=(x_1+x_2)/2$ , avec  $x_1$  la dilution où la survie est totale et  $x_2$  et la dilution où la survie est nulle. Dans ces cas, l'utilisation des termes  $CL_{10}$  et  $CL_{50}$  peut être considérée comme un abus de langage. Mais, pour éviter les confusions possibles lors de l'utilisation de deux termes différents pour représenter le même effet selon que le mode de calcul soit différent, nous avons décidé de n'utiliser qu'un seul et même terme pour représenter la valeur entraînant 10 et 50% de mortalité dans la population d'hydres exposées, qu'il y ai ou non des mortalités partielles dans plusieurs dilutions successives.

## 32.2 Sensibilité des hydres à quelques contaminants

L'eau interstitielle étant une matrice complexe, elle peut contenir un mélange de substances chimiques métalliques et organiques, et la question se pose alors de déterminer à quels types de produits chimiques l'hydre peut être sensible.

Ce paragraphe présente quelques-uns des résultats du bioessai hydre obtenus au laboratoire sur substances pures. Ce travail n'est pas exhaustif, il est en relation directe avec les contaminants majeurs présents dans les sédiments que nous avons rencontrés et qui sont étudiés aux chapitres 4 et 5 (arsenic, ammoniac,...). En se basant sur la littérature et sur nos résultats, la sensibilité du bioessai hydre est comparée à celle d'autres bioessais utilisés pour caractériser la toxicité chronique d'échantillons aqueux.

Les bioessais hydre 96h réalisés dans notre laboratoire suivent le protocole défini dans le §2.1.2 ci-dessus et le traitement des résultats est réalisé selon les conditions définies dans le §2.1.3. Les gammes de concentrations testées (non détaillées ici) sont définies molécule par molécule en réalisant un essai préliminaire et un essai définitif. Afin de pouvoir comparer certains de nos résultats à ceux obtenus par d'autres auteurs, le critère biologique généralement utilisé dans ce paragraphe est la  $CL_{50-96h}$ . La concentration sans effet observé (CSEO) est utilisée pour caractériser la gamme de concentration sans effet des solvants (produits qui sont utilisés pour introduire des molécules organiques hydrophobes dans les solutions d'essai à des concentrations supérieures à leur seuil de solubilité).

## 32.2.1 La sensibilité des hydres aux contaminants métalliques et métalloïdes

### • Toxicité des principaux métaux pour l'hydre

Le Tableau 25 présente les CL<sub>50-96h</sub> des 8 principaux métaux et métalloïdes généralement étudiés dans les sédiments (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn) vis-à-vis des hydres.

Tableau 25 : Toxicité de quelques métaux et métalloïdes vis-à-vis de *H. attenuata* exprimée par la CL<sub>50-96h</sub>. Synthèse des résultats de laboratoire et de données bibliographiques.

Molécule	CL <sub>50-96h</sub> (IC) mg/L	pH	dureté (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	Référence
<b>arsenic</b>				
• arsénite (As III)	4,50 (2,59-4,65)	7,0	120	<i>Cemagref</i>
• arséniate (As V)	15,06 (NC)	7,0	120	<i>Cemagref</i>
<b>cadmium (Cd<sup>2+</sup>)</b>				
	0,21 (NC)	7,0	120	<i>Cemagref</i>
	0,76 <sup>(a)</sup>	NI	NI	(Slooff <i>et al.</i> , 1983)
	1,5	7	100	(Trottier et Blaise, 1997)
	0,12 (0,11-0,13)	7,5	108	(Beach et Pascoe, 1998)
<b>chrome (Cr<sup>6+</sup>)</b>				
	> 0,707	7,5	120	<i>Cemagref</i>
	0,04	7,0	100	(Trottier et Blaise, 1997)
<b>cuivre (Cu<sup>2+</sup>)</b>				
	0,024 (0,023-0,025)	7,5	120	<i>Cemagref</i>
	0,026 (0,023-0,029)	7	NI	(Pollino et Holdway, 1999)
	0,04 (0,03-0,05)	7,5	108	(Beach et Pascoe, 1998)
<b>mercure (Hg<sup>2+</sup>)</b>				
	0,056 <sup>(a)</sup>	NI	NI	(Slooff <i>et al.</i> , 1983)
<b>nickel (Ni<sup>2+</sup>)</b>				
	0,86	7,0	100	(Trottier et Blaise, 1997)
<b>plomb (Pb<sup>2+</sup>)</b>				
	4,23 <sup>(b)</sup>	7,0	100	(Trottier et Blaise, 1997)
<b>zinc (Zn<sup>2+</sup>)</b>				
	> 4 (NC) <sup>(c)</sup>	7,5	120	<i>Cemagref</i>
	1,85	7,0	100	(Trottier et Blaise, 1997)
	6,63 (5,85-7,41)	7,5	108	(Beach et Pascoe, 1998)

NC : intervalle de confiance 95% non calculable.

NI : non indiqué.

<sup>(a)</sup> : CL<sub>50-48h</sub> avec *H. oligactis*.

<sup>(b)</sup> : CSE=0,55.

<sup>(c)</sup> : CSE=1,18.

Les milieux d'essai variant selon les auteurs il apparaît difficile de comparer nos résultats, sauf à tenir compte de paramètres influençant la toxicité des métaux comme le pH et la dureté (chapitre 2, §1.3.2.1). En effet, quand le pH ou/et la dureté augmentent la toxicité diminue : les métaux cationiques s'adsorbent ou précipitent avec le pH, la compétition pour les sites biologiques avec le calcium augmente avec la dureté.

Il a été montré que la toxicité de l'arsenic dépend de sa spéciation, l'arsénite étant généralement plus toxique que l'arséniate (Burton *et al.*, 1987; Groupe Chimie Ecologie, 1997). Dans nos conditions d'essai, nous obtenons des résultats similaires avec l'hydre, elle est 3 fois plus sensible à l'arsénite qu'à l'arséniate.

### • Sensibilité du bioessai hydre aux métaux par rapport à d'autres bioessais

Le bioessai hydre est aussi sensible que le bioessai daphnie (*D. magna*) (Burton *et al.*, 1987) et plus sensible que les bioessais poissons (*P. promelas*, truite arc-en-ciel) (Scow *et al.*, 1982; Slooff *et al.*, 1990) à l'arsenic. D'après Beach et Pascoe (1998) et Pollino et Holdway (1999), les hydres sont particulièrement sensibles au cadmium, au cuivre et au zinc. Le bioessai hydre est au moins aussi sensible que le bioessai avec le crustacé *G. pulex*, espèce couramment utilisée pour caractériser la bonne qualité du milieu, et plus sensible, sur des bioessais 48 ou 72h, que la daphnie. Les hydres sont peu sensibles au plomb (au dessus du mg/L, d'après le Groupe Chimie Ecologie (1997)). Le bioessai hydre est plus sensible au chrome (Cr<sup>6+</sup>) que les bioessais algue (*S. capricornutum*), daphnie (*D. magna*), bactérie (*E. coli* et *V. fischeri*) et truite (*O. mykiss*) (Trottier et Blaise, 1997). Le bioessai hydre est moins sensible que le bioessai *D. magna* au mercure mais est aussi sensible que les bioessais algue et protozoaire et plus sensible que les bioessais réalisés avec des insectes, des mollusques, des poissons et des amphibiens (Slooff *et al.*, 1983). L'ensemble de ces résultats nous permet de constater que le bioessai hydre est un bioessai sensible aux polluants métalliques.

### 32.2.2 La sensibilité du bioessai hydre aux contaminants organiques

Le Tableau 26 présente les CL<sub>50-96h</sub> de quelques molécules organiques hydrophobes et les concentrations sans effet observé (CSEO) des principaux solvants utilisés pour introduire ces molécules à des concentrations supérieures à leur limite de solubilité dans l'eau d'essai.

Tableau 26 : Toxicité de quelques molécules organiques vis-à-vis de *Hydra sp.* exprimée par la CL<sub>50-96h</sub>. Synthèse des résultats de laboratoire et de données bibliographiques.

Molécule	CL <sub>50-96h</sub> mg/L	Remarque	Référence
<b>pesticide</b>			
endosulfan	0,81	solubilité (mg/L) 0,004	(Pollino et Holdway, 1999) <sup>(a)</sup>
EDB (éthylène dibromide)	50	4,3	(Herring <i>et al.</i> , 1988) <sup>(a)</sup>
lindane	> 10	10	<i>Cemagref</i>
<b>HAP</b>			
phénanthrène	> 2	solubilité (mg/L) 1	<i>Cemagref</i> <sup>(b)</sup>
fluoranthène	> 2	0,26	<i>Cemagref</i> <sup>(b)</sup>
benzo(k)fluoranthène	> 1	0,008	<i>Cemagref</i> <sup>(a)</sup>
<b>PCB<sup>(c)</sup></b>			
aroclor 1016	5	solubilité (mg/L) 0,049	(Adams et Haileselassie, 1984) <sup>(a)</sup>
aroclor 1254	20	0,057	
<b>solvant</b>			
méthanol	> 3,2	CSEO=0,8 (mL/L)	<i>Cemagref</i>
éthanol	> 3,2	CSEO<0,05 (mL/L)	<i>Cemagref</i>
phénol	> 50	CSEO<5 (mg/L)	<i>Cemagref</i>
acétone		CSEO=1500 (mg/L)	(Herring <i>et al.</i> , 1988)
acétonitrile	> 3,2	CSEO= 3,2 (mL/L)	<i>Cemagref</i>

CSEO = concentration sans effet observé.

<sup>(a)</sup> : solvant acétone.

<sup>(b)</sup> : solvant méthanol.

<sup>(c)</sup> : CL<sub>50-72h</sub>.

- **Les substances chimiques organiques hydrophobes**

Rares sont les études qui ont étudié la toxicité des molécules organiques hydrophobes vis-à-vis des hydres.

Pollino et Holdway (1999), qui évoquent la faible sensibilité du bioessai hydre aux pesticides (lindane, mirex, EDB, atrazine, DDT) comparativement à d'autres bioessais réalisés avec différentes espèces d'invertébrés, semblent confirmer le fait que l'hydre n'est certainement pas le meilleur organisme d'essai pour évaluer la toxicité de ce type de molécules.

Lorsqu'il sont entrés dans l'organisme, les HAPs métabolisés peuvent être plus toxiques que les composés initiaux en formant des intermédiaires réactifs (diols époxydes) capables d'interagir avec l'ADN pour former des adduits stables qui augmentent les risques cancérigènes (Flammarion *et al.*, 1998). De plus en présence d'UV, de nombreux HAPs deviennent toxiques en dessous de leur seuil de solubilité (Flammarion *et al.*, 1998). S'il a été montré que les hydres sont capables d'accumuler les HAPs au niveau de leur membrane lipidique, le fait qu'elles ne soient pas capables de les métaboliser (Fu *et al.*, 1994) et que les bioessais soient réalisés à l'obscurité peut partiellement expliquer l'absence de toxicité de ces molécules vis-à-vis des hydres.

Considérant les limites de solubilité des pesticides (endosulfan, EDB, lindane), des HAPs (phénanthrène, fluoranthène, benzo(*k*)fluoranthène) et des PCBs (aroclor 1016, aroclor 1254) dans l'eau, ces molécules, sous forme soluble, ne semblent pas vraiment poser de problème aux hydres (Tableau 26).

- **Les solvants**

Pour exposer les hydres à des concentrations en molécules organiques hydrophobes supérieures à leur limite de solubilité dans le milieu d'essai, des solvant organiques sont utilisés. Le Tableau 26, propose des valeurs sans effet sur les hydres (CSEO) pour quelques solvants couramment utilisés.

Pour être sûr d'exposer les organismes à une concentration en solvant non toxique nous avons préféré calculer les valeurs de CSEO sur la base de l'apparition d'un effet subléthal. Herring *et al.* (1988) proposent quant à eux une valeur de CSEO pour l'acétone calculée sur la base de l'apparition d'une mortalité.

Les écart observés entre mortalité (CL<sub>50</sub>-96h) et CSEO (un facteur 4 pour le méthanol et 64 pour l'éthanol) montrent que des concentrations en solvants largement inférieures aux concentrations létales peuvent avoir un effet subléthal sur l'hydre.

### **32.2.3 La sensibilité des hydres à l'ammoniac**

L'ammoniac étant un composé dissous toxique majeur aussi bien dans les sédiments en place (Ankley *et al.*, 1990) que dans la colonne d'eau lors de processus de remise en suspension (Garric *et al.*, 1990) il nous est apparu important d'évaluer la toxicité de ce composé vis-à-vis de l'hydre.

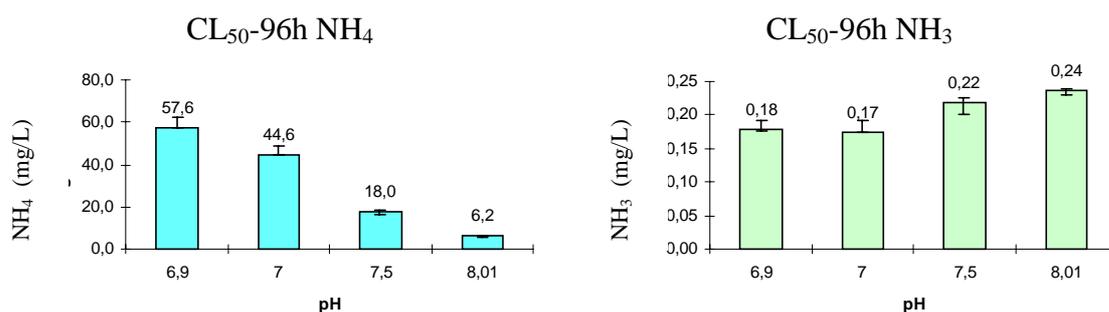


Figure 35 : CL<sub>50</sub>-96h de l'ammoniac total (exprimé en mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L) et de l'ammoniac non ionisé (exprimé en mg NH<sub>3</sub>/L) pour l'hydre *H. attenuata* à différents pH (6,9 ; 7 ; 7,5 ; 8,01). Les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance à 95% sur les valeurs. Les CSEO sont respectivement de 0,06 ; 0,08 ; 0,06 et 0,09 mg NH<sub>3</sub>/L à ces différents pH.

L'ammoniac est introduit dans le milieu d'essai tamponné sous forme de NH<sub>4</sub>Cl et le pH est ajusté à l'acide chlorhydrique. La concentration en NH<sub>3</sub> est calculée à partir de la formule  $NH_3 = NH_4 / (1 + 10^{(10,0,68 - 0,033T - pH)})$  (Barnabé, 1990). Une série de bioessais, réalisés à différents pH, a permis de déterminer la CL<sub>50</sub>-96h de l'ammoniac vis-à-vis de l'hydre (Figure 35). Ces résultats indiquent que l'hydre comme d'autres espèces aquatiques (poissons, chironomes,...) est sensible à la forme non ionisée de l'ammoniac (NH<sub>3</sub>) (Schubauer-Berigan *et al.*, 1995).

- **Où se situe la sensibilité du bioessai hydre à l'ammoniac par rapport à d'autres bioessais ?**

Le bioessai hydre est 10 fois plus sensible à l'ammoniac que les bioessais *C. riparius* (CL<sub>50</sub>-10j=2 mg NH<sub>3</sub>/L) (données du laboratoire), phytoplancton et zooplancton (Verschueren, 1996), 50 fois plus sensible que le bioessai *H. azteca* (CL<sub>50</sub>-96h=9,2mg NH<sub>3</sub>/L) (Whiteman *et al.*, 1996) et 100 fois plus sensible que le bioessai *D. magna* (CL<sub>50</sub>-48h=24 mg NH<sub>3</sub>/L) (Verschueren, 1996). Mais il est beaucoup moins sensible que le bioessai avec la truite arc-en-ciel adulte (CL<sub>50</sub>-24h=0,097 mg NH<sub>3</sub>/L) (Verschueren, 1996).

## 32.3 Choix méthodologiques

L'eau interstitielle d'un sédiment est chargée en substances dissoutes (libres ou liées) susceptibles d'être toxiques. L'extraction de cette eau va modifier les équilibres physico-chimiques et les techniques d'extraction et de conservation doivent être choisies en fonction de leur capacité à conserver la toxicité.

### 32.3.1 Conservation des sédiments et toxicité de l'eau interstitielle

La qualité de l'eau interstitielle extraite du sédiment n'est pas stable, des processus d'oxydation, des changements de pH rapides peuvent modifier la biodisponibilité des contaminants (Ankley *et al.*, 1991b; Ankley et Schubauer-Berigan, 1994; Howe *et al.*, 1994). Si un bioessai hydre ne peut être réalisé rapidement ou doit être répété, il est

conseillé de conserver le sédiment et d'extraire l'eau interstitielle juste avant le début du bioessai.

Nous avons choisi de conserver le sédiment à 4°C, à l'obscurité et sans oxygène. Quel peut être l'effet de cette conservation sur la composition, la physico-chimie et la toxicité de l'eau interstitielle vis-à-vis de l'hydre ?

Pour répondre à cette question, nous avons décidé de travailler sur un sédiment (Q1) à la contamination métallique fortement marquée (chapitre 4, §1.1, niveau de contamination M4 d'après le classement de l'Agence de l'Eau RMC) et dont la toxicité de l'eau interstitielle vis-à-vis des hydres est avérée (chapitre 4, §4.2). Le choix d'un sédiment métallique s'explique par le fait que la répartition des métaux peut plus facilement être modifiée suite à des variations de potentiel redox et de pH dans le sédiment, durant la conservation à 4°C, que celle des molécules organiques hydrophobes qui sont peu biodégradables et adsorbées sur la phase particulaire.

Quatre essais 96h ont été réalisés sur quatre eaux interstitielles différentes extraites du sédiment contaminé Q1 par centrifugation (10000g, 30 min, 4°C) sur une période de 9 semaines de conservation. L'essai hydre met en évidence une toxicité des eaux interstitielles, avec une  $CL_{50-96h}$  de 17% environ, qui n'évolue pas au cours des 9 semaines de conservation (Tableau 27). Dans cette série de bioessais, la gamme de dilution identique pour tous les bioessais et l'absence de mortalité partielle expliquent l'obtention de la même valeur aux différents temps de conservation. Les paramètres physico-chimiques suivis (pH, Eh, conductivité, concentrations en carbone organique dissous, ammoniac, fer, arsenic, plomb et zinc) restent constants et montrent que le sédiment a gardé son caractère réducteur pendant les neuf semaines de conservation, qu'aucune activité bactérienne ou chimique n'a entraîné de modifications dans la matrice en terme de charge en ammoniac ou en carbone organique dissous (Tableau 27) et que la charge contaminante dissoute est restée la même (données non montrées).

Tableau 27 : Evolution dans le temps de la toxicité d'eaux interstitielles lors de la conservation de sédiments, mesurée sur *H. attenuata*.

Conservation (semaines)	pH	Conductivité ( $\mu\text{S/cm}$ )	$\text{NH}_4^+$ (mg/L)	$\text{NH}_3$ (mg/L) <sup>(a)</sup>	Eh (mV/ENH)	COD (mg/L)	$CL_{50-96h}$
0	6,7	555	21,5	1,06	23	52,5	17,5
2	7,1	570	20,0	0,98	25	51,6	17,5
4	6,9	630	21,1	1,03	27	50,7	17,5
10	6,9	565	22,9	1,13	28	52,0	17,5

<sup>(a)</sup>  $[\text{NH}_3]$  calculée d'après Emerson *et al.* (1975).

Il faut cependant rester critique par rapport à ces résultats car ils ont été obtenus à partir d'un seul type de sédiment et l'effet de la conservation sur la répartition et la toxicité des contaminants dans les différentes phases sédimentaires est encore largement sujet à discussion. Il semble être fonction du degré et du type de contamination, des caractéristiques des sédiments, du mode et de la durée de conservation : les sédiments montrant le plus de variabilité dans les réponses biologiques au cours du temps étant les sédiments moyennement contaminés (Becker et Ginn, 1995; DeFoe et Ankley, 1998).

Nos résultats montrent que dans un sédiment fortement contaminé par des métaux, un stockage à 4°C, à l'obscurité et sans oxygène, n'entraîne pas de modifications de la qualité du sédiment et de l'eau interstitielle sur une durée de 9 semaines. Cependant, chaque fois que cela a été possible, les bioessais sont démarrés 4 à 7j après le prélèvement des sédiments.

### 32.3.2 Choix de la technique d'extraction de l'eau interstitielle

Nous désirons extraire l'eau interstitielle de manière à conserver au maximum sa toxicité. Pour cela, nous allons utiliser le système qui permet d'obtenir et de maintenir une toxicité maximale.

Les deux principales techniques de séparation de l'eau interstitielle et des particules réalisées en laboratoire sont des techniques de filtration (presse sous azote, aspiration sous vide,...) ou de centrifugation, avec parfois une combinaison des deux méthodes, une filtration étant appliquée sur l'eau centrifugée (Distworth et Schults, 1990; ASTM, 1994a; Environment Canada, 1994).

Pour définir, parmi ces trois types de technique d'extraction, celle que nous allons utiliser, nous avons comparé la toxicité, vis-à-vis de l'hydre, d'eaux interstitielles extraites par pressage (15 Bars, filtre 0,45 µm), centrifugation (10000 g, 30 min, 4°C) et centrifugation (10000 g, 30 min, 4°C) puis filtration (aspiration sous vide, filtre 0,45 µm). Les paramètres de la centrifugation (vitesse, durée) sont fixés a priori sur la base d'articles qui comparent les toxicité et degré de contamination d'eaux interstitielles extraites à basse (2500 g) et à haute vitesse (10000 g) (Ankley et Schubauer-Berigan, 1994) (chapitre 2, §2.1.3).

Les bioessais sont réalisés en suivant le protocole défini dans le chapitre 3, §2.1.2.

Tableau 28 : Toxicité, vis-à-vis des hydres, de quelques eaux interstitielles exprimée par la  $CL_{50-96h}$  (IC) en% (vol/vol) en fonction de la technique d'extraction.

Sédiment	Centrifugation	Centrifugation + Filtration	Pressage
PG_8	100	NM	100
IB_9	100	100	100
PG_8bis <sup>(a)</sup>	50,6 (48,1-53,2)	52,1 (48,1-53,8)	100
CR_14	17,5 (NC)	24,5 (23,2-26,7)	17,5 (NC)
SV_6	95,5 (95,4-100)	100	100
Q1	17,5 (NC)	NM	20,3 (15,9-23,5)

NM : non mesuré.

NC : non calculable.

<sup>(a)</sup> : sédiment PG\_8 conservé 1 semaine à 15°C avant réalisation de l'extraction de l'eau interstitielle.

La comparaison des effets toxiques sur 6 eaux interstitielles, extraites selon les trois techniques décrites (Tableau 28), montre que les eaux extraites par centrifugation se révèlent être au moins aussi toxiques sinon plus que les eaux extraites par pressage ou par centrifugation-filtration. Les résultats obtenus vont dans le même sens que ceux d'Ankley et Schubauer-Berigan (1994) qui observent que l'utilisation de filtres entraîne une perte de toxicité des eaux interstitielles pour *Ceriodaphnia dubia*, apparemment due à une

adsorption des contaminants (organiques et métalliques) sur le filtre (Schubauer-Berigan et Ankley, 1991).

Considérant nos résultats, nous décidons de collecter les eaux interstitielles par centrifugation à haute vitesse (10000 g, 30 min, 4°C), sans filtration ultérieure.

## 32.4 Sensibilité des hydres aux eaux interstitielles

Le bioessai hydre étant assez récent, une étape préliminaire à son utilisation pour caractériser la toxicité des eaux interstitielles consiste, à partir d'une série de bioessais, à discuter de la sensibilité des différentes mesures biologiques (CSE, CL<sub>10</sub> et CL<sub>50</sub>), et à étudier la distribution des réponses toxiques dans cette matrice.

Les bioessais hydre 96h réalisés au *Cemagref* suivent le protocole défini dans le paragraphe 2.1.2 ci-dessus et le traitement des résultats est réalisé selon les conditions définies dans le paragraphe 2.1.3.

### 32.4.1 Les différentes mesures biologiques étudiées

Les trois paramètres de toxicité les plus couramment décrits pour caractériser l'effet d'un contaminant ou d'un mélange complexe naturel (effluent, eau de surface, eau interstitielle,...) sur les hydres adultes sont :

- la CSE, qui signale le début d'une intoxication (hydres bulbées, courtes, tulipes ou désagrégées). Pour les hydres bulbées ou courtes, le retour à un état sain (hydre normale) est possible si l'exposition au contaminant disparaît (dégradation du ou des molécules toxique, métabolisation,...) (Blaise et Kusui, 1997),
- les CL<sub>50</sub> et CL<sub>10</sub> indiquent un effet létal sur une proportion plus ou moins importante de la population exposée.

Il existe d'autres mesures biologiques que nous n'avons pas étudiées ici et qui sont basées sur la capacité de régénération des hydres à partir d'un groupe de cellules totipotentes (Adams et Haileslassie, 1984; Fu *et al.*, 1991a) ou sur leur capacité de bourgeonnement, par estimation du temps de doublement de la population, du taux de multiplication des hydres (Epp et Koblick, 1977; Stebbing et Pomroy, 1978; Benson et Boush, 1983).

Dans le paragraphe qui suit, nous allons déterminer l'intérêt respectif de ces trois mesures et voir si une ou plusieurs d'entre elles ne fournissent pas des informations redondantes.

La CSE est un paramètre de toxicité à priori plus sensible qu'une mesure basée sur un effet létal comme la CL<sub>10</sub> car elle rend compte d'effets sublétaux sur la morphologie des hydres. Cependant, si la concentration qui induit un début de changement morphologique est très proche de la concentration qui entraîne un effet irréversible sur l'hydre (c'est à dire si la plage de sensibilité de l'hydre est très restreinte), ces deux mesures deviennent redondantes. Dans ce cas là, si nous ne devons retenir qu'une seule mesure d'effet "précoce", nous écarterions la CSE qui est fonction de la gamme de dilution fixée par l'expérimentateur et qui traduit des effets potentiellement réversibles et à priori sans effet sur la dynamique de la population.

Blaise et Kusui (1997) ont observé sur 96h, dans un effluent pharmaceutique, des intoxications passagères. Deux hypothèses sont avancées par les auteurs pour expliquer cet effet subléthal transitoire : la présence de toxiques volatils ou la biotransformation rapide de xénobiotiques toxiques en sous-produits non toxiques.

Dans le cadre de cette thèse, en observant l'évolution sur 96h de la CSE dans 27 échantillons toxiques, nous constatons que les CSE des eaux interstitielles étudiées n'indiquent pas d'effets transitoires. Nous n'observons pas de phénomènes de "récupération" des hydres (diminution de toxicité) dans les dilutions qui ont un effet subléthal (annexe 5).

Avec un intervalle de confiance moyen calculable pour les  $CL_{10-96h}$  de 2,6% (N=7) (annexe 5), la valeur de CSE-96h est différente de la valeur de  $CL_{10-96h}$  dans 77% des cas (20/26). Dans environ un quart (6/26) des eaux interstitielles étudiées (AR, Q\_51, SB\_11, BL, CR\_7, GR\_40), nous observons un écart de plus de 10% entre la CSE et la  $CL_{10}$  (Figure 36).

Pour ces eaux interstitielles on peut considérer que l'information apportée par la CSE est différente de celle fournie par la  $CL_{10}$ .

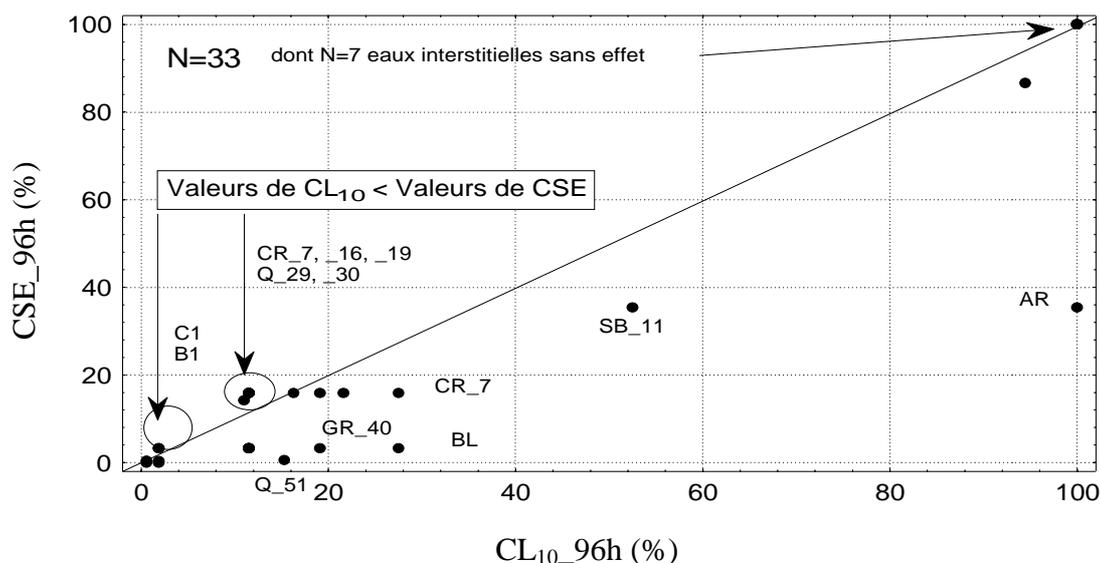


Figure 36 : Comparaison des valeurs de  $CL_{10}$  et CSE pour les 33 eaux interstitielles étudiées avec le bioessai hydre 96h.

La valeur de la  $CL_{10}$  est inférieure à la valeur de la CSE pour 7 échantillons d'eaux interstitielles (CR\_7, \_16, \_19, Q\_29, \_30, C1 et B1). Ceci est lié au fait que nous sommes en présence de bioessais où aucun effet partiel n'est observé : pour une dilution toutes les hydres sont normales et pour la dilution suivante toutes les hydres sont mortes. Dans ces conditions, la valeur de  $CL_{10}$  calculée avec la formule de l'interpolation linéaire est inférieure à la valeur de la CSE calculée sur la base d'une moyenne géométrique, et la  $CL_{10}$  apparaît être une mesure plus sensible que la CSE.

Par exemple pour l'eau interstitielle de l'échantillon CR\_16, où nous observons une survie totale des hydres dans la dilution 10% et une mortalité totale dans la dilution 25%, la  $CL_{10}$  est égale à  $10+(25-10)/10=11,5\%$  et la CSE à  $(10*25)^{1/2}=15,8\%$ .

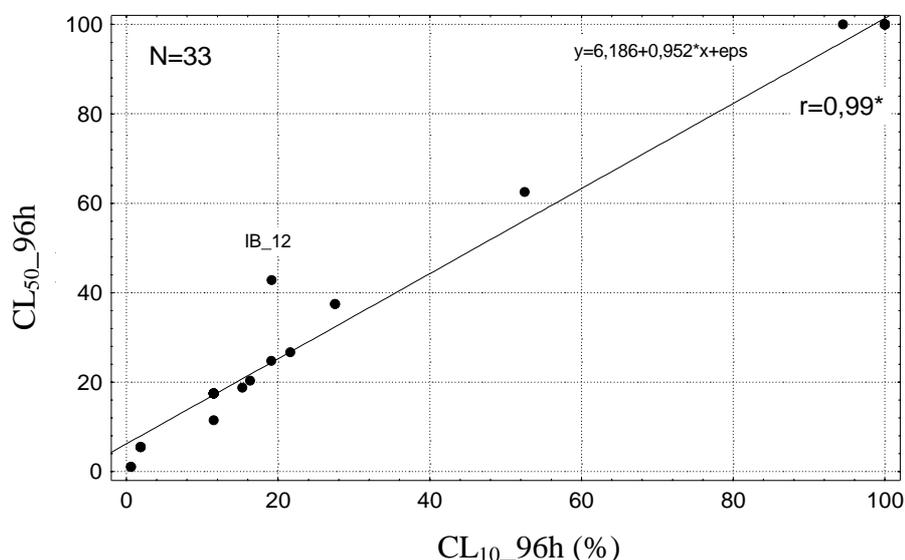


Figure 37 : Corrélation existant entre la  $CL_{10-96h}$  et la  $CL_{50-96h}$ .

Compte tenu de la forte proportion de bioessais pour lesquels aucune mortalité partielle n'est observée (79% des eaux interstitielles pour la  $CL_{50-96h}$  et 80% pour la  $CL_{10-96h}$ , annexe 5), du mode de calcul de la  $CL_{50}$  (interpolation linéaire) et de la gamme de dilution testée (linéaire à partir de la dilution 25% jusqu'à la 100%), on peut montrer que la  $CL_{10}$  et la  $CL_{50}$  sont significativement corrélées (Figure 37).

#### • Conclusion

La CSE permet pour quelques échantillons d'eau interstitielle qui n'ont pas d'effet léthal de détecter un effet sur la morphologie des hydres (AR, Figure 37, et Fu *et al.*, 1994). La CSE est un paramètre de toxicité sensible sur une plus large gamme de dilution que la  $CL_{10}$ . Même si cela n'a pas été le cas pour les eaux interstitielles étudiées, l'observation de la CSE permet aussi de détecter des phénomènes d'intoxication transitoires.

La  $CL_{50-96h}$  est le paramètre le plus couramment utilisé dans la littérature. D'après nos résultats, dans les échantillons pour lesquels un effet léthal est observé la  $CL_{50}$  peut quasiment toujours être calculée. C'est ce paramètre de toxicité que nous allons mesurer dans la suite de ce travail (chapitre 4 et chapitre 5).

### 32.4.2 Quelques résultats généraux

#### • Quelle est la gamme de réponse des hydres ?

En analysant les résultats d'une série de 33 bioessais sur différentes eaux interstitielles (annexe 5) nous constatons que la gamme de réponse du bioessai est assez large, elle va de 1,1% à 100% pour la CL<sub>50</sub>, de 0,6% à 100% pour la CL<sub>10</sub>, de 0,01% à 100% pour la CSE.

Il ne nous est jamais arrivé d'avoir une eau interstitielle brute pour laquelle un effet sur exactement 50% de la population ait été observé. Dans ces conditions, nous avons décidé d'indiquer les résultats correspondant aux eaux interstitielles qui n'ont aucun effet létal ou subléthal sur les hydres par la valeur 100% dans la suite de ce travail.

Les 33 eaux interstitielles étudiées proviennent de 14 sites différents, pour 6 de ces sites plusieurs échantillons ont été prélevés. Pour ne pas donner un poids trop important à ces sédiments dans la description de la distribution des paramètres toxiques (CL<sub>50</sub>, CL<sub>10</sub> et CSE), nous ne conservons dans notre jeu de données, pour les sédiments répliqués, que les valeurs de CL<sub>x</sub> et CSE minimales et maximales. Ceci nous amène à étudier la distribution de N=20 échantillons différents (Figure 38).

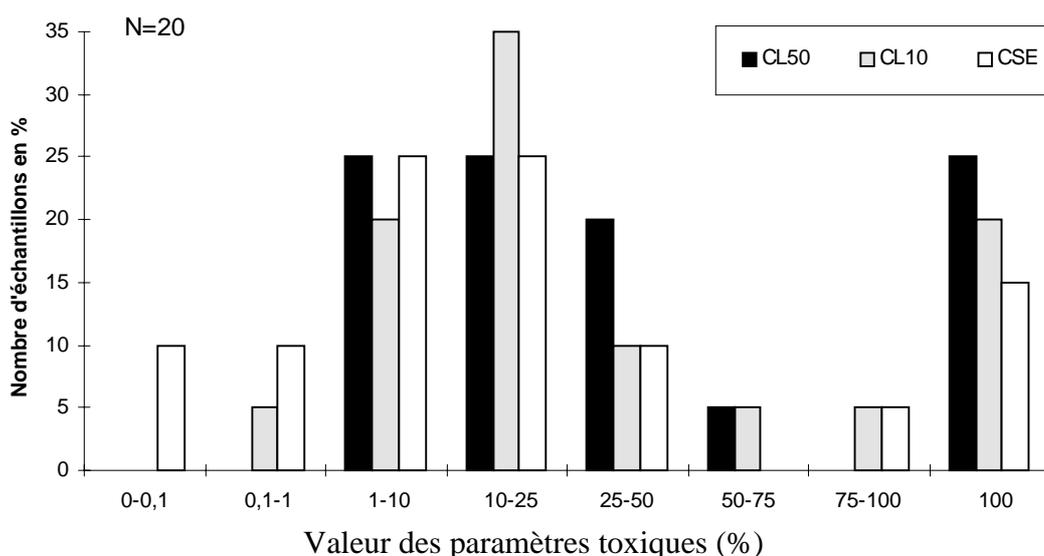


Figure 38 : Répartition des réponses de l'essai hydre (CL<sub>50</sub>, CL<sub>10</sub> et CSE) à 96h sur N=20 échantillons d'eaux interstitielles.

Au bout de 96h d'exposition, sur les 20 échantillons étudiés 15% (3/20) des échantillons ne sont pas toxiques (CSE>100%) et 75% ont un effet létal sur 50% ou plus de la population exposée (Figure 38). La distribution des CSE, CL<sub>10</sub> et CL<sub>50</sub>, relativement étendue, permet de discriminer les eaux interstitielles pas ou peu toxiques (>75%) ou très toxiques (<1%).

Parmi les eaux interstitielles ayant un effet toxique, 93% (14/15) des CL<sub>50</sub>-96h sont comprise entre 1 et 50%, et pour deux tiers d'entre elles (10/15) les CL<sub>50</sub>-96h sont comprises entre 1 et 25% (Figure 38).

En l'absence de mortalité partielle nous risquons de ne pas pouvoir comparer ou classer la plus part de ces eaux interstitielles car aucun intervalle de confiance sur le résultats ne pourra être fourni.

- **Les concentrations en ammoniac mesurées dans les eaux interstitielles naturelles sont-elles toxiques pour les hydres ?**

Sur 33 échantillons d'eau interstitielle testés au laboratoire, les valeurs d'ammoniac mesurées s'échelonnent entre 0,01 et 2,56 mg NH<sub>3</sub>/L (3,5-81,5 mg azote total/L). Parmi ces échantillons, 24 échantillons sont toxiques pour les hydres dont 5 échantillons ont des concentrations en ammoniac supérieures à la CL<sub>50-96h</sub> (0,2 mg NH<sub>3</sub>/L). L'ammoniac peut expliquer à lui seul la toxicité dans 21% (5/24) des échantillons d'eau interstitielle étudiés, c'est donc une mesure importante lors de réalisation d'un bioessai pour la compréhension de l'effet observé.

### 32.4.3 Optimisation du bioessai hydre appliqué aux eaux interstitielles

Compte tenu des caractéristiques et des limites des réponses des hydres exposées aux eaux interstitielles, nous proposons une optimisation du protocole d'essai.

L'étendue des réponses possibles des hydres exposées à une eau interstitielle est large. Lors d'un premier bioessai, la gamme de dilution à tester doit couvrir le champ des concentrations toxiques possibles, de l'eau interstitielle brute à une eau diluée au ‰.

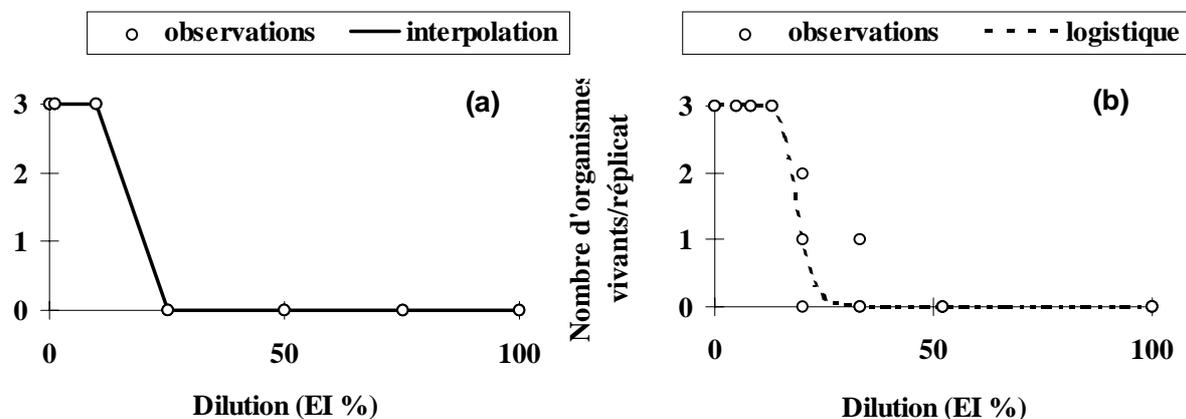


Figure 39 : Représentation graphique des réponses des bioessais hydres. <sup>(a)</sup> Réponse sans mortalité partielle, tracé interpolation linéaire, <sup>(b)</sup> réponse avec mortalités partielles, tracé logistique.

Sur l'ensemble des eaux interstitielles étudiées, 73% (24/33) des échantillons sont toxiques. Pour ces eaux interstitielles toxiques, dans 79% (19/24) des cas nous n'observons pas de mortalité partielle entre deux concentrations successives (Figure 39a) et, dans seulement 12% (3/24) des cas, nous observons deux concentrations ou plus entre la concentration où la survie est totale et celle où elle est nulle (Figure 39b). Ce type de résultats est aussi obtenu par Blaise et Kusui (1997) sur des échantillons d'effluent : dans 9

cas sur 10, les auteurs estiment les  $CL_{50-96h}$  par la moyenne géométrique entre la concentration où la survie est totale et la concentration où la survie est nulle.

Pour les bioessais où aucune mortalité partielle n'est observée, la concentration toxique, calculée par interpolation linéaire, découle directement des conditions fixées par l'opérateur (choix des dilutions, mode de calcul de la  $CL_x$ ) et aucun intervalle de confiance sur de telles valeurs ne peut être fourni. Dans ces conditions on doit parler de concentration moyenne entraînant 10% ou 50% de mortalité dans la population d'hydres exposées. Bien que les termes  $CL_{10}$  et  $CL_{50}$  ne soient pas judicieux dans ces conditions, nous les utiliserons cependant par abus de langage. Ceci afin de ne pas utiliser deux termes différents, en fonction du mode de calcul, pour représenter la même concentration avec effet.

Donc, tel qu'il est conçu, le bioessai hydre est un outil efficace de screening pour détecter, rapidement et à moindre coût, une toxicité soupçonnée. Il est plus discutable s'il s'agit de proposer une estimation précise de la toxicité ou un classement des extraits aqueux testés (eaux interstitielles et effluents).

Pour pouvoir classer les eaux interstitielles en fonction de leur toxicité il faut réaliser un second essai avec une gamme de dilution plus restreinte qui encadre la  $CL_{50-96h}$  obtenue dans le premier bioessai.

La réalisation de deux bioessais consécutifs présente des désavantages. Outre le fait que deux semaines, au minimum, vont être nécessaires pour obtenir une estimation de la  $CL_{50}$ , le sédiment conservé une semaine à 4°C, peut présenter un risque d'évolution. Bien que dans nos conditions de conservation et sur le sédiment testé (Q1), nous n'avons pas observé de changements majeurs du niveau de toxicité de l'eau interstitielle (chapitre 3, §2.3.1), nous ne pouvons pas préjuger de ce qui peut arriver pour d'autres sédiments et le risque d'une modification des caractéristiques des sédiments et de la qualité de l'eau interstitielle n'est pas à négliger si le sédiment est conservé une semaine, voir plus.

Après avoir réalisé quelques observations sur l'évolution des réponses pendant les 96h du bioessai, nous avons cherché à améliorer la précision sur la mesure sans accroître la lourdeur du bioessai et sans augmenter les risques associés à la conservation des sédiments.

Pour cela, dans les deux paragraphes qui suivent nous allons chercher à savoir :

- à partir de quand nous possédons une information suffisante pour relancer un bioessai hydre,
- si la durée du bioessai hydre est optimale ou si elle peut être raccourcie.

Sur les 24 échantillons d'eau interstitielle potentiellement toxiques à 96h, 50% d'entre eux sont déjà toxiques à 24h, 98% sont toxiques à 48h et tous sont toxiques à 72h (Figure 40).

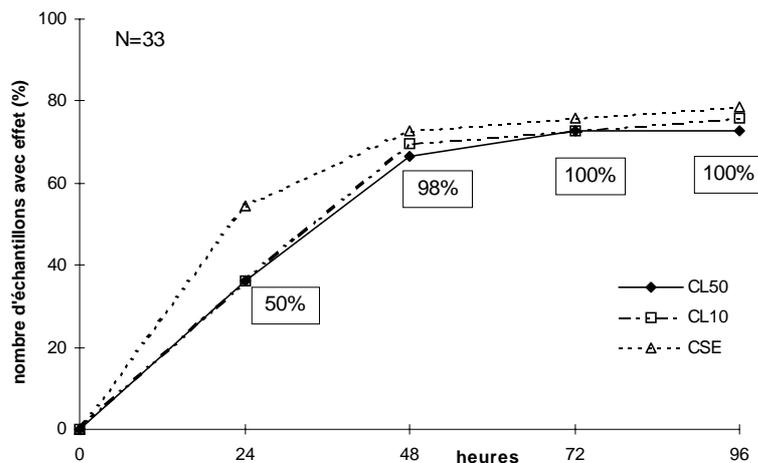


Figure 40 : Evolution de la sensibilité des hydres (CSE,  $CL_{10}$  et  $CL_{50}$ ) en fonction du temps d'observation (24, 48, 72 et 96h) exprimée en % du nombre de bioessais avec effet par rapport au nombre total de bioessais réalisés. N : nombre total de bioessai hydre réalisé. Les valeurs encadrées indiquent le pourcentage de bioessais indiquant une intoxication ( $CL_{50}$ ) au temps X par rapport aux nombre de bioessais ayant répondu au temps 96h.

#### • Relancer rapidement un second essai hydre

La moitié des échantillons toxiques à 96h (12/24) ont une  $CL_{50}$  calculable à 24h. Ces échantillons toxiques à 24h correspondent à 8 sédiments différents sur les 12 sédiments toxiques étudiés au total.

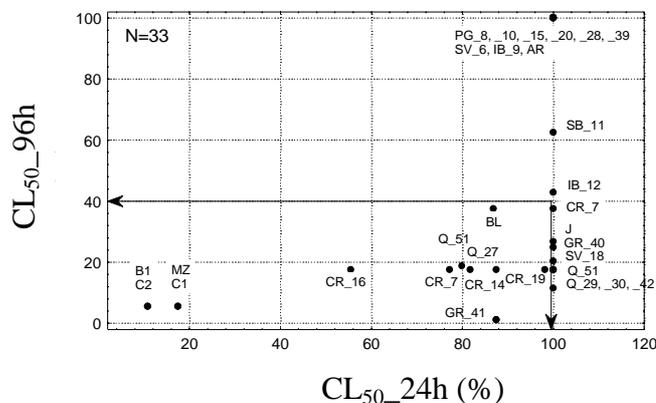


Figure 41 : Mise en regard de la  $CL_{50-24h}$  et de la  $CL_{50-96h}$  pour les eaux interstitielles étudiées.

Pour ces eaux interstitielles précocement toxiques, les  $CL_{50-72}$  et  $-96h$  sont  $<40%$  (Figure 41). Dans 8 cas sur 12 à 72h et dans 11 cas sur 12 à 96h la  $CL_{50}$  de ces eaux interstitielles est calculée à partir de réponses sans mortalité partielle (annexe 5). Dans 4 cas la  $CL_{50-24h}$  représente bien les  $CL_{50-72}$  et 96h mais aucun intervalle de confiance n'est calculable, ce sont les cas où l'eau interstitielle est très toxique rapidement : l'effet observé à 24h est très proche de celui observé à 72 et 96h.

• **Raccourcir la durée du bioessai hydre**

Le coefficient de corrélation de Pearson ( $r$ ) est significatif (\*,  $p < 0,05$ ) entre les  $CL_{50}$  -48 et -96h et les  $CL_{50}$  -72 et -96h, mais l'ajustement est meilleur entre les variables  $CL_{50}$ -72h et  $CL_{50}$ -96h qu'entre les variables  $CL_{50}$ -48h et  $CL_{50}$ -96h.

Bien que la corrélation soit significative à  $p < 0,05$  entre les  $CL_{50}$ -48h et 72h et la  $CL_{50}$ -96h, nous constatons qu'il faut donc atteindre 72h d'exposition pour que les valeurs de  $CL_{50}$  soient peu différentes des valeurs de  $CL_{50}$ -96h (Figure 42).

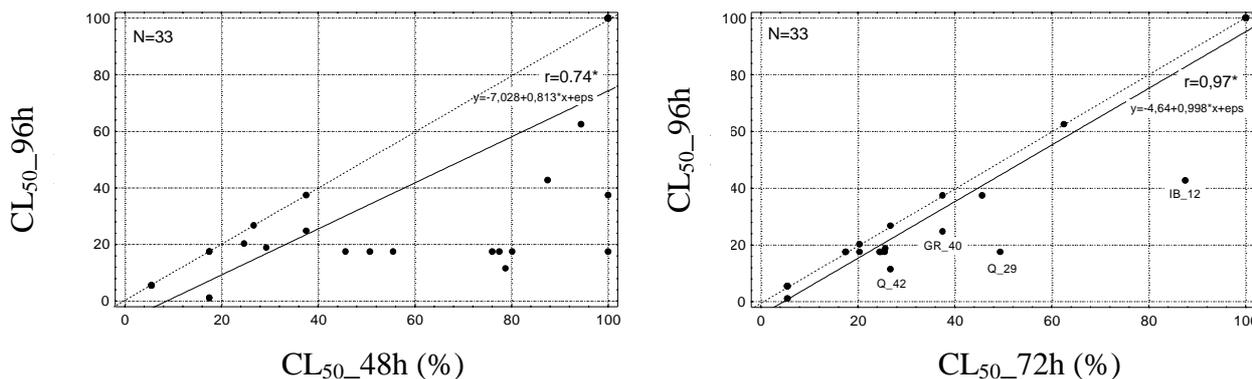


Figure 42 :Ecart de toxicité existant entre les  $CL_{50}$  -48 et -96h et les  $CL_{50}$  -72 et -96h. La droite en trait plein représente l'ajustement linéaire entre les variables  $x$  et  $y$ . La droite en pointillé représente l'ajustement linéaire pour lesquels les variables  $x$  et  $y$  sont égales.

Il existe cependant quelques cas (4/24) pour lesquels la  $CL_{50}$ -72h reste différente de plus de 10% de la  $CL_{50}$ -96h. Il s'agit des eaux interstitielles IB\_12, Q\_29, Q\_42 et GR\_40 avec respectivement un écart de 44,7%, 31,9%, 15,2% et 12,7% entre les mesures 72h et 96h.

Pour ces cas là, si l'on considère que l'intervalle de confiance moyen calculable pour les  $CL_{50}$ -72 et -96h est, respectivement de 5,8% (N=11) et 4,6% (N=4) (annexe 5), un écart de plus de 10% (5,8 + 4,6) entre les deux valeurs nous amène à considérer que les valeurs de  $CL_{50}$ -72h pourraient être significativement différentes des valeurs de  $CL_{50}$ -96h.

Nos résultats indiquent que, l'écart entre la  $CL_{50}$ -72h et la  $CL_{50}$ -96h est inférieur à 10% dans 84% (20/24) des eaux interstitielles étudiées.

En observant les résultats de  $CL_{50}$ ,  $CL_{10}$  et CSE obtenus à 72h et 96h au *Cemagref* par notre équipe, ceux de  $CL_{50}$  obtenus par Blaise et Kusui (1997) au Japon et par Fu *et al.* (1994) aux USA (Tableau 29) nous constatons qu'il existe peu de différences entre leurs résultats 72 et 96h. Et même si pour Fu *et al.* (1994) seulement 33% des  $CL_{50}$ -72h sont égales aux  $CL_{50}$ -96h, aucune n'est différente de plus d'un facteur 2.

Tableau 29 : Comparaison des réponses biologiques des bioessais hydres obtenues à 72 et 96h dans notre laboratoire, aux USA (Fu *et al.*, 1994) et au Japon (Blaise et Kusui (1997)).

		<i>Cemagref</i> <sup>(a)</sup> (Blaise et Kusui, 1997)	(Fu <i>et al.</i> , 1994)
pourcentage d'échantillons ( $CL_X$ -72h/ $CL_X$ -96h) < 2 (nombre)	$CL_{50}$	83 (20/24)	100 (4/4)
	$CL_{10}$	80 (20/25)	-
	CSE	70 (19/27)	-
pourcentage d'échantillons ( $CL_X$ -72h/ $CL_X$ -96h) = 1 (nombre)	$CL_{50}$	50 (12/24)	75 (3/4)
	$CL_{10}$	48 (12/25)	-
	CSE	63 (17/27)	-
écart moyen en % ( $\pm$ IC) entre les valeurs 72 et 96h	$CL_{50}$	5 (3)	10 (17)
	$CL_{10}$	5 (3)	-
	CSE	6 (4)	-

- : pas de données disponibles.

<sup>(a)</sup> Calculs réalisés sur l'ensemble des eaux interstitielles pour lesquelles la  $CL_{50}$ -96h est <100%.

Dans notre laboratoire, quelle que soit la mesure biologique :

- le rapport entre les  $CL_{50}$ ,  $CL_{10}$  et CSE 72h et 96h n'est supérieur à un facteur 2 respectivement que dans 17, 20 et 30% des échantillons étudiés,
- l'écart entre la  $CL_{50}$ -72h et la  $CL_{50}$ -96h est en moyenne de 5% (Tableau 29).

L'ensemble des résultats exposés ci-dessus nous permet de constater qu'un bioessai 72h serait suffisant pour évaluer la toxicité associée à une eau interstitielle.

De plus, les lectures à 72h offrent l'intérêt de présenter plus de cas de mortalité partielle que les lectures à 96h et donc de pouvoir plus souvent préciser la variabilité sur la réponse : sur les 24 eaux interstitielles toxiques à 72 et 96h, 79% d'entre elles permettent d'encadrer la valeur toxique par un intervalle de confiance à 72h contre 50% à 96h (annexe 5).

Les seuls cas où le bioessai hydre doit être prolongé de 72 à 96h sont les cas où aucune toxicité n'est apparue au bout de 72h. La lecture à 96h permet alors de s'assurer que l'eau interstitielle est bien non toxique. En effet, dans 2 cas sur 12 pour Fu *et al.* (1994) et dans 1 cas sur 27 pour notre laboratoire, des bioessais n'ayant aucun effet à 72h ont un effet, léthal ou subléthal, à 96h.

#### • Conclusion : un protocole optimisé

L'ensemble des points que nous venons d'aborder nous apprend i) que nous pouvons réduire la durée du bioessai hydre de 96h à 72h sans perdre de sensibilité sur la réponse des hydres ( $CL_{50}$ ) et en augmentant le pourcentage de cas où un intervalle de confiance existe et ii) qu'un bioessai hydre dont la toxicité ( $CL_{50}$ <100%) est avérée 24h après le début de l'expérimentation a une forte probabilité de présenter une  $CL_{50}$ <40% après 96h d'exposition, avec dans plus de 90% des cas (11/12) une absence de mortalité partielle qui ne permet pas de calculer d'intervalle de confiance.

Pour obtenir une précision sur la mesure sans pour autant accroître la lourdeur du bioessai ni augmenter les risques associés à la conservation des sédiments, nous proposons de modifier le protocole hydre selon l'arbre décisionnel ci dessous (Figure 43). Ce protocole permet d'éliminer une partie des bioessais problématiques où aucune mortalité partielle n'est observée, tout en permettant d'obtenir une réponse dans les 5 jours. Et, avec cette démarche, lorsqu'un second bioessai est réalisé, il est démarré 24h après le premier, une nouvelle extraction d'eau interstitielle est réalisée et il y a peu de risque que le sédiment conservé à 4°C, à l'abri de l'air et de la lumière, soit très différent du précédent en terme de caractéristiques physico-chimiques. Cette modification de protocole est applicable aux études d'effluents qui possèdent les mêmes limites que les eaux interstitielles (Blaise et Kusui, 1997).

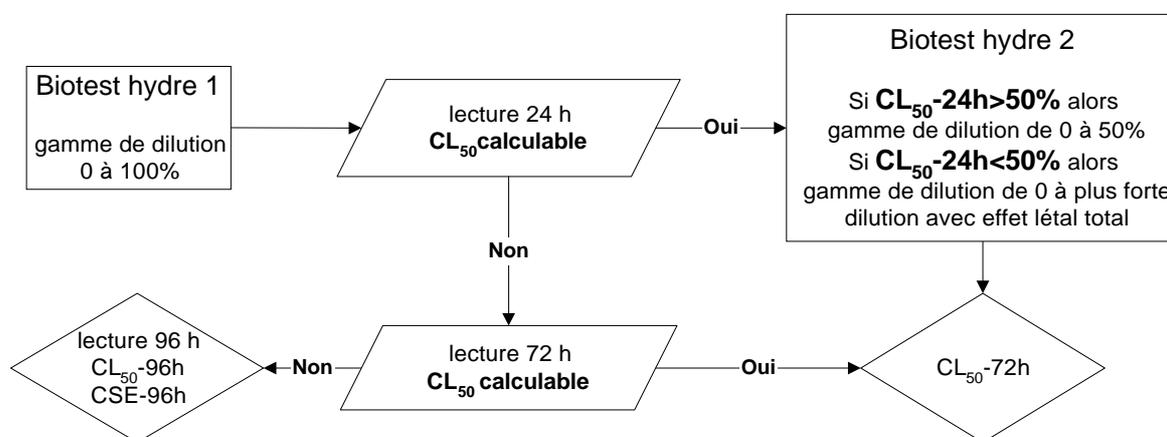


Figure 43 : Protocole proposé pour caractériser la toxicité des eaux interstitielles avec le bioessai hydre.

## 32.5 Synthèse sur le bioessai hydre

Avec 24 eaux interstitielles toxiques sur les 33 testées (chapitre 3, §2.4), dont certaines sont toxiques à des concentrations de l'ordre du %, nous constatons que l'hydre présente une gamme de sensibilité large et que c'est un organisme d'essai sensible pour évaluer la toxicité des eaux interstitielles.

A l'issue de ce travail :

- nous possédons de nouvelles connaissances sur la sensibilité des hydres aux 8 contaminants métalliques As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn, à quelques molécules organiques hydrophobes, de type PCBs, HAPs et pesticides, et à l'azote ammoniacal,
- nous avons choisi des méthodologies de conservation des échantillons de sédiments (4°C, obscurité, sans oxygène) et d'extraction de l'eau interstitielle (centrifugation 10000g, 30 min, 4°C).

Face aux critiques majeures que présente l'application du bioessai hydre à l'étude de la toxicité des eaux interstitielles (la gamme initiale à tester va de 1 à 100% et, dans 80% des eaux interstitielles toxiques, les résultats sont directement associés à l'absence de mortalité partielle entre deux concentrations successives), nous proposons de modifier le protocole. Cette modification nous permet de tester à nouveau environ 50% des eaux interstitielles toxiques (ce qui représente 58% des cas où aucune mortalité partielle n'est observée), sans rallonger le temps d'expérimentation ni courir le risque que le sédiment conservé ait évolué (24h d'écart entre la première et la seconde extraction d'eau interstitielle).

Une partie des connaissances acquises sur les hydres dans ce chapitre est utilisée dans la suite de notre travail. Il restera à vérifier que le protocole modifié permet de diminuer le nombre de cas où aucune mortalité partielle n'est observée et d'obtenir plus de précision sur les mesures (obtention d'un intervalle de confiance).

# CHAPITRE 4 :

## EVALUATION DE LA QUALITE DE

## SEDIMENTS

---

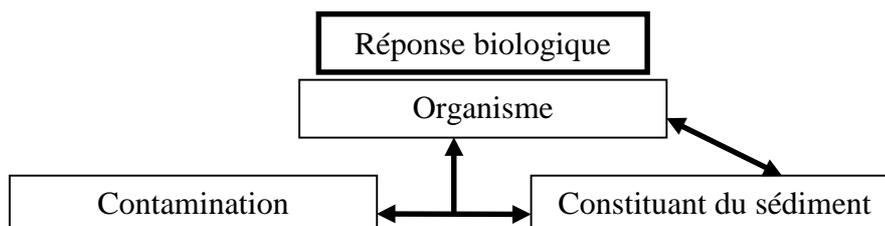
Compte tenu de la capacité des sédiments à piéger les contaminants, à contrôler la biodisponibilité et la toxicité (Karickhoff *et al.*, 1979; Jain et Ram, 1997; Wen *et al.*, 1998), la caractérisation de la matrice sédimentaire est une étape essentielle dans la description générale de la qualité du milieu aquatique.

Dans ce chapitre, nos objectifs sont :

- d'observer les relations entre la réponse biologique (*C. riparius*, *H. azteca* et *H. attenuata*), et les concentrations contaminantes et la biodisponibilité,
- de proposer une batterie de bioessais susceptible d'améliorer la puissance de détection des sédiments toxiques.

Après avoir présenté les sites étudiés, nous décrivons, la composition physico-chimique des sédiments, les concentrations en polluants, les réponses biologiques. A partir de ces données nous cherchons :

- à résumer l'information collectée sur chaque sédiment (une soixantaine de données par sédiment, annexe 6),
- caractériser les interactions possibles entre les caractéristiques des sédiments, les concentrations en contaminants et les organismes selon le schéma simplifié ci-dessous.



Remarques préliminaires :

- l'annexe 6 récapitule l'ensemble des paramètres physico-chimiques et biologiques caractérisant tous les sédiments étudiés.
  - dans les ACP, le cercle principal est le cercle des corrélations ( $r=1$ ), les variables encerclées possèdent un poids factoriel supérieur à 70% sur un axe factoriel (celui que le cercle les contenant recoupe). Les poids factoriels peuvent s'interpréter comme des corrélations entre les variables respectives et les facteurs. Les pourcentages sur les axes, représentent les parts de la variance totale expliquées par chacun des facteurs. N est le nombre de sédiments intervenant dans l'analyse.
- 

## **41 Les sites étudiés**

Dans ce paragraphe, nous présentons les sites et détaillons leur localisation.

### **41.1 Présentation des sites**

Nous travaillons principalement avec des sédiments collectés dans deux zones : le bassin du Rhône, avec ses affluents Saône et Ain (amont et aval de Lyon) (Figure 44) et le bassin de la Moselle, avec son affluent Meurthe (amont de Nancy - aval de Metz) (Figure 45).

Nous étudions aussi trois sédiments issus de zones de dépôt importantes : un sédiment prélevé dans une retenue sur un affluent de la Loire (Q1), et deux autres sédiments prélevés dans deux étangs sur le canal des Houillères (ST, MI) reliant la Sarre à Sarreguemines et le canal de la Marne au Rhin à Gondrexange (Moselle).

Une première représentation des niveaux de pollution des sédiments étudiés, est réalisée à partir de la grille de classification des pollutions métalliques proposée par l'Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse (RMC) (proche de celle de l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse (RM)). Cette grille est construite sur une distribution des concentrations métalliques dans les sédiments français, elle n'est pas formellement reliée à une probabilité d'effet biologique. Son utilisation n'est qu'une étape préliminaire dans la description de la concentration en contaminants des sédiments. Nous affinons ce classement en réalisant, dans la suite de ce travail, des études par site en terme de concentration en contaminants métalliques et organiques et de réponses biologiques.

Pour les sédiments non contaminés et les sédiments fortement contaminés, les réponses biologiques confirment généralement les analyses chimiques (Swartz, 1999). Nous travaillons majoritairement avec des sédiments plutôt suspects (classe M1) que des sédiments fortement pollués (Tableau 30). Ces cas problématiques de pollution sont les cas les plus répandus dans la nature et leur qualité biologique n'est à priori pas prévisible. Outre ces cas "suspects", nous étudions deux sites dans les deux classes de pollution extrêmes, l'une qualifiée de "situation normale" (classe M0, PG) et l'autre de "pollution très importante" (classe M4, Q1).

Tableau 30 : Classement des sédiments étudiés en fonction de leur niveau de contamination métallique, d'après les classes de contamination proposées par l'Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse (1994)<sup>(a)</sup>.

classe	M0 situation normale	M1 situation suspecte	M2 pollution certaine	M3 pollution importante	M4 pollution très importante
Facteur de pollution	FP ≤ 2	FP ≤ 6	FP ≤ 18	FP ≤ 54	FP ≥ 54
bassin du Rhône (Figure 44)	PG_8 PG_10 PG_20	PG_15 J SB SV_18 CR_7 CR_14 CR_16 CR_19 IB_9 IB_12	SV_6		
bassin de la Moselle (Figure 45)		A B2 C2 MZ BL	B1 C1		
canal des Houillères (étangs, Moselle)		MI ST			
bassin de la Loire (retenue, affluent de la Loire)					Q1

<sup>(a)</sup> Classement fait sur le métal le plus déclassant, avec :

Facteur de pollution (FP)=(valeur mesurée)/(valeur standard)

métal (mg/kg)	As	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
Valeur standard (RMC)	5	0.5	25	20	0.1	10	20	75
Valeur standard (RM)	7.5	0.5	20	15	0.1	12.5	20	75

## 4.1.2 Localisation des sites

La Figure 44 et la Figure 45 localisent les sites étudiés dans les bassins du Rhône et de la Meurthe-et-Moselle.

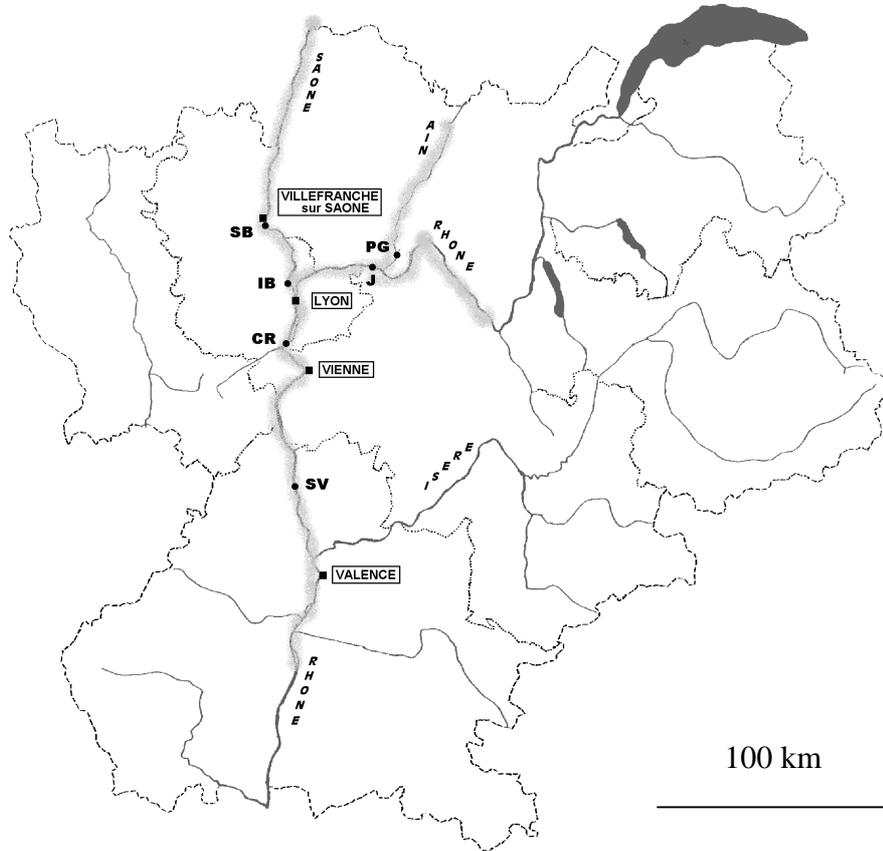


Figure 44 : Cartographie du bassin du Rhône avec la localisation des points étudiés (PG, J, SB, IB, CR, SV).

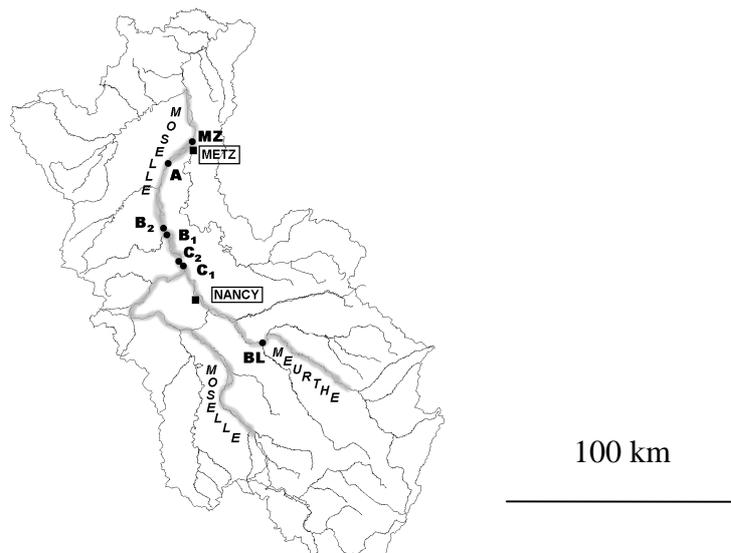


Figure 45 : Cartographie du bassin de la Moselle avec la localisation des points étudiés (BL, C1, C2, B1, B2, A, MZ).

## 41.3 Variabilité temporelle des caractéristiques des sédiments

Dans les sites échantillonnés plusieurs fois (PG et CR 4 fois, SV et IB 2 fois), la physico-chimie, la concentration en contaminants et la toxicité peuvent varier d'une fois sur l'autre (annexe 6).

En plus de l'hétérogénéité spatiale d'un site à l'état d'équilibre, certains phénomènes saisonniers, la baisse d'oxygène dissous en été par exemple (chapitre 2, Figure 2) et des déplacements chaotiques de bancs de sédiments sous l'effet de crues peuvent expliquer les variations de composition, de concentration en contaminants et de toxicité d'un site (Agget et O'Brien, 1985; Burton, 1992).

## 42 Préparation et protocoles d'étude des sédiments

Ce paragraphe présente les méthodes mises en oeuvre pour l'étude des sédiments, du prélèvement et du stockage des échantillons à l'analyse des résultats.

### 42.1 Collecte et stockage des sédiments

Nous décrivons dans ce paragraphe les paramètres mesurés sur le terrain, avant de préciser les techniques de prélèvement des échantillons de sédiment, le mode de conditionnement des prélèvements pour les bioessais de laboratoire et pour les analyses de micropolluants, le transport et la conservation des échantillons.

- **La prise des paramètres sur le terrain**

La teneur en oxygène dissous et la température de l'eau surnageante sont mesurées sur le site de prélèvement. Dans un échantillon de sédiment en place, les sondes pH et Eh (PVRT-CE, Ponselle, France) sont enfoncées 5 à 7 cm sous la surface pour mesurer le potentiel d'oxydoréduction (mV) et le pH.

- **La collecte et le transport des sédiments**

Tous les sédiments sont prélevés à la benne Eckmann ou à la drague (les deux permettent de prélever 5 L sur 10 cm d'épaisseur). Peu de sédiments sont prélevés à la drague : il s'agit des sédiments, prélevés en période d'étiage, sur l'Ain (PG) et sur le Rhône (SV et CR).

Pour les études nécessitant de petits volumes, le sédiment est rapidement homogénéisé dans un récipient avant d'être réparti dans des bocaux de 2 L en verre totalement remplis et fermés hermétiquement. Pour les études nécessitant plus de volume, le sédiment est collecté dans des contenants en plastique alimentaire opaque (polyéthylène), de volume 15, 20 ou 40 L, toujours remplis à ras bord et fermés hermétiquement.

Le sédiment destiné à l'analyse des micropolluants est stocké dans un bocal de 1 L en verre rempli à ras bord (pour éviter l'oxydation au contact de l'air de certains composés). Le sédiment est isolé du joint de caoutchouc qui permet l'étanchéité du bocal par une feuille d'aluminium.

A partir du moment où le sédiment est prélevé, il est conservé à 4°C, à l'abri de la lumière. Les petits volumes de sédiment sont transportés dans des glacières, les grands volumes de sédiment sont entourés de packs réfrigérants pour éviter les échanges thermiques.

- **La conservation des sédiments**

A l'arrivée au laboratoire les sédiments sont immédiatement stockés en chambre froide à 4°C, à l'abri de la lumière. Les échantillons de sédiment destinés à l'analyse des micropolluants, sont acheminés aux laboratoires d'analyse concernés dans les plus brefs délais suivant le prélèvement. Dans la plupart des cas, nous avons réalisé les prélèvements de sédiment 4 jours avant le lancement des études au laboratoire, mais dans les cas où cela n'a pas été possible le stockage en chambre froide n'a jamais excédé deux semaines.

## **42.2 Préparation des sédiments et des eaux interstitielles**

Le sédiment témoin utilisé est du sable de Fontainebleau conditionné. Sa préparation est effectuée selon le protocole présenté dans le chapitre 3 (§1.3.2).

Les gros débris présents dans les sédiments (feuilles, graviers et mollusques) sont enlevés à la main, puis les sédiments humides sont tamisés rapidement sur tamis Inox® de maille 2 mm. Le refus sur 2 mm a toujours représenté moins de 1% (poids sec) du sédiment prélevé sur le terrain. Cela nous permet de standardiser la préparation de nos sédiments, sans trop perturber la structure et les caractéristiques des sédiments (le potentiel d'oxydoréduction augmente en moyenne de 30 mV suite à l'opération de tamisage).

Ce sédiment sert immédiatement pour la caractérisation géochimique (COT, azote total, C/N, humidité relative, perte au feu, texture...), dans les bioessais benthiques et pour l'extraction de l'eau interstitielle (pour les bioessais sur eau interstitielle).

Les analyses physico-chimiques sont également effectuées sur des échantillons de sédiment homogénéisés et tamisés sur 2 mm, afin de caractériser l'ensemble de l'échantillon auquel sont exposés les organismes. Certains auteurs nord-américains ne caractérisent la toxicité et la concentration en contaminants que de la fraction argilo-limoneuse (<63 µm) en considérant qu'il s'agit de la fraction la plus importante quantitativement (les sédiments peuvent être composés de 70 à 90% de particules de  $\varnothing < 63 \mu\text{m}$ ) et qualitativement (plus réactive, potentiellement plus toxique) (Stone et Droppo, 1996). Carral *et al.* (1995) réalisent le dosage des micropolluants sur la fraction <63 µm et étudient la bioaccumulation des contaminants par les organismes exposés au sédiment brut. Pour notre part, nous avons considéré que l'étude de la seule fraction argilo-limoneuse pouvait

entraîner une mésestimation de la concentration toxique dans les sédiments à tendance sableuse ou limoneuse et représenter un facteur de perturbation supplémentaire (déstructuration plus poussée du sédiment) et nous avons décidé d'étudier le sédiment brut.

Les analyses physico-chimiques et les bioessais phase aqueuse sont réalisés sur les eaux interstitielles collectées par centrifugation à haute vitesse (10000 g, 30 min, 4°C), sans filtration ultérieure.

## 42.3 Protocoles des bioessais

Les protocoles des bioessais de toxicité chronique sont ceux définis dans le chapitre 3 §1.8 pour les chironomes et les hyalles et §2.1.2 pour les hydres.

Pour quelques bioessais (SV\_6, CR\_7, CR\_14, PG\_8, IB\_9, IB\_12, SB et J), nous avons travaillé avec un renouvellement semi-continu d'eau à raison de 2 vol/j au lieu d'un renouvellement continu à raison de 4 vol/j (annexe 6). Nous traitons cependant les résultats de la même façon car la qualité de l'eau surnageante tout au long des essais a évolué de la même façon dans les deux cas. De plus il semblerait que, pour des essais avec un renouvellement d'eau quotidien de 1 à 4 vol/j, la qualité de l'eau surnageante reste similaire à celle de l'eau de renouvellement (Ingersoll et Nelson, 1990; Ankley *et al.*, 1993; U.S. Environmental Protection Agency, 1994).

## 42.4 Analyses physico-chimiques et dosages des micropolluants

Les analyses physico-chimiques sont réalisées par trois laboratoires :

- analyses des micropolluants pour les sédiments prélevés sur l'Ain, le Rhône ou la Saône :
  - Laboratoire Départemental d'Analyse de Valence (LDA)  
37 avenue de Lautagne, BP118, 36904 Valence, cedex 9
- analyses des micropolluants pour les sédiments prélevés sur la Moselle et la Meuse :
  - Laboratoire IRH Environnement  
11 bis rue G. Péri, BP286, 54515 Vandoeuvre, cedex
- analyses physico-chimiques classiques des sédiments et des eaux interstitielles :
  - Laboratoire de Chimie, Cemagref de Lyon  
3 bis quai Chauveau, 69336 Lyon, cedex 9

Nous ne détaillons pas les techniques utilisées par les laboratoires pour la caractérisation physico-chimique de la matrice et le dosage des contaminants, les conditions expérimentales étant détaillée par ailleurs (Bonnet *et al.*, soumis).

Les métaux sont dosés par une technique ICP torche à plasma<sup>1</sup> (Cd, Pb, Ni, Cr, Zn, Cu) ou ICP/hydrures<sup>2</sup> (Hg, As) selon la norme NF EN ISO 11885 (1998) pour tous les métaux excepté le mercure (NF EN 1483, 1997). L'utilisation de méthodes conjuguées (HPLC,

<sup>1</sup> Seuil de détection 0,5 mg/kg.

<sup>2</sup> Seuil de détection Hg 0,02 mg/kg et As 0,5 mg/kg.

CPG-FID, CPG-ECD et CPG-SM), permet la détection, à des seuils de détection très variables et fonctions de la molécule et de la technique, des 132 molécules de la liste I de la directive CEE 76/464<sup>1</sup>, qui ont des caractéristiques différentes en terme de polarité et de volatilité. Pour des raisons de coût d'analyse, cette caractérisation poussée est réalisée une fois par site, puis ce sont seulement les molécules détectées qui sont recherchées dans les études suivantes.

Long *et al.* (1998) ont montré que l'utilisation de la limite de détection divisée par deux ou de la valeur nulle, pour décrire les contaminants non détectés, n'influence pas la classification chimique et toxicologique des échantillons. Nous avons décidé de considérer comme nulles les concentrations des composés individuels inférieures aux seuils de détection. Cela permet de minimiser les incohérences dans le traitement des données : la limite de détection peut différer d'un laboratoire à l'autre sans que cela n'influence le traitement des résultats et la sommation de plusieurs valeurs n'est pas influencée par les concentrations inférieures aux seuils de détection.

## **42.5 Analyses des données**

Dans cette étude nous avons eu recours à différentes méthodes statistiques.

L'analyse en composante principale (ACP) est une méthode qui permet d'analyser de nombreuses variables simultanément et de rechercher d'éventuelles relations entre elles, ce qui permet de réduire et classer les variables pertinentes. Elle a été réalisée à l'aide du logiciel Statistica (Statsoft®, version 5.5).

Par ailleurs, différents tests statistiques paramétriques ou non paramétriques ont été réalisés grâce au logiciel Statistica (test U de Mann-Whitney, test T de Wilcoxon, test T de Student, ANOVA, corrélations linéaires et régression linéaires multiples). Ils permettent d'identifier les sédiments significativement toxiques et de décrire des corrélations entre variables chimiques et biologiques.

## **43 La description des sédiments**

### **43.1 Caractéristiques physico-chimiques des sédiments**

Nous résumons ici les valeurs obtenues pour les principaux facteurs de contrôle indirect de la biodisponibilité (Eh, pH, C/N) des contaminants et présentons sous forme de figures les valeurs mesurées pour les facteurs de contrôle direct de la biodisponibilité (teneur en argile-limon, COT) et les composés potentiellement toxiques (ammoniac).

Le potentiel d'oxydoréduction est utilisé pour décrire le degré d'oxydation des sédiments. Il influence la spéciation et la mobilité des contaminants et les activités microbiennes (dégradation de la matière organique). Le potentiel redox des sédiments étudiés varie de -

---

<sup>1</sup> Des herbicides, des triazines, des HAPs (lourds et légers), des phénols/anilines, des solvants, des molécules aromatiques, des chlorobenzènes, des organochlorés et des organophosphorés (LDA 26, 1995).

42 à 148 (mV) ce qui correspond à des sédiments anoxiques (Meyer *et al.*, 1994). Le pH, compris entre 6,5 et 8,5, reste dans une gamme acceptable pour les organismes d'essai (Environment Canada, 1997a; Environment Canada, 1997b) (annexe 6).

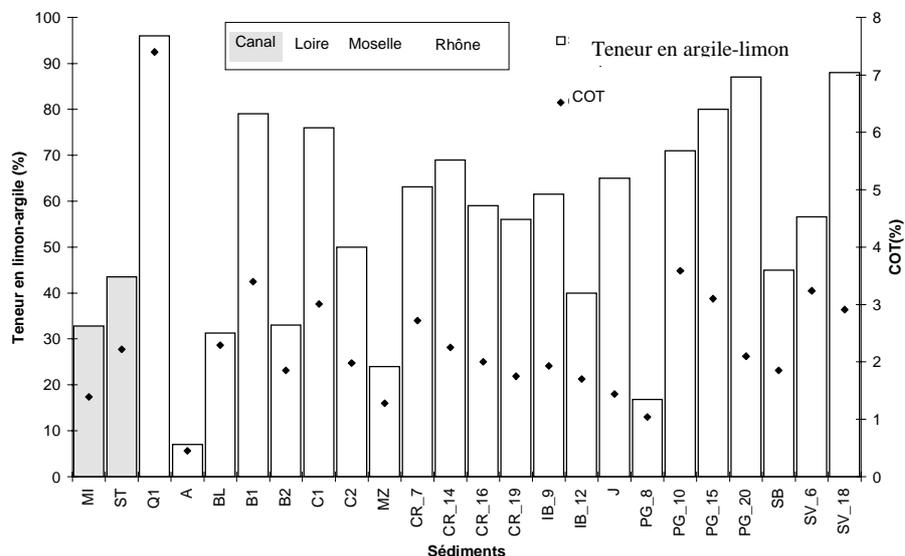


Figure 46 : Texture (exprimée par la fraction de  $\varnothing < 50 \mu\text{m}$  : fraction argilo-limoneuse, en %) et teneur en matière organique (exprimée par la fraction de COT en %) des sédiments.

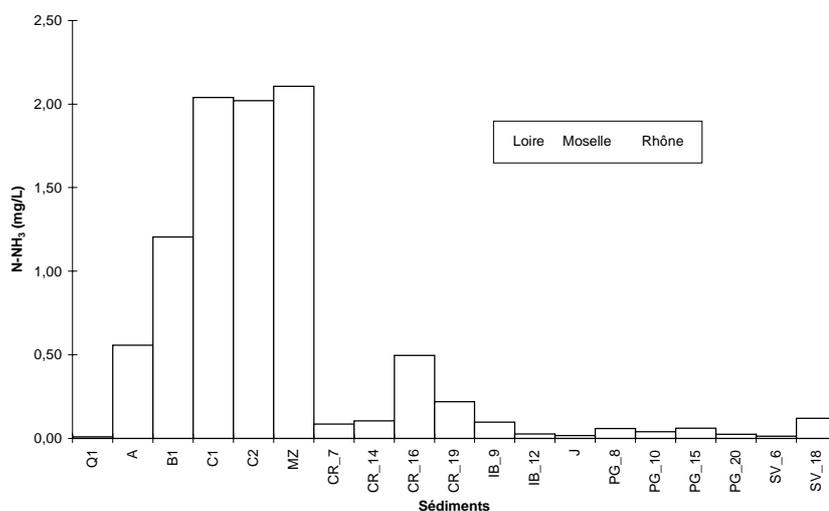


Figure 47 : Concentration en ammoniac de l'eau interstitielle des sédiments (exprimée en mg N-NH<sub>3</sub>/L).

Les sédiments sont constitués de 4 (Q1) à 93% (A) de sable et contiennent de 0,45 (A) à 7,40% (Q1) de carbone organique total (COT) (Figure 46). Les sédiments contiennent de 0,1 à 0,7% d'azote total<sup>1</sup>. La teneur en ammoniac de l'eau interstitielle varie de 2,9 à 67,1 mg N-NH<sub>4</sub>/L (0,01 à 2,10 N-NH<sub>3</sub> mg/L) (Figure 47). Le rapport C/N, compris entre 4,5 et

<sup>1</sup> De manière générale, la teneur de l'azote dans les sédiments peut varier de 0,1 à 4% (Pourriot et Meybeck, 1995).

13, indique que nous sommes en présence de matériel organique plutôt biodégradable (Pourriot et Meybeck, 1995).

Pour la suite de l'étude nous désirons posséder un minimum de descripteurs représentatifs par compartiment étudié : sédiment, contaminant et organisme. Nous tentons de réduire le nombre de variables décrivant la physico-chimie des sédiments et des eaux interstitielles en réalisant des ACPs sur les descripteurs physico-chimiques des sédiments (Figure 48, a et b) et des eaux interstitielles (Figure 50).

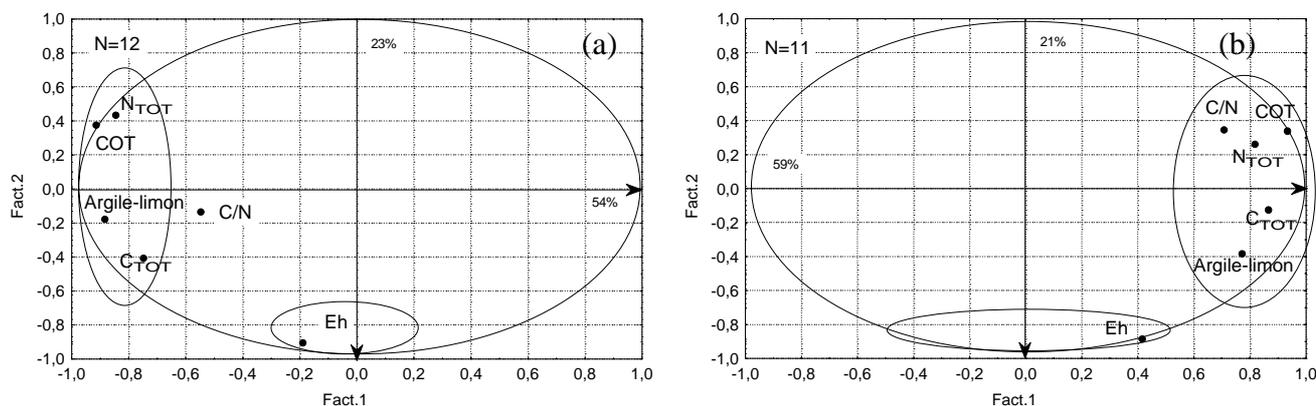


Figure 48 : Analyse en composante principale des caractéristiques des sédiments (COT, C<sub>TOT</sub>, N<sub>TOT</sub>, rapport C/N, Eh, pourcentage de la fraction argilo-limoneuse).

(a) : tous les sédiments, dont l'ensemble des caractéristiques physico-chimiques sont connues, sont étudiés ;

(b) : le sédiment Q1 dont les teneurs en carbone organique et en azote sont hors de l'IC 95% (Figure 49) n'est pas intégré dans l'ACP.

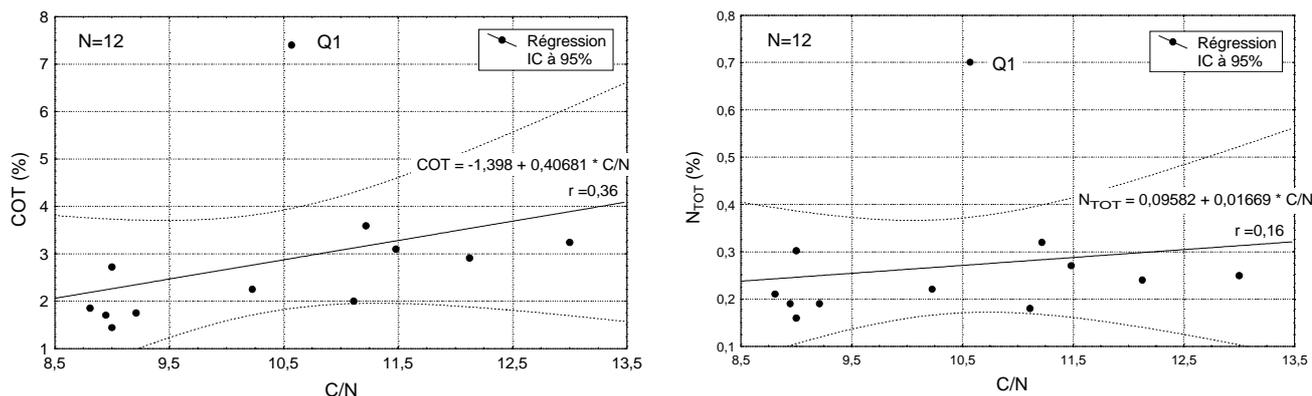


Figure 49 : Représentations des teneurs en carbone organique et en azote total par rapport aux valeurs de C/N pour les N=12 sédiments étudiés dans l'ACP de la Figure 48(a). r : coefficient de corrélation de Pearson. Trait plein : ajustement linéaire entre les deux variables. Traits pointillés : intervalle de confiance 95%.

Une première analyse, permet d'observer que les teneurs en carbone (COT, C<sub>TOT</sub>), azote (N<sub>TOT</sub>), et argile-limon (%) des sédiments sont significativement corrélées (Figure 48, a). Cette corrélation entre matière organique et texture a été observée par de nombreux auteurs

(Karickhoff *et al.*, 1979; Stone et Droppo, 1996). Alors que le COT et l'azote total sont corrélés (coefficient de corrélation de Pearson  $r=0,97^*$ ,  $p<0,05$ ) pour ces 12 sédiments, le rapport C/N n'est significativement corrélé ni à l'un ni à l'autre de ces paramètres qui pourtant servent à son calcul (respectivement  $r=0,36$  et  $r=0,16$ ). Une représentation graphique du rapport C/N en fonction des teneurs en carbone organique et en azote (Figure 49) nous permet d'observer que le sédiment Q1 possède des concentrations en carbone et en azote 2 à 5 fois plus importantes que les autres sédiments étudiés. L'exclusion de ce sédiment dans une nouvelle ACP nous permet d'observer que le rapport C/N devient corrélé aux teneurs en carbone (COT,  $C_{TOT}$ ), azote ( $N_{TOT}$ ), et argile-limon (Figure 48, b). Dans les sédiments, les teneurs en carbone organique total, carbone total, azote total ou en argile-limon sont corrélées et l'observation d'une variable peut les décrire toutes.

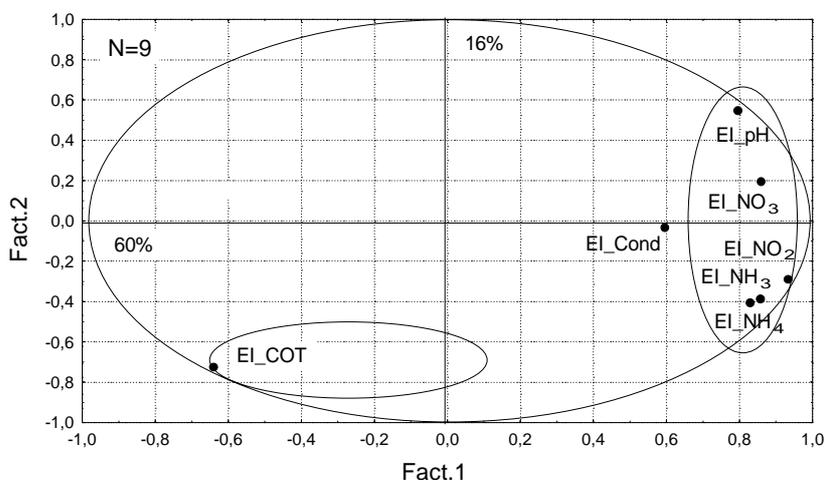


Figure 50 : Analyse en composante principale des caractéristiques des eaux interstitielles (pH, conductivité, carbone organique, nitrate, nitrite, ammoniac et ion ammonium).

Nous constatons, dans une seconde analyse sur les variables décrivant la physico-chimie des eaux interstitielles, que la charge carbonée, représentée par le COT, n'est pas corrélée à la charge azotée (Figure 50).

Dans les eaux interstitielles, l'information sur les différents constituants azotés de l'eau interstitielle peut être résumée par la description d'un de ces constituants mais la concentration en carbone organique total doit être indiquée séparément.

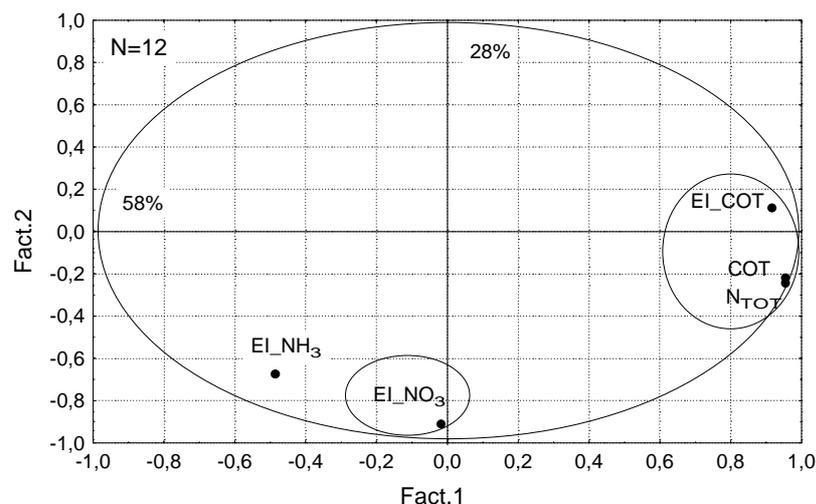


Figure 51 :Analyse en composante principale des caractéristiques des eaux interstitielles et des sédiments.

Nous utilisons la teneur en ammoniac, en nitrate et en carbone organique total pour caractériser les charges azotées et carbonées des eaux interstitielles et nous les comparons à la teneur en carbone organique et en azote des sédiments dans une ACP (Figure 51). Cette comparaison nous permet d'observer que la charge carbonée du sédiment brut et celle de l'eau interstitielle sont bien corrélées (coefficient de corrélation de Pearson  $r=0,82^*$  ;  $N=12$ ,  $p<0,05$ ), alors que ce n'est pas le cas pour les charges azotées ( $r=-0,31$  pour l'ammoniac et  $r=0,16$  pour le nitrate comparés à l'azote total du sédiment ;  $N=12$ ) (Figure 51). La teneur en ammoniac, contaminant naturel important dans les eaux interstitielles, ne peut être estimée à partir des teneurs en matière organique ou en azote total du sédiment et doit être évaluée directement dans l'eau interstitielle.

#### • Conclusion

L'information physico-chimique collectée dans nos sédiments peut être résumée comme suit : le carbone organique total (COT) peut être utilisé, comme descripteur synthétique de la composition physico-chimique des sédiments. Le COT peut résumer la charge carbonée du sédiment brut et celle de l'eau interstitielle car elles sont corrélées. L'ammoniac peut être utilisé pour caractériser les charges azotées de l'eau interstitielle.

## 43.2 Concentration en contaminants des sédiments

Sur l'ensemble des sédiments étudiés, parmi toutes les molécules recherchées, 28 molécules différentes ont été détectées (annexe 6).

Les métaux et les HAPs sont les contaminants les plus ubiquistes. Ils sont présents dans le bassin du Rhône et celui de la Moselle, sur le canal des Houillères et dans l'affluent de Loire. Les PCBs ne sont pas détectés à l'amont de Lyon (bassin du Rhône), et dans les sédiments d'étang (MI et ST) (annexe 6). Une analyse rapide sur l'ensemble des sédiments étudiés (Tableau 31) nous permet d'observer qu'il n'existe pas, à première vue, de

corrélations entre la concentration en composés métalliques et métalloïdes, en HAPs et en PCBs.

Tableau 31 : Coefficients de corrélation de Pearson ( $r$ ), calculés entre les principales familles de contaminants représentées par la somme des métaux, la somme des HAPs et la somme des PCBs dans les sédiments ( $p < 0,05$ ).  $N=23$ .

Famille de contaminants	somme des Métaux	somme des PCBs	somme des HAPs
somme des Métaux	1		
somme des PCBs	0,35	1	
somme des HAPs	0,20	0,12	1

Sur le bassin du Rhône (Figure 44) nous observons un gradient de contamination entre l'amont et l'aval de Lyon, avec une contamination de type PCB, qui apparaît à l'aval de Lyon (Figure 52), et métallique sur toute la zone étudiée (Figure 53).

Sur le tronçon Meurthe-Moselle étudié (Figure 45), une contamination métallique (Figure 53) et organique (HAPs, Figure 52) est présente dès l'amont de Nancy (BL).

Le sédiment Q1 (retenue sur la Loire) renferme principalement des métaux (Figure 53), mais des micropolluants organiques (Figure 52) sont aussi présents. C'est le sédiment le plus contaminé en Aroclor 1254, avec 1,41 mg/kg.

Les sédiments du canal des Houillères (MI, ST) contiennent des métaux (Figure 53) et des HAPs et, à un niveau moindre, des PCBs (Figure 52).

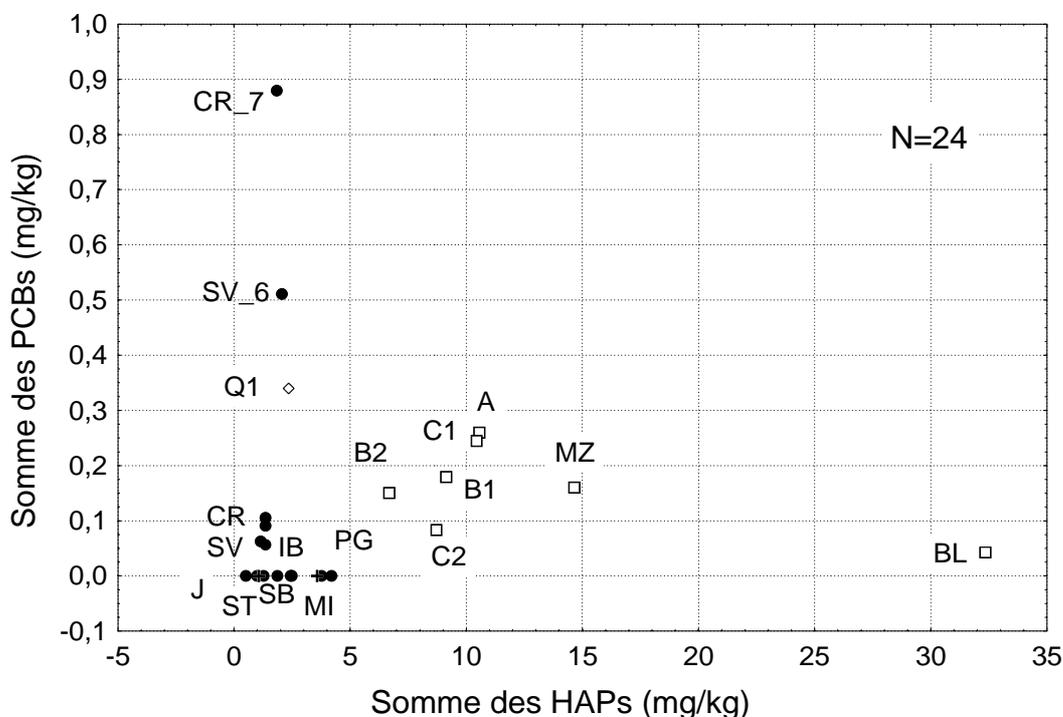


Figure 52 : Concentration en micropolluants organiques (concentration totale en HAPs et en PCBs) dans les sédiments en fonction des bassins étudiés. Les zones géographiques Rhône (●) et Moselle (◻), et les sédiments de retenue (◇) et de canaux (+) sont différenciés.

En suivant la même démarche que dans le paragraphe précédent, après avoir présenté la concentration en contaminants des sédiments, nous cherchons à savoir si elle peut être résumée par quelques variables.

• **Les métaux**

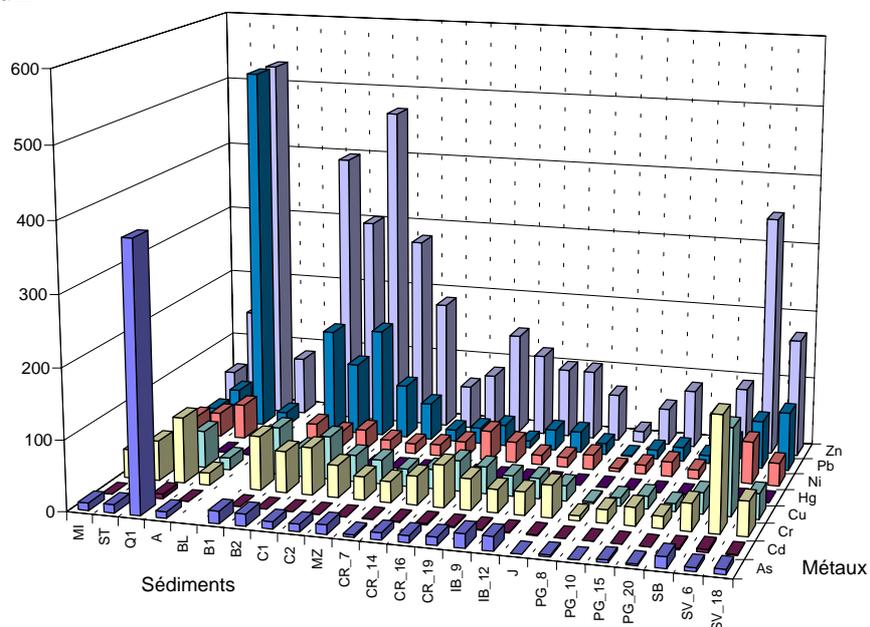


Figure 53 : Concentrations en métaux des sédiments étudiés, exprimées en mg/kg.

Sur les 24 sédiments étudiés, les métaux n’ont pas été mesurés dans un cas (BL). Le chrome, le cuivre, le plomb et le zinc sont détectés dans tous les sédiments étudiés. Le nickel, l’arsenic, le mercure et le cadmium sont détectés respectivement dans 96, 91, 83 et 48% des sédiments. La gamme de concentration en métaux varie de 0,9 mg/kg (Cd dans CR\_7) à 530 mg/kg (Pb et Zn dans Q1) (Figure 53).

Le sédiment Q1 est un échantillon extrême dans notre jeu de données, il ne contient pas de mercure, il contient plus de 500 mg/kg de plomb et de zinc, et la concentration d’arsenic est 20 à 170 fois supérieure à celles observées dans les autres sédiments (Figure 53). Il sera analysé à part.

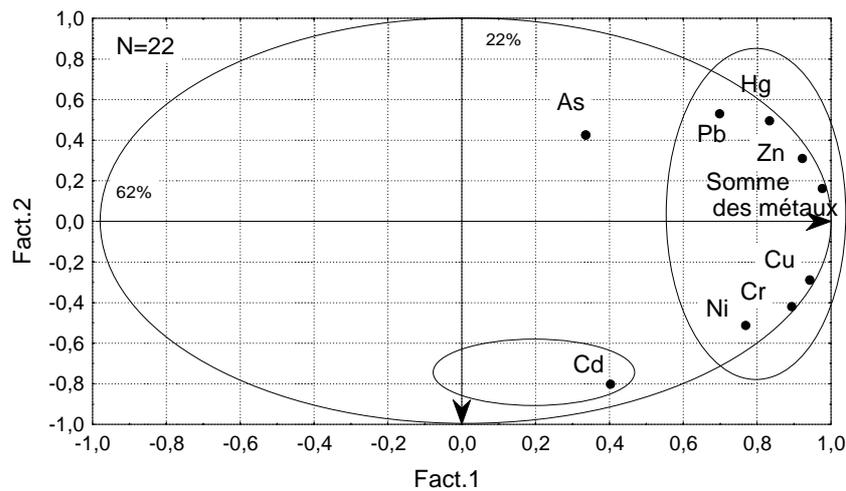


Figure 54 : Analyse en composante principale de la concentration en métaux (mg/kg) des sédiments. Le sédiment Q1, dont la concentration métallique est très élevée (Figure 53), n'est pas représenté dans ce jeu de données.

Une ACP sur les concentrations métalliques présentes dans les sédiments nous permet d'observer que chaque métal, exceptés l'arsenic et le cadmium, est significativement corrélé à la somme des métaux (coefficient de corrélation de Pearson  $r$  compris entre 0,67 et 0,98 ;  $N=22$ ) (Figure 54).

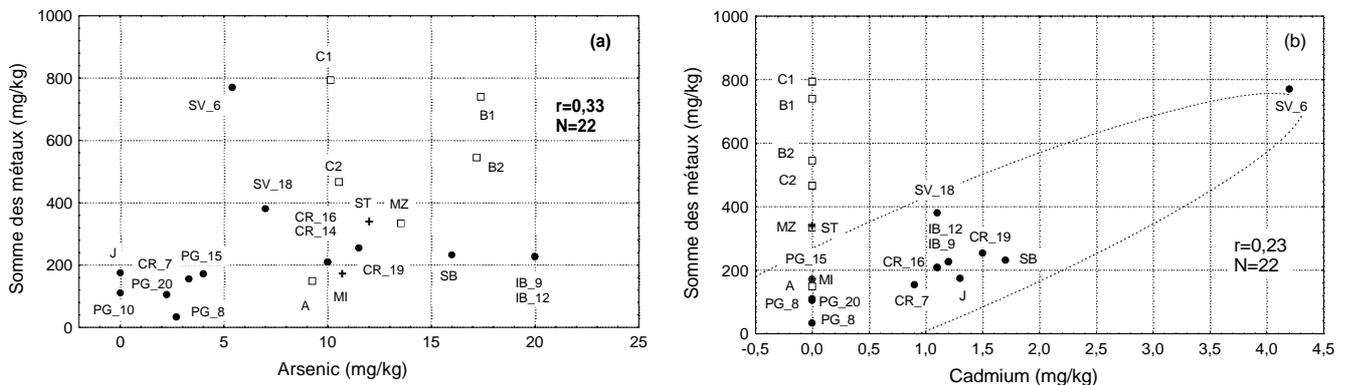


Figure 55 : Description des sédiments en fonction de leur concentration totale en métaux et de leur concentration en arsenic (a) ou en cadmium (b).

Le sédiment Q1, dont la concentration métallique est très élevée (Figure 53), n'est pas représenté dans ce jeu de données. Les zones géographiques Rhône (●) et Moselle (□), et les sédiments de canaux (+) sont différenciés.

L'absence de corrélation entre la somme des métaux et l'arsenic peut s'expliquer par le fait que les concentrations de ce métal sont toujours faibles (<20 mg/kg) et qu'elles participent peu à la somme des métaux (Figure 55, a).

En ce qui concerne le cadmium, outre le fait que comme pour l'arsenic les concentrations présentes sont faibles (<7 mg/kg), nous observons la présence d'un effet "bassin", avec une absence de cadmium dans le bassin de la Moselle, et une gamme de concentration

significativement corrélée à la somme des métaux sur le bassin du Rhône (coefficient de corrélation de Pearson  $r=0,94$  ;  $N=17$ ) (Figure 55, b).

Sur le bassin du Rhône, comme sur celui de la Moselle et dans le canal des Houillères, la somme des métaux résume bien la concentration de tous les métaux excepté celle de l'arsenic (Figure 55, a) qui devra être analysée à part.

#### • Les HAPs et PCBs

Dans notre panel de sédiment, l'Aroclor 1254, 8 PCBs (congénères IUPAC 28, 52, 101, 118, 138, 153, 170, 180) (Tableau 32), et 15 HAPs sont détectés (Tableau 33). La gamme de concentration de ces produits organiques varie de 0,002 à 0,706 mg/kg pour les PCBs et de 0,02 à 0,49 mg/kg pour les HAPs.

*Tableau 32 : Nombre de sédiments (exprimé en %) qui contiennent des PCBs et concentrations minimales, médianes et maximales de ces PCBs mesurées dans les sédiments étudiés (exprimées en mg/kg). N=24 sédiments.*

PCB	Sédiments contaminés (%)	Concentration minimale	Concentration médiane <sup>(a)</sup>	Concentration maximale
Congénère 170	8	0,010	0,010	0,029
Aroclor 1254	17	0,083	0,335	1,410
Congénère 28	25	0,008	0,022	0,144
Congénère 52	33	0,002	0,014	0,096
Congénère 101	38	0,008	0,020	0,064
Congénère 118	50	0,007	0,025	0,184
Congénère 153	50	0,006	0,021	0,706
Congénère 180	50	0,002	0,016	0,084
Congénère 138	54	0,009	0,025	0,120

<sup>(a)</sup> : concentration médiane calculée à partir des concentrations supérieures à la limite de détection.

Selon les congénères, les PCBs sont détectés dans 8 à 54% des sédiments (respectivement pour le congénère 170 et le congénère 138) (Tableau 32).

Excepté les congénères 28 et 170, qui sont peu présents dans nos sédiments (PCB170 dans Q1 et CR\_19, PCB28 dans B1, B2, C1 et MZ), tous les PCBs sont significativement corrélés à la somme des PCBs (coefficient de corrélation de Pearson  $r$  compris entre 0,43 et 0,91 ;  $N=24$ ).

Tableau 33 : Nombre de sédiments (exprimé en %) qui contiennent des HAPs et concentrations minimales, médianes et maximales de ces HAPs mesurées dans les sédiments étudiés (exprimées en mg/kg). N=24 sédiments.

HAP	Sédiments contaminés (%)	Concentration minimale	Concentration médiane <sup>(a)</sup>	Concentration maximale
Naphtalène	8	0,042	0,071	0,100
Fluorène	17	0,050	0,281	0,600
Acénaphthène	21	0,029	0,070	0,370
Dibenzo(a,h)anthracène	33	0,020	0,030	0,710
Benzo(ghi)pérylène	58	0,040	0,465	1,820
Indéno(1,2,3-cd)pyrène	58	0,050	0,365	1,840
Anthracène	67	0,040	0,140	0,700
Benzo(a)anthracène	92	0,050	0,290	2,870
Phénanthrène	92	0,110	0,280	3,440
Benzo(a)pyrène	96	0,050	0,210	2,300
Benzo(b)fluoranthène	96	0,050	0,300	2,880
Benzo(k)fluoranthène	96	0,030	0,125	1,510
Chrysène	96	0,100	0,320	2,860
Fluoranthène	96	0,039	0,490	6,300
Pyrène	100	0,140	0,380	4,230

<sup>(a)</sup> : concentration médiane calculée à partir des concentrations supérieures à la limite de détection.

La plupart des HAPs détectés sont présents dans plus de 90% des échantillons et seuls l'acénaphthène, le dibenzo(a,h)anthracène, le fluorène, et le naphtalène sont présents dans moins de 50% des échantillons (Tableau 33).

Excepté le naphtalène, qui est présent dans seulement deux échantillons (CR\_7 et CR\_19), tous les HAPs sont significativement corrélés à la somme des HAPs (coefficient de corrélation de Pearson r compris entre 0,76 et 0,99 ; N=24).

Dans une première étape, pour étudier les liens possibles entre réponse biologique et contamination, nous utilisons la somme des PCBs et celle des HAPs, les congénères 28 et 170 et le naphtalène sont analysés au cas par cas.

#### • Les autres molécules

Certaines molécules sont présentes seulement dans quelques sédiments :

- parmi les solvants chlorés seul le tétrachloroéthylène (SV\_6) et le tétrachlorure de carbone (CR\_7) ont été détectés,
- des hydrocarbures lourds ont été détectés dans deux sédiments (SV\_6, CR\_14),
- des anilines (3,4-dichloroaniline et 2,4,6-trichloroaniline) sont détectées, respectivement dans le sédiment Q1 et dans les sédiments CR\_7, SV\_6.

La dichloroaniline (DCA), le tétrachloroéthylène, le tétrachlorure de carbone, présents dans un seul sédiment (Q1), ne sont pas intégrés dans les ACPs qui vont suivre. Nous utilisons la somme des PCBs pour représenter les autres molécules qui sont significativement corrélées à la somme des PCBs (coefficient de corrélation de Pearson r compris entre 0,77 et 0,85 ; N=24).

Bien que recherchés, les pesticides organochlorés et organophosphorés, les triazines, les urées substituées, les carbamates, les hydrocarbures légers, et les phénols et chlorophénols n'ont pas été détectés.

- **Conclusion**

La réalisation d'une ACP (Figure 54) ou d'études de corrélation nous permet d'observer que nous pouvons résumer l'information chimique en utilisant la somme des métaux, la somme des PCBs et la somme des HAPs. Les effets des contaminants dont la concentration n'est pas corrélée à la somme qui décrit leur famille chimique sont étudiés à part (l'arsenic pour les métaux, les congénères 28 et 170 pour les PCBs, le naphtalène pour les HAPs, la DCA pour les anilines).

### **43.3 Interactions physico-chimie du sédiment et concentrations en contaminants**

A l'aide de trois régressions linéaires multiples (mode de régression progressive ; "stepwise regression", logiciel Statistica, Statsoft®, version 5.5), nous avons recherché les liens possibles entre la somme des métaux, la somme des HAPs ou la somme des PCBs et les composantes physico-chimiques du sédiment (COT, teneur en argile, pH, Eh, CaCO<sub>3</sub>, C/N).

Sur les N=12 sédiments pour lesquels l'ensemble des variables est renseigné nous excluons Q1 en raison de sa concentration métallique trop importante qui lui donne un poids élevé dans l'étude par rapport à tous les autres sédiments.

Aucune de ces trois régressions linéaires n'est statistiquement significative. Les concentrations associées aux grandes classes de contaminants (représentées par la somme des métaux, la somme des HAPs et la somme des PCBs) ne sont pas significativement corrélées à la texture (fraction argilo-limoneuse <50 µm), à la qualité de la matière organique ou à sa concentration (rapport C/N, concentration en COT), au potentiel d'oxydoréduction ou à la composante carbonatée des sédiments. Dans une analyse plus détaillée, nous n'observons pas de corrélations entre la somme des métaux, la somme des HAPs ou la somme des PCBs et chacune des composantes physico-chimiques du sédiment utilisée dans la régression (COT, teneur en argile, pH, Eh, CaCO<sub>3</sub>, C/N).

Nous avons observé une corrélation significative ( $r=0,69^*$  ; N=20) entre l'ammoniac et la somme des HAPs. L'ammoniac peut être un marqueur de pollution organique du milieu et sa cooccurrence avec d'autres contaminants n'est pas étonnante.

Cette absence de lien entre la composition des sédiments et la concentration en contaminants est à discuter par rapport à d'autres études qui montrent que les métaux (Förstner, 1990; Fu et Allen, 1992; De Gregori *et al.*, 1996; Jain et Ram, 1997) et les molécules organiques (Karickhoff *et al.*, 1979) sont associés aux particules les plus fines des sédiments qui ont des charges spécifiques et des surfaces développées plus importantes. Ces études montrent l'existence d'une corrélation positive entre la présence d'argile, de limon et de matière organique et la concentration en contaminants.

Dans notre étude, ce phénomène n'est pas observé. Des pistes possibles pour discuter de ces différences entre nos résultats et ceux des autres auteurs sont :

- la taille de notre échantillon (N=12) qui permet difficilement de mettre en évidence des liens entre variables,
- l'intervention d'autres phases de liaison que la matière organique et les argiles, notamment la présence d'oxydes de fer et de manganèse, de sulfures pour piéger les contaminants (Borovec, 1993; Piérard *et al.*, 1996).

### • Conclusion

Dans nos sédiments, nous n'observons pas de lien entre la physico-chimie des sédiments (COT, teneur en argile, pH, Eh, CaCO<sub>3</sub>, C/N) et les concentrations en contaminants (somme des HAPs, PCBs et métaux), excepté pour l'ammoniac et la somme des HAPs.

## 44 La réponse des organismes d'essais

Après avoir décrit la géochimie et la concentration en contaminants des sédiments, nous décrivons dans ce paragraphe les réponses biologiques obtenues dans les sédiments étudiés avec *C. riparius*, *H. azteca* et *H. attenuata*, discutons et comparons les réponses de ces trois organismes.

### 44.1 *C. riparius* et *H. azteca*

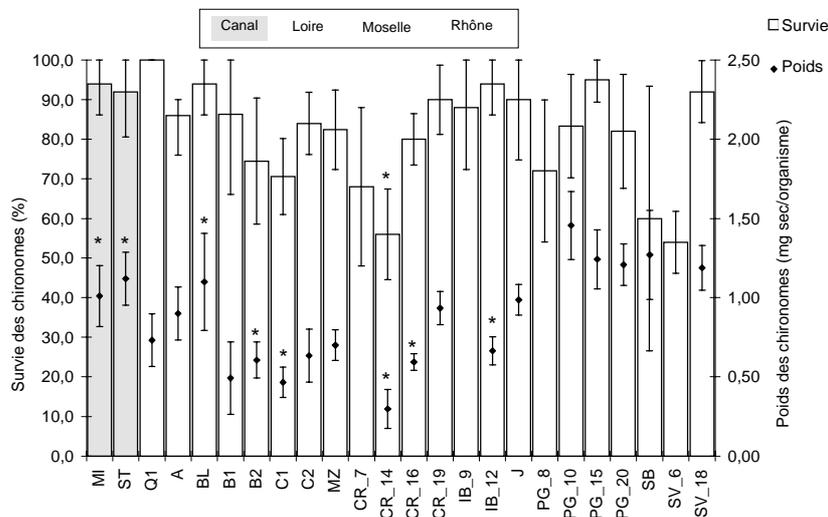


Figure 56 : Survie et croissance de *C. riparius* dans les sédiments. \* : réponse significativement différente de celle du témoin (non représentée). Les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance 95%.

Sur tous les sédiments auxquels *C. riparius* a été exposé (N=24), sa survie n'est significativement affectée que dans un sédiment (CR14) (Figure 56) et pour 20 des 24 sédiments étudiés, le taux de survie de *C. riparius* reste supérieur à 70%. La survie de cet organisme ne semble donc pas être discriminante pour caractériser la contamination des sédiments de notre étude.

La mortalité de certains organisme pouvant influencer la croissance des autres (plus d'espace et plus de nourriture pour les organismes survivants ), l'étude des mesures sublétales n'est pertinente que si aucun effet léthal significatif n'est observé.

Dans les sédiments étudiés, la survie de *C. riparius* n'est significativement affectée que dans un cas (CR\_14), l'observation du poids semble être un critère intéressant.

La croissance (poids sec moyen/organisme) est significativement affectée dans 8 sédiments sur les 20 testés (Figure 56).

Nous avons vu dans le chapitre 3 (§1.7), qu'avec 5 réplicats, un effet sur le poids ne peut être détecté 9 fois sur 10 que si l'écart entre le résultat du témoin et celui du sédiment est supérieur ou égal à 67%. Dans cette étude, l'obtention de coefficients de variation (CV) faibles dans les témoins permet, malgré le nombre de réplicats réduits (n=5), d'observer des écarts significatifs entre les réponses des témoins et celles des sédiments.

Des valeurs de poids <0,75 mg sec/organisme (sédiments B1, C2, MZ et IB\_12) ne sont pas significativement différentes du témoin, alors que d'autres valeurs >1 mg sec/organisme (sédiments MI, ST et BL) sont significativement différentes du témoin.

Ces résultats peuvent s'expliquer par :

- les réponses des témoins qui sont plus ou moins performants.

Une survie importante et un écart type réduit augmentent la capacité du bioessais à détecter une différence significative.

- l'absence de jeûne préalablement à la pesée.

Dans les sédiments de texture fine (<150 µm) le jeûne induit une diminution significative du poids des organismes (Sibley *et al.*, 1997b). Dans nos études, les organismes n'ont pas été purgés à la fin de l'essai mais l'utilisation d'un sédiment témoin sableux n'induit pas de biais sur le poids des organismes témoins. Le seul risque d'erreur réside pour les sédiments fins contaminés où un effet pourrait ne pas être détecté. Cependant si le traitement est le même pour tous les organismes ce biais est réduit : les témoins non purgés seront aussi « plus lourd » et c'est l'écart entre les deux moyennes (témoin et sédiment testé) qu'il faut considérer. De plus, le jeûne, dans une eau claire, peut aussi induire un stress pour ces organismes qui sont benthiques.

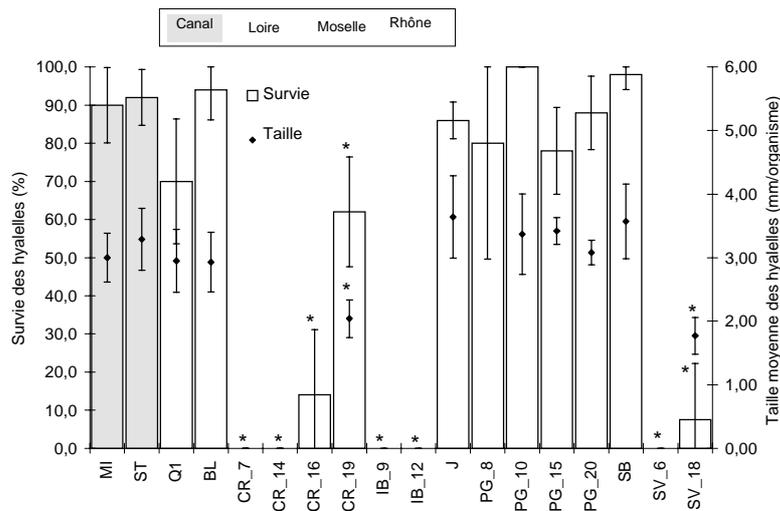


Figure 57 : Survie et croissance de *H. azteca* dans les sédiments. \* : réponse significativement différente de celle du témoin (non représentée). Les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance 95%.

L'observation de la létalité nous indique que *H. azteca* est plus sensible que *C. riparius* : sur 18 sédiments étudiés, 8 affectent significativement la survie des amphipodes (Figure 57). Cependant le type de réponse de *H. azteca* est plutôt qualitatif (mortalité importante ou survie importante) : l'amphipode ayant une survie inférieure à 15% dans 88% (7/8) des sédiments significativement toxiques et une survie supérieure à 80% dans 90% (9/10) des sédiments significativement non toxiques.

Dans les 11 sédiments où la survie et la taille des amphipodes sont mesurées, ces deux mesures donnent la même information, dans 9 cas la survie et la taille des organismes exposés aux sédiments ne sont pas significativement différentes de celles mesurées dans les témoins, et dans 2 cas elles sont significativement différentes toutes les deux (Figure 57). Pour notre jeu de données réduit, la mesure de la taille donne une information redondante avec la survie.

## 44.2 *H. attenuata*

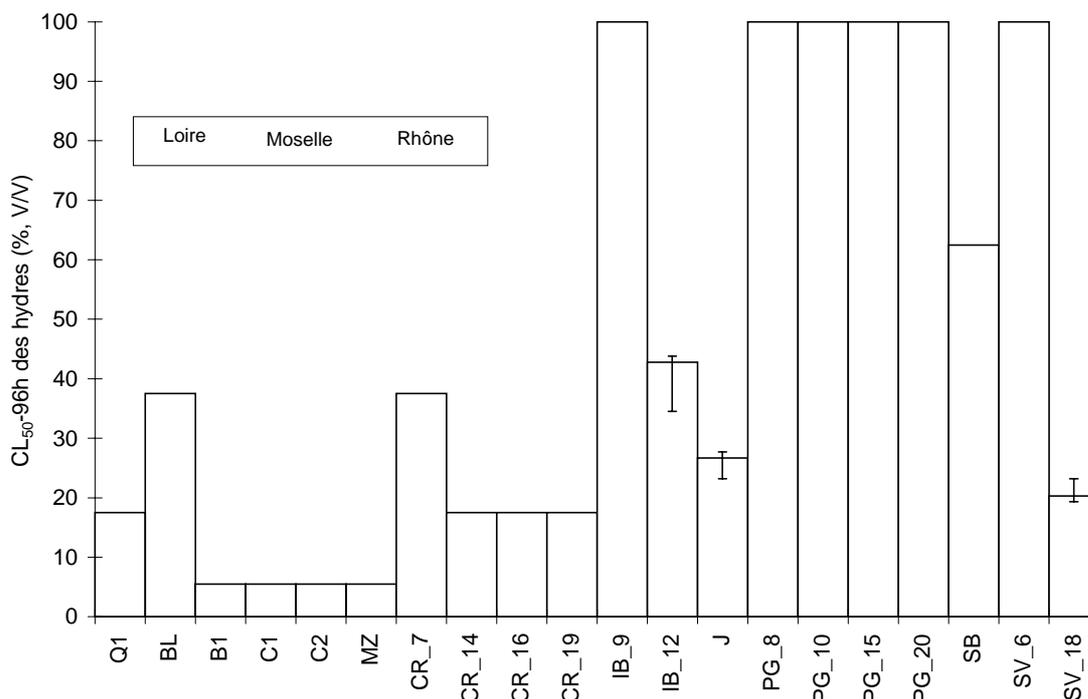


Figure 58 : CL<sub>50-96 heures</sub> de *H. attenuata* exposées aux eaux interstitielles des sédiments étudiés. Les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance 95%.

Compte tenu des nombreux cas où aucune mortalité partielle n'est observée (17/20), la CL<sub>50</sub>, la CL<sub>10</sub> et la CSE sont significativement corrélées (coefficient de corrélation de Pearson  $r=0,99^*$  ;  $N=20$ ,  $p<0,05$ ). Nous utiliserons la mesure de la CL<sub>50</sub> pour comparer la sensibilité des hydres aux autres organismes et pour étudier leur réponse en fonction des contaminants présents dans le sédiment.

Dans 2/3 des cas où une toxicité est mise en évidence sur sédiment par un organisme benthique ou épibenthique, la CL<sub>50</sub> des hydres est inférieure à 25% (une dilution au quart, ou moins, de l'eau interstitielle suffit pour entraîner la mort de 50% de la population d'hydres exposées).

## 44.3 Sensibilité comparée des différents organismes

### • Comparaison des réponses des différents organismes

Tableau 34 : Corrélation ( $r$ ) entre les survies de *C. riparius*, *H. azteca* et *H. attenuata*, pour  $N=16$  sédiments.

coefficient de corrélation de Pearson ( $r$ )	survie (%) <i>C. riparius</i>	survie (%) <i>H. azteca</i>	CL <sub>50-96h</sub> (%) <i>H. attenuata</i>
survie (%) <i>H. azteca</i>	0,26	1,00	0,24
CL <sub>50-96h</sub> (%) <i>H. attenuata</i>	-0,19	0,24	1,00

Les survies des trois organismes d'essai ne sont pas corrélées (Tableau 34). Les seules corrélations significatives à  $p < 0,05$  sont observées entre le taux de survie et la taille des amphipodes ( $r=0,83^*$  ;  $N=11$ ) et entre le poids des chironomes et la survie des hydres

évaluée par la  $CL_{50-96h}$  ( $r=0,77^*$  ;  $N=16$ ). L'information fournie par ces trois organismes n'est a priori pas redondante.

En étudiant les résultats des bioessais sous forme de valeurs quantitatives nous n'observons une corrélation qu'entre la survie des hydres et le poids des chironomes. Nous décidons de transformer ces informations quantitatives en variables qualitatives en les codant pour observer si de nouvelles tendances apparaissent.

- **Codage des réponses**

*C. riparius* et *H. azteca*

Les sédiments pour lesquels les réponses biologiques de *C. riparius* et *H. azteca* ne sont pas significativement différentes du témoin ( $p>0,05$ ) sont classés comme non toxiques (-), et les sédiments dans lesquels les réponses biologiques sont significativement différentes du témoin ( $p>0,05$ ) sont classés comme toxiques. Pour classer les sédiments toxiques selon le niveau de fiabilité de la réponse, suivant la démarche de Long *et al.* (1998), nous différencions les sédiments légèrement toxiques (+) des sédiments fortement toxiques (++) . Les sédiments pour lesquels les résultats sont significativement différents du témoin, mais dont l'écart au témoin est inférieur à la MDD<sup>1</sup>, sont classés comme légèrement toxique et ceux pour lesquels les résultats sont significatifs et supérieurs à la MDD sont classés comme fortement toxiques.

*H. attenuata*

Pour classer les eaux interstitielles selon leur niveau de toxicité, nous avons arbitrairement codé la réponse du bioessai hydre en fonction du taux de dilution de l'eau interstitielle nécessaire à l'obtention de la  $CL_{50}$ . Afin d'avoir 3 classes, comme pour le codage des réponses sur sédiment, nous avons décidé que les échantillons d'eau interstitielle pour lesquels aucun effet n'est détecté ( $CL_{50}$  non calculable) seraient classés comme non toxiques (-), ceux pour lesquels la  $CL_{50}$  est obtenue pour une dilution de plus du quart de l'eau interstitielle seraient classés comme fortement toxiques (++) et les échantillons dans lesquels les réponses biologiques sont observées pour des eaux diluées à moins du quart seraient classés comme toxiques (+).

Suite au codage des différentes réponses biologiques nous proposons un tableau (Tableau 36) qui nous donne un aperçu de la sensibilité des organismes benthiques vis-à-vis des sédiments étudiés.

Pour les 18 échantillons de sédiment étudiés à la fois avec *C. riparius* et *H. azteca* nous constatons que nos organismes donnent des résultats divergeants pour 8 sédiments (IB\_9, CR\_7, CR\_19, SV\_18, SV\_6, BL, MI, ST).

---

<sup>1</sup> La MDD (différence minimale détectable) est calculée dans le chapitre 3, §1.7. Pour détecter 90% des échantillons toxiques, elle est de 32% pour la survie des chironomes, de 20% pour la survie des hyalles, de 33% pour la taille des hyalles et de 67% pour le poids des chironomes.

Sur le bassin du Rhône, la hyalelle est plus sensible que le chironome (5 sédiments) alors que c'est l'inverse pour le canal des houillères et le bassin de la Moselle (3 sédiments).

Pour les sédiments considérés comme amont sur le bassin du Rhône (AR, J, PG) nous n'observons pas (*C. riparius* et *H. azteca*) ou peu (*H. attenuata*) d'effets biologiques. A l'inverse dès l'aval de Lyon la survie ou/et la croissance des organismes étudiés sont perturbées (Figure 44).

Pour les sédiments de la Moselle (non étudiés avec les hyalelles), dès le premier point amont de Nancy (Figure 45, BL) nous observons un effet sur la croissance des chironomes et la survie des hydres, cet effet existe tout au long de la zone étudiée avec les hydres alors qu'il semble moins marqué avec les chironomes (l'effet n'apparaît pas significatif, mais le poids est néanmoins assez faible, compris entre 0,49 et 0,90 mg sec/organisme).

En observant les réponses d'un point de vue qualitatif avec le Tableau 36, nous constatons que :

- les hydres exposées aux eaux interstitielles, détectent une toxicité plus souvent que les organismes exposés au sédiment brut : 75% (15/20) des sédiments étudiés avec le bioessai hydre sont toxiques contre 44% (8/18) pour les hyalelles et 33% (8/24) pour les chironomes. En réduisant l'observation aux sédiments caractérisés simultanément avec les trois bioessais, le classement reste le même : 63% (10/16) des sédiments testés sont toxiques vis-à-vis des hydres, contre 50% (8/16) et 25% (4/16) pour les hyalelles et les chironomes.

- dans 44% des sédiments étudiés simultanément avec les chironomes et les hyalelles (8/18), les organismes donnent des informations divergeantes (Tableau 35). Cela peut être du à des voies d'exposition ou à des sensibilités différentes (chapitre 2, §2.2.3 et §2.2.4).

Tableau 35 : Pourcentages de recoupement des réponses des bioessais avec *C. riparius*, *H. azteca* (survie ou croissance) et *H. attenuata* ( $CL_{50}$ -96h) dans les sédiments étudiés, établis à partir du Tableau 36.

	<i>C. riparius</i>	<i>H. azteca</i>
<i>H. azteca</i>	<b>56%</b> (10/18)	
<i>H. attenuata</i>	<b>61%</b> (11/18)	<b>63%</b> (10/16)
<i>H. azteca</i> + <i>H. attenuata</i>	<b>44%</b> (7/16)	

- pour les 16 sédiments étudiés avec la batterie complète de bioessais nous constatons que 10 sédiments sont toxiques vis-à-vis des hydres, 2 sédiments supplémentaires sont toxiques vis-à-vis d'*H. azteca* mais *C. riparius* n'apporte pas d'informations supplémentaires.

Nous travaillons principalement avec des sédiments moyennement contaminés, le chironome est sans doute plus intéressant pour caractériser la toxicité de sédiments fortement contaminés.

- dans ces 16 sédiments, les 3 organismes donnent une réponse similaire dans 44% des cas (7/16) (Tableau 35). Dans 4 sédiments (le site PG) ils ne détectent aucune toxicité, alors que dans 3 autres sédiments, IB\_12, CR\_14 et CR\_16, ils signalent tous trois un effet toxique (Tableau 36). Pour les 9 autres sédiments, la réponse de l'hydre recoupe celle du chironome dans 3 cas et celle de la hyalle dans 3 cas et dans les 3 autres cas (J, SB et Q1) seule l'hydre est intoxiquée.

Tableau 36 : Description des sédiments en fonction de leur localisation et des résultats des bioessais sur sédiment et sur eau interstitielle, selon les bassins étudiés.

Nom des sédiments	<i>C. riparius</i>		<i>H. azteca</i>		<i>H. attenuata</i>
	Survie	Poids	Survie	Taille	Survie
bassin du Rhône					
J	-	-	-	-	+
PG_8	-	φ	-	φ	-
PG_10	-	-	-	-	-
PG_15	-	-	-	-	-
PG_20	-	-	-	-	-
SB	-	-	-	-	+
IB_9	-	φ	++	φ	-
IB_12	-	+	++	φ	+
CR_7	-	φ	++	φ	+
CR_14	++	++	++	φ	++
CR_16	-	+	++	φ	++
CR_19	-	-	++	+	++
SV_18	-	-	++	++	++
SV_6	-	φ	++	φ	-
bassin de la Moselle					
BL	-	+	-	-	+
C 1	-	+	φ	φ	++
C 2	-	-	φ	φ	++
B 1	-	-	φ	φ	++
B 2	-	+	φ	φ	φ
A	-	-	φ	φ	φ
MZ	-	-	φ	φ	++
canal des houillères					
MI	-	+	-	-	φ
ST	-	+	-	-	φ
bassin de la Loire					
Q 1	-	-	-	-	++

φ : pas de mesure

Bioessais *C. riparius* ou *H. azteca* :

- : valeur non significativement inférieure par rapport au témoin à  $p < 0,05$ .

+

++ : valeur significativement inférieure à  $p < 0,05$  par rapport au témoin et écart inférieur à la MDD.

++ : valeur significativement inférieure à  $p < 0,01$  par rapport au témoin et écart supérieur à la MDD.

Bioessais *H. attenuata* :

- :  $CL_{50} > 100\%$

+

++ :  $CL_{50} < 25\%$ .

- **Conclusion**

La série d'exposition réalisée nous permet :

- d'observer une corrélation entre la survie et la croissances des amphipodes, et l'intoxication des hydres et le poids des chironomes,
- de confirmer que les mesures biologiques les plus sensibles sont le poids-10j pour le chironome, la survie-14j pour la hyaëlle et la survie-96h pour l'hydre (Tableau 36).

En considérant, pour chaque organisme, la mesure biologique la plus sensible, le bioessai hydre est le bioessai qui détecte le plus souvent une toxicité devant le bioessai hyaëlle et le bioessai chironome. Les réponses de ces trois bioessais ne se recoupent que pour 56% des sédiments étudiés.

## **45 Relation entre réponses des bioessais et caractéristiques des sédiments**

Dans ce paragraphe, nous allons étudier les relations possibles entre les informations biologiques et chimiques (concentrations contaminantes et biodisponibilité).

Nous étudions tout d'abord la sensibilité intrinsèque des organismes d'essais à la composition des sédiments.

Les réponses biologiques sont ensuite discutées par rapport aux concentrations contaminantes.

Enfin, la pondération des concentrations contaminantes par des seuils d'effet (TEL, PEL), proposés par Smith *et al.* (1996) et Jones *et al.* (1997) permet de discuter de la cohérence entre les mesures biologiques obtenues et les seuils proposés sur la base de leur toxicité potentielle.

### **45.1 Relation entre la physico-chimie des sédiments et la réponse des bioessais**

- **Sensibilité des organismes à la physico-chimie des sédiments**

Pour détecter l'effet de la physico-chimie des sédiments sur la réponse des organismes benthiques, les contaminants ne doivent pas être présents à des concentrations potentiellement toxiques. Si tel est le cas deux erreurs sont possibles :

- attribuer aux caractéristiques du sédiment un effet causé par la présence de contaminants,
- attribuer à la présence de contaminants un effet causé par les caractéristiques du sédiment.

Les sédiments étudiés, J, SB et PG (étudié 4 fois), sont des sédiments situés dans des zones non eutrophes. Ils peuvent être considérés comme des sédiments références (IOBS>3) (Lafont *et al.*, 1996).

L'échantillon des sédiments étudié est petit (N=6) et la gamme de variation des paramètres (Eh, COT, CaCO<sub>3</sub>, teneur en argile-limon) est restreinte. Dans ces conditions, nous ne

pouvons pas faire d'études de corrélation entre la réponse biologique et les paramètres physico-chimiques.

Avec des survies comprises entre 60 et 95% pour *C. riparius* et 78 et 100% pour *H. azteca* nous n'observons pas d'effet particulier du potentiel d'oxydoréduction, du pH, de la dureté, de la granulométrie, de la teneur en carbone organique.

Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par d'autres auteurs qui montrent que les chironomes et les hyalles ne sont pas sensibles à la texture des sédiments (Ingersoll et Nelson, 1990; Suedel et Rodgers, 1994b; Sibley *et al.*, 1998).

- **Sensibilité des organismes à la concentration en ammoniac des sédiments**

Sur les sédiments J, PG et SB, nous n'observons pas d'effet particulier de l'ammoniac présent dans l'eau interstitielle sur la survie ou la croissance des organismes d'essais (*C. riparius*, *H. azteca* et *H. attenuata*). Dans ces sédiments la concentration en ammoniac est comprise entre 0,018 et 0,098 mg NH<sub>3</sub>/L et elle est toujours inférieure aux CL<sub>50</sub>(NH<sub>3</sub>)-96h calculées pour l'hydre, l'amphipode et le chironome qui sont respectivement de 0,17 ; 0,83 et 9,3 mgNH<sub>3</sub>/L (Monda *et al.*, 1995; Ankley *et al.*, 1996b). Dans le sédiment du bassin du Rhône J, où la CL<sub>50</sub>-96h des hydres est de 27%, la présence d'ammoniac (0,02 mg NH<sub>3</sub>/L, pH 7) ne peut donc expliquer ce taux de mortalité.

Aucune corrélation n'est observée entre la concentration en ammoniac de l'eau interstitielle des sédiments contaminés et les réponses des organismes d'essai.

Nous constatons cependant que l'ammoniac peut être une cause de toxicité pour les hydres dans certaines eaux interstitielles (CR\_16, CR \_19, B1, C1, C2 et MZ).

- **Conclusion**

Dans nos conditions d'essai les caractéristiques physico-chimiques des sédiments (COT, texture, dureté, pH, Eh) n'affectent pas les réponses des organismes.

## **45.2 Relation entre les concentrations en contaminants et la réponse des bioessais**

Pour décrire la concentration en contaminants des sédiments, nous utilisons les variables proposées à la fin du §3.2 de ce chapitre : la somme des métaux, la somme des HAPs et la somme des PCBs, l'arsenic, les PCBs 28 et 170 et le naphthalène.

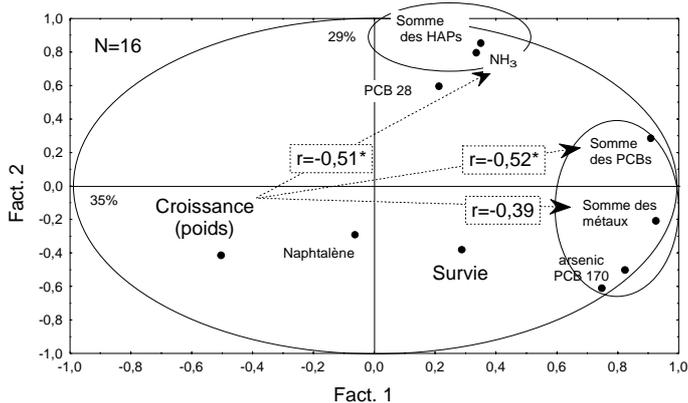


Figure 59 : ACP entre la croissance (poids) des chironomes et la concentration en contaminants dans les sédiments étudiés.

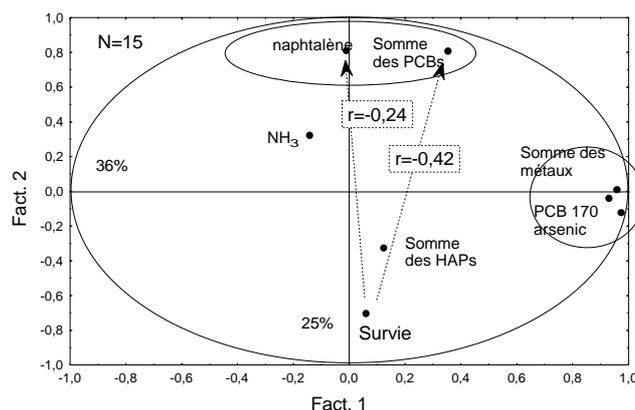


Figure 60 : ACP entre la survie des hyalles et la concentration en contaminants dans les sédiments étudiés.

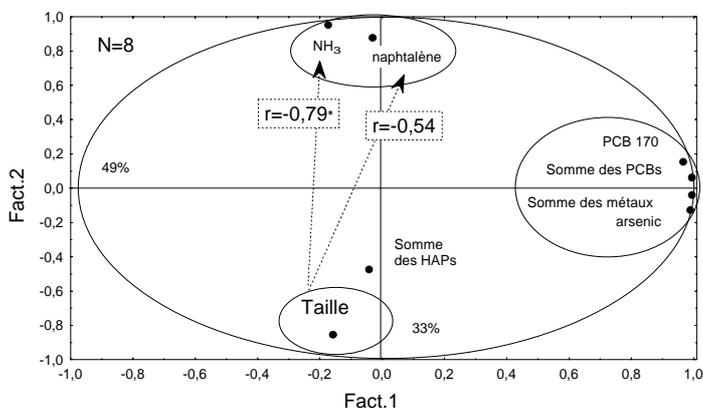


Figure 61 : ACP entre la croissance (taille) des amphipodes et la concentration en contaminants dans les sédiments étudiés.

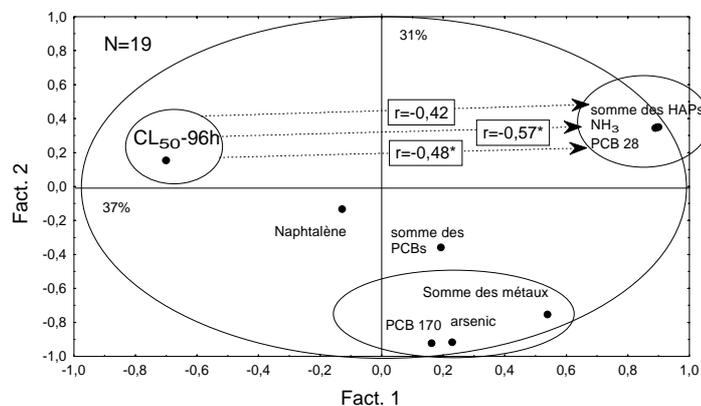


Figure 62 : ACP entre la survie des hydres et la concentration en contaminants dans les sédiments étudiés.

Les lignes pointillées relient deux variables et décrivent leur niveau de corrélation  $r$  avec \* : significatif à  $p < 0.05$ .  $N$  = nombre de sédiments intervenant dans l'analyse.

La réalisation de plusieurs ACP entre les mesures biologiques des trois organismes et les principaux représentants des contaminants (Figure 59 à Figure 62) montre qu'il existe un certain nombre de corrélations significatives que nous résumons dans le Tableau 37.

En considérant la concentration en contaminants des sédiments, le contaminant le plus souvent corrélé aux réponses des organismes est l'ammoniac : la toxicité étant d'autant plus importante que la concentration en ammoniac est élevée (Figure 59 à Figure 62). Seul le PCB 28 affecte la survie de l'hydre, alors que la somme des PCBs affecte la croissance des chironomes (Tableau 37). D'autre part, les concentrations métalliques ou en HAPs ne semblent pas influencer les variables biologiques mesurées sur ces organismes.

La survie des chironomes (Figure 59) et celle des hyalles (Figure 60) ne semblent pas être affectées par une famille de contaminants particulière.

Tableau 37 : Synthèse des corrélations existant entre les réponses biologiques et les charges contaminantes des sédiments, à partir des Figure 59 à Figure 62.

		Métaux		HAPs		PCBs		Ammoniac
		somme	arsenic	somme	naphtalène	somme	28 ou 170	
<i>C. riparius</i>	S							
	C					*		*
<i>H. azteca</i>	S							
	C							*
<i>H. attenuata</i>	S					*		*

S : survie ; C : croissance

\* : corrélation significative à  $p < 0,05$

### • Conclusion

L'ammoniac est le contaminant qui semble être le plus problématique pour les organismes d'essai, sa concentration est inversement corrélée à la survie ou la croissance des trois organismes d'essais.

La mise en relation entre la réponse biologique et la cause de la toxicité est difficile à faire, sur la base de mesures chimiques quantitatives. Les effets observés sur *C. riparius* et *H. azteca*, exposés à des sédiments contaminés, ne sont pas la simple résultante d'une sensibilité à des concentrations en contaminants mais plus certainement d'une exposition à un mélange complexe où la qualité et la quantité des contaminants ainsi que les caractéristiques de la matrice sédimentaire interviennent.

## 45.3 Relation entre le potentiel toxique et la réponse des bioessais

Nous venons de voir que la toxicité des sédiments est principalement corrélée à la concentration en ammoniac vis-à-vis de *C. riparius*, *H. azteca* et *H. attenuata*.

La concentration en contaminants d'un sédiment n'est pas toujours représentative de la biodisponibilité réelle des contaminants dans cette matrice complexe. En effet les multiples phases piégeantes (matière organique, argiles, oxydes de fer et de manganèse, sulfures,...) peuvent réduire la biodisponibilité d'un contaminant (chapitre 2, §1.3.2 et 1.3.3).

Il est possible, pour estimer le potentiel toxique des sédiments vis-à-vis des espèces exposées à cette matrice de rapporter les concentrations des contaminants à des données numériques (seuils) qui décrivent le potentiel toxique des sédiments. De telles données chimiques numériques ont été proposées par les américains et les canadiens (MacDonald *et al.*, 1992; Persaud *et al.*, 1992; Batts et Cubbage, 1995; MacDonald *et al.*, 1996; Long *et al.*, 1998; O'Connor *et al.*, 1998; Swartz, 1999). Elles sont disponibles par molécule ou groupe de molécules (HAP, PCB, ...), et sont calculées sur la base d'approches analytique (chimique), biologique (bioessais sur sédiment ou études de terrain) ou intégrative (incorporant les trois types de données : chimie, bioessais et étude de terrain) (Chapman, 1989; Ingersoll *et al.*, 1996b; Jones *et al.*, 1997).

Dans les paragraphes qui suivent nous allons successivement :

- présenter les seuils auxquels nous allons comparer nos concentrations en contaminant,
- comparer nos concentrations aux seuils en questions pour exprimer le potentiel toxique des sédiments,
- caractériser la corrélation existant entre la réponse biologique et ce potentiel toxique.

• **L'utilisation des seuils de qualité dans notre étude**

Dans ce travail, nous utilisons deux seuils, le Threshold Effect Level (TEL) et le Probable Effect Level (PEL), proposés par Smith *et al.* (1996) pour les métaux (arsenic, cadmium, cuivre, chrome, mercure, nickel, plomb et zinc) et la somme des PCBs et par Jones *et al.* (1997) pour la somme des HAPs.

Le TEL est défini comme la moyenne géométrique entre le 15<sup>ème</sup> percentile du jeu de concentrations produisant un effet et le 50<sup>ème</sup> percentile sans effet. Il représente la limite supérieure du niveau de concentrations chimiques dans les sédiments associé à des données sans effet.

Le PEL est défini comme la moyenne géométrique entre le 50<sup>ème</sup> percentile du jeu de concentrations produisant un effet et le 85<sup>ème</sup> percentile sans effet. Le PEL représente la limite inférieure du niveau de concentrations chimiques habituellement ou toujours liées à des effets toxiques.

L'utilisation de ces seuils permet donc de délimiter trois niveaux de concentrations : une " zone grise " pour laquelle les concentrations présentes sont associées à un effet possible mais peu probable comprise entre une valeur (TEL) en-dessous de laquelle les concentrations sont rarement associées à des effets biologiques et une valeur (PEL) au-dessus de laquelle des effets toxiques sont plus fréquemment rencontrés.

Ces seuils de toxicité sont calculés à partir d'une base de données intégrant, selon les molécules, 21 à 384 entrées, issues de sédiments multicontaminés (Smith *et al.*, 1996) et ils sont établis avec un jeu de données basé sur la réponse d'amphipodes et de chironomes dans des sédiments contaminés des grands lacs nord-américains.

Cependant, ces seuils ont certaines limites :

- la définition de certains seuils, dans une matrice complexe multicontaminée, peut être influencée par des phénomènes de cooccurrence entre contaminants. Le potentiel toxique de certains contaminants, qui ne sont sans doute pas problématiques seuls mais qui sont souvent présents dans les sédiments en compagnie d'autres composés toxiques peut ainsi être surévalué.
- ces seuils ont été définis pour un certain nombre de molécules (souvent les composés parents) mais la toxicité potentielle de sous-produits méthylés, alkylés,... qui peuvent pourtant contribuer à l'effet toxique n'a pas été définie à ce jour. Ces sous-produits étant très nombreux, la mise au point analytique étant difficile et le coût de leur recherche étant élevé, ces seuils risquent d'être difficiles à définir.
- pour les molécules organiques hydrophobes, la matière organique est un ligand important et plutôt que de rapporter les concentrations en contaminants au sédiment total, certains

auteurs ont proposé de les rapporter à la teneur en matière organique (Swartz, 1999). Nous n'avons pas fait l'exercice dans cette étude compte tenu du fait que 95% des échantillons de sédiment ont une teneur en carbone organique comprise entre 1,84% et 2,90% (IC<sub>95</sub>), soit un ensemble de sédiment à la teneur en matière organique assez homogène.

- la définition de ces seuils évolue (Kalf *et al.*, 1997; Garric *et al.*, 1998; Chapman et Mann, 1999; Swartz, 1999). Des nouvelles valeurs ou des modifications d'anciennes valeurs et de nouvelles méthodes de calcul aboutissant à la création de nouveaux seuils sont régulièrement proposées.

Le rapport concentration en contaminant sur valeur de TEL ou de PEL, défini par le terme potentiel toxique par la suite du document, est spécifique à chaque contaminant et permet d'évaluer par molécule ou groupe de molécules la dangerosité des sédiments.

- **Comparaison qualitative et quantitative de la concentration en contaminants par rapport aux seuils**

Dans le Tableau 38 et le Tableau 39, nous comparons les concentrations en contaminants des sédiments aux valeurs de TEL et PEL de 8 métaux et des sommes de HAPs et de PCBs pour caractériser le potentiel toxique de nos sédiments.

Pour deux sédiments, PG\_8 et PG\_20, aucune valeur de TEL n'est dépassée (Tableau 38). Quand les concentrations dépassent le PEL c'est au maximum d'un facteur 22 (As dans Q1) pour les métaux, d'un facteur 3 (CR\_7) pour la somme des PCBs et d'un facteur 2 (BL) pour la somme des HAPs (Tableau 39).

Les concentrations en contaminants de nos sédiments sont principalement comprises dans la zone grise, entre les valeurs de TEL et de PEL :

- dans 13% des cas aucune des concentrations métalliques ne dépasse les TELs et dans 26% des sédiments au moins une concentration dépasse le PEL,
- dans 42% des sédiments la somme des PCBs ne dépasse pas le TEL et dans 13% des sédiments elle dépasse le PEL,
- dans 23% des sédiments la somme des HAPs ne dépasse pas le TEL et elle dépasse le PEL pour 1 sédiment seulement (BL) soit dans 4% des sédiments.

Tableau 38 : Rapport concentration en contaminant/TEL du contaminant et pourcentage de contaminants présents à des concentrations potentiellement toxiques (en gras rapport &gt;1).

Sédiment	Molécules										Nombre >TEL (%)
	arsenic	cadmium	chrome	cuivre	mercure	nickel	plomb	zinc	PCB	HAP	
MI	<b>1,8</b>	0,0	<b>1,1</b>	0,6	0,0	<b>1,4</b>	0,5	0,4	0,0	0,3	30
ST	<b>2,0</b>	0,0	<b>1,5</b>	<b>1,0</b>	0,0	<b>1,9</b>	<b>1,4</b>	<b>1,2</b>	0,0	<b>1,0</b>	60
Q1	<b>64,4</b>	<b>11,7</b>	<b>2,5</b>	<b>1,5</b>	0,0	<b>2,8</b>	<b>15,1</b>	<b>4,3</b>	<b>10,0</b>	0,7	80
A	<b>1,6</b>	0,0	0,5	0,5	<b>1,3</b>	0,0	0,6	0,7	<b>7,6</b>	<b>3,0</b>	40
BL	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	<b>1,3</b>	<b>9,1</b>	100
B1	<b>3,0</b>	0,0	<b>2,1</b>	<b>1,9</b>	<b>6,0</b>	<b>1,7</b>	<b>4,3</b>	<b>3,2</b>	<b>5,3</b>	<b>2,6</b>	90
B2	<b>2,9</b>	0,0	<b>1,6</b>	<b>1,2</b>	<b>3,5</b>	<b>1,2</b>	<b>3,0</b>	<b>2,5</b>	<b>4,4</b>	<b>1,9</b>	90
C1	<b>1,7</b>	0,0	<b>1,8</b>	<b>1,7</b>	<b>3,1</b>	<b>1,6</b>	<b>4,5</b>	<b>3,8</b>	<b>7,2</b>	<b>2,9</b>	90
C2	<b>1,8</b>	0,0	<b>1,2</b>	<b>1,1</b>	<b>2,5</b>	0,9	<b>2,2</b>	<b>2,3</b>	<b>2,5</b>	<b>2,5</b>	80
MZ	<b>2,3</b>	0,0	0,9	1,0	<b>1,9</b>	0,8	<b>1,5</b>	<b>1,5</b>	<b>4,7</b>	<b>4,1</b>	60
CR_7	0,6	<b>1,5</b>	0,8	0,7	2,9	0,9	0,5	0,5	<b>25,8</b>	0,5	30
CR_14	<b>1,7</b>	<b>1,9</b>	<b>1,1</b>	0,8	<b>1,3</b>	<b>1,3</b>	0,7	0,7	<b>3,1</b>	0,4	60
CR_16	<b>1,7</b>	<b>3,2</b>	<b>1,6</b>	<b>1,2</b>	<b>1,1</b>	<b>2,4</b>	0,9	<b>1,2</b>	<b>1,5</b>	0,3	80
CR_19	<b>2,0</b>	<b>2,5</b>	<b>1,2</b>	<b>1,1</b>	0,9	<b>1,7</b>	0,3	1,0	<b>1,6</b>	0,4	60
IB_9	<b>3,4</b>	<b>2,0</b>	0,9	0,8	0,7	0,8	0,9	0,8	0,0	0,5	20
IB_12	<b>3,4</b>	<b>2,2</b>	0,9	0,8	0,6	0,7	0,8	0,8	0,0	0,7	20
J	0,0	<b>2,2</b>	<b>1,2</b>	0,6	0,4	<b>1,2</b>	0,5	0,6	0,0	0,3	30
PG_8	0,5	0,0	0,2	0,1	0,0	0,3	0,1	0,1	0,0	0,2	0
PG_10	0,0	0,0	0,5	0,3	0,4	0,7	0,4	0,4	0,0	<b>1,1</b>	10
PG_15	0,7	0,0	0,7	0,5	0,4	<b>1,2</b>	0,6	0,7	0,0	<b>1,2</b>	20
PG_20	0,4	0,0	0,5	0,3	0,3	0,7	0,3	0,4	0,0	0,7	0
SB	<b>2,7</b>	<b>2,9</b>	<b>1,0</b>	0,8	<b>1,3</b>	0,9	<b>1,0</b>	0,8	0,0	0,4	50
SV_6	0,9	<b>7,0</b>	<b>4,4</b>	<b>3,5</b>	<b>1,7</b>	<b>3,3</b>	<b>2,0</b>	<b>2,8</b>	<b>15,0</b>	0,6	80
SV_18	<b>1,2</b>	<b>1,9</b>	<b>1,3</b>	<b>1,0</b>	<b>1,6</b>	<b>1,8</b>	<b>2,4</b>	<b>1,4</b>	<b>1,9</b>	0,3	90
valeur de TEL (mg/kg)	5,90	0,60	37,30	35,70	0,17	18,00	35,00	123,0	0,034	3,553	

NM :élément non mesuré.

Tableau 39 : Rapport concentration en contaminant/PEL du contaminant et pourcentage de contaminants présents à des concentrations probablement toxiques (en gras rapport &gt;1).

Sédiment	Molécules										Nombre >PEL (%)
	arsenic	cadmium	chrome	cuivre	mercure	nickel	plomb	zinc	PCB	HAP	
MI	0,6	0,0	0,5	0,1	0,0	0,7	0,2	0,2	0,0	0,1	0
ST	0,7	0,0	0,6	0,2	0,0	1,0	0,5	0,5	0,0	0,3	0
Q1	<b>22,4</b>	<b>2,0</b>	<b>1,0</b>	0,3	0,0	<b>1,4</b>	<b>5,8</b>	<b>1,7</b>	<b>1,2</b>	0,2	60
A	0,5	0,0	0,2	0,1	0,5	0,0	0,2	0,3	0,9	0,8	0
BL	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	0,2	<b>2,3</b>	50
B1	<b>1,0</b>	0,0	0,9	0,4	<b>2,1</b>	0,9	<b>1,7</b>	<b>1,3</b>	0,7	0,7	30
B2	<b>1,0</b>	0,0	0,7	0,2	<b>1,2</b>	0,6	<b>1,1</b>	1,0	0,5	0,5	20
C1	0,6	0,0	0,8	0,3	<b>1,1</b>	0,8	<b>1,7</b>	<b>1,5</b>	0,9	0,8	30
C2	0,6	0,0	0,5	0,2	0,9	0,5	0,9	0,9	0,3	0,7	0
MZ	0,8	0,0	0,4	0,2	0,7	0,4	0,6	0,6	0,6	<b>1,1</b>	10
CR_7	0,2	0,3	0,3	0,1	<b>1,0</b>	0,4	0,2	0,2	<b>3,2</b>	0,1	10
CR_14	0,6	0,3	0,5	0,1	0,5	0,7	0,3	0,3	0,4	0,1	0
CR_16	0,6	0,5	0,7	0,2	0,4	<b>1,2</b>	0,3	0,5	0,2	0,1	10
CR_19	0,7	0,4	0,5	0,2	0,3	0,8	0,1	0,4	0,2	0,1	0
IB_9	<b>1,2</b>	0,3	0,4	0,2	0,3	0,4	0,3	0,3	0,0	0,1	10
IB_12	<b>1,2</b>	0,4	0,4	0,1	0,2	0,4	0,3	0,3	0,0	0,2	10
J	0,0	0,4	0,5	0,1	0,1	0,6	0,2	0,2	0,0	0,1	0
PG_8	0,2	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0
PG_10	0,0	0,0	0,2	0,1	0,1	0,4	0,1	0,2	0,0	0,3	0
PG_15	0,2	0,0	0,3	0,1	0,1	0,6	0,2	0,3	0,0	0,3	0
PG_20	0,1	0,0	0,2	0,1	0,1	0,4	0,1	0,2	0,0	0,1	0
SB	0,9	0,5	0,4	0,2	0,5	0,5	0,4	0,3	0,0	0,1	0
SV_6	0,3	<b>1,2</b>	<b>1,8</b>	0,6	0,6	<b>1,7</b>	0,8	<b>1,1</b>	<b>1,9</b>	0,2	50
SV_18	0,4	0,3	0,5	0,2	0,6	0,9	0,9	0,5	0,2	0,1	0
valeur de PEL (mg/kg)	17	3,53	90	197	0,486	36	91,3	315	0,277	13,66	

NM :élément non mesuré.

D'après Long *et al.* (Long *et al.*, 1998), dans un sédiment contaminé, le risque toxique est d'autant plus important que le nombre de contaminants dont la concentration dépasse les valeurs de TEL augmente.

Ces auteurs ont montré que, lorsqu'aucune concentration en contaminants ne dépasse le TEL, la probabilité d'avoir un effet fortement toxique est de 11%, contre 60% si une ou plusieurs concentrations dépassent le TEL sans qu'aucune ne dépasse le PEL, et 86% si une concentration au moins dépasse le PEL.

Ils suggèrent également que la probabilité d'observer un effet toxique augmente aussi avec l'intensité de dépassement des seuils (mesurée comme le rapport entre la concentration d'une substance donnée sur la valeur seuil correspondante).

Dans notre étude, il existe une corrélation linéaire significative à  $p < 0,05$  entre le nombre de TEL dépassé et la  $CL_{50-96h}$  des hydres ( $r = -0,79^*$ ;  $N = 16$ ) ou la mortalité des chironomes ( $r = -0,50^*$ ;  $N = 20$ ), alors que ce n'est pas le cas pour la survie des amphipodes ( $r = -0,28$ ,  $N = 14$ ) (Figure 63).

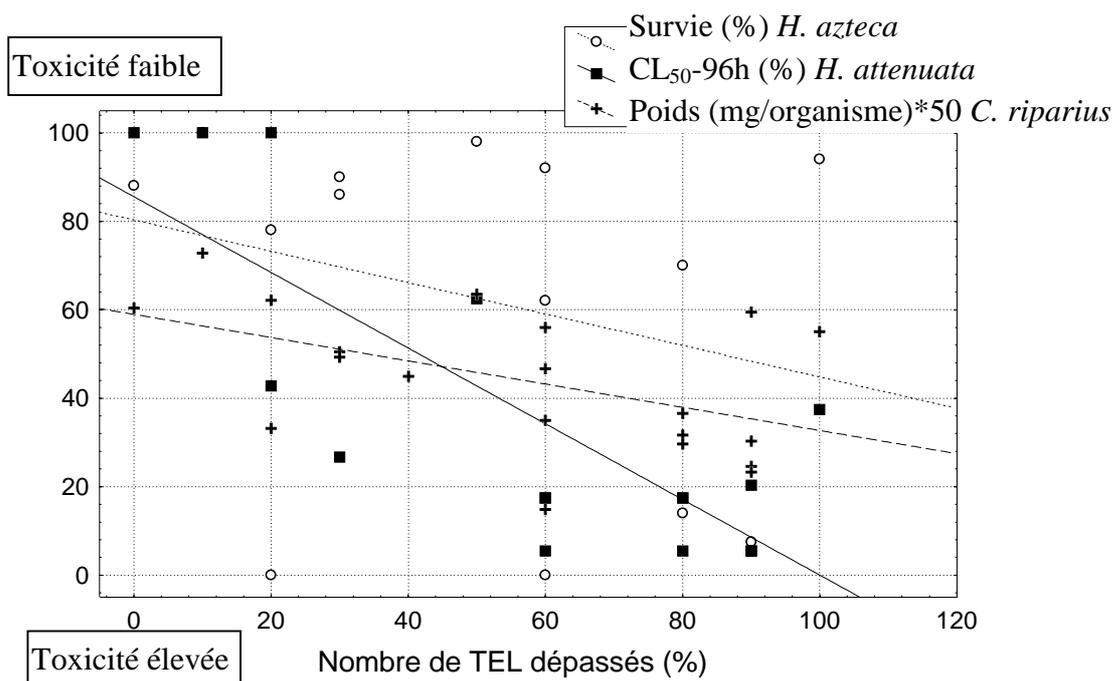


Figure 63 : Intoxication de *C. riparius*, *H. azteca* et *H. attenuata* en fonction du nombre de TEL dépassé (exprimé en % pour les 8 métaux, la somme des HAPs et des PCBs), dans les sédiments étudiés.

• **Toxicité potentielle et réponse biologique dans les sédiments étudiés**

Le Tableau 40 récapitule qualitativement, par sédiment, les réponses des organismes benthiques et le potentiel toxique. Ce dernier est décrit par quatre composantes : i) la concentration en ammoniac, ii) les rapports somme des HAPs et somme des PCB sur TEL ou PEL et iii) le nombre de concentration métallique dépassant le TEL ou le PEL. Il nous permet de discuter des contaminants potentiellement problématiques pour les organismes, et d'étudier la capacité de chacun des organismes et de la batterie de bioessais à détecter un site toxique.

Tableau 40 : Description des sédiments en fonction de la concentration en contaminants et des réponses des bioessais selon les bassins étudiés.

Nom des sédiments	Chimie				Biologie		
	NH <sub>3</sub>	Métaux	HAPs	PCBs	<i>C. riparius</i> (poids mg/ organisme)	<i>H. azteca</i> (survie %)	<i>H. attenuata</i> (CL <sub>50-96h</sub> )
bassin du Rhône							
J	-	3/8	-	-	-	-	+
PG_8	-	0/8	-	-	•	-	-
PG_10	-	0/8	+	-	-	-	-
PG_15	-	1/8	+	-	-	-	-
PG_20	-	0/8	-	-	-	-	-
SB	-	5/8	-	-	-	-	+
IB_9	-	2/8	-	-	•	++	-
IB_12	-	2/8	-	-	+	++	+
CR_7	-	1/8	-	++	•	++	+
CR_14	-	5/8	-	+	++	++	++
CR_16	+	7/8	-	+	+	++	++
CR_19	+	5/7	-	+	-	++	++
SV_18	-	7/8	-	+	-	++	++
SV_6	-	8/8	-	++	•	++	-
bassin de la Moselle							
BL	•	•	++	+	+	-	+
C 1	+	7/8	+	+	+	•	++
C 2	+	6/8	+	+	-	•	++
B 1	+	7/8	+	+	-	•	++
B 2	•	7/8	+	+	+	•	•
A	+	2/8	+	+	-	•	•
MZ	+	4/8	+	+	-	•	++
canal des Houillères							
MI	•	3/8	-	-	+	-	•
ST	•	6/8	+	-	+	-	•
bassin de la Loire							
Q 1	-	7/8	-	++	-	-	++

ϕ : pas de mesure

Mesures micropolluants organiques :

- : la somme des éléments (HAP ou PCB) ne dépasse pas le TEL.

+

++ : la somme des éléments (HAP ou PCB) dépasse le TEL mais ne dépasse pas le PEL.

++ : la somme des éléments (HAP ou PCB) dépasse le PEL.

Mesures micropolluants métalliques :

Rapport : nombre de métaux dépassant le TEL/nombre de métaux total.

Au minimum 1 concentration métallique dépasse le TEL mais aucune ne dépasse pas le PEL.

Au moins une concentration métallique dépasse le PEL.

Mesures ammoniac :

- : la concentration en ammoniac est inférieure à la CL<sub>50-96h</sub>(NH<sub>3</sub>)=0,2 mg/L des hydres.

+

++ : la concentration en ammoniac est supérieure à la CL<sub>50-96h</sub>(NH<sub>3</sub>)=0,2 mg/L des hydres.

Bioessais *C. riparius* ou *H. azteca* :

- : valeur non significativement inférieure par rapport au témoin à p < 0,05.

+

++ : valeur significativement inférieure à p < 0,01 par rapport au témoin et écart supérieur à la MDD.

Bioessais *H. attenuata* :

- : CL<sub>50</sub> > 100%.

+

++ : CL<sub>50</sub> < 25%.

Ce tableau de synthèse nous permet d'observer que :

- dans 6 des 9 eaux interstitielles pour lesquelles l'intoxication des hydres est importante ( $CL_{50-96h} < 25\%$ ), l'ammoniac peut être directement mis en cause (concentration en  $NH_3$  supérieure à 0,2 mg/L). Mais, au total, l'ammoniac ne peut expliquer seul la toxicité des eaux interstitielles pour les hydres que pour la moitié (7/14) des échantillons toxiques.

- dans les 2 sédiments PG\_8 et PG\_20, pour lesquels aucune valeurs de TEL définie dans le Tableau 40 n'est dépassée, aucun effet biologique n'est observé.

- dans les 10 sédiments où au moins une valeur de PEL est dépassée, une toxicité est détectée par au moins un des trois organismes de la batterie (IB\_9, SV\_6, Q1) voir les trois (IB\_12, CR\_14, CR\_16). De plus, dans 9 sédiments la toxicité est considérée comme importante :

- l'écart de réponse par rapport au témoin est significatif et supérieur à la MDD pour les amphipodes ou les chironomes,

- la dilution d'eau interstitielle entraînant une mortalité de la moitié de la population des hydres est  $< 25\%$ .

- pour les 12 sédiments appartenant à la zone grise, les mises en regard potentiel toxique - réponse biologique sont plus aléatoires : 3 d'entre ne sont pas toxiques, et parmi les 9 autres sédiments 7 d'entre eux sont toxiques pour les hydres, 3 d'entre eux sont toxiques pour les amphipodes et les chironomes.

- en appliquant deux ou trois bioessais simultanément, nous augmentons le pourcentage de sédiment de zone grise détecté toxique à 87% (13/15). Pour les deux sédiments classés en zone grise où aucun effet nocif n'est détecté (PG\_10 et PG\_15), les TEL sont dépassés d'un facteur compris entre 1,1 et 1,2.

Ces résultats tendent à montrer que notre batterie d'essai est sensible pour discriminer la toxicité de sédiments multicontaminés. Ils confirment la pertinence des seuils de toxicité TEL et PEL.

Il semblerait que l'utilisation des bioessais hydre et amphipode soit suffisante pour détecter les sédiments toxiques, le bioessai chironome apportant une information redondante avec celle des hydres.

De par son niveau de sensibilité, *C. riparius* possède plus d'intérêt dans les sédiments plus fortement contaminés que ceux étudiés dans le cadre de ce travail.

Parce que des taxons différents ont des comportements différents, des voies d'expositions différentes et des sensibilités différentes aux contaminants, l'utilisation de batteries de bioessais est fortement recommandée pour évaluer la qualité biologique des sédiments (Long *et al.*, 1998).

La batterie formée des bioessais *C. riparius*, *H. azteca* et *H. attenuata*, révèle la présence d'une toxicité dans 86% (19/22) des sédiments classés comme potentiellement toxique et, pour les sédiments faiblement contaminés, elle indique une absence de toxicité dans 100% des cas (2/2).

Cette batterie permet de détecter la présence d'une toxicité dans 75% (9/12) des sédiments de zone grise.

Les seules corrélations observées entre réponse biologique et concentration en contaminants sont la corrélation entre la somme des PCBs et la croissance des chironomes et celle entre la teneur en ammoniac de l'eau interstitielle et l'intoxication des organismes. Les concentrations en ammoniac mesurées dans nos sédiments sont souvent largement en dessous des concentrations néfastes pour *C. riparius*, *H. azteca* ou *H. attenuata*. Nous pouvons considérer que l'ammoniac est certainement un marqueur de la contamination du milieu plutôt qu'un composé toxique, bien qu'il concoure certainement, avec d'autres composés, à l'intoxication des organismes.

## 46 Conclusion

Même si les seuils TEL et PEL, tels qu'ils sont définis, permettent, dans la plupart des cas que nous avons étudiés, de caractériser le potentiel toxique, il n'y pas toujours adéquation entre l'effet supposé (effet potentiel estimé à partir des seuils) et l'effet observé (effet mesuré avec des bioessais). Dans notre étude, quelques cas confirment la nécessité de réaliser des bioessais sur sédiments, pour évaluer leur toxicité réelle, par exemple :

- dans le cas de Q1, les concentrations de tous les métaux, excepté le cuivre et le mercure et la somme des PCB dépassent les PELs correspondant, pourtant aucun effet significatif n'est observé sur la survie ou la croissance des chironomes ou des hyalelles,
- dans le cas de MI, seules trois concentrations métalliques (As, Cr et Ni) dépassent les TELs d'un facteur  $<2$ , et un effet significatif est observé sur la croissance des chironomes.

Les bioessais réalisés sur des matrices multicontaminées donnent une réponse représentative du niveau de la contamination. Dans notre étude, ils ne mettent pas en évidence de sensibilité particulière des organismes exposés, à un ou plusieurs contaminants spécifiques, excepté pour les chironomes dont la croissance a pu être corrélée à la présence de PCBs.

Dans des sédiments contaminés, l'utilisation de bioessais sur sédiment entier est inévitable pour en mesurer la toxicité. Les caractéristiques physico-chimiques spécifiques à chaque sédiment, qui influencent la spéciation et la biodisponibilité des contaminants, la présence de mélanges complexes, et les limites de représentativité des seuils proposés pour estimer un potentiel toxique font qu'à ce jour, nous ne sommes pas en mesure de discuter de la toxicité d'un sédiment de zone grise à partir de seules données physico-chimiques. Ce sont pourtant ces sédiments qui sont les plus couramment rencontrés sur le terrain.



# CHAPITRE 5 :

## IMPACTS DE REMISES EN SUSPENSION

### DE SEDIMENTS

---

#### 51 Contexte et démarche

L'évaluation biologique de la qualité des sédiments, à l'aide en particulier des bioessais développés dans les chapitres précédents, permet de caractériser les risques toxiques associés à la gestion de sédiments contaminés.

Nous mesurons dans ce chapitre les risques toxiques associés à deux cas précis de gestion : le dragage d'une zone portuaire sur le fleuve St Laurent, dans le port de Sorel Harbour au Québec et la vidange du barrage de Queuille, sur un affluent de la Loire, la Sioule, en France.

Il s'agit, plus précisément, de déterminer si ces actions de dragage ou de vidange, telles qu'elles sont envisagées, représentent un risque toxique pour l'environnement, compte tenu du niveau de contamination des sédiments.

Pour ces deux cas précis, notre batterie de bioessais sera enrichie des bioessais *Ceriodaphnia dubia* ou *Daphnia magna* pour la phase aqueuse (eau interstitielle et/ou eau de brassage). Ceci afin d'exposer une plus large gamme d'organisme et donc augmenter la pertinence de l'analyse. Dans le cadre de l'étude canadienne nous utiliserons le chironome *C. tentans* au lieu de *C. riparius* pour des raisons de représentativité et de disponibilité des organismes. Et quand cela a été possible nous avons multiplié les critères d'effet observés avec pour *C. riparius* la mesure de la capacité d'émergence des adultes.

De plus, les conditions d'essai ne seront plus les conditions éprouvées, définies dans les chapitres précédents. Ces conditions « normalisées » restent valables pour les études qui visent à caractériser la toxicité de sédiments dans conditions bien définies. Ceci n'est pas notre objectif dans ces deux études. Nous désirons en effet caractériser l'impact de

phénomènes de mise en suspension sur la toxicité des sédiments et cela de manière « réaliste » si ce n'est de manière « représentative ».

Lors de dragages portuaires, l'objectif est d'enlever une partie du matériel sédimentaire pour rétablir le tirant d'eau pour la navigation. Le sédiment évacué peut, selon sa composition et son degré de contamination, être recyclé, mis en dépôt non confiné ou confiné, mis en centre agréé ou décontaminé (Imbert *et al.*, 1998). Dans le cas qui nous intéresse, les concentrations en contaminant et les caractéristiques biologiques initiales du sédiment (chapitre 5, §2.1.2) permettent d'envisager le dépôt en site ouvert.

Actuellement, les vidanges totales décennales, prévues par la législation Française sur la sécurité des barrages (circulaire interministérielle n°70/15 du 14 août 1970), sont réalisées dans le but de permettre une inspection technique des parties immergées de l'ouvrage et éventuellement des travaux d'entretien (Poirel *et al.*, 1993). Dans le cas qui nous intéresse, EDF s'est engagé à réduire les effets négatifs des vidanges, le transit des sédiments vers l'aval serait alors une conséquence involontaire de l'abaissement du plan d'eau, et le risque majeur réside dans la formation, lors de la vidange d'un culot dans la retenue.

Que ce soit lors du dépôt en site ouvert de sédiments dragués ou lors d'une vidange, il existe un risque toxique immédiat pour les organismes de la colonne d'eau, lors du passage des matières en suspension (MES), et à moyen terme pour les organismes présents dans les bancs sédimentaires formés par les particules redéposées. La Figure présente le schéma général d'une démarche d'évaluation de risque écotoxicologique (ERE) et son application à l'étude de l'impact des mises en suspension de sédiments.

La démarche d'ERE « évalue la vraisemblance que des effets écologiques néfastes se produisent comme résultat de l'exposition à un ou plusieurs facteurs de stress » (EPA, 1998a). Cette démarche fait intervenir la définition, l'évaluation et l'organisation des données, informations, hypothèses et incertitudes de l'étude afin de comprendre et prédire au mieux les relations « facteurs de stress - effets sur l'écosystème » (EPA, 1991; EPA, 1998a; Babut *et al.*, 1999). Elle permet de fournir aux gestionnaires l'ensemble des éléments nécessaires à la prise d'une décision en faisant la part des éléments connus et des incertitudes.

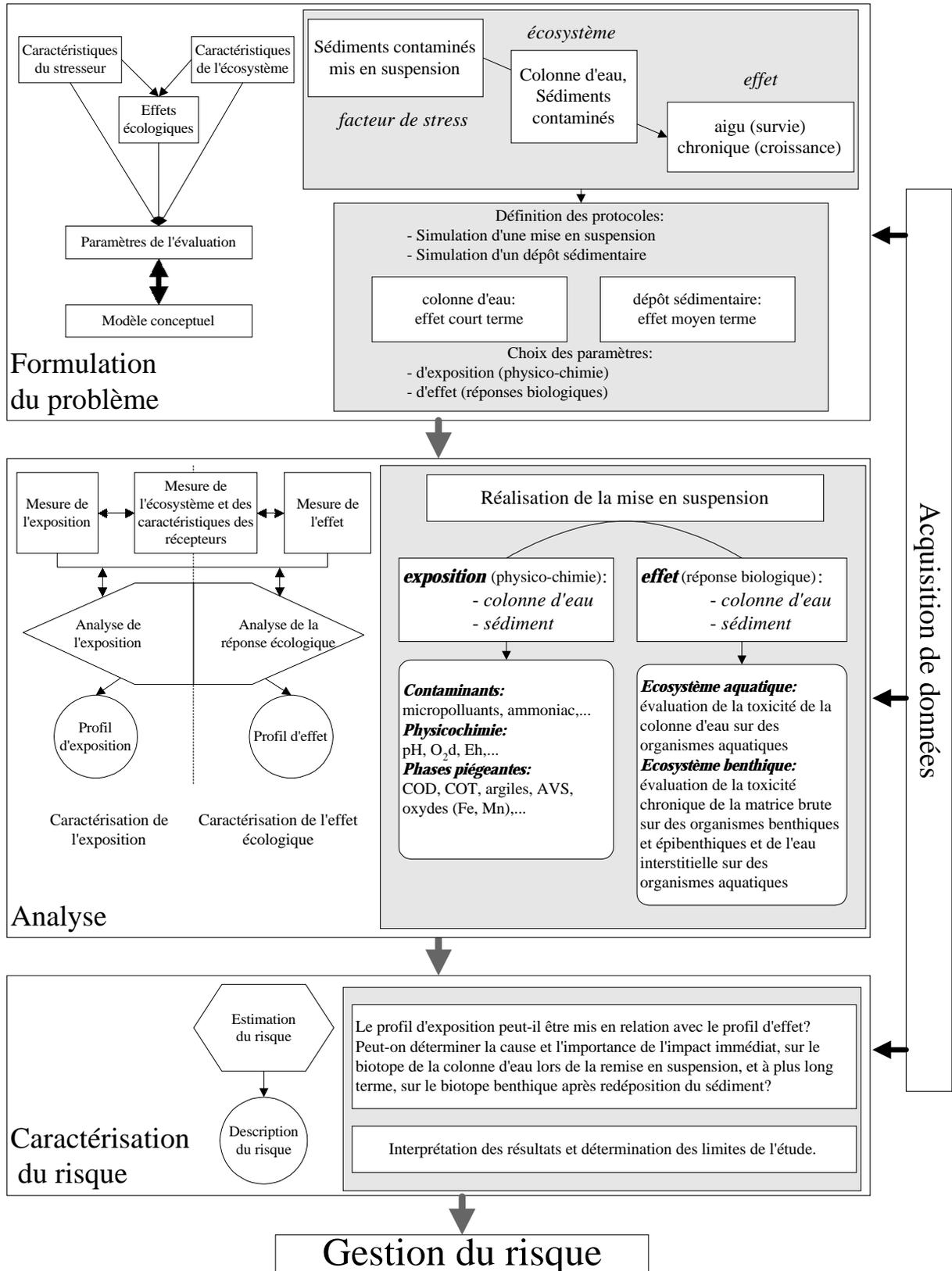


Figure 64 : Schéma général d'une démarche d'évaluation de risque, d'après EPA (1998a), appliquée à l'étude de l'impact d'une mise en suspension de sédiment contaminé : réalisation d'une simulation au laboratoire.

L'évaluation de risque est fondée sur la distinction fondamentale entre danger et risque. Le danger est lié à l'existence de substances qui ont la potentialité d'exercer des effets nocifs sur le milieu récepteur et les organismes vivants, si elles entrent en contact avec eux. Le risque est la probabilité d'apparition d'effets toxiques après l'exposition des organismes à un facteur de stress. L'évaluation du danger correspond alors à une évaluation basée sur les caractéristiques intrinsèques de la molécule et l'évaluation du risque considère aussi l'exposition (Rivière, 1998).

En exposant les organismes d'essai au sédiment contaminé dans sa globalité et non aux molécules contaminantes, et compte tenu de la définition donnée par l'USEPA (1998a) de l'ERE, nous inscrivons nos études dans le cadre d'une démarche d'évaluation de risque.

Nous mettons l'accent dans la formulation du problème sur le questionnement scientifique, sur le protocole d'étude mis en oeuvre et sur les mesures d'exposition et d'effet fixées dans chaque étude de cas. Les étapes suivantes d'analyse et de caractérisation du risque sont brièvement abordées et ont pour objectif de permettre un retour d'expérience sur le questionnement et la méthodologie développés pour évaluer les risques toxiques associés à la gestion de sédiments contaminés.

L'exposition, qui a pour objet la description de l'interaction entre le facteur de stress et l'organisme, n'est pas développé de manière approfondie dans ces deux études.

Les résultats de ce travail sont présentés dans deux articles, l'un publié (Bonnet *et al.*, 2000) et l'autre en cours de publication (Bonnet *et al.*, soumis). Dans le corps du texte, les résultats sont synthétisés tout en faisant référence, aussi souvent que nécessaire, à ces articles (reproduits en annexe).

## **52 Formulation du problème**

Dans ce premier volet de l'ERE, il s'agit de présenter le problème. La formulation du problème a pour objectif de préparer un modèle conceptuel qui identifie (Rivière, 1998) :

- les facteurs de stress, les écosystèmes à protéger, les éléments à risques,
- les échelles spatiales et temporelles des phénomènes, les bioessais utilisés,
- les données factuelles.

Ce modèle permet de sélectionner les points finaux de mesure qui sont les réponses mesurables aux facteurs de stress. Par exemple, si l'impact possible de l'action est la mortalité des invertébrés benthiques, un point final de mesure peut être la mortalité 10j pour *C. riparius*.

Cette phase initiale de formulation du problème sert de base pour réaliser la phase suivante : la phase d'analyse.

### **52.1 Simulation d'un dragage de sédiments**

Après avoir brièvement évoqué les démarches existant à ce jour pour aider à la gestion des sédiments à draguer, nous décrivons dans ce paragraphe le scénario de simulation de

dragage que nous élaborons en fonction des caractéristiques initiales du sédiment et de l'action envisagée.

### **52.1.1 Gérer les sédiments dragués, les démarches existantes**

L'envasement des zones portuaires ou des canaux aménagés nécessite la réalisation de dragages réguliers (Alzieu, 1999).

En France, un guide méthodologique d'aide à la prise de décision a été proposé pour la gestion des sédiments à curer (Imbert *et al.*, 1998). Ce document pose la question « faut-il curer ? » et propose des solutions pour le devenir des sédiments dragués (recyclage, mise en dépôt, décontamination). Mais, si les mesures chimiques à réaliser sont évoquées, aucune information n'est fournie sur les outils biologiques utilisables pour évaluer la qualité biologique du milieu ni sur les protocoles d'étude.

L'USEPA (1998b) propose d'analyser, dans une démarche par étape, non seulement la composition chimique et la toxicité du sédiment initial, mais aussi de réaliser un test d'élutriation pour prédire le relargage des contaminants dans la colonne d'eau. La première étape (Tier I) de cette démarche correspond à la collecte d'informations existantes sur la colonne d'eau et le benthos du site à nettoyer et du site de dépôt, en terme de contamination et de toxicité. Dans la deuxième étape (Tier II), des informations sur le niveau de contamination de l'eau (simulation par un protocole normalisé d'élutriation) et du sédiment sont générées et un potentiel toxique théorique, est estimé sur la base des données chimiques. La troisième étape (Tier III), évalue la toxicité et la bioaccumulation des contaminants, dans le matériel à évacuer et dans la colonne d'eau par un protocole d'élutriation, sur une batterie d'organismes sensibles, par le biais de bioessais normalisés. La quatrième et dernière étape (Tier IV), consiste, pour les cas les plus complexes, à réaliser une étude, au cas par cas, avec des bioessais plus spécifiques.

Dans le prolongement de celles d'Imbert *et al.* (1998) et de l'USEPA (1998b), nous développons une démarche d'ERE permettant de caractériser la qualité biologique et physico-chimique du sédiment initial, celle de la colonne d'eau en contact avec le sédiment durant la remise en suspension et celle du sédiment redéposé.

### **52.1.2 Le site étudié : description initiale**

Le site à draguer, Sorel Harbour, contient des traces de DDT (Environnement Canada, 1981) et une faible contamination métallique (Tableau 41).

Tableau 41: Concentrations en métaux, sulfure, carbone organique, proportion de la fraction argilo-limoneuse et qualité biologique évaluée avec *C. tentans*, *H. azteca* et *D. magna* dans les deux sédiments étudiés (SH1 et SH2), au départ de l'étude et valeurs de TEL et de PEL proposées par Smith et al. (1996) pour les métaux détectés.

Sédiment	Métal (µg/g)						AVS	COT	argile- limon ( $<80\mu\text{m}$ )	<i>C.</i> <i>tentans</i>	<i>H.</i> <i>azteca</i>	<i>D.</i> <i>magna</i>
	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	(µmol S/g)	(g C/kg)	(%)	survie (%)		CL <sub>50</sub> -48h
SH1	<1,0	43	43	26	26	140	2,87	16	87	74±20	84±15	>100
SH2	1,0	60	69	30	28	180	7,10	25	85	80±10	84±13	>100
TEL	0.596	37.3	35.7	18	35	123						
PEL	3.53	90	197	36	91.3	315						

L'analyse des contaminants métalliques de deux échantillons (SH1 et SH2) prélevés sur le site, nous permet de constater que, si les concentrations métalliques sont équivalentes ou supérieures aux TELs, aucune ne dépasse les PELs (Tableau 41).

Les bioessais *C. tentans* 10j (Environment Canada, 1997a) et *H. azteca* 14j (Environment Canada, 1997b) réalisés sur ces sédiments bruts et le bioessai *D. magna* 48h (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 1996) réalisé sur les eaux interstitielles correspondantes ne révèlent aucune toxicité (Tableau 41).

### 52.1.3 Action envisagée

Les concentrations métalliques de ce sédiment étant comprises entre les valeurs de TEL et de PEL des contaminants, et aucune toxicité n'ayant été mise en évidence avec trois bioessais différents (2 sur la phase particulaire et 1 sur la phase aqueuse), les gestionnaires envisagent de déposer le sédiment dragué en zone de dépôt ouverte.

Lors du dépôt de sédiment en site ouvert, la descente convective des sédiments peut affecter la qualité de la colonne d'eau et entraîner une modification de la spéciation et de la biodisponibilité des contaminants au niveau des particules qui pourraient, une fois déposées, posséder une toxicité différente de la toxicité initialement observée dans le sédiment.

Bien que difficile à modéliser car fonction de la composition du sédiment et des caractéristiques hydrodynamiques du site de dépôt, nous proposons un protocole simplifié de simulation de cette descente convective pour le cas qui nous intéresse, et estimons l'impact toxique sur l'environnement que peut avoir cette option d'évacuation.

### 52.1.4 Le scénario du dragage

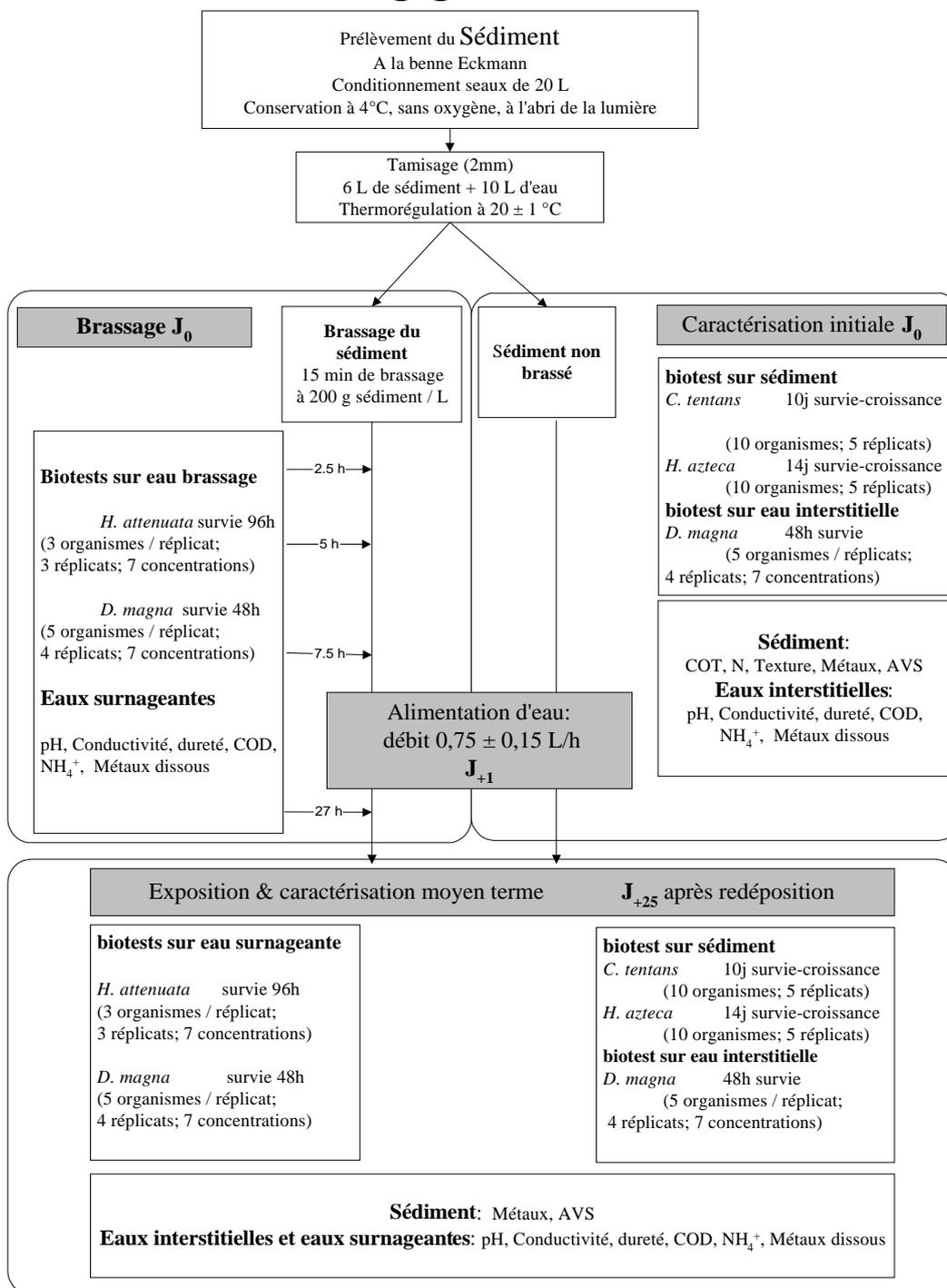


Figure 65 : Protocole développé pour simuler et étudier l'impact d'un dépôt de sédiment dans un site ouvert sur la qualité de la colonne d'eau et du matériel déposé, d'après Bonnet et al. (2000).

Pour simuler le rejet en zone de dépôt ouverte il nous a fallu réaliser un certain nombre de choix expérimentaux. La Figure 65 présente l'ensemble du protocole d'étude mis en oeuvre, les bioessais et les analyses physico-chimiques réalisés.

Pour simuler l'étape post-dragage, de dépôt du sédiment en site ouvert, nous avons décidé de brasser le sédiment dans l'enceinte où il va être laissé à décanter et à « maturer » sur 25 jours.

Un sédiment référence, non brassé, est conditionné selon le même protocole que le sédiment brassé et étudié parallèlement afin de dissocier l'évolution intrinsèque de la qualité des sédiments de l'effet résultant réellement de la remise en suspension.

Pour simuler le passage, à travers la colonne d'eau, du sédiment, après discussion avec les techniciens et responsables du projet, nous avons décidé de réaliser un brassage violent d'1/4h avec un taux de matière en suspension (MES) de 200 g/L.

La dilution correspond au mélange moyen que l'on peut retrouver dans le nuage sédimentaire durant la convection du sédiment rejeté. Ce taux de dilution est proche du taux utilisé dans le protocole d'élutriation de l'EPA (1998b) (1/4).

La durée de brassage correspond au temps estimé pour que le sédiment traverse la colonne d'eau jusqu'à son dépôt. Cette durée, plus courte que celle proposée dans le protocole d'élutriation (1h), permet aussi de minimiser les phénomènes de réadsorption des contaminants sur les particules de sédiments signalés par Burton *et al.* (1992) dans un protocole d'élutriation classique.

La déstructuration totale du sédiment, due à la puissance du brassage, permet d'augmenter les échanges eau-particules.

Le sédiment décante 24h en statique, avant d'initier le courant d'eau. Ceci permet d'éviter la perte du matériel fin, fraction majoritaire dans ce sédiment ne contenant que 13 à 15% de sable, qui sédimente lentement en raison de notre brassage totalement déstructurant. En présence d'un courant d'eau, la fraction fine aurait pu être éliminée durant les premières heures de décantation par la surverse.

Dans des essais préliminaires, en trois semaines, le sédiment retrouvait un certain équilibre physico-chimique, avec un potentiel d'oxydo-réduction proche de celui du sédiment non brassé et des concentrations en composés dissous dans l'eau interstitielle (métaux, ammoniac, carbone organique dissous,...) équivalentes. Sur la base de ces résultats, pour exposer nos organismes d'essai à un sédiment aux caractéristiques physico-chimiques stables, nous avons décidé de laisser le sédiment « maturer » dans nos microcosmes sur une période de 25 jours, sous un courant d'eau continu, avant d'y exposer les organismes.

Le système expérimental utilisé pour réaliser le brassage et le maintien sous un flux d'eau continu des sédiments est décrit dans l'article de Bonnet *et al.* (2000).

## **52.2 Simulation d'une vidange de barrage**

Après avoir brièvement évoqué le déroulement type d'une vidange et le risque qu'elle représente pour le milieu récepteur, nous décrivons dans ce paragraphe le scénario de

simulation de vidange que nous élaborons en fonction des caractéristiques initiales du sédiment et des conditions envisagées de la vidange.

### **52.2.1 Déroutement d'une vidange de barrage**

En France EDF gère 450 barrages représentant un total de  $7 \cdot 10^9$  m<sup>3</sup> d'eau (Poirel *et al.*, 1993), dont une quinzaine sont vidangés chaque année. La sédimentation dans les retenues pose des problèmes de gestion dans environ une quarantaine de barrage EDF qui n'ont pu bénéficier jusqu'à présent d'un entretien régulier (Hopquin, 2000).

La vidange d'un barrage se déroule classiquement en 5 phases (Poirel *et al.*, 1993), qui sont par ordre chronologique :

- l'abaissement du plan d'eau à la cote minimale d'exploitation,
- l'ouverture de la vanne de fond, phase de courte durée, qui entraîne une modification du régime hydraulique et une élimination des sédiments situés immédiatement devant la vanne de fond,
- l'abaissement du plan d'eau, de durée variable, par les vannes de fond,
- le passage du culot, ou bouchon vaseux, qui correspond au moment où la retenue est pratiquement vide et où la rivière recrée son lit dans les sédiments. Cette phase représente la phase de risque maximum avec un apport d'eau interstitielle issu du ressuyage des vases, un effondrement des talus non consolidés dans l'eau et des relargages de produits chimiques,
- la période d'à-sec, de durée variable, selon les travaux réalisés sur l'ouvrage, qui présente un risque lié au passage des crues dans une retenue vide.

Ces vidanges peuvent entraîner un colmatage des frayères par les MES, un abaissement de la teneur en oxygène dissous, et un relargage de contaminants, initialement piégés dans les sédiments (Garric *et al.*, 1990).

Pour lutter contre les perturbations liées à la remise en suspension des sédiments, différentes techniques peuvent être employées (Huez, 1998) :

- la réalisation d'une chasse avant la vidange limite le pic de pollution, observé à l'ouverture de la vanne de fond, en évacuant une partie des sédiments accumulés juste à l'amont de la vanne,
- la réduction de la vitesse d'abaissement du plan d'eau en fin de vidange diminue la quantité de sédiment entraînée lors de la vidange,
- la mise en place d'un batardeau à l'amont retient le culot,
- l'installation d'un bassin de décantation ou d'une chicane à l'aval permet la décantation des MES,
- et la dérivation du cours d'eau durant la phase d'à-sec limite la vulnérabilité du milieu face aux intempéries.

Depuis la loi 92-3 du 3 janvier 1992, le maître d'ouvrage doit réaliser une étude d'incidence avant la vidange. Cette étude doit indiquer « les incidences de l'opération sur la ressource en eau, le milieu aquatique, l'écoulement, le niveau et la qualité des eaux, y

compris de ruissellement » et préciser, pour chaque vidange, les moyens, compensatoires ou correctifs mis en oeuvre pour limiter les impacts environnementaux, « notamment en ce qui concerne les frayères, les modalités de capture du poisson et la destination de celui-ci et les moyens de surveillance prévus » (extrait de l'article 2 du décret 93-742 du 29 mars 1993). Cette démarche permet de prendre en compte simultanément les aspects techniques, réglementaires, environnementaux, financiers et relationnels de l'opération.

La procédure LIVRE (Poirel *et al.*, 1993), est une procédure d'aide à la décision pour la gestion des vidanges qui permet de traiter chaque cas de façon spécifique, tout en intégrant le retour d'expérience d'autres vidanges. Cette démarche est articulée autour de 4 étapes qui sont respectivement :

- la définition des objectifs environnementaux, des mesures préliminaires précisant les risques réels et des mesures correctrices pour minimiser l'impact de la vidange,
- la définition d'un protocole de gestion du plan d'eau et de suivi de la qualité de l'eau,
- l'adaptation du protocole de gestion en cours de vidange selon les aléas,
- la collecte, l'archivage des informations, et l'évaluation de l'impact de la vidange avec l'organisation du retour d'expérience.

Ces deux approches étudient principalement les effets imputables à la vidange dans la colonne d'eau. Dans notre démarche, plus restrictive car centrée sur le risque toxique que représente les sédiments, il s'agit non seulement d'évaluer le danger représenté par la vidange au niveau des sédiments remis en suspension mais aussi d'étudier les transferts de contaminants et les changements de biodisponibilité liés à cette remise en suspension.

### **52.2.2 Le site étudié : description initiale**

L'envasement pour le site à vidanger, Queuille, est de l'ordre de 40 000 à 50 000 m<sup>3</sup> pour une capacité utile de 3\*10<sup>6</sup> m<sup>3</sup>, et l'épaisseur de la couche de sédiments est estimée, au droit du barrage, à environ 3 mètres (données EDF non publiées). Cette accumulation de matériaux est partiellement imputable au fait que le barrage a recueilli les sédiments issus de la vidange du barrage des Fades situé quelques kilomètres en amont et qu'il n'est pas possible d'y pratiquer des chasses compte tenu de la présence de résidus miniers lessivés à partir de l'amont de la retenue. Le sédiment piégé à l'intérieur de cette retenue contient des concentrations importantes de métaux.

L'arsenic, le cadmium, le chrome, le nickel, le plomb, le zinc et les PCBs sont les principaux contaminants potentiellement toxiques sur le site de Queuille (Figure 66). Le danger le plus important étant représenté par l'arsenic et le plomb qui dépassent les PELs proposés par Smith *et al.* (1996), respectivement, d'un facteur 22 et d'un facteur 6.

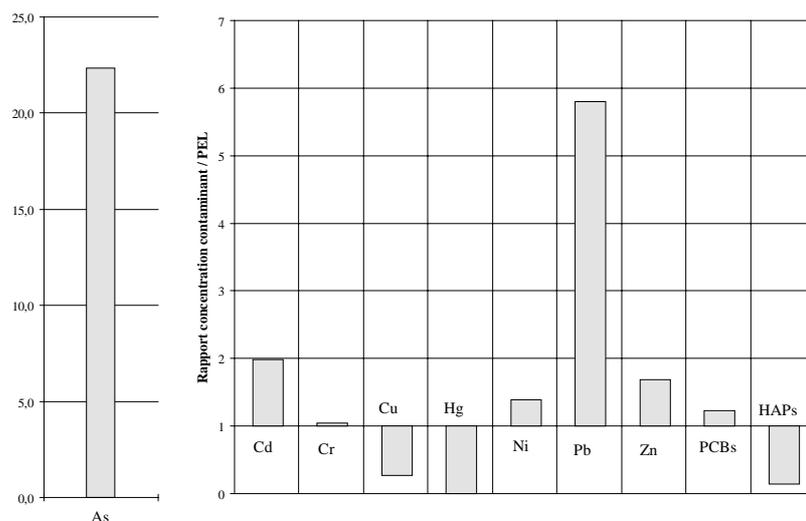


Figure 66 : Rapport des concentrations métalliques et de la somme des HAPs et PCBs du sédiment de Queuille sur les PELs correspondants d'après Smith et al. (1996) et Jones et al. (1997).

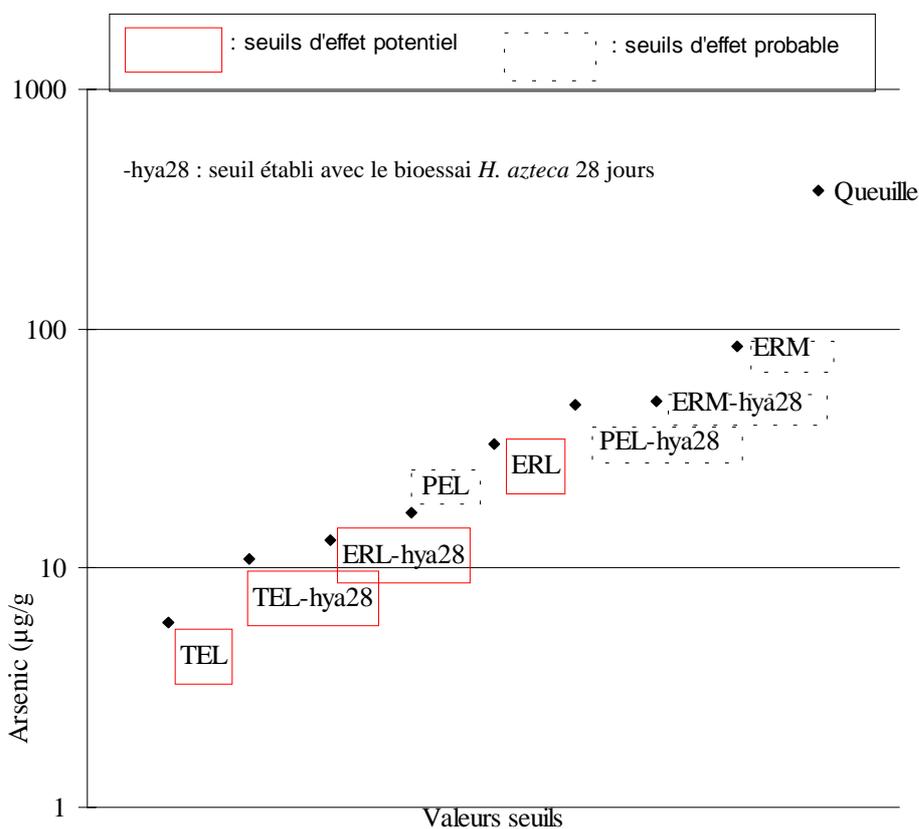


Figure 67 : Comparaison de la concentration en arsenic du sédiment de Queuille à quelques valeurs seuils, d'après Ingersoll et al. (1996b) et Smith et al. (1996).

Une comparaison de la concentration en arsenic mesurée sur le site de Queuille par rapport à divers seuils d'effet de la littérature (Ingersoll *et al.*, 1996b; Smith *et al.*, 1996), nous permet de constater que ce contaminant représente un danger réel pour les organismes vivants (Figure 67).

Tableau 42 : Evaluation de la toxicité du sédiment de Queuille avec les bioessais *C. riparius* 10j (Environment Canada, 1997a) et *H. azteca* 14j (Environment Canada, 1997b).

Organisme :	<i>C. riparius</i>			<i>H. azteca</i>	
	survie (%)	émergence (%)	poids (mg sec)	survie (%)	taille (mm)
Moyenne ±ET	64,3 ± 21,5	58,6 ± 20,4	0,79 ± 0,15 *	85,0 ± 5,5	2,94 ± 0,53
Valeur témoin	78,5 ± 21,2	70,0 ± 14,1	1,33 ± 0,20	100	2,90 ± 0,54

NC : non calculable

\* : réponse significativement différente de celle du témoin.

*H. azteca* et *C. riparius*, exposés au sédiment de Queuille, donnent des informations différentes : alors que *H. azteca* ne détecte pas d'effet toxique, la croissance de *C. riparius* est significativement affectée (Tableau 42). La réponse des chironomes est en accord avec la charge contaminante et le potentiel toxique du sédiment. Une des explications possible à l'absence d'intoxication des amphipodes peut être la capacité de ces organismes à éviter la contamination dans les sédiments en se tenant dans la colonne d'eau (Hoke *et al.*, 1995).

L'eau interstitielle extraite du sédiment avant le brassage est toxique pour *H. attenuata* (CL<sub>50</sub>-96h= 15% (NC)) et *C. dubia* (CL<sub>50</sub>-24h= 22% ±4).

Tableau 43 : Concentrations en contaminants dans l'eau interstitielle brute et dans les dilutions d'eau interstitielle correspondant à la CL<sub>50</sub> pour *C. dubia* et *H. attenuata* par comparaison aux CL<sub>50</sub> de chacun de ces contaminants pour les deux organismes.

Eau interstitielle	brute	<i>C. dubia</i>		<i>H. attenuata</i>	
		diluée (22%)	CL <sub>50</sub> <sup>a</sup>	diluée (15%)	CL <sub>50</sub>
NH <sub>3</sub> (µg/L)	495	109	1730	74,37	178 <sup>d</sup>
Métaux (µg/L) <sup>c</sup>					
As	1600	352	1448	240	4500 <sup>d</sup>
Cd	9	1,98	27,3	1,35	210 <sup>d</sup>
Pb	12	2,64	248	1,8	4230 <sup>e</sup>

<sup>a</sup> CL<sub>50</sub> de *C. dubia* d'après Andersen et Buckley (1998) (ammoniac) et Schubauer-Berigan et Ankley (1991) (métaux) .

<sup>c</sup> Concentrations en chrome, cuivre, nickel et zinc inférieures à la limite de détection (0,2 µg/L).

<sup>d</sup> CL<sub>50</sub> d'après Chapitre 3, §2.2.3.

<sup>e</sup> CL<sub>50</sub> d'*H. attenuata* d'après Trottier et Blaise (1997).

Dans l'eau interstitielle brute, l'ammoniac et l'arsenic peuvent expliquer la mortalité des hydres et des ceriodaphnies.

Les résultats du Tableau 43 montrent que les concentrations en contaminants présentes dans les dilutions entraînant une mortalité de 50% des individus (respectivement 15% et 22% pour les hydres et les ceriodaphnies) sont inférieures au minimum d'un facteur 2,7 aux CL<sub>50</sub> observées dans la littérature. Nous constatons que les concentrations en ammoniac non ionisé et en métaux dissous ne peuvent expliquer la mortalité observée à cette dilution (Tableau 43). L'effet observé doit être la combinaison de la présence d'éléments organiques, d'éléments métalliques dissous et d'ammoniac.

### **52.2.3 Action envisagée**

Considérant la faible cohésion des sédiments, le fort pouvoir colmatant, la présence de matières organiques, azotées, phosphorées et de métaux, les gestionnaires ont décidé, pour réaliser la vidange décennale, d'utiliser une nouvelle technique qui permet de prendre l'eau en surface, à l'aide d'un bras oscillant maintenu en surface par des flotteurs (G., 1999). Cette technique permet d'éviter l'entraînement des sédiments à l'aval lors de l'étape d'ouverture de la vanne de fond.

De plus, les gestionnaires d'ouvrage ont décidé, dans le cas de cette vidange, de ralentir ou d'arrêter la vidange si le taux de MES à l'aval de la retenue devient supérieur à 1 g/L. Cette décision permet d'éviter le passage du culot à l'aval à la fin de la vidange.

Durant cette opération, le danger principal pour les organismes vivants, reste localisé dans la retenue et vient du brassage des masses d'eau et de sédiment dans le culot et du transfert des métaux dissous vers l'aval. Les concentrations métalliques de ce sédiment étant, pour 6 métaux sur les 8 détectés, supérieures aux PELs et une toxicité ayant été mise en évidence avec trois bioessais différents (1 sur la phase particulaire et 2 sur la phase aqueuse), ce danger est non négligeable.

### **52.2.4 Le scénario de la vidange**

Pour simuler le comportement du sédiment de Queuille durant la vidange, nous recréons en laboratoire les conditions physico-chimiques du culot, notamment en terme de concentration en MES (Figure 68, volet brassage). Nous étudions l'impact toxique de la remise en suspension du sédiment sur la colonne d'eau. Le sédiment est ensuite déposé dans un bac où il est laissé à maturer durant 56 jours pour simuler le devenir à l'intérieur de la retenue du sédiment redéposé en terme de concentration contaminante, de biodisponibilité des contaminants et d'impact toxique (Figure 68, volet redéposition).

La Figure 68 présente les différentes étapes de ce protocole, les bioessais et les analyses physico-chimiques réalisés.

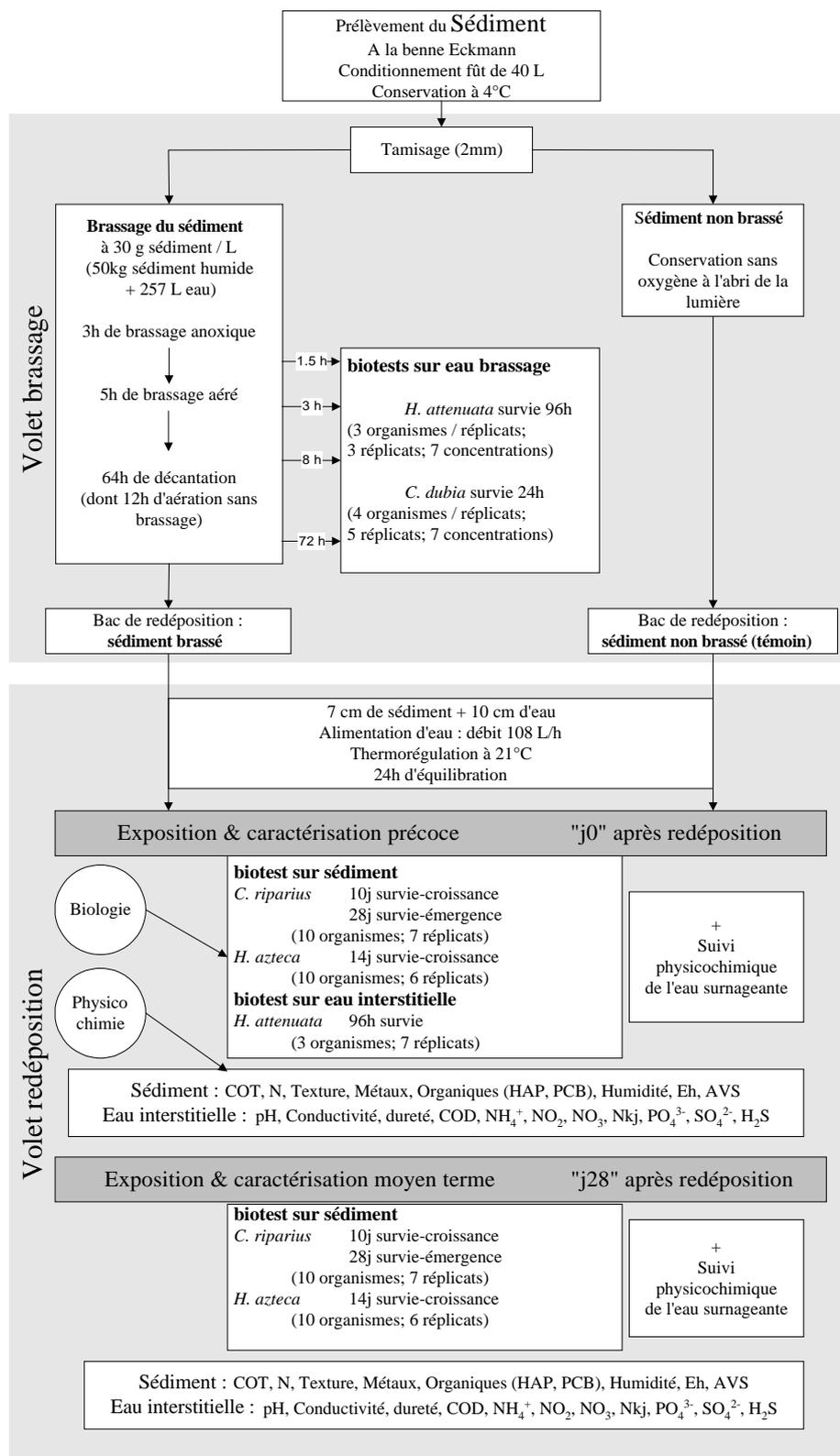


Figure 68 : Protocole développé pour simuler et étudier l'impact d'une vidange de barrage sur la qualité d'un sédiment contaminé, d'après Bonnet et al. (soumis).

Pour simuler la formation du culot dans la retenue durant la vidange et son dépôt en fin de vidange, il nous a fallu réaliser un certain nombre de choix expérimentaux.

Pour le volet de remise en suspension des sédiments, nous avons brassé durant 8 heures, dont 3 en anoxie complète, à un taux de MES de 30 g/L.

Le taux de MES a été fixé à partir d'observations réalisées sur une soixantaine de vidanges (Poirel *et al.*, 1993). L'analyse des pics, correspondant au passage du culot, permet d'observer que 20% des vidanges engendrent plus de 30 g/L de MES. Nous nous sommes placés dans cette fourchette haute pour maximiser, de manière réaliste, les échanges potentiels de contaminants entre les particules et l'eau.

*In situ*, le passage du pic de MES à la sortie du barrage dure environ une heure, mais le culot se forme dans la retenue dès l'ouverture des vannes de fond. Plus l'abaissement du plan d'eau est rapide, plus le culot est chargé en MES et sa durée réduite. Dans le cas de Queuille, la durée totale prévue de l'abaissement du plan d'eau est de 10j à raison de 4 à 8 cm/h. La durée de brassage a été fixée après une série d'essais préliminaires qui nous ont amené à considérer qu'un brassage, à 30 g/L, en anoxie, de 3h permettait un relargage maximum de certains éléments métalliques (Fe, Mn, Zn,...) dissous ou faiblement adsorbés. La réalisation d'un brassage successivement en anoxie puis en oxie permet de simuler la consommation chimique d'oxygène dissous qui a lieu lors de la mise en contact d'un sédiment anoxique avec une masse d'eau oxique, puis la réoxygénation du mélange quand la consommation chimique a atteint un palier.

Alors que le culot est continuellement traversé par un flux d'eau, dans notre cas nous avons travaillé en circuit fermé. Ce protocole nous permet de maximiser les concentrations d'éléments dissous.

La durée de décantation des sédiments, avant leur transfert en bac, a été conditionnée par le fait que le sédiment fin, non cohésif, composé pour 96% de particules <50 µm, a une décantation lente.

En réalisant une décantation de 64 heures, 90% du matériel brassé a sédimenté.

Le sédiment décanté est déposé dans un microcosme où on le laisse « mûrir » sur une période de 56 jours, sous un flux d'eau continu.

Comme pour l'étude du dragage cette étude nécessite l'utilisation d'un sédiment référence, non brassé, qui permet de s'assurer que, si effet il y a, il est bien la résultante de la remise en suspension.

L'étude de dragage nous a montré qu'il n'y avait pas de différence entre la qualité biologique initiale du sédiment et la qualité du sédiment brassé, redéposé et « mûri » 25 jours. Dans cette étude, nous avons décidé d'étudier le sédiment non seulement 28 jours après sa redéposition mais aussi de l'étudier 84 heures après le début du brassage. Ceci afin d'observer l'impact immédiat du brassage sur la qualité biologique du sédiment et l'évolution de cette qualité biologique lorsque le sédiment retourne à un état d'équilibre.

Le système expérimental utilisé dans cette étude pour réaliser le brassage, le maintien sous un flux d'eau continu des sédiments et l'exposition des organismes d'essai est présenté dans l'article de Bonnet *et al.* (soumis).

## 52.3 Evaluer le risque associé aux remises en suspension de sédiments

Après avoir décidé de la méthodologie de simulation des processus de remise en suspension et de dépôt des sédiments brassés, nous choisissons maintenant les paramètres suivis pour étudier les changements potentiels de spéciation des contaminants sous l'effet de la remise en suspension de sédiments et pour caractériser la toxicité des sédiments remis en suspension et des eaux de brassage. Les paramètres physico-chimiques et biologiques définis sont mesurés dans le volet d'analyse de l'ERE (Figure ).

Lors de la remise en suspension des sédiments dans une eau oxygène, il peut y avoir une stimulation d'activité microbienne, une dégradation de matière organique, des changements de phase et d'état des contaminants avec une désorption de contaminants qui passent en phase dissoute (Moore *et al.*, 1995; Petersen *et al.*, 1996; Petersen *et al.*, 1997).

### 52.3.1 Les analyses physico-chimiques

La caractérisation physico-chimique initiale des sédiments (§2.1.2 et 2.2.2) permet de cibler les contaminants potentiellement toxiques et les composants des sédiments qui jouent un rôle dans le contrôle de la biodisponibilité.

- **Le cas du dragage**

La contamination des sédiments de Sorel Harbour SH1 et SH2, est de type métallique (Tableau 41).

Avec un potentiel d'oxydoréduction inférieur à -100 mV, les métaux sont, a priori, principalement associés aux sulfures. Les changements potentiels de spéciation des métaux peuvent être évalués par l'observation des associations métaux-sulfures, initiale et après 25 jours de maturation, et ils peuvent nous aider à interpréter des changements possibles de biodisponibilité.

La texture et la composition (carbone organique, sulfures,...) des sédiments sont mesurées et les métaux (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) sont dosés au début et à la fin de l'étude (Figure 65). Dans les eaux interstitielles correspondantes et les eaux surnageantes le carbone organique dissous, l'ammoniac et les métaux dissous (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) sont dosés (Figure 65). Les protocoles de ces dosages sont développés dans l'article de Bonnet *et al.* (2000).

- **Le cas de la vidange**

La contamination du sédiment de Queuille, est principalement métallique, avec deux composés, l'arsenic et le plomb, qui représentent un danger important pour les organismes vivants (Figure 67).

Nous faisons le choix de plus particulièrement étudier les changements de spéciation de ces deux éléments en étudiant les associations avec les principales phases piégeantes de ces éléments : les oxydes de fer et de manganèse, les sulfures et la matière organique. Ce travail est réalisé dans le cadre d'une thèse plus spécialement dédiée à l'étude de l'évolution géochimique des sédiments remaniés.

Compte tenu du potentiel d'oxydo-réduction des sédiments ( $E_h = 63$  mV), les métaux peuvent être associés aux sulfures, aux oxydes de fer et de manganèse ou à la matière organique. La caractérisation de la spéciation initiale et après 25 jours de maturation de l'arsenic et du plomb nous permet d'étudier des changements potentiels de spéciation selon le protocole de Moore *et al.* (1988). Ce qui pourrait nous aider à interpréter des changements possibles de biodisponibilité.

La texture et la composition (carbone organique, sulfures, oxydes de fer et de manganèse...) des sédiments sont mesurées et les métaux (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn) sont dosés au début et à la fin de l'étude.

Dans les eaux interstitielles correspondantes le carbone organique dissous, l'ammoniac et les métaux dissous (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn) sont dosés (Figure 68).

Aucun dosage de micropolluants n'est réalisé durant la période du brassage et de la décantation. Le relargage d'éléments organiques ne nous a pas paru essentiel dans cette étude en raison de leur hydrophobicité et de leur concentration dans les sédiments (Bonnet *et al.*, soumis). Les cinétiques de désorption/adsorption des métaux n'ont pas été suivies lors du brassage compte tenu du fait que :

- durant la période d'anoxie, l'absence d'oxygène à elle seule suffit à expliquer la réponse biologique,
- aucune toxicité n'a été observée à la fin du brassage anoxique (chapitre 5, §3.2.1).

### 52.3.2 Les bioessais

La réalisation de bioessais permet de caractériser la qualité biologique des sédiments et des eaux et d'évaluer l'impact toxique de la remise en suspension. Deux types de bioessais sont nécessaires dans ce type de démarche : des bioessais phase aqueuse et des bioessais sur sédiment brut (Figure ). Les bioessais *C. riparius*, *H. azteca* et *H. attenuata* couvrent l'exposition à ces deux phases et comme nous l'avons vu dans le chapitre 4, leur utilisation combinée doit nous permettre d'avoir une bonne fiabilité de l'interprétation des résultats. Les protocoles de ces différents bioessais sont défini dans les articles Bonnet *et al.* (2000, soumis).

- **Le cas du dragage**

Dans ce cas, il s'agit de pouvoir évaluer la toxicité immédiate de la colonne d'eau et la toxicité des particules redéposées à moyen terme (au bout de 25 jours).

Nous avons choisi d'exposer l'hydre (*H. attenuata*) et la daphnie (*Daphnia magna*) à des échantillons de l'eau de brassage, 2,5 ; 5 ; 7,5 ; 27 heures et 25 jours après le brassage respectivement durant 96h et 48h (Figure 65).

Les bioessais *Chironomus tentans* 10j et *Hyaella azteca* 14j sont utilisés pour caractériser les sédiments initiaux et 25 jours après le dépôt, et le bioessai *Daphnia magna* 48h est utilisé pour caractériser les eaux interstitielles correspondantes.

Pour cette étude réalisée au Canada nous avons utilisé *C. tentans* au lieu de *C. riparius*, en suivant le protocole d'Environnement Canada (1997a). Il n'existe pas de différence méthodologique entre ces deux bioessais.

- **Le cas de la vidange**

Dans ce cas, il s'agit de pouvoir évaluer la toxicité immédiate de la colonne d'eau et la toxicité des particules redéposées à court (3 jours après le brassage) et à moyen terme (au bout de 25 jours).

Comme dans l'étude précédente nous utilisons un organisme benthique : *Chironomus riparius*, un organisme épibenthique : *Hyaella azteca*, un organisme aquatique fixé : *Hydra attenuata* et un organisme aquatique pélagique : *Ceriodaphnia dubia*.

Pour les chironomes, les amphipodes et les hydres, les protocoles des bioessais appliqués dans cette étude sont ceux proposés à l'issue du chapitre 3 et modifiés en fonction des spécificités de l'étude, excepté pour les larves de *C. riparius* qui sont âgées de 2j en début d'essai.

*C. riparius* et *H. azteca* sont utilisés pour caractériser les sédiments initiaux, juste après la simulation du dépôt et 28 jours après, et *H. attenuata* et *C. dubia* pour caractériser les eaux interstitielles initiales. L'hydre et la ceriodaphnie sont exposées à des échantillons de l'eau de brassage, 1,5 ; 3 ; 8 et 88 heures après le brassage (Figure 68).

L'utilisation simultanée de ces deux bioessais nous permet de comparer la sensibilité des hydres à celle d'un organisme d'essai (*C. dubia*) reconnu pour sa sensibilité aux micropolluants (Toussaint *et al.*, 1995; Versteeg *et al.*, 1997).

## 53 Analyse

Après avoir construit notre modèle conceptuel, décidé du protocole de l'étude, des analyses chimiques mesurées, et des variables biologiques suivies, nous pouvons passer à la deuxième phase de l'ERE : la phase d'analyse.

Cette phase comprend deux opérations parallèles, la caractérisation de l'exposition et celle des effets écologiques (Figure ). La caractérisation de l'exposition a pour objet la description de l'interaction entre le facteur de stress et l'organisme biologique cible, sur la base d'analyses chimiques ou des modélisations des concentrations environnementales. La

caractérisation des effets biologiques se base sur les bioessais réalisés sur différentes espèces.

## 53.1 Simulation d'un dragage

### 53.1.1 Evolution des caractéristiques chimiques de la colonne d'eau et effet toxique suite au brassage des sédiments

Pour un des deux échantillons de sédiment (SH2) nous observons, suite au brassage, un relargage de contaminants dans l'eau surnageante, initialement exempte de métaux et d'ammoniac, (Tableau 44) et l'apparition d'une toxicité vis-à-vis de l'hydre : les  $CL_{50-96h}$  sont respectivement égales à 64%, 63% et 80% pour les eaux surnageantes prélevées 2,5 ; 7,5 et 27h après le brassage. Le chrome, le cuivre et l'ammoniac peuvent expliquer l'intoxication des hydres séparément ou en association, selon les cas.

*Tableau 44 : Concentrations en contaminants dans la colonne d'eau brute, dans les dilutions correspondant à la  $CL_{50}$  pour *H. attenuata* 2,5 ; 7,5 et 27h après le brassage du sédiment SH2 et  $CL_{50}$  de chacun de ces contaminants.*

Temps de brassage : échantillon	2,5 heures		7,5 heures		27 heures		$CL_{50}$
	brut	dilué (64%)	brut	dilué (63%)	brut	dilué (80%)	
NH <sub>3</sub> (µg/L)	68,5	44	403	252	49	39	178 <sup>b</sup>
Métaux (µg/L) <sup>a</sup>							
Cr	60	38	50	31	<50	<50	40 <sup>c</sup>
Cu	40	26	20	13	<20	<20	24 <sup>b</sup>
Zn	170	109	100	62,5	<80	<80	1850 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Concentrations en cadmium, nickel et plomb inférieures à la limite de détection (respectivement 10, 20 et 140 µg/L).

<sup>b</sup>  $CL_{50}$  obtenues au laboratoire (chapitre 3, §2.2).

<sup>c</sup>  $CL_{50}$  d'après Trottier et Blaise (1997).

La qualité chimique et biologique de l'eau surnageante est modifiée durant les 24h qui suivent la période de brassage puis un retour à un état proche de l'eau d'essai est observé (Tableau 44). La disparition de la toxicité et des contaminants dissous dans l'eau de surface, 27h après le brassage, peut s'expliquer par des phénomènes de réadsorption des métaux relargués lors du brassage sur les particules et par l'installation d'un flux d'eau d'essai, 24h après le brassage, qui entraîne une dilution progressive des éléments dissous présents dans l'eau surnageante.

### 53.1.2 Impact du brassage sur les caractéristiques physico-chimiques et la qualité biologique des sédiments

Dans les deux sédiments étudiés, la charge en contaminants est restée constante (Tableau 45). Ce phénomène s'explique par le fait que le processus de remise en suspension se déroule en enceinte close et que le flux d'eau n'est installé qu'après une sédimentation de 24 heures du matériel brassé. La plupart des matières en suspension ont sédimenté et les éléments désorbés suite au brassage des sédiments ont pu se réadsorber sur les particules.

Tableau 45 : Concentrations métalliques dans les deux sédiments étudiés (SH1 et SH2), au départ de l'étude ( $J_0$ ) et à la fin ( $J_{+25}$ ) et dans les sédiments remis en suspension 25 jours après le brassage et valeurs de TEL et de PEL proposées par Smith et al. (1996) pour les métaux détectés.

Sédiment	Exposition	Métal ( $\mu\text{g/g}$ ) <sup>a</sup>						
		Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	
SH1	initial	$J_0$	<1	43	43	26	26	140
	final	$J_{+25}$	0,86	34	46	28	36	150
	brassé final	$J_{+25}$	0,88	33	39	27	35	150
SH2	initial	$J_0$	1,00	60	69	30	28	180
	final	$J_{+25}$	1,10	42	57	33	33	200
	brassé final	$J_{+25}$	<1	45	59	33	34	200
TEL			0,596	37,3	35,7	18	35	123
PEL			3,53	90	197	36	91,3	315

<sup>a</sup> Poids sec.

Nous n'observons pas de toxicité, vis-à-vis de *C. tentans*, *H. azteca* et *D. magna*, au début et à la fin de l'expérimentation dans les sédiments et les eaux interstitielles (Bonnet *et al.*, 2000). Dans les sédiments étudiés, la survie des amphipodes est comprise entre 76% et 98%, la survie des chironomes entre 71% et 90% et le poids moyen des larves entre 1,9 et 2,8 mg sec.

L'absence de toxicité des sédiments bruts (*C. tentans* et *H. azteca*) et des eaux interstitielles (*D. magna*) est à rapprocher de la présence de concentrations en contaminants à la limite des concentrations potentiellement toxiques et de la présence de phases piégeantes dans les sédiments (Tableau 45) : de matière organique (COT compris entre 0,8 et 2,4%) et de sulfure (3,39 à 4,75  $\mu\text{mol S/g}$ ) qui diminuent encore le risque toxique (Bonnet *et al.*, 2000).

Le brassage des sédiments, s'il a temporairement modifié les équilibres chimiques, n'a pas eu d'effet sur la toxicité globale des contaminants.

## 53.2 Simulation d'une vidange

### 53.2.1 Evolution des caractéristiques chimiques de la colonne d'eau et effet toxique suite au brassage des sédiments

Lors de la simulation du culot de vidange, le processus de remise en suspension a deux types d'effet opposés sur les métaux dissous (Tableau 46), il entraîne :

- une augmentation de la concentration en métal (phénomène de désorption) pour le nickel, le zinc, le cuivre et le plomb. Les trois premiers métaux, non détectés dans l'eau interstitielle initialement, le sont après brassage. Le plomb initialement présent dans l'eau interstitielle voit sa concentration augmenter juste après le brassage,
- ou une diminution de cette concentration pour l'arsenic sous l'effet conjoint de la dilution et de phénomènes d'adsorption.

Tableau 46 : Concentrations métalliques dissoutes présentes dans les eaux interstitielles des sédiments non brassés (NB) et brassés (B).

Métaux ( $\mu\text{g/L}$ )	Eaux interstitielles	
	NB ( $J_0$ )	B ( $J_0$ )
As	1600	43
Cd	9	<5
Cr	<5	<5
Cu	<5	5
Ni	<5	6
Pb	12	25
Zn	<5	60

Nous n'observons aucun effet toxique dans l'eau de brassage, que ce soit sur les hydres ou sur les céridaphnies, que cette eau soit prélevée au bout d'1h30 de brassage anoxique, à la fin du brassage anoxique (3 heures après le début du brassage), à l'arrêt du brassage oxique (8 heures après le début du brassage) ou après 64 heures de décantation.

A partir du moment où le sédiment est brassé, les concentrations dissoutes en arsenic, de cadmium et d'ammoniac diminuent et la toxicité disparaît. Ces résultats confortent l'hypothèse, formulée au §2.2.2 de ce chapitre, que ces composés pourraient être à l'origine de la toxicité de l'eau interstitielle pour les hydres et les ceriodaphnies.

### 53.2.2 Impact du brassage sur les caractéristiques physico-chimiques et la qualité biologique des sédiments

Quel que soit le temps d'observation (initial ou 28 jours après le début de l'expérience) et le traitement du sédiment (brassé ou non) nous n'observons pas d'évolution significative de la toxicité des sédiments.

La survie et la croissance de *H. azteca* ne sont pas significativement différentes des témoins et sont respectivement comprises entre 85 et 100%, et entre 0,53 et 0,70 mm.

La survie, l'émergence ou la croissance de *C. riparius* sont significativement différentes de celles des témoins (Figure 69). L'écart observé n'est cependant jamais supérieur à la MDD calculée pour ces variables biologiques (chapitre 3, §1.7.3).

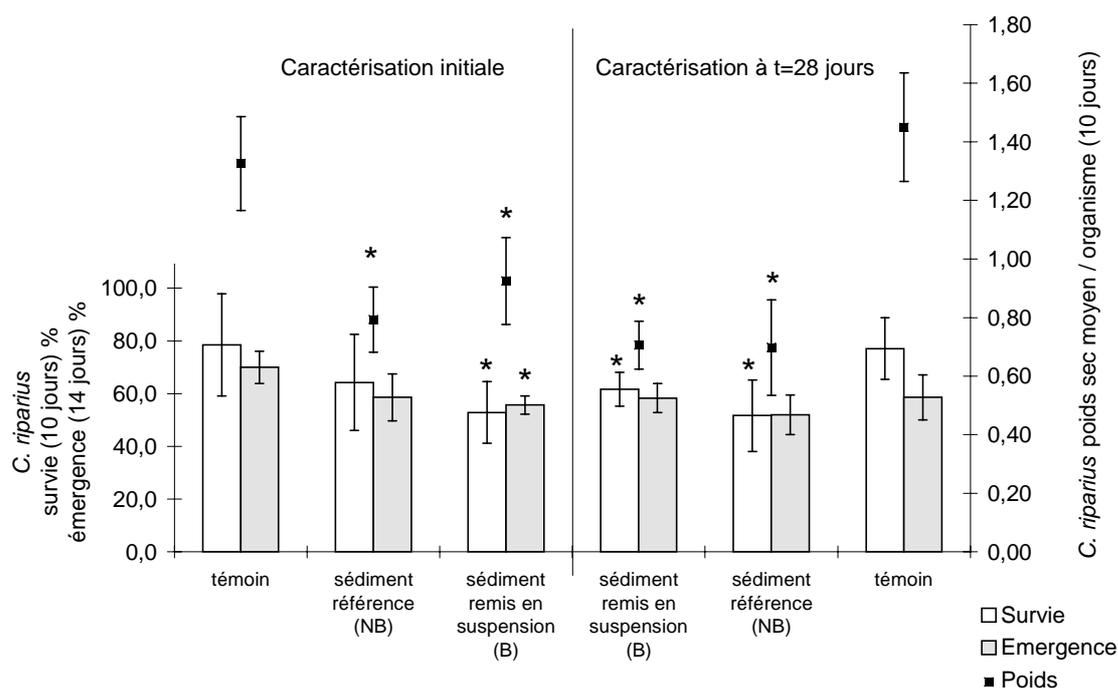


Figure 69 : survie, poids (bioessai 10j) et émergence (bioessai 28j) de *C. riparius* exposé au sédiment référence, au sédiment remis en suspension et au contrôle de l'expérience. \* : significativement différent avec test U de Mann-Whitney, au seuil  $p < 0,05$ , pour la survie et avec test t de Student, au seuil  $p < 0,05$ , pour la croissance.

Tableau 47 : Concentrations métalliques présentes dans les sédiments non brassés (NB) et brassés (B), initialement ( $J_0$ ) et 28 jours après le début de l'expérimentation ( $J_{+28}$ ).

Métaux (mg/kg)	Sédiments				TEL	PEL
	NB ( $J_0$ )	B ( $J_0$ )	NB ( $J_{+28}$ )	B ( $J_{+28}$ )		
As	380.0	506.0	400.0	445.0	5.9	17
Cd	7.0	8.2	6.8	7.4	0.596	3.53
Cr	94.0	127.0	91.0	110.0	37.3	90
Cu	53.0	67.0	52.0	59.0	35.7	197
Ni	50.0	67.0	48.0	60.0	18	36
Pb	530.0	633.0	500.0	610.0	35	91.3
Zn	530.0	601.0	500.0	570.0	123	315

Tableau 48 : Spéciation de l'arsenic et du plomb dans les sédiments non brassés (NB) et brassés (B), initialement ( $J_0$ ) et 28 jours après le début de l'expérimentation ( $J_{+28}$ ).

Sédiment	NB ( $J_0$ )	B ( $J_0$ )	NB ( $J_{+28}$ )	B ( $J_{+28}$ )
Arsenic total <sup>a</sup>	453	425	393	399
Arsenic-hydroxydes de fer et de manganèse <sup>a</sup>	180	304	187	290
Arsenic-matière organique <sup>a</sup>	134	32	67	23
Arsenic-sulfures <sup>a</sup>	139	89	139	86
Plomb total <sup>a</sup>	610	633	610	550
Plomb-hydroxydes de fer et de manganèse <sup>a</sup>	66	26	82	27
Plomb-matière organique <sup>a</sup>	119	91	57	58
Plomb-sulfures <sup>a</sup>	391	383	341	400

<sup>(a)</sup> poids sec mg/kg.

Si la charge en contaminants dans les sédiments brassé et non brassé n'évolue pas (Tableau 47), la spéciation de certains métaux est affectée par la remise en suspension des sédiments (Tableau 48). Nous observons, par exemple, une redistribution de l'arsenic dans les différentes phases piégeantes des sédiments. Dans le sédiment anoxique il est associé aux éléments soufrés et à la matière organique. Suite au passage en oxic, lors du brassage, l'arsenic se complexe aux oxy-hydroxydes de fer et de manganèse.

## 54 Caractérisation du risque et retour d'expérience

A l'issue de la phase d'analyse, l'interprétation des résultats permet d'exprimer le risque écologique de manière qualitative (absence ou non de risque), semi-quantitative (risque faible, moyen, élevé) ou en terme de probabilité (Rivière, 1998).

Un volet important de la caractérisation du risque est de discuter de l'origine et de l'ampleur des différentes incertitudes associées au résultat. Finalement l'ensemble des résultats obtenus permet au gestionnaire de prendre une décision après une analyse « risque / bénéfice ».

## 54.1 Etudes de cas

Tableau 49 : Tableau synthétique des principaux résultats obtenus pour l'étude de l'impact des deux types de remise en suspension de sédiments : dragage et vidange.

Action envisagée	Support	Organismes	Réponse biologique	Contamination	Spéciation
<b>Dragage :</b>			N'évolue pas. Pas toxique.	N'évolue pas. Zone grise TEL < PEL	N'évolue pas :  Association S - Cd, Cr, Cu, Ni, Pb
MES : 200g/L	Sédiment	<i>C. tentans</i> <i>H. azteca</i>	- -		
	Eau interstitielle	<i>D. magna</i>	-		
Brassage : 1/4h Décantation : 24h	Colonne d'eau	<i>H. attenuata</i> <i>D. magna</i>	± Toxique. + -	Relargage : Cr, Ni, Cu	
<b>Vidange :</b>			N'évolue pas. Toxique.	N'évolue pas. Probablement toxique PEL <	Modification fonction du métal  As : évolue Pb : n'évolue pas
MES : 30 g/L	Sédiment	<i>C. riparius</i> <i>H. azteca</i>	+ -		
	Eau interstitielle	<i>C. dubia</i> <i>H. attenuata</i>	+ +		
Brassage : 8h Décantation : 64h	Colonne d'eau	<i>H. attenuata</i> <i>C. dubia</i>	Pas toxique. - -	Relargage : Zn, Ni, Cu, Pb Dilution, adsorption : As, Cd	

+ : effet biologique significatif ; - : effet biologique non significativement différent du témoin.

L'observation des résultats, dans leur globalité nous permet de dire que, dans les limites de nos conditions d'étude (Tableau 49) :

- le sédiment dragué de Sorel Harbour, qui présente un niveau de pollution suspect n'est initialement pas toxique vis-à-vis de *C. tentans* et *H. azteca* exposés au sédiment brut et de *D. magna* exposée à l'eau interstitielle. Par ailleurs, il n'y a pas de modification du risque toxique pour les organismes inféodés au sédiment après dragage et mise en dépôt en site ouvert. Le transit dans la colonne d'eau des matériaux représente un danger épisodique pour les hydres, durant les 24 premières heures.

Nos conditions d'essai maximisent le risque, notamment la réalisation, en laboratoire, du brassage et de la décantation en circuit fermé. *In situ*, le nuage sédimentaire traverse une colonne d'eau plus importante, il est soumis à un courant de dispersion et la zone de dépôt est étendue. De plus, *in situ* les organismes pélagiques sont susceptibles d'éviter la zone perturbée. Compte tenu de nos résultats et des conditions de dépôt *in situ*, si l'on fixe : « risque minime = aucun bioessai de la batterie utilisée avec une réponse qui indique une toxicité », nous pouvons considérer que le risque est minime pour l'environnement.

- le barrage de Queuille, qui présente un sédiment fortement contaminé, est initialement toxique vis-à-vis de 3 des 4 organismes d'essai : *C. riparius* sur sédiment brut et *C. dubia* et *H. attenuata* sur eau interstitielle. Au niveau du sédiment, il n'y a pas de modification de la toxicité sous l'effet d'une remise en suspension. Aucun effet toxique n'est observé lors de la phase de remise en suspension du sédiment étudié.

Ici aussi, en réalisant une remise en suspension en circuit fermé nous maximisons le risque toxique. *In situ*, le matériau particulaire du bouchon vaseux est traversé par un courant d'eau et le matériau libéré à l'aval de la retenue est entraîné par un courant fort, sur une zone de dispersion très étendue à un taux, au minimum, 30 fois moins important (1 g/L). Compte tenu de nos résultats et des conditions de dépôt *in situ*, si l'on fixe « risque potentiel = 1 bioessai au moins de la batterie utilisée avec une réponse qui indique une toxicité », nous pouvons considérer qu'il existe un risque toxique potentiel pour l'environnement, à l'aval de la retenue, au niveau de la zone de dépôt du sédiment issu du culot. Cette toxicité est équivalente à celle du sédiment initial. Ce qui veut dire que si la zone de dépôt aval était initialement de bonne qualité elle ne le sera plus après le dépôt.

Les chironomes et les amphipodes n'ont pas mis en évidence de changement majeur en terme de toxicité suite à la remise en suspension de sédiments contaminés. Les hypothèses possibles pour expliquer cette absence de modification de toxicité sont que :

- les changements d'état des contaminants ne se traduisent pas par des changements de biodisponibilité. Il y a transfert d'une phase piégeante à une autre sans changement d'effet.
- les changements de toxicité sont trop minimes pour être détectés par nos bioessais.

Ces deux études confirment la nécessité de réaliser des bioessais pour caractériser la qualité du milieu. En effet, la seule observation des rapports concentration en contaminant/seuils d'effet potentiel (TEL) ne nous aurait pas permis de trancher sur une absence de risque toxique pour le site de Sorel Harbour. A l'inverse dans le cas de Queuille nous pourrions craindre une létalité importante, à la fois dans le sédiment initial et suite à la remise en suspension compte tenu de l'intensité de dépassement des seuils d'effet TEL et PEL. Lors de l'étude de cas, cette toxicité n'a pas été confirmée par les amphipodes et les chironomes et la remise en suspension n'a pas entraîné d'effet néfaste quel que soit l'organisme étudié.

## **54.2 Limites de nos approches de laboratoire dans le cadre d'une démarche d'ERE**

La démarche d'ERE peut apporter aux experts des informations pour fonder une décision et justifier un choix de gestion (EPA, 1999), mais il faut avoir conscience des limites de cette démarche en terme d'extrapolation des résultats du laboratoire au terrain, de compréhension de processus et de détection des causalités. Par rapport aux observations issues de simulations de laboratoire, l'expertise reste primordiale.

L'une des principales critiques que l'on peut faire à notre étude est qu'elle considère les effets au niveau d'un bioessai sur quelques espèces de laboratoire, alors qu'il serait nécessaire de considérer les effets au niveau de populations, de communautés ou d'écosystèmes.

Cependant, différents auteurs ont montré que les résultats des bioessais peuvent raisonnablement prédire l'impact sur des populations (Arthur, 1988; Brunson *et al.*, 1998) et des extrapolations du laboratoire au terrain peuvent être possibles (Chapman, 1995; DeWitt *et al.*, 1999).

De plus, certaines décisions de gestion actuelles, basées sur des démarches d'ERE ne s'appuient que sur les résultats de bioessais de laboratoire. C'est le cas par exemple des études prospectives pour les notifications de substances chimiques où les bioessais sont les seuls outils disponibles pour évaluer le risque associé aux substances.

Néanmoins, pour atteindre une réelle représentativité des phénomènes simulés, un effort doit être fourni sur le nombre et la localisation des échantillons étudiés. Cet effort d'échantillonnage va de pair avec des études lourdes et coûteuses, ce qui limite ces études à des sites où la gestion des sédiments est nécessaire et problématique (EPA, 1994a; Förstner et Calmano, 1998; Gruiz *et al.*, 1998; EPA, 1999).

La technique de simulation mise en oeuvre pour étudier un phénomène de remise en suspension et de redéposition de sédiments présente certaines limites.

Dans notre cas, seuls des brassages en enceintes closes sans renouvellement d'eau sont techniquement réalisables. Nous considérons que nous maximisons le risque en évitant les phénomènes de dilutions. Nous nous plaçons dans les conditions les plus défavorables, d'une part parce que nous n'avons pas de phénomènes de dilution et d'autre part parce que nous maximisons les phénomènes de réadsorption. Ainsi, le processus simulé n'est pas identique à ce qui se passe sur le terrain et le gestionnaire devra juger si l'incertitude associée aux résultats est acceptable pour fonder une décision de gestion.

Par ailleurs, il peut y avoir un biais dans l'interprétation des réponses biologiques, lors de la caractérisation de la toxicité de la colonne d'eau, durant la phase de remise en suspension des sédiments, si les organismes biologiques sont sensibles aux matières en suspension, notamment pour les organismes filtreurs comme les daphnies et les ceriodaphnies. Les conditions expérimentales n'ayant pas entraîné de toxicité sur ces organismes dans nos deux études, nous n'avons pas discuté de ce problème mais il pourra être mis en exergue dans d'autres études.

D'un point de vue plus fondamental, les mesures physico-chimiques et la caractérisation de la matrice, plus ou moins poussées, conditionnent le niveau de compréhension des modifications de biodisponibilité imputables aux remise en suspension de sédiments.

Dans le cas de la simulation d'un dépôt de sédiment en zone ouverte, nous avons fait le choix de n'observer qu'une phase de liaison avec les métaux : les sulfures, mais cela pour tous les métaux détectés. Les concentrations métalliques associées aux sulfures n'ont pas été affectées par le brassage des sédiments tel qu'il a été pratiqué. Nous ne pouvons pas pour autant affirmer qu'aucune modification de spéciation n'a eu lieu puisque nous n'avons étudié qu'une phase piégeante. Les conditions d'essai peuvent aussi avoir limité les échanges entre différentes phases : le temps de brassage et de décantation peut avoir été trop court pour entraîner une oxydation significative des sulfures et un relargage des métaux (Simpson *et al.*, 1998).

Dans le cas de la simulation d'une vidange, nous avons décidé de ne travailler que sur deux métaux, l'arsenic et le plomb, qui possèdent un potentiel toxique élevé dans le sédiment de Queuille. Pour ces métaux nous avons étudié les principales phases piégeantes : la matière organique, les sulfures et les oxy-hydroxydes. Pour ces sédiments, les résultats ont permis de montrer que :

- la perturbation physique mise en oeuvre n'entraînait pas de modification de la spéciation de phase du plomb, contrairement à l'arsenic,
- ces modifications de spéciation de l'arsenic ne conduisent pas à un changement de toxicité dans le sédiment.

Une démarche d'évaluation de risque écotoxicologique est fondée sur une bonne connaissance de l'exposition et sur la sensibilité et la pertinence des outils biologiques.

Néanmoins deux limites doivent être soulignées pour cette démarche, la représentativité d'une expérimentation de laboratoire pour simuler un « macro-événement », et la difficulté de réaliser une analyse pertinente de l'exposition ponctuelle s'agissant d'un mélange (multicontaminant) au sein d'une matrice complexe (sédiment).

# CHAPITRE 6 :

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

---

Le but de ce travail était de développer des méthodes d'essai sur les sédiments et d'en valider l'application pour caractériser la qualité biologique de plusieurs sédiments multicontaminés en place ou susceptibles d'être soumis à des perturbations physiques de type mise en suspension.

### 61 Synthèse des résultats

Pour les trois organismes utilisés (*Chironomus riparius*, *Hyalella azteca* et *Hydra attenuata*), la première étape de notre travail a été l'amélioration des méthodologies expérimentales.

La mise au point d'un sédiment témoin et l'obtention de conditions physico-chimiques acceptables pour les organismes dans nos essais ont permis de disposer, pour la suite de l'étude, de bioessais discriminants sur sédiment.

L'observation des résultats obtenus avec *H. attenuata* exposée à des eaux interstitielles nous a amené à proposer des modifications de protocole afin d'améliorer la précision de la  $CL_{50}$  et de calculer un intervalle de confiance.

Dans notre étude, les organismes d'essai ont prouvé leur sensibilité et leur complémentarité. Ainsi l'hydre *H. attenuata* est l'organisme le plus sensible devant l'amphipode *H. azteca* puis le chironome *C. riparius*. Cette batterie permet de classer les sédiments dans une large gamme de concentration en contaminants potentiellement biodisponibles.

Pour caractériser nos sédiments moyennement contaminés, les réponses des hydres et des amphipodes sont complémentaires. La survie des chironomes n'est pas affectée dans nos études et la réponse sur le poids est corrélée à la  $CL_{50-96h}$  des hydres. Ces résultats peuvent conduire à conclure à l'élimination de *C. riparius* de la batterie. Néanmoins, conserver le chironome permet d'apporter des informations complémentaires sur la toxicité du sédiment dans les cas de fortes contaminations.

Dans des sédiments multicontaminés, nous n'observons pas de corrélations spécifiques entre la réponse biologique et la présence des contaminants métalliques ou organiques. Nous avons cependant montré que la réponse biologique est corrélée à la présence d'ammoniac dans les sédiments. La réponse de nos organismes intègre l'ensemble des expositions aux contaminants.

La batterie formée des bioessais *C. riparius*, *H. azteca* et *H. attenuata*, révèle la présence d'une toxicité dans 86% (19/22) des sédiments potentiellement toxiques (au moins un contaminant dépassant le seuil d'effet potentiel TEL). Elle confirme une absence de toxicité dans les deux sédiments pour lesquels aucune concentration en contaminant ne dépasse le TEL.

Cependant, il n'y a pas toujours adéquation entre l'effet attendu (effet potentiel estimé à partir des seuils) et l'effet observé (effet mesuré avec des bioessais). Quelques cas confirment la nécessité de réaliser des bioessais sur le sédiment, pour en évaluer la toxicité effective. Par exemple, pour le sédiment Q1 les concentrations de tous les métaux, exceptés le cuivre et le mercure, et la somme des polychloro-biphényles dépassent les seuils d'effet probable (PEL) correspondant, pourtant aucun effet significatif n'est observé sur la survie ou la croissance des chironomes ou des hyalles.

Dans le cadre de nos deux études de mise en suspension de sédiments, ces bioessais n'ont pas détecté de modification de toxicité suite à une telle perturbation.

Plusieurs hypothèses sont envisageables pour discuter de cette absence de modification de la réponse toxique:

- les changements physico-chimiques peuvent avoir été trop minimes pour modifier la réponse des bioessais,
- il peut y avoir eu des changements de phase ou d'état des contaminants, sans que leur biodisponibilité ne soit modifiée.

## 62 Perspectives

Si les travaux réalisés confirment l'intérêt de *C. riparius*, *H. azteca* et *H. attenuata* pour la caractérisation de sédiments contaminés, ils soulèvent aussi certaines questions sur les mesures biologiques, les voies d'expositions et les applications possibles de ces organismes.

### • Affiner les outils d'évaluation de la qualité biologique des sédiments

Les chironomes *C. tentans* et *C. riparius* et l'amphipode *H. azteca* sont utilisés depuis de nombreuses années pour évaluer la toxicité des sédiments (Wentzel *et al.*, 1977; De March, 1981b; De March, 1981a; Townsend *et al.*, 1981). Les connaissances fondamentales sur la biologie et le comportement de ces organismes étant acquises il serait intéressant de développer l'utilisation de mesures biologiques qui permettent:

- d'une part, d'évaluer la réponse de populations exposées sur tout le cycle de vie ou sur plusieurs générations (Postma *et al.*, 1995b). En effet, les échecs de reproduction, le ralentissement de la croissance et, chez les insectes, les perturbations de la métamorphose exercent des effets écologiques conséquents sur la démographie des espèces et sur l'équilibre de l'écosystème (Ramade, 1992).
- d'autre part, de détecter précocement l'exposition des organismes à des sédiments contaminés en utilisant des biomarqueurs (Lagadic *et al.*, 1998) afin de prévenir des modifications irréversibles à plus long terme.

Pour augmenter la précocité de la détection d'un effet dans des sédiments contaminés, l'utilisation de biomarqueurs est engagée avec *C. tentans* (Karouna-Renier et Zehr, 1999) et *C. riparius* (Sturm et Hansen, 1999; Choi *et al.*, 2000). Elle reste à développer avec *H. azteca* car il semble que les amphipodes soient des organismes pertinents pour ce type de mesure (Crane *et al.*, 1999).

Des critères de mesure intégrant l'exposition (bioaccumulation) ou les effets sur la population (reproduction) suite à l'exposition complète d'une génération de *Hyalella azteca* ou de *Chironomus* sp. ont été développées par quelques auteurs (Kosalwat et Knight, 1996; Benoit *et al.*, 1997; Sibley *et al.*, 1997a; Ingersoll *et al.*, 1998; Neumann *et al.*, 1999). Cette information apparaît en particulier indispensable pour prendre en compte les risques toxiques vis-à-vis d'un réseau trophique dans les démarches d'évaluation de risque écotoxicologique.

Par ailleurs, nos travaux et ceux d'autres auteurs ont montré que l'utilisation de l'hydre dans l'évaluation de la qualité des effluents, des eaux naturelles et des eaux interstitielles est récente et prometteuse (Côté *et al.*, 1998a).

Cependant des connaissances restent à acquérir sur:

- la sensibilité des hydres aux contaminants organiques et métalliques, ainsi qu'à la présence de microorganismes dans le milieu naturel
- la sensibilité de ce bioessai par rapport à d'autres, plus couramment utilisés pour caractériser la qualité des milieux aquatiques comme les bactéries, les algues, les microcrustacés (daphnies, ceriodaphnies) et les poissons.

Le développement de l'utilisation de mesures d'effets sublétaux pourrait également permettre d'améliorer la sensibilité du test (Pardos *et al.*, 1999).

Pour ces trois organismes, des connaissances fondamentales restent à acquérir sur les cibles cellulaires, les formes moléculaires toxiques, les mécanismes d'accumulation, de biotransformation et d'élimination des contaminants.

La recherche sur les voies d'exposition des organismes et leur implication dans la toxicité doit être développée en fonction de la nature des contaminants et des caractéristiques géochimiques des milieux (par exemple, l'apport de nourriture peut-il interférer dans l'exposition des organismes aux contaminants ?). Ceci nous permettrait de mieux

comprendre les mécanismes d'intoxication et d'avoir un choix raisonné sur les organismes cibles à intégrer dans le modèle d'effet de la démarche d'évaluation de risque écotoxicologique.

• **Les applications futures de ces outils biologiques**

Les bioessais *C. tentans* et *H. azteca* sont largement utilisés outre-Atlantique:

- dans la définition de critères de qualité pour les écosystèmes d'eau douce (Long et Morgan, 1990; Persaud *et al.*, 1992; Ingersoll *et al.*, 1996a; Smith *et al.*, 1996),
- dans l'aide à la gestion de sédiments contaminés (EPA, 1994a). Ils sont appliqués dans des démarches d'évaluation de risque.

Les bioessais *C. riparius* et *H. azteca* en sont au point de maturité suffisant pour être utilisables en France. Ils permettraient :

- d'acquérir sur l'ensemble du réseau dulçaquicole français des données de toxicité sur les sédiments,
- de préciser les seuils de qualité existants, dans le contexte géochimique des bassins versants français,
- de pointer les zones sensibles pour lesquelles une démarche de gestion devrait être engagée (extraction ou décontamination),
- de procéder à la recherche des sources potentielles de pollution et à leur contrôle.

---

# BIBLIOGRAPHIE

---

- Adams, J.A. et Haileselassie, H.M. (1984)** The effects of polychlorinated biphenyls (Aroclors 1016 and 1254) on mortality, reproduction, and regeneration in *Hydra oligactis*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **13**:493-499.
- Adams, W.J., Kimerle, R.A. et Mosher, R.G. (1985)** Aquatic safety assessment of chemicals sorbed to sediments. In Cardwell, R.D., Purdy, R. et Bahner, R.C. (Eds). *Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Seventh Symposium*, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, USA. 429-453.
- Agence de l'Eau R.M.C. (1994)** Réseau national de bassin. Synthèse 1994. Rapport. Lyon, FRA. 44p.
- Agget, J. et O'Brien, G.A. (1985)** Detailed model for the mobility of arsenic in lacustrine sediments based on measurements in Lake Ohakuri. *Environmental Science and Technology*, **19**:231-238.
- Alzieu, C. (1999)** *Dragages et environnement marin: Etat des connaissances*. Ifremer. Plouzané, FRA, 223p.
- American Petroleum Institute (1995)** Reducing uncertainty in laboratory sediment toxicity tests. 4632. American Petroleum Institute, Hunt Valley, USA. 74p.
- Andersen, H.B. et Buckley, J.A. (1998)** Acute toxicity of ammonia to *Ceriodaphnia dubia* and a procedure to improve control survival. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **61**:116-122.
- Ankley, G., Katko, A. et Arthur, J. (1990)** Identification of ammonia as an important sediment-associated toxicant in the lower Fox River and Green Bay, Wisconsin. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **9**:313-322.
- Ankley, G. et Mount, D.R. (1996)** Retrospective analysis of the ecological risk of contaminant mixtures in aquatic sediments. *Human and Ecological Risk Assessment*, **2**:434-440.
- Ankley, G.T., Benoit, D.A., Hoke, R.A., Leonard, E.N., West, G.V., Phipps, G.L., Mattson, V.R. et Anderson, L.A. (1993)** Development and evaluation of test methods for benthic invertebrates and sediments: effects of flow rate and feeding on water quality and exposure conditions. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **25**:12-19.
- Ankley, G.T., Di Toro, D.M., Hansen, D.J. et Berry, W.J. (1996a)** Technical basis and proposal for deriving sediment quality criteria for metals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **15**:2056-2066.
- Ankley, G.T., Phipps, G.L., Leonard, E.N., Benoit, D.A., Mattson, V.R., Kosian, P.A., Cotter, A.M., Dierkes, J.R., Hansen, D.J. et Mahony, J.D. (1991a)** Acid-volatile sulfide as a factor

mediating cadmium and nickel bioavailability in contaminated sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **10**:1299-1307.

**Ankley, G.T. et Schubauer-Berigan, M.K. (1994)** Comparison of techniques for the isolation of sediment pore water for toxicity testing. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **27**:507-512.

**Ankley, G.T., Schubauer-Berigan, M.K. et Dierkes, J.R. (1991b)** Predicting the toxicity of bulk sediments to aquatic organisms with aqueous test fractions: pore water vs elutriate. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **10**:1359-1366.

**Ankley, G.T., Schubauer-Berigan, M.K. et Monson, P.D. (1996b)** Influence of pH and hardness on toxicity of ammonia to the amphipod *Hyalella azteca*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **52**:2078-2083.

**Arthur, J.W. (1988)** Application of laboratory-derived criteria to an outdoor stream ecosystem. *International Journal of Environmental Studies*, **32**:97-110.

**ASTM (1994a)** Standard guide for collection, storage, characterization and manipulation of sediment for toxicological testing. E1391-94. Technical report. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, USA. 1-21p.

**ASTM (1994b)** Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates. E1383-94. Technical report. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, USA. 802-834p.

**ASTM (1995a)** Standard guide for determination of the bioaccumulation of sediment-associated contaminants by benthic invertebrates. E1688-95. Technical report. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, USA. 1140-1189p.

**ASTM (1995b)** Standard test methods for measuring the toxicity of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. E1706-95. Technical report. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, USA. 1-82p.

**Babut, M., Bonnet, C., Montuelle, B. et Garric, J. (1999)** Ecological risk assessment of contaminated sediments: development needs through 2 case studies. International Symposium, Sediment Quality Assessment. Berlin, 20-22 avril 1999.

**Baker, R.L. et Ball, S.L. (1995)** Microhabitat selection by larval *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae): effects of predators, food, cover and light. *Freshwater Biology*, **34**:101-106.

**Barnabé, G. (1990)** Aquaculture. In (Eds). Ellis Harwood, London.

**Batts, D. et Cubbage, J. (1995)** Summary of guidelines for contaminated freshwater sediments. 95-308. Washington Department of Ecology, Olympia, WA, USA. 16p.

**Beach, M.J. et Pascoe, D. (1998)** The role of *Hydra vulgaris* (Pallas) in assessing the toxicity of freshwater pollutants. *Water Research*, **32**:101-106.

**Becker, D.S. et Ginn, T.C. (1995)** Effects of storage time on toxicity of sediments from Puget Sound, Washington. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **14**:829-835.

**Becker, D.S., Rose, C.D. et Bigham, G.N. (1995)** Comparison of the 10-days freshwater sediment toxicity tests using *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **14**:2089-2094.

- Beiras, R., His, E. et Seaman, M.N.L. (1998)** Effects of storage temperature and duration on toxicity of sediments assessed by *Crassostrea gigas* oyster embryo bioassay. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **17**:2100-2105.
- Belzile, N. (1988)** The fate of arsenic in sediments of the Laurentian Trough. *Geochemica et Cosmochimica Acta*, **52**:2293-2302.
- Benoit, D.A., Sibley, P.K., Juenemann, J.L. et Ankley, G.T. (1997)** *Chironomus tentans* life-cycle test: design and evaluation for use in assessing toxicity of contaminated sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **16**:1165-1176.
- Benson, B. et Boush, G.M. (1983)** Effect of pesticides and PCBs on budding rates of green *Hydra*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **30**:344-350.
- Berry, W.J., Hansen, D.J., Mahony, J.D., Robson, D.L., Di Toro, D.M., Shipley, B.P., Rogers, B., Corbin, J.M. et Boothman, W.S. (1996)** Predicting the toxicity of metal-spiked laboratory sediments using acid-volatile sulfide and interstitial water normalizations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **15**:2067-2079.
- Besser, J.M., Dwyer, J. et Ingersoll, C. (1997)** Development and application of methods for assessing the bioavailability of contaminants associated with sediments: I. bioaccumulation and toxicity identification procedures. U.S. Geological Survey, Expanding sediment research capabilities in today's USGS. Reston, VA and Harpers Ferry, WV, USA, 4-7 février 1997. 4p.
- Besser, J.M., Giesy, J.P., Kubitz, J.A., Verbrugge, D.A., Coon, T.G. et Braselton, W.E. (1996)** Assessment of sediment quality in dredged and undredged areas of the Trenton Channel of the Detroit River, Michigan, USA, using the Sediment Quality Criteria. *Journal of Great Lakes Research*, **22**:683-696.
- Beurskens, J.E.M. et Stortelder, P.B.M. (1995)** Microbial transformation of PCBs in sediments : what can we learn to solve practical problems ? *Water Science and Technology*, **31**:99-107.
- Beurskens, J.E.M., Toussaint, M.W., De Wolf, J., Van Der Steen, J.M.D., Slot, P.C., Commandeur, L.C.M. et Parsons, J.R. (1995)** Dehalogenation of chlorinated dioxins by an anaerobic microbial consortium from sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **14**:939-943.
- Blaise, C. et Kusui, T. (1997)** Acute toxicity assessment of industrial effluents with a microplate based *Hydra attenuata* assay. *Environmental Toxicology and Water Quality*, **12**:53-60.
- Blanck, H., Holmgren, K., Landner, L., Norin, H., Notini, M., Rosemarin, A. et Sundelin, B. (1989)** Advanced hazard assessment of arsenic in the Swedish environment. In Landner, L. (Eds). *Chemicals in the aquatic environment*, Springer-Verlag, Berlin, DEU. 256-328.
- Bode, H., Ernst, R. et Arditti, J. (1978)** Biological effects of surfactants, III *Hydra* as a highly sensitive assay animal. *Environmental Pollution*, **17**:175-185.
- Bonneris, E. (1999)** Etude de la toxicité de trois hydrocarbures aromatiques polycycliques sur *Hydra attenuata* et *Ceriodaphnia dubia*. Rapport de stage MST. Université Claude Bernard, Lyon, FRA, Cemagref. 41p.
- Bonnet, C., Babut, M., Féraud, J.-F., Martel, L. et Garric, J. (2000)** Assessing the potential toxicity of resuspended sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **19**:1290-1296.

- Bonnet, C. et Garric, J. (soumis)** Les biotests de laboratoire utilisés pour la mesure de la toxicité des sédiments d'eau douce. In Montuelle, B. (Eds). *Qualité des sédiments: Interactions physiques, chimiques et biologiques*, Cemagref, Paris, FRA.
- Bonnet, C., Garric, J., Percherancier, H., Migeon, B., Roulier, J.-L. et Montuelle, B. (soumis)** Effects of a resuspension process on metal bioavailability and sediment toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*.
- Borchert, J., Karbe, L. et Westendorf, J. (1997)** Uptake and metabolism of benzo(a)pyrene absorbed to sediment by the freshwater invertebrate species *Chironomus riparius* and *Sphaerium corneum*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **58**:158-165.
- Borglin, S., Wilke, A., Jepsen, R. et Lick, W. (1996)** Parameters affecting the desorption of hydrophobic organic chemicals from suspended sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **15**:2254-2262.
- Borgmann, U. (1994)** Chronic toxicity of ammonia to the amphipod *Hyaella azteca*: importance of ammonium ion and water hardness. *Environmental Pollution*, **86**:329-335.
- Borgmann, U. et Munawar, M. (1989)** A new standardized sediment bioassay protocol using the amphipod *Hyaella azteca* (Saussure). *Hydrobiologia*, **188-189**:425-531.
- Borgmann, U. et Norwood, W.P. (1993)** Spatial and temporal variability in toxicity of Hamilton Harbour sediments: evaluation of the *Hyaella azteca* 4-week chronic toxicity test. *Journal of Great Lakes Research*, **19**:72-82.
- Borgmann, U., Norwood, W.P. et Ralph, K.M. (1990)** Chronic toxicity and bioaccumulation of 2,5,2',5'- and 3,4,3',4'- tetraclorobiphenyl and Aroclor 1242 in the amphipod *Hyaella azteca*. *Archives of Environmental Toxicology*, **19**:558-564.
- Borgmann, U., Ralph, K.M. et Norwood, W.P. (1989)** Toxicity test procedures for *Hyaella azteca*, and chronic toxicity of cadmium and pentachlorophenol to *Hyaella azteca*, *Gammarus fasciatus*, and *Daphnia magna*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **18**:756-764.
- Borovec, Z. (1993)** Speciation of copper, zinc, lead and cadmium in the fine-grained fraction of river bed sediments of the Labe river in central Bohemia. *Acta Universitatis Carolinae*, **37**:95-110.
- Bourg, A.C.M. et Loch, J.P.G. (1995)** Mobilization of heavy metals as affected by pH and redox conditions. In Salomons, W. et Stigliani, W.M. (Eds). *Biogeochemistry of pollutants in soils and sediments*, Berlin, DEU. 87-102.
- Brunson, E.L., Canfield, T.J., Dwyer, F.J., Ingersoll, C.G. et Kemble, N.E. (1998)** Assessing the bioaccumulation of contaminants from sediments of the upper Mississippi river using field-collected oligochaetes and laboratory-exposed *Lumbriculus variegatus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **35**:191-201.
- Bufflap, S.E. et Allen, H.E. (1995)** Sediment pore water collection methods for trace metal analysis : a review. *Water Research*, **29**:165-177.
- Buhl-Mortensen, L. (1996)** Type-II statistical errors in environmental science and the precautionary principle. *Marine Pollution Bulletin*, **32**:528-531.
- Burgess, R.M., Rogers, B.A., Rego, S.A., Corbin, J.M. et Morrison, G.E. (1994)** Sand spiked with copper as a reference toxicant material for sediment toxicity testing: a preliminary evaluation. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **26**:163-168.

- Burton, G.A.J. (1991)** Assessing the toxicity of freshwater sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **10**:1585-1627.
- Burton, G.A.J. (1992)** Sediment collection and processing: factors affecting realism. In Burton, G.A.J. (Eds). *Sediment toxicity assessment*, Lewis, Chelsea, MI, USA. 37-66.
- Burton, G.A.J. (1995)** Critical issues in sediment bioassays and toxicity testing. *Journal of Aquatic Ecosystem Health*, **4**:151-156.
- Burton, G.A.J., Lazorchak, J.M., Waller, W.T. et Lanza, G.R. (1987)** Arsenic toxicity changes in the presence of sediment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **38**:491-499.
- Burton, G.A.J. et Mcpherson, C. (1995)** Sediment toxicity testing issues and methods. In Hoffman, D.J., Rattner, B.A., Burton, G.A. et Cairns, J.J. (Eds). *Handbook of ecotoxicology*, Lewis, Boca Raton, FL, USA. 755.
- Burton, G.A.J., Nelson, M.K. et Ingersoll, C.G. (1992)** Freshwater benthic toxicity tests. In Burton, G.A.J. (Eds). *Sediment toxicity assessment*, Lewis, Chelsea, MI, USA. 213-240.
- Call, D.J., Polkinghorne, C.N., Markee, T.P., Brooke, L.T., Geiger, D.L., Gorsuch, J.W. et Robillard, K.A. (1999)** Silver toxicity to *Chironomus tentans* in two freshwater sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**:30-39.
- Calmano, W., Ahlf, W. et Förstner, U. (1996)** Sediment quality assessment: chemical and biological approaches. In Calmano, W. et Förstner, U. (Eds). *Sediments and toxic substances*, Berlin, DEU. 1-35.
- Calmano, W. et Förstner, U. (1996)** *Sediments and toxic substances*. Berlin, DEU, 335p.
- Calmano, W., Förstner, U. et Hong, J. (1994)** Mobilization and scavenging of heavy metals following resuspension of anoxic sediments from the Elbe river. In Alpers, C.N. et Blows, D.W. (Eds). *Environmental geochemistry of sulfide oxidation*, American Chemical Society, Washington D.C., USA. 298-321.
- Calow, P. (1994)** *Handbook of ecotoxicology*. Blackwell Scientific Publications. Oxford, Londres, GBR, 416p.
- Campbell, P.G.C. (1995)** Interactions between trace metals and organisms: a critique of the free-ion activity model. In Teissier, A. et Turner, D.R. (Eds). *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*, **3**. IUPAC Series and Analytical and Physical Chemistry of Environmental Systems, Oxford, GBR. 45-102.
- Campy, M. et Meybeck, M. (1995)** Les sédiments lacustres. In Pourriot, R. et Meybeck, M. (Eds). *Limnologie générale*, Masson, Paris, FRA. 185-226.
- Canada national research council (1978)** *Effects of arsenic in the Canadian environment*. National Research Council of Canada. Ottawa, CAN, 349p.
- Canfield, T.J., Dwyer, F.J., Fairchild, J.F., Haverland, P.S., Ingersoll, C.G., Kemble, N.E., Mount, D.R., La Point, T.W., Burton, G.A. et Swift, M.C. (1996)** Assessing contamination in Great Lakes sediments using benthic invertebrate communities and the sediment quality triad approach. *Journal of Great Lakes Research*, **22**:565-583.
- Carral, E., Puente, X., Villares, R. et Carbaleira, A. (1995)** Background heavy metal levels in estuarine sediments and organisms in Galicia (northwest Spain) as determined by modal analysis. *The Science of the Total Environment*, **172**:175-188.

- Carvalho, P.S.M., Zanardi, E., Buratini, S.V., Lamparelli, M.C. et Martins, M.C. (1998)** Oxidizing effect on metal remobilization and *Daphnia similis* toxicity from a Brazilian reservoir sediment suspension. *Water Research*, **32**:193-199.
- Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (1996)** Méthode d'analyse des milieux environnementaux. Détermination de la toxicité létale chez la daphnie, *Daphnia magna*. Ma 500-D.magn.1.0. Rapport technique. Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec, Québec, CAN. 32p.
- Centre Saint-Laurent (1996)** Evaluation des effets toxiques létaux et sublétaux avec *Hydra attenuata*, méthode pour échantillons aqueux. Environment Canada, Quebec, CAN. 21p.
- Chapman, K.K., Benton, M.J., Brinkhurst, R.O. et Scheuerman, P.R. (1999)** Use of the aquatic oligochaetes *Lumbriculus variegatus* and *Tubifex tubifex* for assessing the toxicity of copper and cadmium in a spiked-artificial-sediment toxicity test. *Environmental Toxicology*, **14**:271-278.
- Chapman, P.M. (1985)** Effects of gut sediment contents on measurements of metal levels in benthic invertebrates—a cautionary note. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **35**:345-347.
- Chapman, P.M. (1989)** Current approaches to developing sediment quality criteria. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **8**:589-599.
- Chapman, P.M. (1995)** Extrapolating laboratory toxicity results to the field. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **14**:927-930.
- Chapman, P.M. et Mann, G.S. (1999)** Sediment Quality Values (SQVs) and Ecological Risk Assessment (ERA). *Marine Pollution Bulletin*, **38**:339-344.
- Chapman, P.M., Wang, F., Janssen, C., Persoone, G. et Allen, H.E. (1998)** Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **55**:2221-2243.
- Chappie, D.J. et Burton, G.A. (1997)** Optimization of *in situ* bioassays with *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **16**:559-564.
- Chiou, C.T., Freed, V.H., Schmedding, D.W. et Kohnert, R.L. (1977)** Partition coefficient and bioaccumulation of selected organic chemicals. *Environmental Science and Technology*, **11**:475-478.
- Choi, J., Roche, H. et Caquet, T. (2000)** Effects of physical (hypoxia, hyperoxia) and chemical (potassium dichromate, fenitrothion) stress on antioxidant enzyme activities in *Chironomus riparius* Meigen (Diptera, Chironomidae) larvae: potential biomarkers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **19**:495-500.
- Christensen, E.R. (1998)** Metals, acid-volatile sulfides, organics, and particle distributions of contaminated sediments. *Water Science and Technology*, **37**:149-156.
- Coffman, W.P. (1978)** Chironomidae. In R.W., M. et Cummins, K.W. (Eds). *An introduction to the aquatic insects of North America*, Kendall and Hunt Publishing Company, Iowa, USA. 345-376.
- Collyard, S.A., Ankley, G.T., Hoke, R.A. et Goldenstein, T. (1994)** Influence of age on the relative sensitivity of *Hyalella azteca* to diazinon, alkylphenol ethoxylates, copper, cadmium and zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **26**:110-113.

- Cornelissen, G., Rgiterink, H., Ferdinandy, M.M.A. et Van Noort, P.C.M. (1998a)** Rapidly desorbing fractions of PAHs in contaminated sediments as a predictor of the extent of bioremediation. *Environmental Science and Technology*, **32**:966-970.
- Cornelissen, G., Rigterink, H., Vrindt, B.A., Ten Hulscher, D.T.E.M., Ferdinandy, M.M.A. et Van Noort, P.C.M. (1997a)** Two stage desorption kinetics and *in situ* partitioning of hexachlorobenzene and dichlorobenzene in a contaminated sediment. *Chemosphere*, **35**:2405-2416.
- Cornelissen, G., Van Noort, P.C.M. et Govers, H.A.J. (1997b)** Desorption kinetics of chlorobenzenes, polycyclic aromatic hydrocarbons, and polychlorinated biphenyls: sediment extraction with Tenax® and effects of contact time and solute hydrophobicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **16**:1351-1357.
- Cornelissen, G., Van Noort, P.C.M. et Govers, H.A.J. (1998b)** Mechanism of slow desorption of organic compounds from sediments: a study using model sorbents. *Environmental Science and Technology*, **32**:3124-3131.
- Cornett, J., Chant, L. et Risto, B. (1992)** Arsenic transport between water and sediments. *Hydrobiologia*, **235-236**:533-534.
- Côté, C., Blaise, C., Michaud, J.R., Menard, L., Trottier, S., Gagné, F. et Lifshitz, R. (1998a)** Comparisons between microscale and whole-sediment assays for freshwater sediment toxicity assessment. *Environmental Toxicology and Water Quality*, **13**:93-110.
- Côté, C., Blaise, C., Schroeder, J., Douville, M. et Michaud, J.R. (1998b)** Investigating the adequacy of selected micro-scale bioassays to predict the toxic potential of freshwater sediments through a TIER process. *Water Quality Research Journal of Canada*, **33**:253-277.
- Crane, M., Attwood, C., Sheahan, D. et Morris, S. (1999)** Toxicity and bioavailability of the organophosphorus insecticide pirimiphos methyl to the freshwater amphipod *Gammarus pulex* L. in laboratory and mesocosm systems. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**:1456-1461.
- Dave, G. et Nilsson, E. (1996)** Sediment storage: a critical factor in sediment quality assessments. In Munawar, M. et Dave, G. (Eds). *Development and Progress in sediment Quality Assessment : Rationale, Challenge, Techniques and Strategies*, Amsterdam, NDL. 153-163.
- Day, K.E., Kirby, R.S. et Reynoldson, T.B. (1995)** The effect of manipulations of freshwater sediments on responses of benthic invertebrates in whole-sediment toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **14**:1333-1343.
- De Gregori, I.H., Pinochet, H.C., Arancibia, M.J. et Vidal, A.B. (1996)** Grain size effect on trace metals distribution in sediments from two coastal areas of Chile. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **57**:163-170.
- De March, B.G.E. (1981a)** Essai sur la diminution de la reproduction et de la croissance chez l'amphipode *Hyaella azteca*. In Lawrence, S.G. (Eds). *Manual for the culture of selected freshwater invertebrates*, **54**. Can. Spec. Publ. Fisch Aquat. Sci., CAN. 1-10.
- De March, B.G.E. (1981b)** *Hyaella azteca* (Saussure) introduction. In Lawrence, S.G. (Eds). *Manual for the culture of selected freshwater invertebrates*, **54**. Can. Spec. Publ. Fisch Aquat. Sci., CAN. 62-77.
- DeFoe, D.L. et Ankley, G.T. (1998)** Influence of storage time on toxicity of freshwater sediments to benthic macroinvertebrates. *Environmental Pollution*, **99**:123-131.

- DeWitt, T.H., Hickey, C.W., Morrissey, D.J., Nipper, M.G., Roper, D.S., Williamson, R.B., Van Dam, L. et Williams, E.K. (1999)** Do amphipods have the same concentration-response to contaminated sediment *in situ* as *in vitro*? *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**:1026-1037.
- Di Toro, D.M., Mahony, J.D., Hansen, D.J., Hicks, B., Redmond, M.S., Scott, K.J. et Mayr, S.M. (1990)** Toxicity of cadmium in sediments: the role of acid volatile sulfide. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **9**:1487-1502.
- Di Toro, D.M., Zarba, C.S., Hansen, D.J., Berry, W.J., Swartz, R.C., Cowan, C.E., Pavlou, S.P., Allen, H.E., Thomas, N.A. et Paquin, P.R. (1991)** Technical basis for establishing sediment quality criteria for nonionic organic chemicals using equilibrium partitioning. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **10**:1541-1583.
- Dillon, T.M., Moore, D.W. et Jarvis, A.S. (1994)** The effects of storage temperature and time on sediment toxicity. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **27**:51-53.
- Distworth, G.R. et Schults, D.W. (1990)** Preparation of benthic substrates for sediment toxicity testing. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **9**:1523-1529.
- Dodge, E.E. et Theis, T.L. (1979)** Effect of chemical speciation on the uptake of copper by *Chironomus tentans*. *Environmental Science and Technology*, **13**:1287-1288.
- Efron, B. (1981)** Nonparametric estimates of standard error : the jackknife, the bootstrap and other methods. *Biometrika*, **68**:589-599.
- Emerson, K., Russo, R.C., Lund, R.E. et Thurston, R.V. (1975)** Aqueous ammonia equilibrium calculations: effects of pH and temperature. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, **32**:2379-2383.
- Environment Canada (1994)** Guidance document on the collection and preparation of sediment for physico-chemical characterisation and biological testing. EPS 1/RM/29. Environment Canada,, Ottawa, CAN. 172p.
- Environment Canada (1997a)** Biological test method. Test for growth and survival in sediment using larvae of freshwater midges (*Chironomus tentans* or *Chironomus riparius*). EPS 1/RM/32. Environment Canada, Ottawa, CAN. 133p.
- Environment Canada (1997b)** Biological test method. Test for growth and survival in sediment using the freshwater amphipod *Hyalella azteca*. EPS 1/RM/33. Environment Canada, Ottawa, CAN. 145p.
- Environnement Canada (1981)** Les substances toxiques dans le fleuve Saint-Laurent. SPE 3/RQ/81-1F. Environnement Canada, Quebec, CAN. 95p.
- EPA (1991)** Evaluation of dredged material proposed for ocean disposal. EPA-503/8-91/001. Testing manual. U.S. Environment Protection Agency, Washington D.C., USA. 150p.
- EPA (1994a)** Assessment and remediation of contaminated sediments (ARCS) program. EPA-905/B-94/002. Great Lakes National Program Office, Washington, USA. 1-247p.
- EPA (1994b)** Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. EPA-600/R-94/024. Testing manual. U.S. Environment Protection Agency, Duluth, USA. 133p.
- EPA (1998a)** Guidelines for Ecological Risk Assessment. EPA-630/R-95/002F. U. S. Environment Protection Agency, Washington D.C., USA. 114p.

- EPA (1998b)** Evaluation of dredged material proposed for discharge in waters of the United States. EPA-823/B-98/004. U. S. Environment Protection Agency, Washington D.C., USA. 114p.
- EPA (1999)** Evaluation of toxicity and bioaccumulation of contaminants in sediments samples from Waukegan Harbor, Illinois. EPA-905/R-99/009. U. S. Environmental Protection Agency, Chicago, IL, USA. 28p.
- Epp, L.G. et Kobllick, D.C. (1977)** Relationship of intracellular potassium to asexual reproduction in *Hydra*. *J. Exp. Biol.*, **69**:45-51.
- Ferguson, J.F. et Gavis, J. (1972)** A review of the arsenic cycle in natural waters. *Water Research*, **6**:1259-1274.
- Flammarion, P., Billiard, A. et Garric, J. (1998)** Ecotoxicité et génotoxicité des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) : Etude bibliographique. Rapport 1ère phase. INERIS/Cemagref bea/ecotox, Lyon, FRA. 43p.
- Förstner, U. (1987)** Sediment-associated contaminants - an overview of scientific bases for developing remedial options. *Hydrobiologia*, **149**:221-246.
- Förstner, U. (1989a)** *Contaminated sediments*. Springer-Verlag. Berlin, DEU, 157p.
- Förstner, U. (1989b)** Environmental factors controlling the uptake and release of organic and inorganic pollutant burden. Service Etudes des Eaux, Port autonome de Nantes Saint-Nazaire, Séminaire international sur les aspects environnementaux liés aux activités de dragages. Nantes, FRA, 27 novembre-1 décembre 1989. 33-47.
- Förstner, U. (1990)** Inorganic sediment chemistry and elemental speciation. In Baudo, R., Giesy, J.P. et Muntau, H. (Eds). *Sediments: chemistry and toxicity of in-place pollutants*, Lewis Publishers, Inc., Chelsea, MI, USA. 61-105.
- Förstner, U. et Calmano, W. (1998)** Characterisation of dredged materials. *Water Science and Technology*, **38**:149-157.
- France, R.L. (1993)** Production and turnover of *Hyalella azteca* in central Ontario, Canada compared with other regions. *Freshwater Biology*, **30**:343-349.
- Fu, G. et Allen, H.E. (1992)** Cadmium adsorption by oxic sediment. *Water Research*, **26**:225-233.
- Fu, L.J., Staples, R.E. et Stahl, R.G.J. (1991a)** Application of the *Hydra attenuata* assay for identifying developmental hazards among natural waters and wastewaters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **22**:309-319.
- Fu, L.J., Staples, R.E. et Stahl, R.G.J. (1991b)** Applying the *Hydra attenuata* assay to evaluating environmental water pollution. *Toxicologist*, **11**:296.
- Fu, L.J., Staples, R.E. et Stahl, R.G.J. (1994)** Assessing acute toxicities of pre- and post-treatment industrial wastewaters with *Hydra attenuata*: a comparative study of acute toxicity with the fathead minnow, *Pimephales promelas*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **13**:263-569.
- Fuchsman, P.C., Barber, T.R. et Sheehan, P.J. (1998)** Sediment toxicity evaluation for hexachlorobenzene: spiked sediment tests with *Leptocheirus plumosus*, *Hyalella azteca*, and *Chironomus tentans*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **35**:573-579.
- G., C. (1999)** Queuille vidangé à l'automne. La Montagne. Clermont Ferrand, FRA, 4 mars 1999. 9.
- Gaillard, J.-F. (1995)** Limnologie chimique: principes et processus. In Pourriot, R. et Meybeck, M. (Eds). *Limnologie générale*, Masson, Paris, FRA. 116-156.

- Garric, J., Baligand, M.P., Flammarion, P., Gouy, V., Montuelle, B. et Roulier, J.L. (1998)** Etude d'établissement de seuils de qualité pour les sédiments. Agence de l'Eau Rhin-Meuse/Cemagref/Bea/ecotox, Lyon, FRA. 83 p. + annexes.
- Garric, J., Migeon, B. et Vindimian, E. (1990)** Lethal effects of draining on brown trout. A predictive model based on field and laboratory studies. *Water Research*, **24**:59-65.
- Garrivier, F. (1995)** Mise au point en écotoxicologie : détection des perturbations fonctionnelles des sédiments en présence de composés chimiques. Thèse en Biochimie et Biologie Appliquées. Université de Savoie, Chambéry, FRA, 186p.
- Gauss, J.D., Woods, P.E., Winner, R.W. et Skillings, J.H. (1985)** Acute toxicity of copper to three life stages of *Chironomus tentans* as affected by water hardness-alkalinity. *Environmental Pollution*, **37**:149-157.
- Gess, P. et Pavlostathis, S.G. (1997)** Desorption of chlorinated organic compounds from a contaminated estuarine sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **16**:1598-1605.
- Giesy, J.P., Graney, R.L., Newsted, J.L., Rosiu, J.L., Benda, A., Kreis, R.G. et Horvath, F.J. (1988)** Comparison of three sediment bioassay methods using Detroit River sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **7**:483-498.
- Gonzalez, A.M. (1996)** A laboratory-formulated sediment incorporating synthetic acid volatile sulfide. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **15**:2209-2220.
- Green, A.S., Chandler, G.T. et Blood, E.R. (1993)** Aqueous, pore water, and sediment phase cadmium: toxicity relationships for a meiobenthic copepod. *Environmental Toxicity and Chemistry*, **12**:1497-1506.
- Griffiths, R.W. (1992)** Effects of pH on community dynamics of Chironomidae in a large river near Sudbury, Ontario. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **49**:76-86.
- Groupe Chimie Ecologie (1997)** Impact des métaux sur l'homme et l'environnement : influence de la spéciation. Paris, FRA. 24p.
- Gruiz, K., Muranyi, A., Molnar, M. et Horvath, B. (1998)** Risk assessment of heavy metal contamination in Danube sediments from Hungary. *Water Science and Technology*, **37**:273-281.
- Hakanson, L. et Jansson, M. (1983)** *Principles of lake sedimentology*. Springer-Verlag. Berlin, DEU, 316p.
- Hansen, D.J., Berry, W.J., Mahony, J.D., Boothman, W.S., Di, T., D.M., Robson, D.L., Ankley, G.T., Ma, D., Yan, Q. et Pesch, C.E. (1996)** Predicting the toxicity of metal-contaminated field sediments using interstitial concentration of metals and acid-volatile sulfide normalizations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **15**:2080-2094.
- Harkey, G.A., Landrum, P.F. et Klaine, S.T. (1994a)** Preliminary studies on the effect of feeding during whole sediment bioassays using *Chironomus riparius* larvae. *Chemosphere*, **28**:597-606.
- Harkey, G.A., Landrum, P.F. et Klaine, S.J. (1994b)** Comparison of whole sediment, elutriate and pore-water exposures for use in assessing sediment-associated organic contaminants in bioassays. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **13**:1315-1329.
- Harrahy, E.A. et Clements, W.H. (1997)** Toxicity and bioaccumulation of a mixture of heavy metals in *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae) in synthetic sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **16**:317-327.

- Herring, C.O., Adams, J.A., Wilson, B.A. et Pollard, S.J. (1988)** Dose-response studies using ethylene dibromide (EDB) in *Hydra oligactis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **40**:35-40.
- Hoke, R.A., Ankley, G.T., Cotter, A.M., Goldenstein, T., Kosian, P.A., Phipps, G.L. et Van Der, M., F.M. (1994)** Evaluation of equilibrium partitioning theory for predicting acute toxicity of field-collected sediments contaminated with DDT, DDE and DDD to the amphipod *Hyaella azteca*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **13**:157-166.
- Hoke, R.A., Giesy, J.P., Ankley, G.T., Newsted, J.L. et Adams, J.R. (1990)** Toxicity of sediments from Western Lake Erie and the Umee River at Toledo, Ohio, 1987: implications for current dredged material disposal practices. *Journal of Great Lakes Research*, **16**:457-470.
- Hoke, R.A., Kosian, P.A., Ankley, G.T., Cotter, A.M. et Vandermeiden, F.M. (1995)** Check studies with *Hyaella azteca* and *Chironomus tentans* in support of the development of a sediment quality criterion for dieldrin. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **14**:435-443.
- Hopquin, B. (2000)** Sauviat, ou le barrage enlisé dans les métaux lourds. Le Monde. Paris, FRA, 20/06/2000. 14.
- Howe, G.E., Marking, L.L. et Bills, T.D. (1994)** Effects of water temperature and pH on toxicity of Terbufos, Trichlorfon, 4-Nitrophenol and 2,4-Dinitrophenol to the amphipod *Gammarus pseudolimnaeus* and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, **13**:51-66.
- Huez, D. (1998)** Impacts des vidanges de barrages: retour d'expérience. ENGREF, Montpellier, FRA. 13p.
- Imbert, T., Py, C. et Duchene, M. (1998)** Enlèvement des sédiments - Guide méthodologique - Faut-il curer ? Pour une aide à la prise de décision. Pôle de compétence sur les sites & sols pollués Nord/Pas de Calais - Agence de l'Eau Artois-Picardie, Douai, FRA. 161p.
- Ingersoll, C.G., Besser, J.M. et Dwyer, J. (1997)** Development and application of methods for assessing the bioavailability of contaminants associated with sediments: I. toxicity and the sediment quality triad. U.S. Geological Survey, Expanding sediment research capabilities in today's USGS. Reston, VA and Harpers Ferry, WV, USA, 4-7 février 1997. 7p.
- Ingersoll, C.G., Brumbaugh, W.G., Dwyer, F.J. et Kemble, N.E. (1994)** Bioaccumulation of metals by *Hyaella azteca* exposed to contaminated sediments from the upper Clark Fork River, Montana. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **13**:2013-2020.
- Ingersoll, C.G., Brunson, E.L., Dwyer, F.J., Hardesty, D.K. et Kemble, N.E. (1998)** Use of sublethal endpoints in sediment toxicity tests with the amphipod *Hyaella azteca*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **17**:1508-1523.
- Ingersoll, C.G., Haverland, P.S., Brunson, E.L., Canfield, T.J., Dwyer, F.J., Henke, C.E., Kemble, N.E. et Mount, D.R. (1996a)** Calculation and evaluation of sediment effect concentrations for the amphipod *Hyaella azteca* and the midge *Chironomus riparius*. EPA 905-R96-008. United States Environmental Protection Agency, Chicago, IL, USA. 30p. + annexes.
- Ingersoll, C.G., Haverland, P.S., Brunson, E.L., Canfield, T.J., Dwyer, F.J., Henke, C.E., Kemble, N.E., Mount, D.R. et Fox, R.G. (1996b)** Calculation and evaluation of sediment effect concentrations for the amphipod *Hyaella azteca* and the midge *Chironomus riparius*. *Journal of Great Lakes Research*, **22**:602-623.

- Ingersoll, C.G. et Nelson, M.K. (1990)** Testing sediment toxicity with *Hyaella azteca* (Amphipoda) and *Chironomus riparius* (Diptera). In Landis, W.G. et Van der Schalie, W.H. (Eds). *Aquatic Toxicology and Risk Assessment*, American society for Testing and Materials. Philadelphia, PA, USA. **13**:93-109.
- Jain, C.K. et Ram, D. (1997)** Adsorption of metal ions on bed sediments. *Hydrological Sciences Journal*, **42**:713-723.
- Johnson, K. et Ghosh, S. (1998)** Feasibility of anaerobic biodegradation of PAHs in dredged river sediments. *Water Science and Technology*, **38**:41-48.
- Jones, D.S., Suter II, G.W. et Hull, R.N. (1997)** Toxicological benchmarks for screening contaminants of potential concern for effects on sediment-associated biota: 1997 revision. ES/ER/TM-95/R4. 30p.
- Kalf, D.F., Crommentuijn, T. et Van De, P., E.J. (1997)** Environmental quality objectives for 10 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **36**:89-97.
- Karickhoff, S.W. (1984)** Organic pollutant sorption in aquatic systems. *Journal of Hydraulic Engineering*, **110**:707-735.
- Karickhoff, S.W., Brown, D.S. et Scott, T.A. (1979)** Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water Research*, **13**:241-248.
- Karouna-Renier, N.K. et Zehr, J.P. (1999)** Ecological implications of molecular biomarkers: assaying sub-lethal stress in the midge *Chironomus tentans* using heat shock protein 70 (HSP-70) expression. *Hydrobiologia*, **401**:255-264.
- Kemble, N.E., Brumbaugh, W.G., Brunson, E.L., Dwyer, F.J., Ingersoll, C.G., Monda, D.P. et Woodward, D.F. (1994)** Toxicity of metal-contaminated sediments from the upper Clark Fork River, Montana, to aquatic invertebrates and fish in laboratory exposures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **13**:1985-1997.
- Kemble, N.E., Dwyer, F.J., Ingersoll, C.G., Dawson, T.D. et Norberg-King, T.J. (1999)** Tolerance of freshwater test organisms to formulated sediments for use as control materials in whole-sediment toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**:222-230.
- Kosalwat, P. et Knight, A.W. (1996)** Acute toxicity of aqueous and substrate-bound copper to the midge *Chironomus decorus*. *Archives of Environmental Toxicology*, **16**:275-282.
- Krantzberg, G. (1989)** Metal accumulation by Chironomid larvae : the effects of age and body weight on metal body burdens. *Hydrobiology*, **188-189**:497-506.
- Kubitz, J.A., Lewek, E.C., Besser, J.M., Drake, J.B. et Giesy, J.P. (1995)** Effects of copper-contaminated sediments on *Hyaella azteca*, *Daphnia magna*, and *Ceriodaphnia dubia*: survival, growth, and enzyme inhibition. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **29**:97-103.
- Kukkonen, J. et Landrum, P.F. (1996)** Distribution of organic carbon and organic xenobiotics among different particle-size fractions in sediments. *Chemosphere*, **32**:1063-1076.
- Kure, L.K. et Forbes, T.L. (1997)** Impact of bioturbation by *Arenicola marina* on the fate of particle-bound fluoranthene. *Marine Ecology Progress series*, **156**:157-166.
- Kwan, K.K. et Dutka, B.J. (1996)** Development of reference sediment samples for solid phase toxicity screening tests. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **56**:696-702.

- Lacey, R., Watzin, M.C. et McIntosh, A.W. (1999) Sediment organic matter content as a confounding factor in toxicity tests with *Chironomus tentans*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**:231-236.
- Lafont, M., Mouthon, J. et Rosso, A. (1996) Etude des mollusques et des oligochètes dans les sédiments de cours d'eau du bassin Rhône. Rapport. *Cemagref/Agence de l'eau RMC*, Lyon, FRA. 26p.
- Lagadic, L., Amiard, J.C. et Caquet, T. (1998) Biomarqueurs et évaluation de l'impact écologique des polluants. In Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C. et Ramade, F. (Eds). *Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement*, Tec & Doc Lavoisier, Paris, FRA. 299-307.
- Landrum, P.F., Nihart, S.R., Eadie, B.J. et Herche, L.R. (1987) Reduction in bioavailability of organic contaminants to the amphipod *Pontoporeia hoyi* by dissolved organic matter of sediment interstitial waters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **6**:11-20.
- Landrum, P.F. et Robbins, J.A. (1990) Bioavailability of sediment associated contaminants to benthic invertebrates. In Baudo, R., Giesy, J.P. et Muntau, H. (Eds). *Sediments: chemistry and toxicity of in-place pollutants*, Chelsea, MI, USA. 237-263.
- Larson, L.J. (1989) Method for the preliminary assessment of aquatic contamination sites using sediment extract toxicity tests. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **42**:218-225.
- LDA 26 (1995) Mise en oeuvre de la technique "multi résidus" organiques sur les parties non solubles des eaux superficielles (sédiments-matières en suspensions). Laboratoire Départemental d'Analyse, Valence, FRA. 17p.
- Ledrans, P. et Grossier, P. (1998) Contamination des eaux de consommation par l'arsenic. RNSP.6870. Réseau National de santé publique, Saint-Maurice, FRA. 66p.
- Lee, B.G., Griscom, S.B., Lee, J.S., Choi, H.J., Koh, C.H., Luoma, S. et Fisher, N.S. (2000) Influences of dietary uptake and reactive sulfides on metal bioavailability from aquatic sediments. *Science*, **287**:282-284.
- Lenhoff, H.M. (1983) *Hydra: research methods*. Plenum Press. New York, USA, 463p.
- Lenhoff, H.M. et Brown, R.D. (1970) Mass culture of *Hydra*: an improved method and its application to other aquatic invertebrates. *Laboratory Animals*, **4**:139-154.
- Lesh-Laurie, G.E. (1982) *Hydra*. In Harrison, F.W. et Cowden, R.R. (Eds). *Developmental biology of freshwater invertebrates*, Alan R. Liss, Inc., New York, USA. 69-127.
- Liber, K., Call, D.J., Markee, T.P., Schmude, K.L., Balcer, M.D., Whiteman, F.W. et Ankley, G.T. (1996) Effects of acid-volatile sulfide on zinc bioavailability and toxicity to benthic macroinvertebrates: a spiked-sediment field experiment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **15**:2113-2125.
- Long, E.R., Field, L.J. et Macdonalds, D.D. (1998) Predicting toxicity in marine sediments with numerical sediment quality guidelines. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **17**:714-727.
- Long, E.R. et Morgan, L.G. (1990) Potential for biological effects of sediment-sorbed contaminants tested in the national status and trends program. NOAA/TM/NOS/OMA-52. National Oceanic and Atmospheric Administration, Springfield, USA. 232p.

- Lydy, M.J., Bruner, K.A., Fry, D.M. et Fisher, S.W. (1990)** Effects of sediment and the route of exposure on the toxicity and accumulation of neutral lipophilic and moderately water-soluble metabolizable compounds in the midge, *Chironomus riparius*. *Aquatic Toxicology and Risk Assessment*, **13**:140-164.
- MacDonald, D.D., Carr, R.S., Calder, F.D., Long, E.R. et Ingersoll, C.G. (1996)** Development and evaluation of sediment quality guidelines for Florida coastal waters. *Ecotoxicology*, **5**:253-278.
- MacDonald, D.D., Smith, S.L., Wong, M.P. et Mudroch, P. (1992)** The development of Canadian marine environmental quality guidelines. Marine International quality series n° 1, 121p.
- Mahony, J.D., Di Toro, D.M., Gonzalez, A.M., Curto, M., Dilg, M., De Rosa, L.D. et Sparrow, L.A. (1996)** Partitioning of metals to sediment organic carbon. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **15**:2187-2197.
- Masscheleyn, P.H., Delaune, R.D. et Patrick, W.H.J. (1991)** Heavy metals in the environment. *Journal of Environmental Quality*, **20**:522-527.
- Mc Groddy, S.E., Farrington, J.W. et Gschwend, P.M. (1996)** Comparison of the *in situ* and desorption sediment-water partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls. *Environmental Science and Technology*, **30**:172-177.
- Meyer, J.S., Davidson, W., Sundby, B., Oris, J.T., Lauren, D.J., Förstner, U. et Crosby, D.G. (1994)** The effects of variable redox potentials, pH and light on bioavailability in dynamic water-sediment environments. In Hamelink, J.L., Landrum, P.F., Bergman, H.L. et Benson, W.H. (Eds). *Bioavailability: physical, chemical and biological interactions*, Lewish publisher, Boca-raton, USA. 155-170.
- Mok, W.M. et Wai, C.M. (1994)** Mobilization of arsenic in contaminated river waters. In Nriagu, J.O. (Eds). *Arsenic in the environment*, John Wiley & sons, Inc., New York, USA. 99-118.
- Monda, D.P., Galat, D.L., Finger, S.E. et Kaiser, M.S. (1995)** Acute toxicity of ammonia (NH<sub>3</sub>-N) in sewage effluent to *Chironomus riparius*: II. Using a generalized linear model. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **28**:385-390.
- Moore, D.R.J. et Caux, P.Y. (1997)** Estimating low toxic effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **16**:794-801.
- Moore, D.W., Dillon, T.M. et Gamble, E.W. (1995)** Long-term storage of sediments: implications for sediment toxicity testing. *Environmental pollution*, **89**:147-154.
- Moore, J.N., Ficklin, W.H. et Johns, C. (1988)** Partitioning of arsenic and metals in reducing sulfidic sediments. *Environmental Science and Technology*, **22**:432-437.
- Moore, T.M., Huggett, D.B., Gillespie, W.B., Rodgers, J.H.J. et Cooper, C.M. (1998)** Comparative toxicity of Chlordane, Chlorpyrifos, and Aldicarb to four testing organisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **34**:152-157.
- Naylor, C. et Howcroft, J. (1997)** Sediment bioassays with *Chironomus riparius*: understanding the influence of experimental design on test sensitivity. *Chemosphere*, **35**:1831-1845.
- Naylor, C. et Rodrigues, C. (1995)** Development of a test method for *Chironomus riparius* using a formulated sediment. *Chemosphere*, **31**:3291-3303.

- Nebeker, A.V., Cairns, M.A., Gakstetter, J.H., Malueg, K.W., Schuytema, G.S. et Krawczyk, D.F. (1984a)** Biological methods for determining toxicity of contaminated freshwater sediments to invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **3**:617-630.
- Nebeker, A.V., Cairns, M.A. et Wise, C.M. (1984b)** Relative sensitivity of *Chironomus tentans* life stages to copper. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **3**:151-158.
- Nebeker, A.V., Onjukka, S.T., Cairns, M.A. et Krawczyk, D.F. (1986)** Survival of *Daphnia magna* and *Hyalella azteca* in cadmium-spiked water and sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **5**:933-938.
- Nebeker, A.V., Onjukka, S.T., Stevens, D.G., Chappman, G.A. et Diminguez, S.E. (1992)** Effects of low dissolved oxygen on survival, growth and reproduction of *Daphnia*, *Hyalella* and *Gammarus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **11**:373-379.
- Nebeker, A.V., Schuytema, G.S., Griffis, W.L., Barbitta, J.A. et Carey, L.A. (1989)** Effect of sediment organic carbon on survival of *Hyalella azteca* exposed to DDT and Endrin. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **8**:705-718.
- Nelson, M.K. et Brunson, E.L. (1995)** Postembryonic growth and development of *Hyalella azteca* in laboratory cultures and contaminated sediments. *Chemosphere*, **31**:3129-3140.
- Netzband, A., Christiansen, H., Maab, B. et Werner, G. (1997)** Relocation of dredged material from Hamburg Harbor in the River Elbe. International Association on Water Quality. *International Conference on Contaminated Sediments*, **1**, Rotterdam, NDL, 7-11 septembre 1997. **1**:75-82.
- Neumann, P.T.M., Borgmann, U. et Norwood, W. (1999)** Effect of gut clearance on metal body concentrations in *Hyalella azteca*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**:976-984.
- Nieboer, E. et Richardson, D.H.S. (1980)** The replacement of the non-descript term "heavy metals" by biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environmental Pollution (series B)*, **1**:3-26.
- O'Connor, T.P., Daskalakis, K.D., Hyland, J.L., Paul, J.F. et Summers, J.K. (1998)** Comparisons of sediment toxicity with predictions based on chemical guidelines. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **17**:468-471.
- OECD (1998)** Sediment-water Chironomid toxicity test using spiked sediment. Guideline 219. Draft. 23p.
- Oscarson, D.W., Huang, P.M. et Liaw, W.K. (1980)** The oxidation of arsenite by aquatic sediments. *Journal of Environmental Quality*, **9**:700-703.
- Othould, R.A., Giesy, J.P., Grzyb, K.R., Verbrugge, D.A., Hoke, R.A., Drake, J.B. et Anderson, D. (1991)** Evaluation of the effects of storage time on the toxicity of sediments. *Chemosphere*, **22**:801-807.
- Otto, J.J. et Campbell, R.D. (1977)** Tissue economics of *Hydra*: regulation of cell cycle, animal size and development by controlled feeding rates. *Journal of Cell Science*, **28**:117-132.
- Pardos, M., Benninghoff, C., Gueguen, C., Thomas, R., Dobrowolski, J. et Dominik, J. (1999)** Acute toxicity assessment of Polish (waste)water with a microplate-based *Hydra attenuata* assay: a comparison with the Microtox® test. *Science of the Total Environment*, **243/244**:141-148.

- Pascoe, D., Brown, A.F., Evans, B.M.J. et Mckavanagh, C. (1990)** Effects and fate of cadmium during toxicity tests with *Chironomus riparius* - the influence of food and artificial sediment. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **19**:872-877.
- Pascoe, D., Williams, K.A. et Green, D.W.J. (1989)** Chronic toxicity of cadmium to *Chironomus riparius* Meigen - effects upon larval development and adult emergence. *Hydrobiologia*, **175**:109-115.
- Pennak, R.W. (1978)** *Invertebrates of the United States*. John Wiley & Sons, Ltd. New York, USA, 803p.
- Persaud, D., Jaagumaji, R. et Hayton, A. (1992)** Guidelines for the protection and management of aquatic sediment quality in Ontario. ISBN 0-7729-9248-7. Ontario Ministry of the Environment, Water Resources Branch, Toronto, CAN. 23p.
- Petersen, W., Hong, J., Willamowski, C. et Wallmann, K. (1996)** Release of trace contaminants during reoxidation of anoxic sediment slurries in oxic water. *Advances in Limnology*, **47**:295-305.
- Petersen, W., Willer, E. et Willamowski, C. (1997)** Remobilization of trace elements from polluted anoxic sediments after resuspension in oxic water. *Water Air and Soil Pollution*: 515-522.
- Phillips, D.J.H. (1993)** Bioaccumulation. In Calow, P. (Eds). *Handbook of ecotoxicology*, **1**. Blackwell Scientific Publications, Oxford, Londres, GBR. 378-396.
- Phipps, G.L., Mattson, V.R. et Ankley, G.T. (1995)** Relative sensitivity of three freshwater benthic macroinvertebrates to ten contaminants. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **28**:281-286.
- Piérard, C., Budzinski, H. et Garrigues, P. (1996)** Grain-size distribution of polychlorobiphenyls in coastal sediments. *Environmental Science and Technology*, **30**:2276-2783.
- Poirel, A., Soyer, G. et Vindimian, E. (1993)** Préparation d'une vidange et suivi de la qualité de l'eau. *Cemagref*, Journées nationales d'étude AFEID-CFGB "Petits barrages". Bordeaux, FRA, 2-3 février 1993. 345-364.
- Pollino, C.A. et Holdway, D.A. (1999)** Potential of two *Hydra* species as standard toxicity test animals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **43**:309-316.
- Postma, J.F., Buckert-De, J., M.C., Staats, N. et Davids, C. (1994)** Chronic toxicity of cadmium to *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) at different food levels. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **26**:143-148.
- Postma, J.F., Kyed, M. et Admiraal, W. (1995a)** Site specific differentiation in metal tolerance in the midge *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae). *Hydrobiologia*, **315**:159-165.
- Postma, J.F., Van Kleunen, A. et Admiraal, W. (1995b)** Alterations in life-history traits of *Chironomus riparius* (Diptera) obtained from metal contaminated rivers. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **29**:469-475.
- Pourriot, R. et Meybeck, M. (1995)** *Limnologie générale*. Masson. Paris, FRA, 956p.
- Power, E.A. et Chapman, P.M. (1992)** Assessing sediment quality. In Burton, G.A.J. (Eds). *Sediment toxicity assessment*, Lewis, Chelsea, MI, USA. 1-18.
- Prygiel, J., Rosso-Darmet, A., Lafont, M., Lesniak, C., Durbec, A. et Ouddane, B. (1999)** Use of oligochaete communities for assessment of ecotoxicological risk in fine sediment of rivers and canals of the Artois-Picardie water basin (France). *Hydrobiologia*, **410**:25-37.
- Ramade, F. (1992)** *Précis d'écotoxicologie*. Masson Paris, FRA. 300p.

- Ramade, F. (1998)** *Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau*. Ediscience Paris, FRA. 785p.
- Razak, I.A.A., Li, A. et Christensen, E.R. (1996)** Association of PAHs, PCBs, <sup>137</sup>Cs, and <sup>210</sup>Pb with clay, silt, and organic carbon sediments. *Water Science and Technology*, **34**:29-35.
- Rebhun, M., Kalabo, R., Grossman, L., Manka, J. et Rav-Acha, C. (1992)** Sorption of organics on clay and synthetic humic-clay complexes simulating aquifer processes. *Water Research*, **26**:79-84.
- Reible, D.D., Popov, V., Valsaraj, K.T., Thibodeaux, L.J., Lin, F., Dikshit, M., Todaro, M.A. et Fleeger, J.W. (1996)** Contaminant fluxes from sediment due to tubificid oligochaete bioturbation. *Water Research*, **30**:704-714.
- Reid, B.J., Jones, K.C. et Semple, K.T. (2000)** Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments - a perspective on mechanisms, consequences and assessment. *Environmental Pollution*, **108**:103-112.
- Reuther, R. (1992)** Geochemical mobility of arsenic in a flowthrough water-sediment system. *Environmental Technology*, **13**:813-823.
- Revaclier, R. (1995)** Résultats des vidanges du barrage de Verbois : bilan physico-chimique de 1960 à 1993. GRAPE, Sédiment et gestion des milieux aquatiques. Lyon, FRA, 21-22 novembre 1995. 34-40.
- Reynoldson, T.B. (1987)** Interactions between sediment contaminants and benthic organisms. *Hydrobiologia*, **149**:53-66.
- Reynoldson, T.B., Day, K.E., Clarke, C. et Milani, D. (1994)** Effect of indigenous animals on chronic end-points in freshwater sediment toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **13**:973-977.
- Rippon, G.D., Hyne, R.V. et Hunt, S.M. (1994)** The application of biological toxicity tests to assess the environmental impact of mining in tropical Northern Australia. *Environmental impact of mining in tropical Northern Australia*, 243-249.
- Ristola, T., Pellinen, J., Ruokolainen, M., Kostamo, A. et Kukkonen, J.V.K. (1999)** Effect of sediment type, feeding level, and larval density on growth and development of a midge (*Chironomus riparius*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**:756-764.
- Rivière, J.L. (1998)** *Evaluation du risque écologique des sols pollués*. Lavoisier Tec and Co. Paris, FRA, 230p.
- Rosso, A. (1995)** Description de l'impact des micropolluants sur les peuplements d'oligochètes des sédiments de cours d'eau du bassin versant de l'Ill (Alsace). Elaboration d'une méthode biologique de diagnostic de l'incidence des micropolluants. Université Claude Bernard, Lyon, FRA, 232p.
- Rosso, A., Lafont, M. et Exinger, A. (1994)** Impact of heavy metals on benthic oligochaete communities in the river Ill and its tributaries. *Water Science and Technology*, **29**:241-248.
- Rosso-Darmet, A. et Lafont, M. (1998)** Utilisation des oligochètes et indices oligochètes pour l'évaluation du risque écologique lié à la présence de micropolluants minéraux et organiques dans les sédiments du bassin Artois-Picardie. RLY 380a / A.5484. Cemagref/BURGEAP/Agence de l'Eau Artois-Picardie, Lyon, FRA. 73p.

- Sae-Ma, B., Meier, P.G. et Landrum, P.F. (1998)** Effect of extended storage time on the toxicity of sediment-associated cadmium on midge larvae (*Chironomus tentans*). *Ecotoxicology*, **7**:133-139.
- Salomons, W. et Stigliani, W.M. (1995)** *Biogeochemistry of pollutants in soils and sediments*. Springer-Verlag. Berlin, DEU, 352p.
- Sankarperumal, G. et Pandian, T.J. (1992)** Larval abundance of *Chironomus circumdatus* in relation to biotic and abiotic factors. *Hydrobiology*, **246**:205-212.
- Santschi, P.H. (1988)** Factors controlling the biogeochemical cycles of trace elements in fresh and coastal marine waters as revealed by radioisotopes. *Limnology and Oceanography*, **33**:848-866.
- Santschi, P.H., Guo, L., Means, J.C. et Ravichandran, M. (1999)** Natural organic matter binding of trace metals and trace organic contaminants in estuaries. In Bianchi, T.S., Pennock, J.R. et Twilley, R.R. (Eds). *Biochemistry of Gulf of Mexico Estuaries*, John Wiley & Sons, Ltd, USA. 347-380.
- Schubauer-Berigan, M.K. et Ankley, G.T. (1991)** The contribution of ammonia, metals and non-polar organic compounds to the toxicity of sediment interstitial water from an Illinois river tributary. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **10**:925-939.
- Schubauer-Berigan, M.K., Monson, P.D., West, C.W. et Ankley, G.T. (1995)** Influence of pH on the toxicity of ammonia to *Chironomus tentans* and *Lumbriculus variegatus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **14**:713-717.
- Schuytema, G.S., Nebeker, A.V., Griffis, W.L. et Miller, C.E. (1989)** Effects of freezing on toxicity of sediments contaminated with DDT and Endrin. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **8**:883-891.
- Scow, K., Byrne, M., Goyer, M., Nelken, L., Perwak, J., Wood, M., Young, S. et Cruse, P. (1982)** An exposure and risk assessment for arsenic. Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA. 300p.
- Serpaud, B., Al-Shukry, R., Casteignau, M. et Matejka, G. (1994)** Adsorption des métaux lourds (Cu, Zn, Cd, et Pb) par des sédiments superficiels d'un cours d'eau : rôle du pH, de la température et de la composition du sédiment. *Revue des Sciences de l'Eau*, **7**:343-365.
- Shea, D. (1988)** Developing national sediment quality criteria. *Environmental Science and Technology*, **22**:1256-1261.
- Sibley, P.K., Ankley, G.T., Cotter, A.M. et Leonard, E.N. (1996)** Predicting chronic toxicity of sediments spiked with zinc: an evaluation of the acid-volatile sulfide model using a life-cycle test with the midge *Chironomus tentans*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **15**:2102-2112.
- Sibley, P.K., Benoit, D.A. et Ankley, G.T. (1997a)** The significance of growth in *Chironomus tentans* sediment toxicity tests: relationship to reproduction and demographic endpoints. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **16**:336-345.
- Sibley, P.K., Benoit, D.A. et Ankley, G.T. (1998)** Life cycle and behavioural assessments of the influence of substrate particle size on *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae) in laboratory assays. *Hydrobiologia*, **361**:1-9.
- Sibley, P.K., Monson, P.D. et Ankley, G.T. (1997b)** The effect of gut contents on dry weight estimates of *Chironomus tentans* larvae: implications for interpreting toxicity in freshwater sediment toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **16**:1721-1726.

- Sigg, L., Stumm, W. et Behra, P. (1992)** *Chimie des milieux aquatiques*. Masson. Paris, FRA, 391p.
- Sijm, D., Kraaij, R. et Belfroid, A. (2000)** Bioavailability in soil or sediment: exposure of different organisms and approaches to study it. *Environmental Pollution*, **108**:113-119.
- Simpson, S.L., Apte, S.C. et Batley G.E. (1998)** Effect of short-term resuspension events on trace metal speciation in polluted anoxic sediments. *Environmental Science and Technology* **32** :620-625.
- Slooff, W., Canton, J.H. et Hermens, J.L.M. (1983)** Comparison of the susceptibility of 22 freshwater species to 15 chemical compounds. I. (sub)acute toxicity tests. *Aquatic Toxicology*, **4**:113-128.
- Slooff, W., Haring, B.J.A., Hesse, J.M., Janus, J.A. et Thomas, R. (1990)** Integrated criteria document. Arsenic. PB91-198895. National Institute of Public health and environmental Protection (RIVM), NDL. 131p.
- Smith, S.L., Macdonald, D.D., Keenleyside, K.A., Ingersoll, C.G. et Field, L.J. (1996)** A preliminary evaluation of sediment quality assessment values for freshwater ecosystems. *Journal of Great Lakes Research*, **22**:624-638.
- Stebbing, A.R.D. et Pomroy, A.J. (1978)** A sublethal technique for assessing the effects of contaminants using *Hydra littoralis*. *Water Research*, **12**:631-635.
- Steevens, J.A. et Benson, W.H. (1998)** *Hyalella azteca* 10-Day sediment toxicity test: comparison of growth measurement endpoints. *Environmental Toxicology and Water Quality*, **13**:243-248.
- Stephenson, M. et Mackie, G.L. (1989)** Net cadmium flux in *Hyalella azteca* (Crustacea: Amphipoda) populations from five central Ontario Lakes. *The Science of the Total Environment*, **87-88**:463-475.
- Stephenson, M. et Turner, M.A. (1993)** A field study of cadmium dynamics in periphyton and in *Hyalella azteca* (Crustacea: Amphipoda). *Water Air and Soil Pollution*, **Air**:341-361.
- Stone, M. et Droppo, I.G. (1996)** Distribution of lead, copper and zinc in size-fractionated river bed sediment in two agricultural catchment of southern Ontario, Canada. *Environmental Pollution*, **93**:353-362.
- Strong, D.R.J. (1972)** Life history variation among populations of an amphipod (*Hyalella azteca*). *Ecology*, **53**:1103-1111.
- Sturm, A. et Hansen, P.D. (1999)** Altered cholinesterase and monooxygenase levels in *Daphnia magna* and *Chironomus riparius* exposed to environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **42**:9-15.
- Suedel, B.C., Deaver, E. et Rodgers, J.H. (1996)** Formulated sediment as a reference and dilution sediment in definitive toxicity tests. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **30**:47-52.
- Suedel, B.C. et Rodgers, J.H. (1994a)** Development of formulated reference sediments for freshwater and estuarine sediment testing. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **13**:1163-1175.

- Suedel, B.C. et Rodgers, J.H. (1994b)** Responses of *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans* to particles-size distribution and organic matter content of formulated and natural freshwater sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **13**:1639-1648.
- Suedel, B.C. et Rodgers, J.H. (1996)** Toxicity of fluoranthene to *Daphnia magna*, *Hyalella azteca*, *Chironomus tentans*, and *Stylaria lacustris* in water-only and whole sediment exposures. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **57**:132-138.
- Suedel, B.C., Rodgers, J.H. et Deaver, E. (1997)** Experimental factors that may affect toxicity of cadmium to freshwater organisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **33**:188-193.
- Suedel, B.C., Rodgers, J.H.J. et Clifford, P.A. (1993)** Bioavailability of fluoranthene in freshwater sediment toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **12**:155-165.
- Swartz, R.C. (1999)** Consensus sediment quality guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**:780-787.
- Swartz, R.C., Schults, D.W., Dewitt, T.H., Ditsworth, G.R. et Lamberson, J.O. (1990)** Toxicity of fluoranthene in sediment to marine amphipods : a test of the equilibrium partitioning approach to sediment quality criteria. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **9**:1071-1080.
- Tachet, H., Bournaud, M. et Richoux, P. (1980)** *Introduction à l'étude des macroinvertébrés des eaux douces*. Université de Lyon I. Lyon, FRA. 154p.
- Taylor, E.J., Maund, S.J. et Pascoe, D. (1991)** Toxicity of four common pollutants to the freshwater macroinvertebrates *Chironomus riparius* Meigen (Insecta: Diptera) and *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **21**:371-376.
- Tessier, A., Rapin, F. et Carignan, R. (1985)** Trace metals in oxic lake sediments : possible adsorption onto iron oxyhydroxides. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **49**:183-194.
- Tokeshi, M. (1995)** species interactions and community structure. In Armitage, P., Cranston, P.S. et Pinder, L.C.V. (Eds). *The Chironomidae*, Chapman & Hall, London, UK. 297-335.
- Tomassone, R., Dervin, C. et Masson, J.P. (1993)** *Biométrie. Modélisation de phénomènes biologiques*. Masson. Paris, 553p.
- Toumazis (1995)** Environmental impact associated with the dumping of dredge material at sea. A study for the limassol port extension works. *Water Science and Technology*, **32**:151-158.
- Toussaint, M.W., Shedd, T.R., Van Der Schalie, W.H. et Leather, G.R. (1995)** A comparison of standard acute toxicity tests with rapid-screening toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **14**:907-915.
- Townsend, B.E., Lawrence, J.R. et Flannagan, J.F. (1981)** *Chironomus tentans* (Fabricius) introduction. In Lawrence, S.G. (Eds). *Manual for the culture of selected freshwater invertebrates*, **54**. Can. Spec. Publ. Fisch Aquat. Sci., CAN. 110-126.
- Trottier, S. (1997)** Développement d'un nouveau test de dépistage des effets toxiques (sub) létaux et tératogènes avec le coelentéré *Hydra attenuata* et application sur des effluents industriels. Essai en vue de l'obtention du grade de maître en environnement,. Université de Sherbrooke, Montreal, CAN, 63p.

- Trottier, S. et Blaise, C. (1997)** Metal toxicity comparison of a new *Hydra attenuata* assay with a suite of other traditional acute bioassays. Pêches et Océans Canada, Rapport technique Canadien des sciences halieutiques et aquatiques. Calgary, Alberta, CAN.
- Trottier, S., Blaise, C., Kusui, T. et Johnson, E.M. (1997a)** Acute toxicity assessment of aqueous samples using a microplate-based *Hydra attenuata* assay. *Environmental Toxicology and Water Quality*, **12**:265-272.
- Trottier, S., Blaise, C., Kusui, T. et Johnson, E.M. (1997b)** Technical methodology: acute toxicity assessment of aqueous samples using a microplate-based *Hydra attenuata* assay. *Environmental Toxicology and Water Quality*, **12**:265-271.
- Tye, R., Jepsen, R. et Lick, W. (1996)** Effects of colloids, flocculation, particle size, and organic matter on the adsorption of hexachlorobenzene to sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **15**:643-651.
- U.S. Environmental Protection Agency (1994)** Methods for measuring the acute toxicity of effluent and receiving waters to freshwater and marine organisms. EPA-600/4-90/027F. Washington D.C., USA. 293p.
- Vale, C., Ferreira, A.M., Micaelo, C., Caetano, M., Pereira, E., Madureira, M.J. et Ramalhosa, E. (1998)** Mobility of contaminants in relation to dredging operations in a mesotidal estuary (Tagus estuary, Portugal). *Water Science and Technology*, **37**:25-31.
- Verschuere, K. (1996)** *Handbook of environmental data on organic chemicals*. Van Nostrand Reinhold Company, New York, USA 3e ed. 2064p.
- Versteeg, D.J., Stalmans, M., Dyer, S.D. et Janssen, C. (1997)** *Ceriodaphnia* and *Daphnia* : a comparison of their sensitivity to xenobiotics and utility as a test species. *Chemosphere*, **34**:869-892.
- Villholt, K.G. (1999)** Colloid characterisation and colloidal phase partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons in two creosote-contaminated aquifers in Denmark. *Environmental Science and Technology*, **33**:691-699.
- Vindimian, E., Garric, J., Flammarion, P., Thybaud, E. et Babut, M. (1999)** An index of effluent aquatic toxicity designed by partial least squares regression, using acute and chronic tests and expert judgements. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**:2386-2391.
- Warren, L.A., Teissier, A. et Hare, L. (1998)** Modelling cadmium accumulation by benthic invertebrates *in situ*: the relative contributions of sediment and overlying-water reservoirs to organism cadmium concentrations. *Limnology and Oceanography*, **43**:1442-1454.
- Watts, M.M. et Pascoe, D. (1996)** Use of the freshwater macroinvertebrate *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) in the assessment of sediment toxicity. *Water Science and Technology*, **34**:101-107.
- Watzin, M.C., Roscigno, P.F. et Burke, W.D. (1994)** Community level field method for testing the toxicity of contaminated sediments in estuaries. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **13**:1187-1193.
- Weber, D.E., McKenney, C.L., MacGregor, M.A. et Celestial, D.M. (1996)** Use of artificial sediments in a comparative toxicity study with larvae and postlarvae of the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Environmental Pollution*, **93**:129-133.

- Wellborn, G.A. (1994)** Size-biased predation and prey life histories: a comparative study of freshwater amphipod populations. *Ecology*, **75**:2104-2117.
- Wen, X. et Allen, H.E. (1999)** Mobilization of heavy metals from Le An River sediment. *The Science of the Total Environment*, **227**:101-108.
- Wen, X., Du, Q. et Tang, H. (1998)** Surface complexation model for the heavy metal adsorption on natural sediment. *Environmental Science and Technology*, **32**:870-875.
- Wentzel, R., McIntosh, A. et Atchinson, G. (1977)** Sublethal effects of heavy metal contaminated sediments on midge larvae (*Chironomus tentans*). *Hydrobiologia*, **56**:153-156.
- Weston, D.P. et Mayer, L.M. (1998)** In vitro digestive fluid extraction as a measure of the bioavailability of sediment-associated polycyclic aromatic hydrocarbons : sources of variation and implications for partitioning models. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **17**:820-829.
- Weyhenmeyer, G.A. (1998)** Resuspension in lakes and its ecological impact - a review. *Advances in Limnology*, **51**:185-200.
- Whiteman, F.W., Ankley, G.T., Khal, M.D., Rau, D.M. et Balcer, M.D. (1996)** Evaluation of interstitial water as a route of exposure for ammonia in sediment tests with benthic macroinvertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **15**:794-801.
- Wildi, E., Nagel, R. et Steinberg, C.E.W. (1994)** Effects of pH on the bioconcentration of pyrene in the larval midge, *Chironomus riparius*. *Water Research*, **28**:2553-2559.
- Williams, K.A., Green, D.W.J., Pascoe, D. et Gower, D.E. (1986)** The acute toxicity of cadmium to different larval stages of *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) and its ecological significance for pollution regulation. *Oecologia*, **70**:362-366.
- Winnell, M.H. et Jude, D.J. (1984)** Associations among Chironomidae and sandy substrates in nearshore lake Michigan. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **41**:174-179.
- Young, L.B. et Harvey, H.H. (1992)** The relative importance of manganese and iron oxides and organic matter in the sorption of trace metals by surficial lake sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **56**:1175-1186.



**ANNEXE 1 : Synthèse bibliographique sur les organismes benthiques *Chironomus riparius* et épibenthiques *Hyaella azteca*.**

Cette annexe présente les principales connaissances existant à ce jour sur l'écologie, la biologie, la manipulation des *Chironomus* spp. et des *Hyaella* spp. Elle présente notamment les différentes utilisations possibles de ces diptères et de ces amphipodes pour l'évaluation de la qualité des sédiments : les mesures d'effet (survie, croissance,...) et d'exposition (bioaccumulation,...), les sensibilités aux caractéristiques du milieu sédimentaire et aux conditions d'essai. Elle a pour objectif de servir de support pour la discussion des résultats présentés dans notre travail.

<b><i>Chironomus</i> spp.</b>
-------------------------------

1. Biologie et écologie de <i>Chironomus</i> .....	4
1.1. Biologie de <i>Chironomus</i> .....	4
1.1.1. La taxonomie .....	4
1.1.2. Le cycle biologique .....	4
1.1.3. La morphologie .....	5
1.1.4. Les maladies et parasites .....	8
1.2. Ecologie de <i>Chironomus</i> .....	8
1.2.1. La distribution géographique et les habitats .....	8
1.2.2. Les perturbations environnementales .....	9
1.2.3. Le comportement des organismes .....	10
2. Elevage de <i>Chironomus</i> .....	10
3. <i>Chironomus</i> et les bioessais sur sédiment entier .....	13
3.1. Intérêt de ce bioessai .....	13
3.2. Les critères d'effet .....	13
3.2.1. Les réponses comportementales .....	13
3.2.2. La mortalité et la croissance .....	15
3.2.3. Les difformités morphologiques .....	17
3.2.4. Les activités enzymatiques et la génotoxicité .....	18
3.2.5. La bioaccumulation, la bioconcentration, la dépuraction et la biotransformation .....	18
3.3. Sensibilité des organismes aux caractéristiques des sédiments .....	20
3.3.1. Les caractéristiques géochimiques .....	20
3.3.2. L'ammoniac .....	21
3.4. Sensibilité des organismes aux conditions de l'essai .....	22
3.4.1. La nourriture .....	22
3.4.2. L'eau surnageante .....	24
3.4.3. La teneur en oxygène dissous .....	24
3.4.4. La durée de l'essai .....	25
3.4.5. L'âge des organismes .....	25
3.5. Traitement du sédiment : facteur de variation dans la réponse biologique .....	26
4. Sensibilité de <i>Chironomus riparius</i> vis à vis de quelques contaminants .....	26
4.1. Sensibilité aux métaux .....	27
4.2. Sensibilité aux molécules organiques .....	31

<b><i>Hyalella azteca</i> spp.</b>
------------------------------------

1. Biologie et écologie de <i>Hyalella azteca</i> .....	34
1.1. Biologie de <i>Hyalella azteca</i> .....	34
1.1.1. La taxonomie .....	34
1.1.2. Le cycle biologique .....	34
1.1.3. La morphologie .....	35
1.1.4. Les maladies et parasites .....	35
1.2. Écologie des <i>Hyalella azteca</i> .....	36
1.2.1. La distribution géographique et les habitats .....	36
1.2.2. Les perturbations environnementales .....	36
1.2.3. Le comportement des organismes .....	37
2. Elevage de <i>Hyalella azteca</i> .....	38
3. <i>Hyalella azteca</i> dans les bioessais.....	40
3.1. Intérêt de ce bioessai .....	40
3.2. Les critères d'effet .....	40
3.2.1. Les réponses comportementales .....	41
3.2.2. La mortalité et la croissance .....	42
3.2.3. Les activités enzymatiques .....	42
3.2.4. La bioconcentration, la bioaccumulation, la dépuration et la biotransformation .....	43
3.3. Sensibilité des organismes aux caractéristiques des sédiments .....	43
3.3.1. Les caractéristiques géochimiques .....	44
3.3.2. L'ammoniac.....	44
3.4. Sensibilité des organismes aux conditions d'essai.....	45
3.4.1. La nourriture .....	45
3.4.2. L'eau surnageante.....	46
3.4.3. L'aération .....	46
3.4.4. La durée de l'essai .....	46
3.4.5. L'âge des organismes .....	47
3.4.6. La manipulation des organismes .....	47
3.5. Traitement du sédiment : facteur de variation dans la réponse biologique.....	48
4. Sensibilité de <i>Hyalella azteca</i> vis à vis de quelques contaminants.....	48
4.1. Sensibilité aux métaux .....	48
4.2. Sensibilité aux molécules organiques .....	54

<b>Mise en oeuvre de <i>Chironomus</i> et <i>Hyalella</i> pour évaluer la toxicité de sédiments et d'extraits aqueux contaminés</b>
---

1. <i>Chironomus</i> et <i>Hyalella</i> . exposés à des sédiments contaminés .....	57
2. <i>Chironomus</i> et <i>Hyalella</i> . exposés à des extraits aqueux de sédiments.....	57

<b>Bibliographie</b>
----------------------

Références bibliographiques .....	59
-----------------------------------	----

*Chironomus* spp.**1. Biologie et écologie de *Chironomus*****1.1. Biologie de *Chironomus*****1.1.1. La taxonomie**

Le genre *Chironomus* fait partie de l'Ordre des Diptères, de la Famille des Chironomidae, sous famille Chironominae, tribu Chironomini (Tachet *et al.*, 1980). Il y a plus de 15 000 espèces de Chironomides dans le monde (Environment Canada, 1997a). En ce qui concerne *Chironomus tentans*, sa terminologie morphologique a été clarifiée, et il a été classé dans le sous-genre *CamptoChironomus* alors que *Chironomus riparius* (= *Chironomus thummi*) fait partie du sous-genre *Chironomus* (Townsend *et al.*, 1981).

Cependant, un manque de connaissance sur la taxonomie des espèces oblige souvent à arrêter la description de ces insectes au niveau du genre car seuls les imagos<sup>1</sup> et les exuvies<sup>2</sup> nymphales permettent une détermination fiable.

**1.1.2. Le cycle biologique**

Selon la situation géographique, l'espèce *C. riparius* peut être univoltine<sup>3</sup> (Alberta, Canada) ou polyvoltine<sup>4</sup> (Grande Bretagne). Dans le premier cas, ce sont les larves du dernier stade (quatrième) qui hivernent et la nymphose<sup>5</sup>, l'émergence et la ponte ont lieu principalement en mai. Dans le second cas, jusqu'à cinq générations par année ont été observées, avec une cohabitation à l'été et à l'automne des différents stades du cycle de vie (Environment Canada, 1997a).

Le cycle de vie des Chironomides se divise en quatre stades: les oeufs, le stade larvaire, le stade nymphal et le stade imago (Coffman, 1978; Townsend *et al.*, 1981). Les oeufs, la larve et la nymphe sont aquatiques, les adultes sont aériens. En été le cycle de vie de *C. riparius* dure de 15 à 30 jours et les adultes vivent de 4 à 11 jours.

Les *Chironomus* spp. pondent une série d'oeufs enrobés d'un manteau mucilagineux hygroscopique appelée masse qui prend une forme en C caractéristique au contact de l'eau. La ponte des oeufs est un processus rapide : *C. plumosus*, par exemple, pond 6 à 7 oeufs à la seconde, produisant une masse de 1600 oeufs en environ 5 minutes. Généralement une femelle ne pond qu'une masse d'oeufs mais on a constaté que *C. plumosus* est capable de produire jusqu'à 3 masses. *C. riparius* produit une masse contenant 150 à 600 oeufs qui éclosent 2 à 6 jours après la ponte selon la température de l'eau alors que *C. tentans* peut pondre jusqu'à 3300 oeufs dans une même masse (Environment Canada, 1997a).

---

<sup>1</sup> Imago : adulte.

<sup>2</sup> Exuvie : peau rejetée par un organisme lors d'une mue.

<sup>3</sup> Univoltine : une génération par an (un cycle de vie complet).

<sup>4</sup> Polyvoltine : plusieurs générations par an.

<sup>5</sup> Nymphose : la métamorphose des larves en nymphes qui se déroule dans le tube larvaire et est complète en 3 jours. Les segments prothoraciques enflent et la larve arrête de se nourrir. La mue larve-nymphe est accompagnée d'un changement de couleur (rouge → gris/noir), suite à une digestion de l'hémoglobine.

Les phases du développement embryonnaire peuvent être suivies à travers le chorion transparent. Pour des températures comprises entre 19 et 22°C, les oeufs éclosent dans l'eau 3 jours après leur ponte.

Sur une courte période le premier stade larvaire reste dans la masse et consomme le matériel mucilagineux<sup>6</sup>. Le développement des larves de *Chironomus* se fait de façon asynchrone et une échelle de temps n'est pas adéquate pour déterminer de manière certaine le stade larvaire. Il faut se baser sur une clé de détermination morphologique, comme par exemple, celle d'Ineichen pour le quatrième stade larvaire (Ineichen *et al.*, 1983). Entre 19 et 22°C, chaque stade larvaire de *C. riparius* dure de 4 à 7 jours.

Les nymphes de Chironomides sont généralement peu mobiles, elles quittent le tube construit par la larve dans le sédiment après la nymphose pour nager à la surface des sédiments. De petites bulles de gaz, formées sous le tégument, aident la nymphe à atteindre la surface de l'eau et le processus d'émergence qui suit est rapide (environ 15 secondes).

L'émergence des imagos est bimodale, les mâles se développent plus vite que les femelles (Pascoe *et al.*, 1989). A 20°C, les mâles *C. tentans* commencent à émerger 21 jours après l'éclosion alors que les femelles émergent 23 jours après l'éclosion. Cet écart de deux jours a aussi été observé pour *C. riparius*. Il y a en moyenne 1,5 mâles pour 1 femelle. Les adultes pèsent 40% de moins que les nymphes et 60% de moins que les larves du quatrième stade larvaire (ASTM, 1995b). Les adultes vivent quelques jours pendant lesquels ils cherchent à se reproduire et à se disperser. Durant cette période ils ne se nourrissent pas mais peuvent boire des solutions sucrées (nectar,...).

### 1.1.3. La morphologie

Tous les stades de développement de la larve de *Chironomus* apparaissent à première vue homogènes et la loupe et le microscope électronique sont des instruments indispensables pour la définition précise de l'espèce.

#### **Les oeufs**

Les oeufs sont scellés entre eux par un amas gélatineux dans une masse de forme allongée sur un axe antéro-postérieur (Figure 1).

---

<sup>6</sup> Mucilagineux : qui est formé d'une substance composée de pectines, ayant la propriété de gonfler dans l'eau.

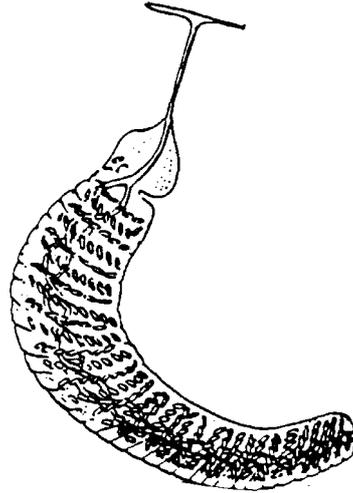


Figure 1 : Masse d'oeufs de *Chironomus sp.*

### La larve

Le cycle larvaire peut être décomposé en 4 stades distincts :

- dès le premier stade larvaire la tête avec ses antennes et ses mandibules, trois segments thoraciques et neuf segments abdominaux sont facilement observables. Les larves sont d'un blanc crémeux jusqu'à ce qu'elles initient leur production d'hémoglobine à la fin du stade.
- au second stade larvaire, des branchies ventrales apparaissent sur le huitième segment abdominal. Durant ce stade, la larve devient rose en raison de la production d'hémoglobine<sup>7</sup>.
- au troisième stade (Figure 2), les larves prennent une couleur rouge vif typique.
- au quatrième stade, les larves ont un corps rouge vif alors que la tête est brun jaunâtre et les ocelles<sup>8</sup> noires. Le dimorphisme sexuel se manifeste à ce stade avec une larve mâle pesant en moyenne 30% de moins que la larve femelle (Day *et al.*, 1994). C'est à la fin de ce stade que la larve mue en nymphe.

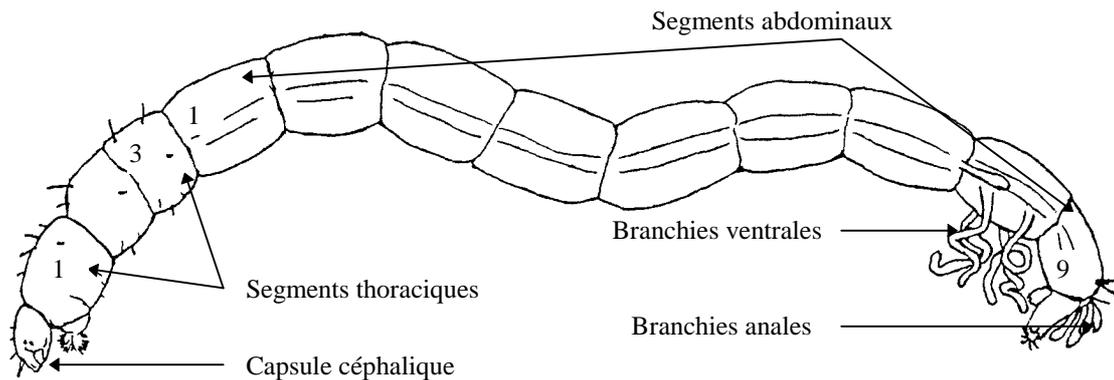


Figure 2 : Structure d'une larve de *Chironomus sp.* avec ses trois grandes divisions : la tête, le thorax (3 segments) et l'abdomen (9 segments).

<sup>7</sup> Cette hémoglobine a une haute affinité pour l'oxygène contrairement à l'hémoglobine des vertébrés. Cette caractéristique permet aux *Chironomus spp.* de tolérer des niveaux d'oxygène dissous très réduits dans l'environnement.

<sup>8</sup> Ocelle : oeil simple de nombreux arthropodes.

## La nymphe

La nymphe (Figure 3) est recouverte d'un tégument<sup>9</sup> kératinisé dans lequel se développe l'adulte (Coffman, 1978). La nymphe de *C. riparius* est jaune brunâtre et les changements les plus visibles sont de nature locomotrice et respiratoire (Environnement Canada, 1997a). Des organes respiratoires thoraciques apparaissent comme une touffe de filaments blancs juste derrière la tête. Des organes permettant la nage sont clairement développés. Des étuis pour les ailes, les pattes et les yeux sont nettement visibles (Townsend *et al.*, 1981).

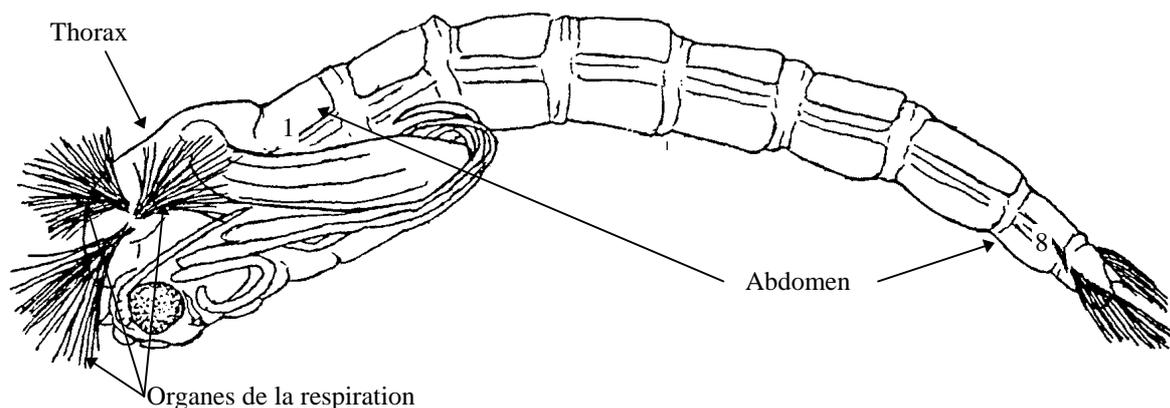


Figure 3 : Nymphe de *Chironomus sp.*

## L'imago

Les adultes Chironomides ressemblent très superficiellement aux moustiques en taille et en apparence. Leur corps peut être divisé en 3 grandes parties: la tête, le thorax et l'abdomen (Coffman, 1978).

Chez l'adulte le dimorphisme sexuel est frappant (Townsend *et al.*, 1981) : les mâles peuvent être distingués des femelles à la fois par leurs larges antennes en forme de plumeau, leur abdomen mince et leur génitalia (paire de pinces) à l'extrémité postérieure de l'abdomen (Figure 4). De plus, la femelle *C. riparius* porte une livrée plus foncée que le mâle, pèse approximativement deux fois plus que le mâle et ses oeufs représentent environ 30% de sa masse.

<sup>9</sup> Tégument : tissu différencié couvrant le corps d'un organisme.

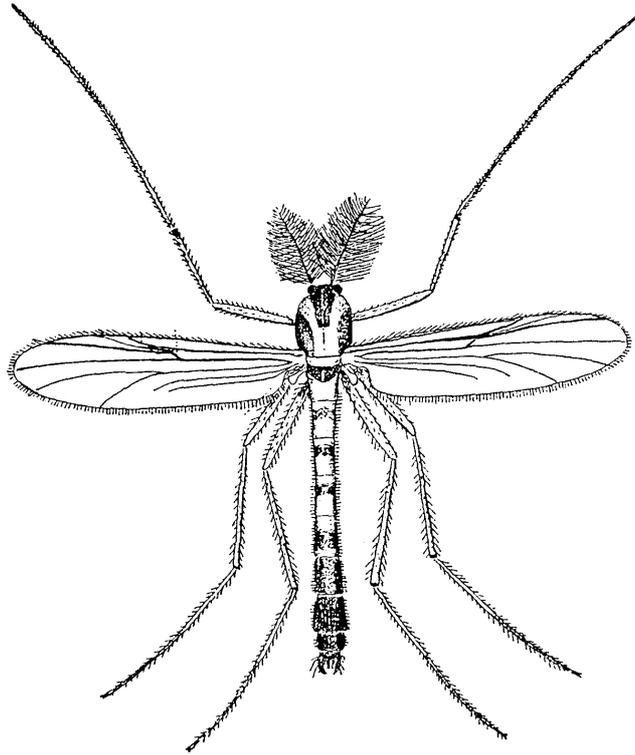


Figure 4: Imago de *Chironomus* mâle.

#### 1.1.4. Les maladies et parasites

L'intestin des larves est fréquemment parasité par des nématodes, qui causent des changements morphologiques majeurs<sup>10</sup> (Tokeshi, 1995).

Des acariens (comme les *Hydracarina*) peuvent apparaître sur la partie ventrale de l'abdomen des imagos et entraîner des ruptures des veines abdominales ou de celles des ailes (Townsend *et al.*, 1981). Ces deux types d'hémorragie sont létales car les ruptures des veines abdominales (plus répandues chez les femelles) causent une extrusion latérale de la masse d'oeufs à partir de l'abdomen alors que les ruptures des veines alaires entraînent la noyade des organismes émergents.

### **1.2. Écologie de *Chironomus***

#### 1.2.1. La distribution géographique et les habitats

La famille Chironomidae est le groupe d'insectes le plus ubiquiste et le plus abondant parmi tous les types dulçaquicoles (Environment Canada, 1997a). *Chironomus tentans* et *riparius* sont communs dans les zones mi-continentales de l'Amérique du Nord et de l'Europe (Autriche, Belgique, France, Grande Bretagne, Italie, Scandinavie, Allemagne). Les ruisseaux de taille moyenne et petite peuvent facilement abriter 50000 individus/m<sup>2</sup>. Les lacs et les étangs eutrophes<sup>11</sup> contiennent au minimum 50

---

<sup>10</sup> Destruction des organes reproducteurs femelles, création de cavités thoracique et abdominale.

<sup>11</sup> Milieu eutrophe : milieu aquatique dans lequel il existe une concentration naturellement élevée des éléments minéraux nutritifs, ce qui entraîne une importante production primaire liée à la prolifération des algues et autres végétaux autotrophes.

espèces différentes de Chironomides (Coffman, 1978). Dans la nature, le vent et les vagues déterminent souvent la distribution géographique des larves de *Chironomus* sp. (Townsend *et al.*, 1981).

Les larves sont majoritairement présentes dans les 10 premiers centimètres de substrat et très rarement en dessous de 40 centimètres de profondeur. Elles préfèrent les sédiments de zones aquatiques stagnantes peu profondes qui contiennent des plantes aquatiques et qui sont riches en matière organique en décomposition (feuilles, algues,...). La plupart des larves se situent dans des sédiments dont la colonne d'eau a une profondeur de moins de 2 mètres.

### 1.2.2. Les perturbations environnementales

Les invertébrés benthiques et épibenthiques subissent des agressions aussi bien de la part des hommes (pollution) que de la nature elle-même (érosion, manque de nourriture, compétition, prédation) (Conlan, 1994). Ainsi, la compétition et la prédation peuvent affecter l'interprétation des résultats d'un bioessai en augmentant le nombre de morts ou en perturbant la croissance des *Chironomus* spp. et des *Hyalella* spp. Afin d'éviter d'associer une réponse biologique à une charge en contaminants alors que cette réponse est principalement ou partiellement imputable à la présence de fortes populations d'invertébrés benthiques, il est recommandé d'enlever les organismes autochtones<sup>12</sup> dans les sédiments (prédateurs ou compétiteurs, spécialement les vers oligochètes) et de s'assurer que la densité d'organismes utilisée dans le bioessai n'est pas trop élevée (Reynoldson *et al.*, 1994).

#### **La compétition**

Les chironomes peuvent entrer en compétition, pour l'espace et pour la nourriture, avec des membres d'un même taxon ou avec des membres de taxons différents.

Ainsi, le choix du nombre d'organismes utilisés dans les bioessais peut affecter la réponse du bioessai et doit être fonction de la surface et de la quantité de sédiment disponibles par réplicat. Naylor et Howcroft (1997) ont montré que l'augmentation de la densité de *C. riparius* d'un facteur cinq (3980 *C. riparius*/m<sup>2</sup>) induit une diminution du poids moyen des larves de 35% sans que la sensibilité du bioessai soit affectée. Pour nos bioessais, la surface allouée à chaque organisme est de 3.8 cm<sup>2</sup>.

De plus, la présence d'animaux autochtones (*Tubifex tubifex*) même si elle n'affecte pas la survie de *C. riparius*, entraîne une réduction de la croissance : réduction de poids allant de 38% (1460 *T. tubifex*/m<sup>2</sup>) à 92% (20000 *T. tubifex*/m<sup>2</sup>) par rapport au témoin sans *Tubifex*. Le poids moindre de *C. riparius* en présence d'oligochètes peut être dû à une compétition directe pour la nourriture ou une interférence dans l'activité d'enfouissement (Reynoldson *et al.*, 1994). Une étude menée en lac révèle que des organismes de la microfaune benthique (*Chydorus piger*) peuvent aussi avoir un effet sur la structure des populations de la macrofaune (*Chironomus riparius*) : la présence de *C. piger* inhibe la croissance des premiers stades larvaires en diminuant la disponibilité de la nourriture pour *C. riparius*, soit par compétition directe, soit en perturbant leur recherche de nourriture (Van De Bund et Davids, 1993).

#### **La prédation**

Les Chironomides représentent une source de nourriture très importante : les larves sont recherchées aussi bien par les oiseaux, les poissons et les batraciens que par les invertébrés aquatiques. Les imagos sont la proie d'insectes carnassiers et d'oiseaux (Tokeshi, 1995). Beaucoup de prédateurs affectent la

---

<sup>12</sup> Autochtone : qui est issu du sol même où il habite.

composition de la population en effectuant une sélection par la taille : dans les eaux douces la majorité des invertébrés prédateurs sont de petite taille et ils se nourrissent principalement du premier stade larvaire (Tokeshi, 1995).

La présence de sangsues dans un sédiment est problématique pour l'interprétation des résultats d'un bioessai utilisant une espèce benthique. Ainsi Ingersoll et Nelson (1990) ont montré que la survie et l'émergence de *C. riparius* sont nulles en présence de sangsues.

### 1.2.3. Le comportement des organismes

#### **Comportement non sexuel**

Il s'agit de décrire dans ce paragraphe les habitudes de vie et le comportement alimentaire des chironomes. Ce comportement peut être une source de perturbations pour le milieu. En effet *Chironomus* sp. bioturbe<sup>13</sup> le sédiment, en construisant les tubes dans lesquels il vit, et modifie la composition de ce sédiment en dégradant la matière organique.

*Chironomus riparius* collecte sa nourriture en aspirant les particules d'aliment dans son tube ou en allant directement se nourrir de la couche superficielle du sédiment (Baker et Ball, 1995). Les larves de *Chironomus* peuvent consommer une grande variété de particules alimentaires. Elles se nourrissent aussi bien d'algues et de débris végétaux que de bactéries et de champignons. Les détritiques organiques collectés par les chironomes peuvent être utilisés comme source de nourriture ou comme substrat pour la construction de leurs tubes (Sankarperumal et Pandian, 1992). En même temps que des particules alimentaires, les larves peuvent ingérer des particules de limon. La biomasse microbienne joue un rôle critique dans le développement des Chironomes. Outre le fait que les bactéries peuvent constituer une grande partie du régime alimentaire des larves de *C. riparius*, elles interviennent en modifiant chimiquement les détritiques pour les rendre disponibles aux larves (Sankarperumal et Pandian, 1992).

Durant le premier stade larvaire, les organismes sont phototactiles et si le sédiment ne contient pas assez d'oxygène dissous et de nourriture, ils migrent dans la colonne d'eau (Townsend *et al.*, 1981).

#### **Comportement sexuel**

L'accouplement des chironomes est assez simple. Initié par le mâle, il a lieu en vol et dure environ 20 secondes. Les mâles sont capables de s'accoupler avec plusieurs femelles et peuvent même chercher à copuler avec d'autres mâles (Townsend *et al.*, 1981). Après la copulation, les spermatozoïdes sont stockés par la femelle dans une paire de spermathèques où ils sont tenus séparés des oeufs jusqu'à la ponte, 24 à 48 heures après l'accouplement.

## **2. Élevage de *Chironomus***

Les conditions d'élevage de *Chironomus* sp. ont largement été développées dans les rapports nord-américains qui proposent des méthodes d'étude normalisées (ASTM, 1995a; ASTM, 1995b; Environment Canada, 1997a; EPA, 1994c; OECD, 1998). Les élevages de *C. riparius* sont optimisés selon les conditions et dispositions intrinsèques des laboratoires et les besoins en organismes que nécessitent leurs études. Nous résumons ici très brièvement, à partir des principaux protocoles

---

<sup>13</sup> Bioturbation : ensemble des petits dérangements dans un sédiment dus à des déplacements d'organismes vivants. Transformation ou dégradation des sédiments sous l'action d'organismes se déplaçant ou creusant des cavités à l'intérieur de ceux-ci.

d'élevage existant à ce jour, quelques données utiles à la mise en place et au maintien d'un élevage. Il s'agit de préciser les types d'enceintes utilisées pour l'élevage, les conditions de température, d'oxygénation et de lumière maintenues pour l'élevage et les besoins en terme de nourriture et de substrat des organismes. Le document d'Environnement Canada (1997a) contient une synthèse des principaux protocoles d'élevage de *C. tentans* et *C. riparius*.

### Les enceintes d'élevage

L'élevage des *Chironomus* est assez aisé mais il nécessite de maîtriser à la fois la phase de développement aquatique et la période aérienne de l'organisme. Le maintien d'un stock important de chironomes se fait en général dans des aquariums de 10, 20 ou 40 L (Tableau 1) recouverts de chambres de reproduction en Nylon® (pour les adultes). Pour contrôler la densité des larves dans ces aquariums une partie des larves est éliminée périodiquement et les adultes sont retirés de la chambre de reproduction avant qu'ils n'aient pu pondre dans le bac d'élevage. Pour pouvoir lancer un bioessai avec des larves d'âge et de stade larvaire connus, les adultes, récupérés dans les chambres de reproduction, sont mis à pondre au dessus d'un aquarium d'eau. Les masses pondues sont immédiatement isolées dans des contenants de quelques dizaines de mL et l'éclosion est surveillée. A partir du jour d'éclosion, les organismes issus d'une même masse sont déposés dans des contenants de quelques litres avec une monocouche de substrat. Ils sont quotidiennement nourris jusqu'à leur utilisation dans les bioessais, 2, 4 ou 10 jours après leur naissance selon les protocoles (ASTM, 1994b; Environment Canada, 1997a; EPA, 1994c).

Les organismes peuvent être maintenus dans les aquariums durant six mois sans problème particulier pour peu que la qualité du substrat et de l'eau surnageante soit correctement contrôlée et que la densité des organismes soit maîtrisée pour éviter la surpopulation. Afin d'éviter des dérives génétiques dues à une trop forte consanguinité, il est conseillé de renouveler une partie du stock des géniteurs régulièrement (dans notre cas il s'agirait de se fournir auprès de fournisseurs nord-américains ou de laboratoires européens). Nebeker *et al.* (1984b) proposent d'utiliser 6 aquariums de 10 L,ensemencés avec une masse viable de *C. tentans*, décalés d'une semaine chacun pour produire en permanence des organismes pour les bioessais.

Tableau 1 : Quelques types de récipient et volumes utilisés pour l'élevage de *Chironomus sp.*

Type de récipient	Volume d'eau	Référence
aquarium de 39 L	30 L	(Batac-Catalan et White, 1982; Suedel et Rodgers, 1994a; Suedel et Rodgers, 1994b)
aquarium de 3 à 19 L	45 cm de hauteur d'eau (8 L pour un aquarium de 19 L)	(ASTM, 1995b)
aquarium de 20 L	10 cm de hauteur d'eau	(Watzin <i>et al.</i> , 1994)
aquarium de 5 L	n.i. <sup>b</sup>	(Hoke <i>et al.</i> , 1990)
aquarium de 19 L (36*21*26 cm)	7,5 L (150 à 200 larves de <i>C. tentans</i> )	(EPA, 1994c)

<sup>b</sup> : n.i.= non indiqué.

### Photopériode, température, aération et caractéristiques de l'eau d'élevage

Les conditions d'élevage généralement proposées visent à mettre les organismes dans des conditions optimales de production qui correspondent à des conditions printanières.

La photopériode préconisée par la grande majorité des auteurs est de 16 heures de jour et 8 heures de nuit (ASTM, 1995b; Environment Canada, 1997a; EPA, 1994c; Nebeker *et al.*, 1984b; Watzin *et al.*, 1994). La luminosité doit être comprise entre 500 et 1000 lux (Environment Canada, 1997a).

La température des enceintes d'élevage s'échelonne, selon les auteurs, entre 20°C (Nebeker *et al.*, 1984b), 22°C (Suedel et Rodgers, 1994a; Suedel et Rodgers, 1994b) et 23°C (Suedel et Rodgers, 1994a; Suedel et Rodgers, 1994b; Watzin *et al.*, 1994 ). La température conseillée pour l'élevage est la température utilisée dans les bioessais. Ceci permet d'éviter la période d'acclimatation nécessaire aux organismes pour adapter leur métabolisme aux nouvelles conditions d'exposition.

Les conditions d'aération et de renouvellement de l'eau ne sont pas fixées. Que l'eau soit renouvelée en continu ou qu'elle soit changée périodiquement (25 à 30% du volume changé hebdomadairement par exemple), sa teneur en oxygène dissous doit être supérieure à 80% de saturation. L'aération, si elle est nécessaire pour atteindre ce seuil, doit néanmoins être modérée pour ne pas perturber les organismes<sup>14</sup>.

L'eau utilisée pour l'élevage d'organismes benthiques, épibenthiques ou pélagiques peut être synthétique ou naturelle. L'eau synthétique offre l'avantage d'avoir des caractéristiques bien définies et constantes, alors que l'eau naturelle peut être plus aléatoire dans sa composition. Pour des élevages nécessitant de grands volumes d'eau, l'utilisation d'une eau synthétique n'est pas toujours possible. De plus la définition de la composition d'une eau synthétique est délicate : elle doit satisfaire à tous les besoins de l'organisme élevé, tant sur le plan des composants que de leurs concentrations (Smith *et al.*, 1997). Dans notre laboratoire, nous avons décidé de maintenir les élevages de *C. riparius* et *H. azteca* dans les mêmes conditions, sous un flux d'eau naturelle continu de 4-4,5 L/h par aquarium (pH 7 ; dureté 120-180 mg CaCO<sub>3</sub>/L ; conductivité 300-320 µS/cm). Afin d'éviter d'avoir une étape d'acclimatation supplémentaire des organismes à l'eau d'essai avant le bioessai, il est conseillé quand cela est possible d'utiliser la même eau pour les cultures et pour les bioessais.

#### **Le substrat et l'alimentation des organismes d'élevage**

Alors que des organismes épibenthiques comme *H. azteca* peuvent être élevés quasiment sans substrat, *Chironomus* a besoin d'un substrat pour construire les tubes dans lesquels il vit. Dans les élevages, le substrat le plus couramment utilisé est un substrat de papier cellulose (sur une profondeur de 3 cm) (Tableau 8). Watzin *et al.* (1994) ont aussi utilisé un substrat siliceux prélavé (sur 1 à 2 cm de profondeur).

Les aliments utilisés pour l'élevage des chironomes sont très variés. Il peut s'agir de flocons de nourriture pour poissons, d'algues, de feuilles séchées ou de mélanges (Tableau 8).

---

<sup>14</sup> Une aération vigoureuse peut entraîner une baisse de rendement de la culture de chironomes : le premier stade larvaire peut nager en pleine eau et, entraîné par les mouvements d'eau et les bulles d'air, il peut se faire piéger à la surface de l'eau ; les adultes peuvent échouer à émerger si il y a trop de remous à la surface de l'eau.

Tableau 2 : Principaux substrats et aliments utilisés pour l'élevage de *Chironomus sp.*

Substrat	Alimentation	Référence
Silice propre lavée	Nutrafin® finement broyé et tamisé à 500 µm	(Watzin <i>et al.</i> , 1994)
Papier cellulose traité à l'acétone, bouilli, rincé à l'eau d'élevage et finement broyé	Tetra Conditioning Food®, Vegetable Diet (for Tropical Fish)	(ASTM, 1995b; Batac-Catalan et White, 1982)
Papier cellulose traité à l'acétone, bouilli, rincé à l'eau d'élevage et finement broyé	Tetrafin®	(Hoke <i>et al.</i> , 1990).
Papier cellulose traité à l'acétone, bouilli, rincé à l'eau d'élevage et finement broyé	Cerophyll® et TetraMin®	(Suedel et Rodgers, 1994a; Suedel et Rodgers, 1994b)

### 3. *Chironomus* et les bioessais sur sédiment entier

#### 3.1. Intérêt de ce bioessai

*Chironomus* représente un vecteur important dans le transfert des contaminants dans la chaîne alimentaire aussi bien qu'un indicateur direct de la qualité de l'habitat (EPA, 1993; Huuskonen *et al.*, 1998). Sa biodiversité, son abondance ou sa biomasse peuvent être des indicateurs de la qualité et des caractéristiques du milieu (Griffiths, 1992; Winnell et Jude, 1984).

*Chironomus riparius* est d'une grande importance écologique<sup>15</sup>, il passe la majorité de son cycle de vie en contact direct avec le sédiment et il consomme une grande variété de substances organiques (Baker et Ball, 1995; Hoke *et al.*, 1993). Il est facilement transposable du terrain au laboratoire où il est d'élevage facile et son cycle de vie est relativement court (15 à 30 jours) (Nebeker *et al.*, 1984a).

#### 3.2. Les critères d'effet

De très nombreux critères d'effet sont mesurables chez les chironomes, principalement au niveau des stades larvaires (mortalité, croissance, bioaccumulation, génotoxicité, activités enzymatiques, malformations) et imagos (émergence, reproduction,...), mais aussi sur le cycle de vie complet avec une évaluation de la capacité de reproduction de la génération F1 (Douville, 1996).

##### 3.2.1. Les réponses comportementales

L'étude du comportement de *Chironomus* porte sur des paramètres différents selon que l'on s'intéresse aux stades larvaires aquatiques ou au stade imago aérien. Dans le premier cas des comportements d'évitement de substrat contaminé ou de mouvement des larves (locomotion, ventilation, alimentation,...) pourront être suivis, les chironomes cherchant à éviter de nombreux facteurs de stress, aussi bien physiques que chimiques, en se déplaçant. Dans le second cas c'est la plupart du temps la capacité d'émergence des imagos qui est étudiée.

#### L'évitement des larves

Quelques études ont montré que les larves de *C. tentans* modifient la structure de leurs tubes ou les quittent pour éviter au maximum la contamination ou pour retrouver des conditions plus favorables, en terme de nourriture notamment. Lors de l'interprétation de résultats utilisant l'évitement des larves

<sup>15</sup> Le nombre d'espèces de Chironomides peut facilement compter pour 50% de la composition des espèces de macroinvertébrés dans un sédiment.

comme mesure biologique d'effet, il faut s'assurer que le comportement observé est bien imputable à la contamination et qu'il n'est pas la résultante de conditions environnementales défavorables. Par exemple, même si des variations d'intensité lumineuse n'ont pas d'effet sur la localisation d'organismes qui ont construit leurs fourreaux, les larves sans fourreaux s'installent préférentiellement dans des zones sombres (Baker et Ball, 1995). Ces facteurs de confusion écartés, il est possible d'observer des comportements d'évitement associés à la présence de toxiques comme l'ammoniac ou les métaux. Ainsi, une étude exposant *C. tentans* à des sédiments qui contiennent des concentrations variables d'ammoniac a montré que dans le témoin et les 2 concentrations les plus basses les galeries sont directement construites dans le sédiment, avec seulement un cône externe à la surface des sédiments alors que dans les concentrations plus élevées en  $\text{NH}_3$  les galeries sont construites à la surface des sédiments ou le long des parois des béciers (Whiteman *et al.*, 1996). Après une exposition de 5 jours, les larves de *C. tentans* sont toujours présentes et bien réparties sur des sédiments contrôles et peu contaminés avec du zinc et du cadmium alors qu'elles ont quitté les sédiments fortement contaminés par ces mêmes métaux pour migrer vers des sédiments contrôles (Wentzel *et al.*, 1977b).

### **L'activité des larves**

Les activités alimentaires, locomotrice et respiratoire des larves de *Chironomus* peuvent être affectées par le manque de nourriture, la présence de prédateurs ou de contaminants.

Ainsi, la présence de prédateurs et la faible disponibilité de nourriture entraînent une diminution de l'activité des larves de *C. tentans* et retardent la mue des larves (Macchiusi et Baker, 1992), la croissance et l'émergence des adultes (Ball et Baker, 1995).

Leppänen *et al.* (1998) ont montré que l'activité alimentaire peut être affectée dans des sédiments contaminés. Pour cela ils ont étudié la production de déjection par les larves de *C. riparius*, cette production étant d'autant moins importante que l'organisme est exposé à des sédiments plus contaminés. Cependant l'effet de la composition du substrat sur le taux de déjection est encore mal connu et quelques mises au point pour la préparation de l'échantillon sont à faire.

Les comportements de type locomotion (nage et tournoiement), mouvement respiratoire (ventilation) et inactivité peuvent être suivis par une technique de conversion des mouvements en champ électrique puis transcription sur papier. Cette technique a permis d'observer que les larves de *Chironomus thummi* (*C. riparius*) issues d'un milieu pollué par des métaux sont plus actives que celles issues d'un milieu pluricontaminé au cuivre et avec des xénobiotiques organiques. Dans le sédiment contaminé par les métaux, les larves déformées ou normales se comportent et émergent de la même façon alors que dans le milieu pluricontaminé, les larves déformées émergent moins, sont moins actives et ventilent plus que les larves normales (Gerhardt et Janssens, 1995). Cette même technique a montré que le comportement des larves de *C. riparius* (exposition durant 96h puis enregistrement de l'activité durant 1h) est un paramètre sensible, comparativement aux bioessais classiques avec *D. magna* et *P. promelas*, pour mesurer la toxicité de produits chimiques narcotiques (méthanol, toluène, mono-, di-, tri-, tétra-chlorobenzène, trichloroéthanol,...) (Van Der Zandt *et al.*, 1996).

### **L'émergence des imagos et le comportement des adultes**

L'émergence des imagos est un critère d'effet sublétalement assez couramment utilisé pour évaluer la toxicité chronique des sédiments. L'OCDE (OECD, 1998) a d'ailleurs proposé une ligne directrice utilisant l'émergence comme critère d'effet.

En comparant le jour de début d'émergence et le pourcentage d'émergence de *C. riparius* exposés sur sédiments contaminés par rapport à ceux mesurés pour des organismes exposés à des sédiments de référence, Ingersoll et Nelson (1990) ont observé que le nombre d'émergeants est réduit et le jour de début d'émergence retardé dans des sédiments pluricontaminés (PCBs, HAPs, métaux). Wentsel *et al.* (1978) observent le même phénomène dans des sédiments contaminés au cadmium, au zinc et au chrome : l'émergence de *C. tentans* est réduite d'un facteur supérieur à 3 et retardée de 2 jours. L'émergence de *C. riparius* peut aussi être retardée dans des sédiments contenant du sélénium (Ingersoll *et al.*, 1990), du cadmium (Pascoe *et al.*, 1989) ou du cuivre (Watts et Pascoe, 1996). Dans un bioessai de 40 jours visant à étudier l'impact de sédiments contaminés sur l'émergence de *C. riparius*, Ristola *et al.* (1995) ont observé une production moindre d'imagos sans pour autant que l'émergence soit retardée. Cependant, Huuskonen *et al.* (1998) ont montré que l'émergence de *C. riparius* pouvait être plus rapide dans des sédiments pluricontaminés aux HAPs par rapport à des contrôles non contaminés. Cela peut être dû à un effet stimulant de certaines molécules sur la croissance des invertébrés, comme cela a aussi été montré pour des sédiments contaminés à l'atrazine<sup>16</sup>.

Il est possible d'étudier l'impact de contaminants sur l'ensemble du cycle de vie de *C. tentans* en réalisant un bioessai de 65 jours avec, comme mesures d'effet, le taux et le délai d'émergence, la production d'oeufs (nombre d'oeufs produits par femelle) et la capacité d'éclosion de ces oeufs (Benoit *et al.*, 1997). Une étude sur le cycle de vie complet de *C. tentans* montre que le 4-nonylphenol affecte la survie des organismes (LOEC= 91 µg/L) mais n'affecte ni l'émergence ni la reproduction des organismes survivants (Kahl *et al.*, 1997).

Connaissant la grande sensibilité du premier stade larvaire aux métaux, le choix du site de ponte s'avère primordial pour la survie de l'espèce et la colonisation de nouveaux sites par *C. riparius*. Il semblerait que les femelles de *C. riparius* soient capables d'aller préférentiellement pondre dans les solutions contenant des concentrations en cadmium non létales pour les embryons (Williams *et al.*, 1987).

### 3.2.2. La mortalité et la croissance

La mortalité et la croissance sont les mesures biologiques les plus couramment étudiées (Ankley *et al.*, 1994a; Ankley *et al.*, 1993a; Ankley *et al.*, 1994b; ASTM, 1995b; Barber *et al.*, 1997; Bird, 1997; Bird *et al.*, 1995b; Call *et al.*, 1999; Day *et al.*, 1995; Environment Canada, 1997a; EPA, 1994c; Fuchsman *et al.*, 1998; Giesy *et al.*, 1990; Hoke *et al.*, 1990; Hoke *et al.*, 1993; Ingersoll *et al.*, 1995; Kemble *et al.*, 1994; Khangarot et Ray, 1989; OECD, 1998; Pascoe *et al.*, 1990; Phipps *et al.*, 1995; Postma *et al.*, 1994; Postma *et al.*, 1995a; Schubauer-Berigan *et al.*, 1995). Les effets des contaminants sur la croissance peuvent être évalués par mesure du contenu en glycogène (Hamburger *et al.*, 1995), du poids et/ou de la longueur des organismes (Hoke *et al.*, 1995; Naylor et Howcroft, 1997; Ristola *et al.*, 1995; Taylor *et al.*, 1991a; Wentsel *et al.*, 1977a). Le poids est la mesure biologique sublétales la plus couramment mesurée. En effet c'est une mesure plus facile à réaliser que la taille et, d'après Naylor et Howcroft (1997), c'est un critère d'effet plus sensible que la longueur des organismes pour mesurer l'effet de la 3,4,-dichloroaniline (DCA) sur *C. riparius*.

---

<sup>16</sup> Les auteurs suggèrent que la croissance des organismes peut avoir été stimulée via l'activation de mécanismes hormonaux par exemple.

Bien que Becker *et al.* (1995) montrent que la survie, le poids et la taille donnent des résultats similaires en terme de sensibilité et de capacité discriminatoire pour *C. tentans*, la plupart des auteurs s'accordent pour dire que les mesures sublétales sont plus sensibles que la mesure de la survie. Ainsi, Call *et al.* (1999) trouvent que le poids moyen des larves de *C. tentans* est un paramètre plus sensible que la survie. Ce serait d'ailleurs un critère d'effet plus discriminant que la mortalité 48 heures des *Daphnia magna* (Giesy *et al.*, 1988). Taylor *et al.* (1991a) ont montré dans une étude visant à étudier la toxicité du cuivre, du lindane, de l'atrazine et de la DCA que la mesure du poids de *C. riparius* dans un bioessai 10 jours est un critère d'effet chronique sensible. Postma *et al.* (1995a) observent que des larves de *C. riparius* exposées 4 jours à des sédiments contaminés par des métaux (cadmium, zinc et fer) ont une croissance ralentie (longueur) dans les sédiments les plus contaminés. Ce type d'effet est aussi observé par Hoke *et al.* (1995) pour *C. tentans* (poids) exposé à des sédiments contenant de la dieldrine et par Pascoe *et al.* (1989) pour *C. riparius* (poids) exposé à des sédiments contenant du cadmium.

Alors que la présence de nourriture et de particules ingérées peut induire un biais dans l'évaluation du poids des organismes en fin d'essai, le dimorphisme sexuel ne paraît pas être une cause de confusion lors de cette même évaluation du poids. Ainsi, Sibley *et al.* (1997) constatent que les particules inorganiques présentes dans le tractus intestinal de l'organisme à la fin de l'essai peuvent représenter 7 à 59% du poids sec mesuré et proposent, pour minimiser ce biais, de purger les organismes ou de modifier la technique de séchage (évaluation de la fraction inorganique). Pour des *Chironomus riparius* exposés en groupe de 15 à 50, l'effet du dimorphisme sexuel sur l'interprétation des résultats (poids) est très minime. La probabilité de faire une erreur statistique de type I<sup>17</sup>, dans un test de toxicité, en raison du dimorphisme sexuel est estimée à 3% quand il est très prononcé (pour des organismes élevés seuls) (Day *et al.*, 1994).

Sachant que le développement des larves peut être affecté par leur densité ou la taille des chambres d'essai, il est recommandé d'utiliser en mesure terminale, outre le poids sec, la largeur de la capsule céphalique pour différencier les effets d'une croissance réduite par la toxicité par rapport à un retard dans le développement larvaire.

---

<sup>17</sup> Erreur de type I : risque de se tromper en refusant  $H_0$  ( $H_0 : \mu_1 = \mu_2$ ). Risque de déclarer que l'échantillon analysé n'est pas identique au contrôle alors que c'est le cas.

### 3.2.3. Les difformités<sup>18</sup> morphologiques

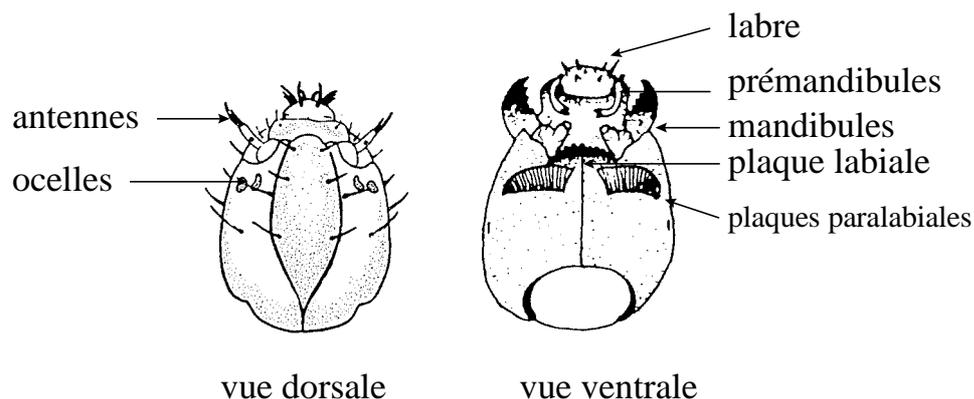


Figure 5 : Détails de la capsule céphalique de *Chironomus sp.* Vue ventrale et vue dorsale.

Les anomalies morphologiques de la capsule céphalique (Figure 5) peuvent permettre de mettre en évidence l'existence d'un facteur toxique mais elles demandent une bonne connaissance de la taxonomie et de la morphologie des espèces étudiées (Bird *et al.*, 1995b). Pour ces raisons, les anomalies morphologiques sont des indicateurs biologiques difficilement utilisables bien que des études aient prouvé la validité de leur utilisation. De plus, des difformités observées dans tous les traitements et principalement localisées aux dents médianes peuvent être considérées comme naturelles. Il faut donc tenir compte de ces difformités naturelles lorsque ce paramètre est utilisé comme indicateur des dégradations environnementales (Bird, 1997; Bird *et al.*, 1995b). De plus, ces difformités sont moins révélatrices de la toxicité que ne le sont des mesures comme les variations de biodiversité, d'abondance et de biomasse (Cushman, 1984).

En étudiant les différentes composantes de la capsule céphalique des larves de *C. riparius* pouvant être le siège de difformités (mandibules<sup>19</sup>, pré-mandibules, plaque labiale, antennes,...), Vermeulen *et al.* (1998) montrent que le calcul de la fréquence de difformité de la plaque labiale est suffisant pour évaluer la toxicité des sédiments. Les difformités de la plaque labiale sont d'ailleurs un bon indicateur de la présence de pétrole (Cushman, 1984) et de plomb (De Bisthoven *et al.*, 1998) dans les sédiments et de plomb dans les organismes (De Bisthoven *et al.*, 1998). Groenendijk *et al.* (1998) ont montré que des difformités de la plaque labiale et la présence d'une asymétrie latérale chez les larves de *C. riparius* indiquent la présence d'un stress imputable aux métaux. Des anomalies morphologiques au niveau de la capsule céphalique ont été constatées chez différentes espèces de Chironomides exposées à des sédiments contaminés (Warwick, 1985). Une étude sur des sites de natures différentes a montré que la fréquence des difformités de la plaque labiale augmente avec la dégradation de l'environnement: jusqu'à 5,3% de difformités dans les zones de pollution urbaine et de 0,8 à 2,5% en région agricole contre 0% dans les sites de référence (Bird, 1994). Une autre étude, menée dans le lac Vossemeer, a montré que la densité des larves de *C. plumosus* diminue et que la fréquence des

<sup>18</sup> Difformité : anomalie généralement congénitale de la conformation extérieure qui rend le sujet différent de ce qui est normal pour son espèce. Elle est à distinguer de la déformation, qui n'est qu'une simple irrégularité de la forme.

<sup>19</sup> Mandibule : la mandibule comprend un corps incurvé en fer à cheval.

difformités augmente au fur et à mesure que le niveau de contamination augmente (Urk *et al.*, 1992). Cependant, une autre étude désirant mettre en évidence l'effet du cadmium présent en faible quantité dans les sédiments (4 µg Cd/g sec de sédiment) montre que l'on doit tenir compte de la forte incidence des malformations naturelles lorsque l'on utilise les malformations du labre<sup>20</sup> comme indicateur de la dégradation de la qualité du milieu chez les Chironomides (Bird *et al.*, 1995a). Généralement la fréquence des difformités dans les sites non contaminés est <1% mais des fréquences de 9 à 19% ont déjà été signalées sur certains sites non contaminés (Bird *et al.*, 1995a). Ces fréquences sont aussi observées en laboratoire et on suppose qu'elles sont attribuables à la consanguinité qui existe dans les cultures et qui augmente l'expression de caractéristiques récessives.

#### 3.2.4. Les activités enzymatiques et la génotoxicité

La perturbation des activités enzymatiques et les lésions du génome sont des indicateurs précoces de perturbations environnementales sur les organismes et à ce titre ce sont des outils intéressants pour évaluer la qualité du milieu mais leur développement est récent au niveau des invertébrés benthiques et leur utilisation est délicate.

L'inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase<sup>21</sup> chez *C. riparius* par le zinc et quatre pesticides (lindane, perméthrine, carbofuran et méthyl-pirimiphos) a été étudiée par Ibrahim *et al.* (1998). Ils ont montré que le carbofuran et le méthyl-pirimiphos sont des inhibiteurs de l'activité de l'AChE. L'activité du cytochrome P450<sup>22</sup> peut elle aussi être perturbée chez les Chironomides notamment en présence de DCA (Sturm et Hansen, 1999).

La diminution des « puffings » chromosomiques<sup>23</sup> est un indicateur de génotoxicité. Lorsque la synthèse de l'ARN est inhibée la taille des puffings est réduite traduisant la présence d'un effet toxique (Bentivegna et Cooper, 1993).

#### 3.2.5. La bioaccumulation, la bioconcentration, la dépuration et la biotransformation

Beaucoup d'organismes aquatiques qui passent la majeure partie de leur cycle de vie au contact des sédiments peuvent représenter une voie d'accumulation et de passage des contaminants vers les organismes supérieurs. La concentration de contaminants accumulée dans les organismes aquatiques peut fournir des informations sur la biodisponibilité des contaminants et est un critère d'évaluation de la qualité du milieu. Selon que l'accumulation des contaminants se fait à partir de la phase aqueuse ou

---

<sup>20</sup> Labre : pièce buccale pointue de certains insectes.

<sup>21</sup> Acétylcholinestérase (AChE) : enzyme responsable de l'hydrolyse de l'acétylcholine au niveau du système nerveux. L'inhibition de son activité entraîne une stimulation permanente des synapses.

<sup>22</sup> Cytochrome P450 : protéine dont la synthèse est induite par les HAPs, PCBs et dioxines et caractérisée par l'activité EROD (EthoxyRésorufine-O-Dééthylase). Cette protéine hydroxyle les molécules (rajoute un ou plusieurs groupements -OH), diminuant leur hydrophobie et facilitant leur excrétion par l'organisme dans le milieu environnant.

<sup>23</sup> « Puffings » chromosomiques : copies de chromosomes non divisées formant des faisceaux de chromatides sur les chromosomes des glandes salivaires lors de la synthèse d'ARN.

qu'elle soit évaluée à partir de la charge totale en contaminants du sédiment on parle de bioconcentration<sup>24</sup> ou de bioaccumulation<sup>25</sup> (Burton et Mcpherson, 1994).

Les organismes doivent subir un jeûne, après l'exposition aux contaminants et avant le dosage afin d'éliminer les particules contaminées contenues dans l'intestin des animaux qui pourraient fausser les résultats (Brooke *et al.*, 1996).

De nombreuses études se sont intéressées à la bioaccumulation des métaux chez *Chironomus*.

D'après Bervoets *et al.* (1997; 1994; 1998), la seule mesure des niveaux totaux des métaux dans l'eau et les sédiments donne peu d'informations sur la détérioration de la qualité de l'écosystème et les concentrations en métaux mesurées dans les larves de *C. riparius* ne peuvent pas être prédites par la simple mesure des concentrations métalliques dans les sédiments et/ou l'eau. La variabilité des écosystèmes doit être prise en compte lors de l'étude de la qualité des sédiments : les caractéristiques physico-chimiques des sédiments et les associations géochimiques des métaux traces dans le sédiment influencent la spéciation et régulent la bioaccumulation des métaux par les organismes (Bervoets et Blust, 1999; Bervoets *et al.*, 1997; Bervoets *et al.*, 1995; Bervoets *et al.*, 1996b; Bervoets *et al.*, 1994; Dodge et Theis, 1979; Kosalwat et Knight, 1996; Young et Harvey, 1991). Ainsi aucune accumulation de cuivre n'est observée chez *C. tentans* quand le cuivre est présent sous forme chélaté. Le cuivre est accumulé à partir de solutions où la forme aqueuse dominante est l'ion libre  $\text{Cu}^{2+}$  et le complexe  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  (Dodge et Theis, 1979). La même observation est faite pour *C. riparius* avec le cadmium : Warren *et al.* (1998) observent une relation linéaire entre la concentration en cadmium de l'eau et celle de *C. staegeri*. Kosalwat et Knight (1996) observent une relation exponentielle entre la concentration en cuivre de l'eau et celle de *C. decorus* (BCF= 600 à 9000) pour les larves exposées au cuivre par l'eau et une relation linéaire entre la concentration en cuivre du sédiment et celle de *C. decorus*. Les larves de *C. decorus* possèdent des mécanismes permettant de réguler le stockage du cuivre et de l'excréter pour des concentrations de 0,05 à 1 mg Cu/L, mais elles perdent cette capacité quand la concentration en cuivre excède 1 mg/L (Kosalwat et Knight, 1996).

La capacité d'accumulation des métaux est aussi largement fonction des caractéristiques de l'organisme (Bervoets *et al.*, 1997). Krantzberg (1989) observe, en considérant une importante biomasse, que les concentrations en nickel et en cadmium sont plus élevées dans les larves les plus jeunes et que, pour un âge donné, les concentrations en fer, manganèse, nickel et calcium sont plus importantes dans les organismes les plus gros. Pour une exposition de courte durée, une faible proportion des métaux (cadmium, zinc, plomb et cuivre) est adsorbée sur l'exosquelette de larves de *C. riparius* (Timmermans *et al.*, 1992). Le sélénium est bioconcentré à partir de la colonne d'eau ou des sédiments par les producteurs primaires (*Selenastrum capricornutum*) qui biotransforment la forme inorganique en acide séléno-aminé et synthétisent des sélénoprotéines. Le sélénium est alors

---

<sup>24</sup> La bioconcentration est évaluée par le BCF (facteur de bioconcentration) qui est le ratio des concentrations en contaminant entre l'organisme et l'eau.  $\text{BCF} = \text{Ctss}/\text{Ce}$  avec Ctss concentration tissulaire à l'équilibre ( $\mu\text{g}$  contaminant/g de tissus) et Ce concentration dans l'eau ( $\mu\text{g}$  contaminant/L d'eau).

<sup>25</sup> La bioaccumulation est évaluée par le BAF (facteur de bioaccumulation) qui est le ratio des concentrations en contaminant entre l'organisme et le sédiment.  $\text{BAF} = \text{Ctss}/\text{Cs}$ , avec Ctss concentration tissulaire à l'équilibre ( $\mu\text{g}$  contaminant/g de tissus) et Cs concentration dans le sédiment ( $\mu\text{g}$  contaminant/g de sédiment).

assimilé et traverse la chaîne trophique (*Chironomus decorus*). La croissance des larves est réduite lors d'une exposition à des concentrations de sélénium supérieures ou égales à 2,11 µg Se/g sec de sédiment (Malchow *et al.*, 1995).

Quelques études ont caractérisé la bioaccumulation des composés organiques chez les chironomes. Comme pour les métaux, la présence et la composition des sédiments affectent la bioconcentration de produits lipophiles neutres (PCB, DDE, DDT, PCP) et de composés métabolisables modérément hydrosolubles (parathion, carbaryl) chez *C. riparius* et retardent la biotransformation de ces composés (Lydy *et al.*, 1990a; Lydy *et al.*, 1990b). Le benzo(a)pyrène (HAP) adsorbé sur les sédiments est biodisponible pour les larves de *C. riparius* qui le métabolisent en un composé potentiellement génotoxique (durée de l'essai 5 jours, âge des organismes 10 jours) (Borchert *et al.*, 1997). La bioconcentration du pyrène (HAP) par les larves de *C. riparius* est dépendante du pH : en milieu acidifié (pH= 4,6) la bioaccumulation est plus faible qu'à un pH plus élevé (pH= 8). De plus Wildi *et al.* (1994) ont mis en évidence une cinétique d'élimination et de biotransformation du pyrène.

### **3.3. Sensibilité des organismes aux caractéristiques des sédiments**

Dans les bioessais, la réponse biologique des organismes peut être conditionnée par les caractéristiques des sédiments, en plus des contaminants toxiques proprement dits. Dans un sédiment, la granulométrie, la teneur en matière organique, en oxydes de fer et de manganèse et en sulfures, la demande en oxygène, les concentrations en ammoniac et en nitrite, le pH, la dureté, le potentiel d'oxydoréduction, sont autant de paramètres influençant la réponse des organismes (Besser *et al.*, 1996; Calmano et Förstner, 1996; Chapman *et al.*, 1998; Förstner, 1989; Lacey *et al.*, 1999; Pittinger *et al.*, 1989; Salomons et Stigliani, 1995; Sibley *et al.*, 1996; Whiteman *et al.*, 1996; Young et Harvey, 1991).

#### **3.3.1. Les caractéristiques géochimiques**

Il arrive que les bioessais utilisant *Chironomus* soient menés en eau seule mais il faut savoir que l'absence de sédiment augmente le stress de ces organismes benthiques et peut affecter la réponse biologique (Pascoe *et al.*, 1990). Bien que la qualité du substrat influence la biodisponibilité des contaminants, il est recommandé de toujours utiliser un substrat pour évaluer la toxicité d'un composé chimique vis à vis de *Chironomus* sp.

Bien que Bird (1997) et Dermott (1978) observent une tendance (non significative) à une survie moindre dans un substrat sableux (comparativement à des substrats celluloseux et argilo-limoneux) et qu'Ankley *et al.* (1994a) suggèrent que les *Chironomus* spp. se développent mieux dans un substrat légèrement grossier, la plupart des auteurs indiquent que *Chironomus* tolère une large gamme de taille de particules. La survie et la croissance de *Chironomus* ne sont pas affectées par des sédiments qui contiennent de 90% de limon et d'argile à 100% de particules sableuses (American Petroleum Institute, 1995; ASTM, 1995b; Ingersoll et Nelson, 1990; Sibley *et al.*, 1998) mais elles sont affectées par l'absence de matière organique (la teneur en matière organique doit être supérieure à un seuil d'environ 1%) (American Petroleum Institute, 1995; Ingersoll et Nelson, 1990; Sibley *et al.*, 1998; Suedel et Rodgers, 1994b). Cependant, en présence de quantité de nourriture dépassant 0,30 mg/jour/larve, Ristola *et al.* (Ristola *et al.*, 1999) montrent que la teneur en matière organique des sédiments ne joue plus de rôle majeur dans le contrôle de l'émergence de *C. riparius*.

Il est très important de savoir que la teneur en matière organique a un effet sur la croissance des *Chironomus*, directement en tant que source de nourriture et indirectement comme facteur de contrôle de la biodisponibilité (Young et Harvey, 1991). Par exemple, pour un seuil de concentration en carbone organique de 3 à 8,5% un modèle de répartition à l'équilibre basé sur le carbone organique permet de prédire la biodisponibilité des chloropyrifos associés aux sédiments vis à vis de *Chironomus tentans* (Ankley *et al.*, 1994b). Lacey *et al.* (1999) ont montré que la qualité et la quantité de matière organique pouvait influencer la réponse de *C. tentans* dans des bioessais 10 jours : la survie est d'autant meilleure qu'il y a de matière organique (MO de 1 à 25%) et le poids des *C. tentans* est meilleur sur des feuilles ou de l'alpha-cellulose (10% de MO ; 1,5 mg sec/organisme) que sur de l'humus (0,7 mg sec/organisme).

Les larves de chironomes ne sont généralement pas présentes dans les sédiments dont la teneur en sulfure d'hydrogène est supérieure à 0,3 mg/L (ASTM, 1995b). La densité larvaire de *C. circumdatus* est positivement corrélée avec la teneur en O<sub>2</sub>, la densité bactérienne (10<sup>7</sup> bactéries/mL), le contenu en matière organique des sédiments et elle est négativement corrélée avec la teneur en CO<sub>2</sub> (Sankarperumal et Pandian, 1992).

L'utilisation d'un sédiment artificiel peut entraîner une surestimation de la capacité de bioaccumulation des métaux par *C. tentans* (Harrahy et Clements, 1997) et de la toxicité du perméthrine vis à vis de *C. riparius* (Fleming *et al.*, 1998). Il est en effet difficile de reproduire artificiellement toutes les propriétés des sédiments qui peuvent inférer sur la biodisponibilité des contaminants, et l'adsorption des contaminants sur les sédiments artificiels semble moins forte qu'elle ne l'est sur un sédiment naturel<sup>26</sup>.

### 3.3.2. L'ammoniac

Pour beaucoup d'espèces aquatiques (principalement les poissons) la toxicité de l'ammoniac non-ionisé est prédominante par rapport à celle de l'ion ammonium. Il semble que ce soit aussi le cas pour *Chironomus*. En effet, lors de tests conduits avec *C. tentans*, sur 10 jours en renouvellement continu d'eau, sans substrat, à 4 pH différents (6,3 ; 7,2 ; 7,8 ; et 8,6), l'ammoniac total s'est révélé plus toxique à pH élevé qu'à pH faible. La forme non-ionisée (NH<sub>3</sub>), plus présente à pH élevé, joue un rôle important dans la détermination de la toxicité de l'ammoniac pour ces organismes. Sur des tests de 96 heures, les différences en dureté et alcalinité ne semblent pas affecter la toxicité de l'ammoniac pour *Chironomus* (Schubauer-Berigan *et al.*, 1995). La CL<sub>50-96h</sub> varie de 368 mg N/L (0,72 mg NH<sub>3</sub>/L) à pH 6,5 à 82,4 mg N/L (13,8 mg NH<sub>3</sub>/L) à pH 8,6. A pH 8, la CL<sub>50-96h</sub> pour des larves de *C. riparius* âgées de 2 jours en début d'essai est de 11,1 mg NH<sub>3</sub>/L et la CL<sub>50-96h</sub> pour des larves âgées de 4 jours en début d'essai est de 17,4 mg NH<sub>3</sub>/L (Chazal, 1999). Sur une exposition de 10 jours la CL<sub>50-10j</sub> est de 2 mg NH<sub>3</sub>/L quel que soit l'âge des larves en début d'essai (Chazal, 1999). Monda *et al.* (1995) trouvent une CL<sub>50-96h</sub> pour des larves âgées de 4 jours en début d'essai égale à 9,3 mg NH<sub>3</sub>/L, à pH 8.

---

<sup>26</sup> Les explications possibles de cette plus faible association contaminant-particule seraient l'absence, dans les sédiments reconstitués, de composants du sédiment qui jouent un rôle important de phase piégeante (les oxydes ou les sulfures par exemple) ou un temps d'équilibration trop court suite à l'incorporation des contaminants dans les sédiments artificiels qui ne permet pas aux contaminants d'atteindre un état d'association poussé avec les phases piégeantes.

La sensibilité de *C. tentans* exposé à l'ammoniac de l'eau interstitielle ( $CL_{50-10j} = 704$  mg N/L, pH 6,8) est du même ordre que celle de *C. tentans* exposé en eau seule ( $CL_{50-10j} = 532$  mg N/L, pH 6,5) (Whiteman *et al.*, 1996).

### **3.4. Sensibilité des organismes aux conditions de l'essai**

Dans les bioessais, la réponse biologique des organismes est largement influencée par les conditions d'exposition : les caractéristiques de l'eau surnageante (composition, teneur en oxygène dissous, renouvellement), l'apport et le dosage de nourriture, la durée d'exposition, l'âge des organismes,... Afin de discriminer, si nécessaire, l'effet des contaminants de l'effet potentiellement imputable aux conditions d'essai il est donc important de connaître la sensibilité de *C. riparius* et *C. tentans* à certaines variables d'essai.

#### **3.4.1. La nourriture**

De nombreuses propositions ont été faites pour la conduite d'essais avec *Chironomus tentans* et des synthèses ont été faites sur le sujet (Ingersoll *et al.*, 1995). Certains chercheurs recommandent de nourrir car la survie des organismes contrôles est faible et des difficultés à interpréter les résultats sur la croissance apparaissent en l'absence de nourriture (Ankley *et al.*, 1994a; Naylor et Rodrigues, 1995; Ristola *et al.*, 1999). D'autres recommandent de ne pas nourrir car l'addition de matériel exogène peut modifier la biodisponibilité des contaminants et les caractéristiques biologiques et chimiques des sédiments (Pascoe *et al.*, 1990; Townsend *et al.*, 1981). L'apport complémentaire de nourriture est d'autant plus important pour la croissance et la survie des organismes que le sédiment est pauvre en matière organique (si la concentration en MO est inférieure à 0,9%, la survie des chironomes est réduite) et que le bioessai couvre une large partie du cycle de vie des organismes (Suedel et Rodgers, 1994b).

La croissance de *C. tentans* est très significativement affectée par l'absence de nourriture (bioessai 10j) : le poids sec moyen d'organismes nourris est de 1,02 mg alors qu'il tombe à 0,33 mg quand les animaux ne sont pas nourris. De plus, un fort pourcentage d'essais dans lesquels *Chironomus* n'était pas nourri a échoué à atteindre le seuil d'acceptabilité de 70% de survie. Il y a donc un fort potentiel de faux positifs si *Chironomus* n'est pas nourri durant les essais de toxicité (Ankley *et al.*, 1994a; EPA, 1994c). Dans notre laboratoire, des expositions de 10 jours dans un sédiment naturel (teneur en CO=2,13%) sur *C. riparius* confirment que le poids sec moyen des organismes nourris est de l'ordre de 1,2 mg alors qu'il tombe à 0,1 mg quand les animaux ne sont pas nourris. Dans des bioessais de 10 jours avec *C. tentans*, la survie est supérieure à 88% pour six concentrations en nourriture variant de 0,2 à 5,9 mg Tetrafin®fish/j pour 10 organismes par réplicat. Cependant la croissance larvaire (poids sec) et le nombre d'adultes émergents diminuent et le délai moyen d'émergence augmente avec chaque diminution de la concentration en nourriture (Liber *et al.*, 1996). Ce même type de résultat est observé sur *C. riparius* par Ristola *et al.*<sup>27</sup> (1999) et par Naylor et Rodrigues<sup>28</sup> (1995).

---

<sup>27</sup> pour quatre concentrations en nourriture variant de 0,03 à 0,33 mg TetraMin®fish/j pour 10 organismes par réplicat.

<sup>28</sup> pour quatre concentrations en nourriture variant de 0,25 à 1,5 mg TetraMin®/j pour 10 organismes par réplicat.

La quantité de nourriture pouvant être un facteur limitant dans la réponse biologique, il est conseillé de ne pas rationner la nourriture mais de travailler en renouvellement continu d'eau afin d'éviter les développements bactériens et fongiques gênant à la surface des sédiments, sans stresser *C. riparius* (Ingersoll et Nelson, 1990; Townsend *et al.*, 1981). D'après Naylor et Rodrigues (1995) un taux de 1 mg TetraMin®/larve/j est optimum pour obtenir une croissance et une survie adéquates de *C. riparius*. Cette nourriture doit être disponible à la surface du sédiment, car mélangée dans le sédiment, Naylor et Rodrigues (1995) observent une réduction de 95% du poids sec de la larve (par comparaison aux contrôles non mélangés). Les différences quantitatives dans les rations alimentaires peuvent entraîner une différence de poids notable à la fin d'un bioessai 10 jours sur *C. riparius* : les organismes nourris avec 0,33 mg/j de TetraMin® pèsent en moyenne 0,3 mg sec/organisme chez Ristola *et al.* (1999) contre 1,2 mg sec/organisme pour des organismes nourris avec 1 mg/j chez Naylor et Rodrigues (1995). La concentration de nourriture apportée dans nos bioessais (0,6 mg/j/larve), préconisée par Environnement Canada (1997a), est inférieure à celle conseillée (1 mg/j/larve) par Naylor et Rodrigues (1995) mais elle est supérieure (0,4 mg/j/larve) à celle de l'EPA (1994c) et nos organismes en fin d'essai pèsent en moyenne 1,2 mg sec/organisme<sup>29</sup>.

Les bioessais utilisant comme critère d'effet l'émergence semblent nécessiter un apport de nourriture plus important que les bioessais évaluant la survie et la croissance des larves de *Chironomus tentans*. Les essais conduits avec 1,5 ml pour 10 organismes par réplicat montrent un poids sec moyen de *C. tentans* significativement plus élevé que ceux conduits avec 1 ml de TetraMin® (Ingersoll, 1995).

Bien que les larves de *C. tentans* soient capables de se déplacer pour chercher la nourriture, quand elles ont le choix entre un substrat simple et un substrat contenant un ajout de nourriture (TetraMin®) les larves s'installent préférentiellement dans le substrat contenant la nourriture (Sibley *et al.*, 1998). La biodisponibilité des contaminants peut être altérée par l'ajout de nourriture et ce phénomène est spécifique à chaque contaminant. Ainsi, il semble qu'il y ait un transfert rapide du cadmium de la solution vers la nourriture : en présence de nourriture le cadmium se révèle plus toxique pour *C. riparius* (Pascoe *et al.*, 1990; Postma *et al.*, 1994). Cependant Kosalwat et Knight (1996) observent que *C. decorus* est incapable d'accumuler le cuivre ( $BAF^{30} = 0,10$  à  $0,16$ ) à partir de la nourriture (Cerophyll®). Ils suggèrent une adsorption forte du cuivre au matériel fécal et à la nourriture non digérée et un simple transit du cuivre par l'intestin sans accumulation. La bioaccumulation de contaminants marqués (radioactifs) du sédiment par *C. riparius* a été évaluée en présence et en l'absence de nourriture exogène (Harkey *et al.*, 1994a) : après 7 à 10 jours d'exposition, l'accumulation de pyrène est significativement plus élevée alors que celle du chrysène est significativement plus basse dans les organismes nourris. Quand la nourriture est la principale voie pour l'accumulation : l'apport d'une nourriture non contaminée peut permettre aux organismes d'éviter de se nourrir avec du matériel contaminé (cas du chrysène) ou, dans le cas d'une ingestion sélective,

---

<sup>29</sup> Nos conditions d'essais, en terme de poids des organismes à la fin d'un biotest 10 jours donnent des résultats équivalents à ceux de Naylor et Rodrigues (1995), résultats considérés par ces auteurs comme optimum.

<sup>30</sup> BAF (bioaccumulation factor) : dans un organisme, la bioaccumulation est la résultante d'une cinétique d'accumulation à partir du sédiment et d'une cinétique de dépuración dans l'organisme.

sachant qu'il peut y avoir une différence d'adsorption des contaminants en fonction de la taille des particules, on peut avoir une augmentation de la quantité de contaminant accumulé (cas du pyrène). Après une certaine période, les produits se lient au sédiment et deviennent moins biodisponibles ; leur toxicité et leur bioaccumulation diminuent (cas du DDT). Il faut cependant noter que les auteurs expliquent la modification de la sensibilité de *Chironomus* en présence et en absence de nourriture vis à vis des contaminants par une interaction contaminant - nourriture sans tenir compte du fait qu'en présence de nourriture l'activité métabolique des chironomes peut augmenter et donc que l'accumulation - métabolisation de contaminants peut être différente.

### 3.4.2. L'eau surnageante

Les larves de *C. riparius* sont résistantes à de larges variations de conditions environnementales. Elles ont été observées à des pH allant de 5 à 9 (Environment Canada, 1997a), et supportent des variations de pH de 1,4 à 9,2 (ASTM, 1990; EPA, 1994c; Pinder et Morley, 1995). Elles survivent à des températures allant de 0 à 33°C (Environment Canada, 1997a).

Cependant, les caractéristiques de l'eau surnageante (teneur en oxygène dissous, pH<sup>31</sup>, dureté<sup>32</sup>, alcalinité<sup>33</sup>, salinité<sup>34</sup>, composition ionique, ratio anions/cations) peuvent directement ou indirectement influencer la survie et le développement de *Chironomus* (Ankley *et al.*, 1993a). Ainsi, le pH (Schubauer-Berigan *et al.*, 1995; Wildi *et al.*, 1994), la température (Bervoets *et al.*, 1996a; Lydy *et al.*, 1990b), la dureté et l'alcalinité (Gauss *et al.*, 1985) peuvent influencer la répartition des contaminants (cuivre, parathion, cadmium et zinc) entre différentes formes et avoir un effet significatif sur leur toxicité.

Les renouvellements d'eau peuvent entraîner une modification de la biodisponibilité des contaminants : la survie de *Chironomus tentans* dans des sédiments contaminés par du cadmium est meilleure dans les bioessais avec renouvellement d'eau que dans les bioessais conduits en conditions statiques. Cela est dû à un relargage et à une concentration des ions cadmium dans l'essai conduit en conditions statiques par rapport à l'essai mené en dynamique (Nebeker *et al.*, 1984a).

### 3.4.3. La teneur en oxygène dissous

Certains sédiments pouvant avoir une forte demande en oxygène, il est important de connaître la gamme de teneur en oxygène dissous permettant un développement normal de *Chironomus*. Les larves supportent des concentrations en oxygène dissous de 0,1 à 8 mg/L (ASTM, 1990; Environment Canada, 1997a ; EPA, 1994c; Pinder et Morley, 1995). Ankley *et al.* (1993a) ont montré que pour des sédiments possédant une forte demande en oxygène le renouvellement d'eau est inévitable (la qualité de l'eau peut très vite devenir critique, particulièrement si on ajoute de la nourriture). Ils proposent un renouvellement d'eau de 4 volumes/j, ce qui permet de maintenir une teneur en oxygène dissous

---

<sup>31</sup> pH : mesure de l'acidité d'une solution.  $\text{pH} = -\log(\text{H}^+)$ .

<sup>32</sup> Dureté (mg CaCO<sub>3</sub>/L) : teneur d'une eau en calcium et en éléments alcalino-terreux.

<sup>33</sup> Alcalinité (mg CaCO<sub>3</sub>/L) : somme des bases présentes en solution et dosables par acide fort (carbonate, ammoniac, phosphate, silicate et certaines bases organiques). Capacité de neutralisation des acides.

<sup>34</sup> Salinité : teneur en sel (NaCl). Les eaux douces superficielles ont une salinité moyenne de 0,12 g/L, les eaux saumâtres ont une salinité comprise entre 3 et 22 g/L.

supérieure à 60% de saturation tout en minimisant la diminution de l'exposition des organismes aux concentrations en toxique (par lavage des contaminants des sédiments).

#### 3.4.4. La durée de l'essai

L'utilisation de tests de courte exposition mettant en jeu les stades de vie précoces et mesurant la survie, la croissance et la reproduction sont difficiles à mettre en rapport avec des effets sur le cycle de vie entier. Les essais de courte durée (24, 48, 96h) réduisent le coût immédiat et offrent l'intérêt de mettre en évidence rapidement des toxicités aiguës mais peuvent limiter la protection de la qualité des écosystèmes à long terme. En effet, on sait que certains effets ne sont pas induits jusqu'à ce que les organismes soient matures ou jusqu'à la génération F1. De plus, une exposition de courte durée peut manquer la période la plus sensible du cycle de vie qui varie d'une espèce à l'autre.

Des expositions de 24 et 48 heures ont été menées pour déterminer la  $CL_{50}$  de métaux lourds (Khangarot et Ray, 1989). Des expositions de 10 ou 14 jours ont aussi été effectuées (Nebeker *et al.*, 1984a; Phipps *et al.*, 1995; Suedel *et al.*, 1997) avec pour objectif d'observer la survie et la croissance des organismes. Des essais de 5, 15, 17 et 28 jours ont permis d'observer le comportement, la croissance, la survie, la bioconcentration de produits dans les larves et l'émergence des adultes (Nebeker *et al.*, 1984a; Nebeker *et al.*, 1988; Wentzel *et al.*, 1977a; Wentzel *et al.*, 1978; Wentzel *et al.*, 1977b). Ces études montrent que plus la durée de l'essai est longue plus la toxicité est prononcée (Suedel *et al.*, 1997).

#### 3.4.5. L'âge des organismes

Les oeufs sont le stade le moins sensible aux toxiques (Gauss *et al.*, 1985; Kosalwat et Knight, 1987; Williams *et al.*, 1987).

Bien que le passage à l'état de nymphe et l'émergence des adultes soient les stades les plus sensibles à la présence de lindane pour *C. riparius* (Taylor *et al.*, 1993), c'est le premier stade larvaire qui semble être le plus sensible dans une majorité d'études. Cependant, plus les organismes sont jeunes et plus le risque que la manipulation ait un effet sur eux est important. La différence de sensibilité observée entre le premier stade larvaire et le second peut partiellement être attribuable au stress de la manipulation. Dans ces conditions, il faut s'assurer que, quand on utilise le premier stade larvaire, les survies des témoins sont excellentes. Le premier stade larvaire est 127 fois plus sensible que le second à des expositions aiguës au cadmium (*C. riparius*) (Williams *et al.*, 1986) et il est 6 à 27 fois plus sensible que le quatrième à des expositions aiguës au cuivre (*C. tentans*) (Gauss *et al.*, 1985; Nebeker *et al.*, 1984b). D'après Pascoe *et al.* (1989), le nombre d'adultes émergents serait certainement un reflet de la mortalité du premier stade larvaire, en effet, aucune mortalité n'est observée dans les dernières périodes avant l'émergence et la nymphe de *C. riparius* est aussi tolérante que le quatrième stade larvaire. Dans des expériences similaires avec le zinc et le cadmium, le développement des larves est retardé et de fortes concentrations sont mesurées dans les larves (Timmermans *et al.*, 1992). L'utilisation du quatrième stade larvaire dans les essais avec *C. tentans* peut grandement sous estimer la sensibilité des organismes à la toxicité (Gauss *et al.*, 1985) et le second stade larvaire (10 jours d'âge) est le plus souhaitable pour mener un essai. En effet, les organismes sont assez développés pour que leur manipulation en laboratoire soit aisée, ils sont plus sensibles que les stades larvaires ultérieurs et ils effectuent 2 mues lors d'un essai qui dure 10 jours (Nebeker *et al.*, 1984b). Naylor et Howcroft

(1997) observent, sur un bioessai de 10 jours, une faible différence de sensibilité entre le premier stade larvaire de *C. riparius* et le second à la dichloroaniline et recommandent d'utiliser des larves de 4 jours d'âge (second stade larvaire) plus faciles à manipuler.

### **3.5. Traitement du sédiment : facteur de variation dans la réponse biologique**

Il a été clairement démontré que le prélèvement, la conservation et la préparation des sédiments pour la mise en oeuvre de bioessais perturbent l'intégrité du sédiment (ASTM, 1994a; Burton, 1992; Burton, 1995; Day *et al.*, 1995), modifiant les gradients, la spéciation et la complexation des composés toxiques (Moore *et al.*, 1995; Schuytema *et al.*, 1989).

Day *et al.* (Day *et al.*, 1995) ont remarqué que la croissance des *C. riparius* est accrue dans des sédiments stérilisés par autoclavage ou rayonnement gamma. Cela peut être dû au fait que *Chironomus*, qui se nourrit aussi bien de particules de sédiments que de matériel organique, trouve plus de matériel organique disponible dans les sédiments stérilisés (flores et faunes indigènes tuées, relargage de matière organique).

## **4. Sensibilité de *Chironomus riparius* vis à vis de quelques contaminants**

Nous avons vu dans les chapitres précédents que *Chironomus* n'est pas toujours l'organisme le plus sensible aux contaminants et qu'il est tolérant à l'eutrophisation (ASTM, 1995b). Il semble que les Chironomides soient capables de réguler l'accumulation des métaux (Cu, Ni, Zn) et de les piéger (Zn, Cu, Cd, Hg) dans leurs tissus à l'aide de métallothionéines (Suedel *et al.*, 1997). Mais, de par son contact direct avec la matrice sédimentaire et ses caractéristiques biologiques, *Chironomus* est un organisme intéressant dans l'évaluation de la qualité des sédiments. Il semble qu'il soit assez sensible à beaucoup de contaminants associés aux sédiments (principalement des contaminants organiques). Il est deux fois plus sensible au fluoranthène que *Daphnia magna* (Suedel *et al.*, 1993), plus sensible à l'aldicarbe et au chlordane que *H. azteca* et *D. magna* et 200 fois plus sensible au chlorpyrifos que le poisson *P. promelas* (Moore *et al.*, 1998). Les hydrocarbures pétroliers semblent affecter les résultats des essais *Chironomus*. Ces composés peuvent recouvrir les branchies ou d'autres surfaces corporelles et limiter la respiration et les échanges d'oxygène, ils peuvent aussi être bioaccumulés ou se déposer sur les substrats et en empêcher la colonisation (Hoke *et al.*, 1993).

La sensibilité de *C. riparius* vis à vis de contaminants, comme celle de *H. azteca*, peut être évaluée par une exposition directe au contaminant via l'eau ou le sédiment enrichi, ou déduite d'un ensemble d'expositions et de mesures effectuées sur des sédiments pluricontaminés. Une exposition par la phase aqueuse permet plus facilement de mettre en évidence un lien de causalité entre la concentration en contaminant et la réponse biologique mais la significativité est moindre (les interactions entre la matrice sédimentaire et le contaminant sont ignorées, la biodisponibilité des contaminants n'est pas représentative). Une exposition par la phase particulaire est beaucoup plus proche de conditions naturelles mais la mise en relation cause-effet est difficile (présence de plusieurs contaminants à des concentrations variables et matrices hétérogènes dans des sédiments naturels contaminés) et les mécanismes d'exposition proposés sont réducteurs même si ils sont parfois relativement bien représentatifs (utilisation de sédiments enrichis, normalisation par la teneur en carbone organique pour les contaminants organiques).

#### **4.1. Sensibilité aux métaux**

Quelques données concernant la toxicité des métaux vis à vis de *C. riparius* et *C. tentans* sont présentées sous forme de tableaux, l'un présentant les résultats obtenus lors d'expositions en phase aqueuse (Tableau 3), l'autre présentant les résultats obtenus pour des expositions à des sédiments (Tableau 4). L'exposition à des mélanges de métaux, bien que plus représentative des conditions naturelles, est plus délicate à étudier et n'est pas traitée dans ces tableaux. Fargasova (1997) a montré, en exposant *C. plumosus* à un mélange de vanadium, manganèse, molybdène, nickel et cuivre, que la combinaison des métaux diminuait leur toxicité individuelle, sans doute par un mécanisme de compétition entre certaines molécules.

Exposés sur de longues périodes à des concentrations métalliques importantes, certains organismes peuvent s'adapter. Mais cette adaptation a un coût, elle peut modifier le cycle de vie de certains invertébrés et peut influencer leur réponse à tous les autres métaux (forte mortalité et temps de développement plus long) (Postma *et al.*, 1995c). Une population de *C. riparius* tolérante au cadmium, élevée en l'absence de ce métal, continue à souffrir d'un taux de mortalité élevé, d'une croissance ralentie et d'une reproduction diminuée. De plus, cette population accumule plus de zinc qu'une population de *C. riparius* classique (non tolérante) (Postma *et al.*, 1995b).

Tableau 3 : Données concernant les seuils de tolérance aux métaux pour *C. riparius* ou *C. tentans*<sup>(a)</sup> (dosages dans la **phase aqueuse**).

MÉTAL	DURÉE DU TEST	ÂGE DES ORGANISMES	MESURE ( $\mu\text{g/L}$ )	REFFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE	
<b>Argent</b>					
argent I	48 h	3 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 10,4	(Khangarot et Ray, 1989)	
	10 j	11 j <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 57 (eau seule)	(Call <i>et al.</i> , 1999)	
<b>Arsenic</b>					
arsenic III	48 h	3 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 680	(Khangarot et Ray, 1989)	
<b>Cobalt</b>					
cobalt II	48 h	3 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 56870	(Khangarot et Ray, 1989)	
<b>Cuivre</b>					
cuivre II	48 h	3 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 327	(Khangarot et Ray, 1989)	
	48 h	4 <sup>ème</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 739	(Kosalwat et Knight, 1996)	
	96 h	1 <sup>er</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 298 (71-84 mgCaCO <sub>3</sub> /L)	(Nebeker <i>et al.</i> , 1984b)	
		2 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 773		
		3 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 1446		
		4 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 1690		
	96 h	1 <sup>er</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 16,7 (43 mgCaCO <sub>3</sub> /L)	(Gauss <i>et al.</i> , 1985)	
		4 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 211 (43 mgCaCO <sub>3</sub> /L)		
		1 <sup>er</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 36,5 (110 mgCaCO <sub>3</sub> /L)		
		4 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 977 (110 mgCaCO <sub>3</sub> /L)		
		1 <sup>er</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 98,2 (172 mgCaCO <sub>3</sub> /L)		
	10 j	4 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 1184 (172 mgCaCO <sub>3</sub> /L)		
		2 <sup>ème</sup> stade (10 j)	CL <sub>50</sub> = 190 LOEC= 25,3 (croissance : poids humide) NOEC= 16,9 (croissance : poids humide)	(Taylor <i>et al.</i> , 1991a)	
		10 j	NR <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 54	(Phipps <i>et al.</i> , 1995)
		14 j	<14 j	ERL= 5,30 (eau interstitielle) et ERM= 20,6 TEL= 4,98 et PEL= 17,64	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
<b>Cadmium</b>					
cadmium II	48 h	3 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 8050	(Khangarot et Ray, 1989)	
	24 h	1 <sup>er</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 2100	(Williams <i>et al.</i> , 1986)	
	24 h	2 <sup>ème</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 260000		
	24 h	3 <sup>ème</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 500000		
	24 h	4 <sup>ème</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 2000000		
	48 h	2 <sup>ème</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 45000		
	48 h	3 <sup>ème</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 72000		
	48 h	4 <sup>ème</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 725000		
	96 h	2 <sup>ème</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 13000		
	96 h	3 <sup>ème</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 22000		
	96 h	4 <sup>ème</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 54000		
	96 h	4 <sup>ème</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 82 (nourriture et sédiment artificiel) CL <sub>50</sub> = 84 (nourriture) CL <sub>50</sub> = 155 (sédiment artificiel) CL <sub>50</sub> = 140 (eau seule)	(Pascoe <i>et al.</i> , 1990)	
	48 h	10 j <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 29500	(Suedel <i>et al.</i> , 1997)	
	96 h	(2 <sup>ème</sup> stade)	CL <sub>50</sub> = 8000		
	7 j		CL <sub>50</sub> = 1700, NOEC=500, LOEC= 1000		
10 j		CL <sub>50</sub> = 963, NOEC=500, LOEC= 1000			
14 j		CL <sub>50</sub> = 635, NOEC=500, LOEC= 1000			
14 j	<14 j	ERL= 0,19 (eau interstitielle) et ERM= 1,05 TEL= 0,12 et PEL= 0,52	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)		
<b>Chrome</b>					
chrome VI	48 h	3 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 11800	(Khangarot et Ray, 1989)	
	14 j	<14 j	ERL= 0,4 (eau interstitielle) et ERM= 18,8 TEL= 0,47 et PEL= 3,88	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)	

Tableau 3 : Données concernant les seuils de tolérance aux métaux pour *C. riparius* ou *C. tentans*<sup>(a)</sup> (dosages dans la **phase aqueuse**). suite et fin.

MÉTAL	DUREE DU TEST	AGE DES ORGANISMES	MESURE (µg/L)	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE
<b>Mercur</b> mercure II	48 h	3 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 29	(Khangarot et Ray, 1989)
<b>Nickel</b> nickel II	48 h 14 j	3 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup> <14 j	CL <sub>50</sub> = 69500 ERL= 5,8 (eau interstitielle) ERM= 10,4 TEL= 4,82 PEL= 7,14	(Khangarot et Ray, 1989) (Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
<b>Plomb</b> plomb II	48 h 14 j	3 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup> <14 j	CL <sub>50</sub> = 34670 ERL= 0,9 (eau interstitielle) ERM= 62,85 TEL= 0,6 PEL= 14,83	(Khangarot et Ray, 1989) (Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
<b>Zinc</b> zinc II	48 h 10 j  14 j  24 h	3 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup> NR <sup>a</sup>  <14 j  4 <sup>ème</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 8200 CL <sub>50</sub> = 1125  ERL= 6,3(eau interstitielle) ERM= 55,2 TEL= 4,96 PEL= 52,9 CL <sub>50</sub> = 45200	(Khangarot et Ray, 1989) (Phipps <i>et al.</i> , 1995)  (Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)  (Ibrahim <i>et al.</i> , 1998)

NR : non référencé

CL<sub>50</sub> : Concentration Létale 50. Concentration d'une substance qui est censée être létale pour 50% des organismes exposés.

ERL : Effect Range Low. Seuil d'effet faible correspondant au 10<sup>ème</sup> percentile de la gamme de concentrations toxiques. Il représente une valeur seuil au-dessus de laquelle des effets défavorables sur des stades de vie ou des espèces sensibles commencent à apparaître (Long et Morgan, 1990).

ERM : Effect Range Median. Seuil d'effet médian correspondant au 50<sup>ème</sup> percentile de la gamme de concentrations toxiques. Il représente une valeur seuil au-dessus de laquelle on observe fréquemment, sinon toujours des effets toxiques chez la plupart des espèces (Long et Morgan, 1990).

LOEC : Lowest Observed Effect Concentration. Concentration minimale d'exposition d'une substance pour laquelle un effet significatif est manifeste sur les organismes exposés.

NOEC : No Observed Effect Concentration. Concentration maximale d'une substance pour laquelle aucun effet significatif n'est observé sur les organismes exposés.

PEL : Probable Effect Level. Le PEL est défini comme la moyenne géométrique entre le 50<sup>ème</sup> percentile du jeu de concentrations produisant un effet et le 85<sup>ème</sup> percentile sans effet (Smith *et al.*, 1996). Le PEL représente la limite inférieure du niveau de concentrations chimiques habituellement ou toujours liées à des effets toxiques.

TEL : Threshold Effect Level. Le TEL est défini comme la moyenne géométrique entre le 15<sup>ème</sup> percentile du jeu de concentrations produisant un effet et le 50<sup>ème</sup> percentile sans effet (Smith *et al.*, 1996). Le TEL représente la limite supérieure du niveau de concentrations chimiques dans les sédiments, associée à des données sans effet.

Tableau 4 : Données concernant les seuils de tolérance aux métaux pour *C. riparius* ou *C. tentans*<sup>(a)</sup> (dosages des contaminants dans la **phase particulière**).

MÉTAL	DURÉE DU TEST	ÂGE DES ORGANISMES	MESURE (mg/kg)	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE
<b>Argent</b>	10 j	11 j <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 1170-2750	(Call <i>et al.</i> , 1999)
<b>Arsenic</b>	14 j	<14 j	ERL= 32 ERM= 57 TEL= 21,762 PEL= 54,022	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
<b>Cuivre</b>	10 j	12-14 j <sup>a</sup>	NOEC= 2010 (eau interstitielle) LOEC >2010	(Huggett <i>et al.</i> , 1999)
	72 h	1 <sup>er</sup> stade	EC <sub>50</sub> (réduction de croissance) = 1602 Retard à l'émergence pour 1800 mg Cu/kg	(Kosalwat et Knight, 1987)
	96 h	10 j	CL <sub>50</sub> = 700	(Taylor <i>et al.</i> , 1991b)
	10 j		CL <sub>50</sub> = 200	
	14 j	<14 j	ERL= 96,5 ERM= 206,5 TEL= 67,453 PEL= 291,327	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
<b>Cadmium</b>	14 j	<14 j	ERL= 9,1 ERM= 11,7 TEL= 2,893 PEL= 6,623	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
<b>Chrome</b>	14 j	<14 j	ERL= 39,3 ERM= 363 TEL= 39,796 PEL= 159,405	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
<b>Manganèse</b>	14 j	<14 j	ERL= 1673 ERM= 2410 TEL= 1079 PEL= 1538	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
<b>Nickel</b>	14 j	<14 j	ERL= 40 ERM= 47,5 TEL= 26,6 PEL= 38,7	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
<b>Plomb</b>	14 j	<14 j	ERL= 99 ERM= 396 TEL= 69,649 PEL= 191,803	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	14 j	1 <sup>er</sup> stade <sup>a</sup>	100% mortalité à 0,035 g/kg	(Bird <i>et al.</i> , 1995b)
<b>Zinc</b>	cycle total	1 <sup>er</sup> stade <sup>a</sup>	croissance, survie et émergence réduites quand SEM - AVS >0	(Sibley <i>et al.</i> , 1996)
	14 j	<14 j	ERL= 381 ERM= 2750 TEL= 280,832 PEL= 1532,481	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)

NR : non référencé

#### 4.2. Sensibilité aux molécules organiques

Quelques données concernant la toxicité de molécules organiques vis à vis de *C. riparius* et *tentans* sont présentées dans les Tableau 5 et Tableau 6. Le premier tableau présente les résultats obtenus lors d'expositions en phase aqueuse, le second présente les résultats obtenus pour des expositions sur phase solide.

Tableau 5 : Données concernant les seuils de tolérance aux produits organiques pour *C. riparius* ou *C. tentans*<sup>(a)</sup> (dosages des contaminants dans la **phase aqueuse**).

ORGANIQUE	DUREE DU TEST	AGE DES ORGANISMES	MESURE ( $\mu\text{g/L}$ )	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE
Chlorpyrifos	10 j	NR <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 0,07	(Phipps <i>et al.</i> , 1995) (pesticides)
Dieldrine			CL <sub>50</sub> = 1,1	
DDD			CL <sub>50</sub> = 0,18	
DDT			CL <sub>50</sub> = 1,23	
DDE			CL <sub>50</sub> = 3,0	
Dieldrine	10 j	NR <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 1,1 (eau seule)	(Hoke <i>et al.</i> , 1995) (pesticide)
Chlorpyrifos	48 h	10-13 j <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 0,3	(Moore <i>et al.</i> , 1998) (pesticides)
Aldicarbe			CL <sub>50</sub> = 20	
Chlordane			CL <sub>50</sub> = 5,8	
Dichloroaniline	96 h	10 j	CL <sub>50</sub> = 7400	(Taylor <i>et al.</i> , 1991b) (pesticides)
Atrazine	10 j		CL <sub>50</sub> = 4200	
Lindane	10j		CL <sub>50</sub> = 18900	
	96 h		CL <sub>50</sub> = 34	
	10 j		CL <sub>50</sub> = 13	
Permethrine	96 h	2 <sup>ème</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 2,89	(Conrad <i>et al.</i> , 1999) (pesticide)
Lindane	96 h	NR	CL <sub>50</sub> = 235	(Green <i>et al.</i> , 1986) (pesticide)
Phenol	96 h	NR	CL <sub>50</sub> = 240	(Green <i>et al.</i> , 1985) (pesticide)
Chlorpyfos	10 j	3 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	CL <sub>50</sub> = 0,07	(Ankley <i>et al.</i> , 1994b) (pesticide)
Fluoranthène	10 j	2 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup> (10-12 j)	CL <sub>50</sub> = 76-251 (eau interstitielle) CL <sub>50</sub> = 30-61 (eau surnageante) (0,5% Carbone Organique)	(Suedel <i>et al.</i> , 1993) (HAP)
Carbofuran	10 j	2 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup> (10 j)	CL <sub>50</sub> = 0,0118 (eau interstitielle)	(Douglas <i>et al.</i> , 1993) (pesticide)
Carbofuran	24 h	4 <sup>ème</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 27,2	(Ibrahim <i>et al.</i> , 1998)
Pirimiphos- methyl			CL <sub>50</sub> = 63,8	
Pertmethrine			CL <sub>50</sub> = 16,6	
Lindane			CL <sub>50</sub> = 45,3	
DCA	10 j	2 <sup>ème</sup> stade (10 j)	LOEC= 970 (croissance : poids humide) NOEC= 170 (croissance : poids humide)	(Taylor <i>et al.</i> , 1991a)
Atrazine			LOEC= 4900 (croissance : poids humide) NOEC= 2000 (croissance : poids humide)	
Lindane			LOEC= 0,2 (croissance : poids humide) NOEC= 0,09 (croissance : poids humide)	
PCP	24 h	4 <sup>ème</sup> stade	CE <sub>50</sub> = 465	(Lydy <i>et al.</i> , 1990a) (pesticides)
DDE			CE <sub>50</sub> > 1	
DDT			CE <sub>50</sub> = 1	
Dieldrine			CE <sub>50</sub> = 0,5	
Parathion			CE <sub>50</sub> = 6,9	
Carbaryl			CE <sub>50</sub> = 110	
1-naphtol			CE <sub>50</sub> = 2100	
Aldicarbe			CE <sub>50</sub> = 9,9	
			CE : incapacité des larves à nager	
Fluoranthène	48 h	NR	CL <sub>50</sub> > 250 (eau seule)	
	10 j		CL <sub>50</sub> = 37,8 (eau seule)	
	10 j		CL <sub>50</sub> = 23,6 (eau surnageante)	

Tableau 5 : Données concernant les seuils de tolérance aux produits organiques pour *C. riparius* ou *C. tentans*<sup>(a)</sup> (dosages des contaminants dans la **phase aqueuse**). Suite et fin.

ORGANIQUE	DUREE DU TEST	AGE DES ORGANISMES	MESURE ( $\mu\text{g/L}$ )	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE
LAS (linear alkyl benzene sulfonate)	72 h	1 <sup>er</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 2200	(Pittinger <i>et al.</i> , 1989) (détergents)
TMAC (dodecyl trimethyl ammonium chloride)	48 h		CL <sub>50</sub> = 14600	
DSDMAC (distearyl dimethyl ammonium chloride)	72 h		CL <sub>50</sub> = 11300	
Lindane	cycle entier	1 <sup>er</sup> stade	NOEC= 1,1 LOEC= 9,9	(Taylor <i>et al.</i> , 1993) (pesticide)
Quinoline	96 h	1 <sup>er</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 4897	(Bleeker <i>et al.</i> , 1998) (HAPs)
Benzo(f) quinoline			CL <sub>50</sub> = 831	
Phenanthridine			CL <sub>50</sub> = 613	
Benzo(h) quinoline			CL <sub>50</sub> = 606	
Acridine			CL <sub>50</sub> = 71	
Benzo(a) acridine			CL <sub>50</sub> = 15	
Benzo(c) acridine			CL <sub>50</sub> = 7	
Parathion	NR	4 <sup>eme</sup> stade	CL <sub>50</sub> = 34 (pH=6, 10°C, avec sédiment) CL <sub>50</sub> = 9,7 (pH=6, 20°C, avec sédiment) CL <sub>50</sub> = 5,7 (pH=6, 30°C, avec sédiment) CL <sub>50</sub> = 60 (pH=6, 10°C, eau seule) CL <sub>50</sub> = 6,9 (pH=6, 20°C, eau seule) CL <sub>50</sub> = 3,2 (pH=6, 30°C, eau seule)	(Lydy <i>et al.</i> , 1990b) (pesticide)

NR : non référencé

Tableau 6 : Données concernant les seuils de tolérance aux produits organiques pour *C. riparius* ou *C. tentans*<sup>(a)</sup> (dosages des contaminants dans la **phase particulière**).

ORGANIQUE	DUREE DU TEST	AGE DES ORGANISMES	MESURE (mg/kg)	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE
Naphtalène	14 j	<14 j	ERL= 0,055 ERM= 1,89 TEL= 0,035 PEL= 0,687	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
Fluorène	14 j	<14 j	ERL= 0,088 ERM= 1,7 TEL= 0,029 PEL= 0,652	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
Phénanthrène	14 j	<14 j	ERL= 0,35 ERM= 2,25 TEL= 0,095 PEL= 1,142	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
Anthracène	14 j	<14 j	ERL= 0,14 ERM= 1,25 TEL= 0,037 PEL= 0,547	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
Fluoranthène	14 j	<14 j	ERL= 0,11 ERM= 2,9 TEL= 0,064 PEL= 1,484	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
Pyrène	14 j	<14 j	ERL= 0,12 ERM= 3,225 TEL= 0,067 PEL= 1,684	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
Benz(a) anthracène	14 j	<14 j	ERL= 0,3 ERM= 4,2 TEL= 0,075 PEL= 1,195	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
Chrysène	14 j	<14 j	ERL= 0,5 ERM= 5,2 TEL= 0,122 PEL= 1,512	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
Benz (a) pyrène	14 j	<14 j	ERL= 0,21 ERM= 8,5 TEL= 0,051 PEL= 1,724	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
Indéno pyrène (1,2,3-c,d)	14 j	<14 j	ERL= 0,03 ERM= 2,8 TEL= 0,017 PEL= 0,837	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
Benzo pérylène (g,h,i)	14 j	<14 j	ERL= 0,29 ERM= 6,3 TEL= 0,074 PEL= 1,28	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
HAP totaux	14 j		ERL= 1,297 ERM= 33,189 TEL= 0,588 PEL= 13,66	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
Hexachlorobenzène	10 j	2-3 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	Survie= 96% à 60 mg/kg (1% Carbone Organique)	(Fuchsman <i>et al.</i> , 1998)
Hexachlorobenzène	14 j	2-3 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup>	Survie= 84% à 42 mg/kg (1% Carbone Organique)	(Barber <i>et al.</i> , 1997)
Fluoranthène	10 j	2 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup> (10-12 j)	CL <sub>50</sub> = 3-8,7 (0,5% Carbone Organique)	(Suedel <i>et al.</i> , 1993) (HAP)
Fluoranthène	10 j	NR	CL <sub>50</sub> = 15,4	(DeWitt <i>et al.</i> , 1989)
Carbofuran	10 j	2 <sup>ème</sup> stade <sup>a</sup> (10 j)	CL <sub>50</sub> = 0,029	(Douglas <i>et al.</i> , 1993) (pesticide)

NR : non référencé

*Hyaella azteca.***1. Biologie et écologie de *Hyaella azteca*****1.1. Biologie de *Hyaella azteca*****1.1.1. La taxonomie**

*Hyaella azteca* est un crustacé épibenthique<sup>35</sup> d'eau douce nord-américain appartenant à l'Ordre des Amphipodes et à la famille des Hyaellidae. Le genre *Hyaella* est le seul représentant d'eau douce de la super famille des Talitroïdes. Ce taxon<sup>36</sup> est composé d'animaux considérés comme primitifs et ayant des ancêtres terrestres. La plupart de ses membres, *H. azteca* compris, ont la capacité de traverser de courtes portions de terre (De March, 1981b).

C'est Saussure, en 1858, qui a décrit pour la première fois l'espèce et l'a nommée *Amphitoe aztecus*. Elle a été décrite par Smith, en 1874, sous le nom de *Hyaella dentata*, par Weckel, en 1907, sous le nom *Hyaella knickerbockeri* et par Stebbing en 1906, Saunders en 1933 et Shoemaker en 1942 sous le nom de *Hyaella azteca*. La clé de détermination proposée par Pennak (1978) dans son ouvrage sur la faune dulçaquicole nord-américaine permet d'identifier clairement *H. azteca*.

Environ 35 espèces de *Hyaella* ont été décrites mais c'est *H. azteca* qui est la plus répandue. En effet, *H. texana*, relativement proche de *H. azteca*, se rencontre seulement sur le plateau Edwards (Texas), *H. montezuma* est exclusivement présente en Arizona (Thomas *et al.*, 1994) et *H. pampeana* et *H. curvispina* sont trouvées dans les eaux douces d'Amérique du sud (De March, 1981b).

**1.1.2. Le cycle biologique**

La plupart des populations de *Hyaella azteca* sont univoltines<sup>37</sup> (France, 1993) mais pour les climats les plus chauds il peut y avoir jusqu'à 5 générations dans l'année (De March, 1981b). Le cycle annuel peut différer en fonction de la localisation géographique des populations : au Manitoba, les populations de *H. azteca* débutent et terminent leurs reproductions en réponse à la photopériode, respectivement au printemps et à l'automne. Mais pour certaines populations, plus spécialement celles du nord, le manque de nourriture ou d'oxygène peut probablement bloquer la reproduction ou la croissance alors que la photopériode et la température sont favorables (De March, 1981b). Le début de la reproduction est retardé pour des températures de 10 à 18°C (De March, 1981b). Dans les lacs canadiens la biomasse annuelle (poids sec d'organismes) varie de 1,21 à 2,77 g/m<sup>2</sup> de sédiment (France, 1993).

Le cycle de vie de *H. azteca* peut être divisé en trois stades distincts: un stade immature (les 5 premières intermues), un stade juvénile (incluant les intermues 6 et 7) et un stade adulte (l'intermue 8 et les suivantes) (ASTM, 1995b; Nelson et Brunson, 1995). La durée des différents stades et l'âge de la maturité sexuelle sont fonction des conditions environnementales. Un cycle de vie complet se

<sup>35</sup> Epibenthique : qui vit à la surface de substrat meuble ou rocheux au fond d'un biotope lentique (eaux calmes).

<sup>36</sup> Taxon : unité formelle représentée par un groupe d'organismes, à chaque niveau de classification.

<sup>37</sup> Univoltine : une génération par an (un cycle de vie complet).

déroule, à 25°C, en 12 à 14 semaines. La période de reproduction commence quand l'organisme est âgé de 5 à 6 semaines, atteint un pic à l'âge de 8 à 12 semaines et décroît avec la mortalité des adultes (Borgmann, 1994; Borgmann et Munawar, 1989; Borgmann et Norwood, 1993; Borgmann *et al.*, 1989). Les femelles matures peuvent libérer de 1 à 30 jeunes à chaque mue, ce nombre étant relié à la taille de la mère et à son origine.

### 1.1.3. La morphologie

Les adultes mâles (Figure 6) sont plus grands que les adultes femelles, ils mesurent jusqu'à 8 mm contre 6 mm pour les femelles, et leurs seconds gnathopodes sont très larges alors que ceux de la femelle conservent leur forme juvénile et s'allongent simplement au cours de la croissance de l'animal. Les oeufs portés par la femelle sont visibles dans les ovaires et dans la poche d'incubation (De March, 1981b). *H. azteca* diffère des autres espèces du genre *Hyalella* entre autre chose par une dent (mucron) présente sur les segments 1 et 2 pléonaux et par la forme relativement allongée et étroite du gnathopode 2 de la femelle (Environment Canada, 1997b).

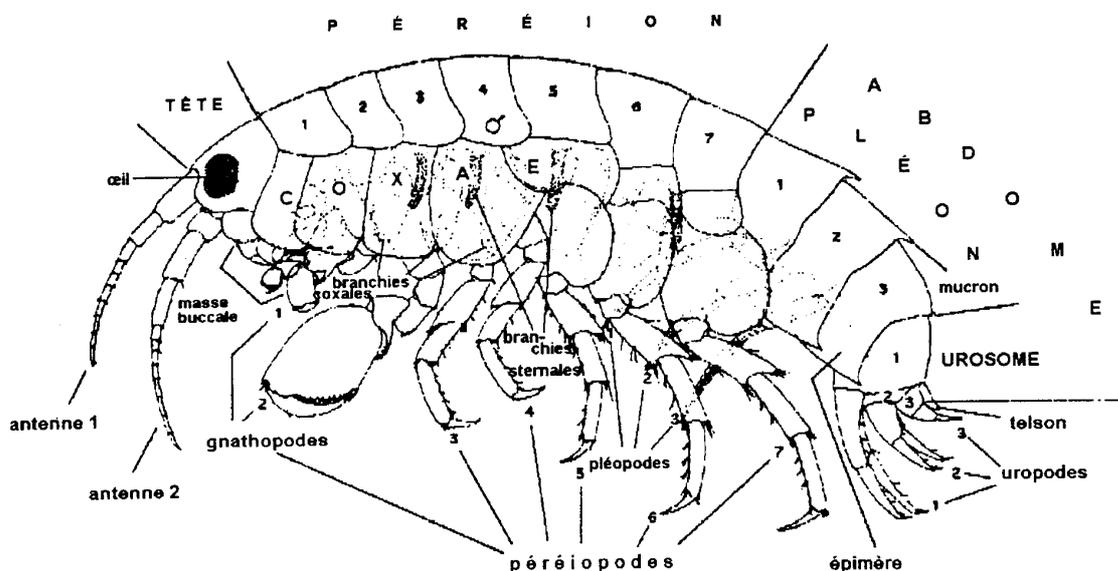


Figure 6 : *Hyalella azteca* mâle adulte (la première paire de gnathopodes lui sert à s'accrocher à la femelle, la seconde paire de gnathopodes, très large, est utilisée par le mâle lors de l'accouplement pour repousser les autres mâles et pour maintenir la femelle en position pour la reproduction) (Environment Canada, 1997b).

### 1.1.4. Les maladies et parasites

*Hyalella azteca* est l'hôte intermédiaire de plusieurs parasites mais une seule relation hôte-parasite a bien été étudiée, celle de *H. azteca* et *Corysoma constrictum*. Ce parasite apparaît comme une inclusion rouge dans le corps et entraîne un comportement photophile et phototactile des hôtes. L'animal, qui passe plus de temps à nager, devient ainsi plus facilement accessible aux prédateurs (De March, 1981b).

## 1.2. *Ecologie des Hyalella azteca*

### 1.2.1. La distribution géographique et les habitats

*H. azteca* a été retrouvée dans des lacs du Guatemala (~16°N) et des îles des Caraïbes (~12°N) jusqu'à Inuvik, N.W.T. (Territoires du Nord-Ouest, Canada) (~68°N), de l'Atlantique au Pacifique en incluant les îles côtières. La limite nord de leur distribution correspond approximativement à la frontière de pousse des arbres et est probablement liée à la température. La limite sud de leur distribution est associée à la distribution des gibiers d'eau migrateurs, les amphipodes pouvant être transportés dans leur plumage jusqu'au sud du Chili (De March, 1981b).

Alors que l'amphipode *Pontoporeia hoyi* représente la plus grande partie de la biomasse du benthos des eaux profondes des grands lacs, *Hyalella azteca* et plusieurs espèces de *Gammarus* dominant dans la biomasse des zones bien oxygénées, peu profondes et plus proche des côtes. *H. azteca* est présent dans les lacs, les étangs, les marais, les rivières, les ruisseaux et les fossés, mais pas toujours en grand nombre. *H. azteca* est très abondant dans les lacs tempérés eutrophes<sup>38</sup> et mésotrophes dans lesquels les plantes aquatiques comme *Chara*, *Elodea*, *Myriophyllum*, *Sphagnum*, *Lemna* et *Utricularia* sont répandues. Leur densité est 3 à 6 fois plus importante dans les lit de cours d'eau colonisés par les macrophytes que dans des substrats sableux contenant peu de macrophytes et de détritons allochtones<sup>39</sup> (France, 1993).

### 1.2.2. Les perturbations environnementales

Comme nous l'avons vu dans le paragraphe traitant des perturbations environnementales touchant les chironomes, les invertébrés benthiques et épibenthiques sont parfois soumis à des agressions qui affectent l'interprétation des résultats des bioessais (Conlan, 1994).

#### **La compétition**

Les deux principaux facteurs entrant en ligne de compte pour la compétition sont la lutte pour l'espace et pour la nourriture, au sein d'un même taxon ou entre différents taxons.

Ainsi, le choix du nombre d'organismes utilisé dans les bioessais peut affecter la réponse du bioessai et doit être fonction de la surface et la quantité de sédiment disponibles par réplicats. Kubitz *et al.* (1996) ont montré que la croissance de *H. azteca* peut être affectée par la densité d'organismes (une diminution de 16 à 20% de la taille des *H. azteca* est observée lorsque leur densité passe de 7000 organismes/m<sup>2</sup> à 14000 organismes/m<sup>2</sup>). De March (1981a) suggère d'ailleurs, pour optimiser les résultats de bioessais utilisant la reproduction de *H. azteca* comme mesure d'effet, de ne pas introduire plus d'un adulte par cm<sup>2</sup> dans les récipients d'essais. Pour nos bioessais, la surface allouée à chaque organisme est de 3,8 cm<sup>2</sup>.

---

<sup>38</sup> Milieu eutrophe : milieu aquatique dans lequel il existe une concentration naturellement élevée des éléments minéraux nutritifs, ce qui entraîne une importante production primaire liée à la prolifération des algues et autres végétaux autotrophes.

<sup>39</sup> Allochtone : qui provient d'un endroit différent (provenant du bassin versant).

De plus, la présence d'animaux autochtones (*Tubifex tubifex*) même si elle n'affecte pas la survie de *H. azteca*, entraîne une réduction de la croissance (réduction de poids de 60% à des densités de 20000<sup>40</sup> *T. tubifex*/m<sup>2</sup>). La réponse de *H. azteca* est une réponse en escalier : les concentrations d'oligochètes les plus basses (jusqu'à 10 oligochètes par contenant) n'ont pas d'effet sur la croissance et, à partir d'une densité de 25 oligochètes, il y a un effet néfaste constant des oligochètes présents sur la croissance des amphipodes. *H. azteca* étant une espèce épibenthique, elle n'est pas en compétition directe avec *T. tubifex* mais, au-delà d'une densité critique de *T. tubifex*, elle est certainement gênée dans sa quête de nourriture ou dépense plus d'énergie dans des activités autres que la croissance (Reynoldson *et al.*, 1994).

### **La Prédation**

*Hyalella azteca* est une source importante de nourriture pour les poissons, les gibiers d'eau, les salamandres et les gros invertébrés (De March, 1981b). Beaucoup de prédateurs affectent la composition de la population en effectuant une sélection par la taille et/ou le sexe. Généralement ce sont les amphipodes adultes (et plus spécifiquement les mâles) qui sont pourchassés, les juvéniles, de petite taille, passant inaperçus (Wellborn, 1994b) mais l'absence d'armature spinale et le comportement natatoire moins sûr des juvéniles peuvent les rendre plus facilement accessibles aux prédateurs (Conlan, 1994).

Une étude d'Ingersoll et Nelson (1990) semble indiquer que les sangsues ne posent pas de problèmes dans les bioessais réalisés avec *H. azteca* : leur présence n'entraîne pas de baisse de la survie des *H. azteca*. Cependant Blinn *et al.* (1990) ont montré que le taux de capture de *Hyalella montezuma* par la sangsue *Erpobdella montezuma* est influencé par la taille et la densité des proies (les prédateurs capturant plus d'organismes lorsque les densités de proies sont élevées et se nourrissant alors plutôt de juvéniles). Dans un bioessai sur sédiment, en cas de doute sur la réponse d'un ou plusieurs réplicat(s), la présence de prédateurs (sangsues,...) doit nous conduire à écarter les résultats des réplicats qui en contiennent dans notre estimation du taux de survie de *H. azteca*.

### 1.2.3. Le comportement des organismes

#### **Comportement non sexuel**

*Hyalella azteca* est un détritivore qui creuse des galeries à la surface des sédiments et qui se nourrit de microorganismes épiphytiques comme les bactéries, les diatomées et les algues présentes sur le sédiment (ASTM, 1995b; Wellborn, 1994b). *H. azteca* est un brouteur qui ne filtre pas l'eau (Strong, 1972). Durant la journée *H. azteca* se nourrit tout en évitant les lumières vives et c'est plutôt la nuit que les animaux sont très actifs (accouplement, recherche de nourriture...).

Certaines variations de taille entre populations de *Hyalella* ne sont pas dues à une pression exercée par les prédateurs mais sont le fait du comportement intrinsèque de l'organisme. Ainsi, deux populations relativement proches, l'une issue du lac Duke et l'autre de l'étang George ont une croissance similaire jusqu'à l'âge adulte, les *Hyalella* du lac Duke se développant alors moins rapidement que ceux de l'étang George. Cette divergence dans les taux de croissance des populations adultes peut s'expliquer

---

40 Les densités d'oligochètes utilisées dans ce test sont équivalentes à celles trouvées dans beaucoup de sites contaminés et la présence d'organismes indigènes peut donc affecter l'interprétation des résultats des tests de toxicité basée sur les mesures terminales chroniques.

par une réorientation de l'utilisation de l'énergie de la croissance vers la reproduction : les *H. azteca* du lac Duke, atteignent leur maturité sexuelle plus rapidement que celles de l'étang George (Wellborn, 1994a).

### **Comportement sexuel**

La reproduction de *H. azteca* est sexuelle. Les oeufs fertilisés et les jeunes sont transportés par la femelle dans une poche d'incubation située au niveau de l'abdomen de la femelle : le marsupium. Les oeufs éclosent dans cette poche juste avant que la femelle ne mue libérant ainsi le premier stade immature (Wellborn, 1994b).

*H. azteca* développe un rituel complexe d'accouplement. Le mâle s'accroche à la femelle dans un comportement de garde précopulatoire. L'ovulation et la fertilisation des oeufs ont lieu juste après que la femelle ait mué et relâché les jeunes de la portée précédente. La copulation (amplexus) se termine après que le mâle ait fertilisé les oeufs produits à la fin de l'intermue par la femelle (Strong, 1972). Le temps passé en amplexus varie selon les populations et est négativement corrélé avec la pression de prédation par les poissons (De March, 1981b).

## **2. Elevage de *Hyalella azteca***

L'utilisation de *Hyalella azteca* dans des expériences toxicologiques a d'abord été limitée par les difficultés rencontrées dans le maintien en laboratoire des organismes (cannibalisme en condition de stress,...) et par des réponses très variables selon les bioessais (De March, 1981b). Mais, ces problèmes surmontés, de nombreux chercheurs et des organismes gouvernementaux ont proposé des techniques d'élevage (ASTM, 1994b; ASTM, 1995b; De March, 1981b; Environment Canada, 1997b; EPA, 1994c; Ingersoll et Nelson, 1990; Nelson et Brunson, 1995).

Comme pour *C. riparius*, nous résumons dans ce paragraphe quelques données utiles à la mise en place et au maintien d'un élevage de hyalelle. Le document d'Environnement Canada (1997b) contient une synthèse des principaux protocoles d'élevage de *H. azteca*.

### **Les enceintes d'élevage**

Le maintien d'un stock important de géniteur se fait plutôt dans des aquariums de 10, 20 ou 80 L (Tableau 7). L'utilisation de chambres d'élevage plus petites (1 ou 2 L) a pour principal intérêt, lorsque les caractéristiques de l'élevage sont bien connues (ratio mâle femelle optimal pour la production de juvéniles, rendement des juvéniles en fonction de l'âge des femelles,...), de permettre une modulation du nombre de chambre d'élevage et d'adultes en fonction des besoins en juvéniles pour les bioessais. Ce type d'enceinte, permet de collecter hebdomadairement des juvéniles âgés de 0-1 semaine, conservés durant 2 jours (Environment Canada, 1997b) ou 1 semaine (ASTM, 1994b; EPA, 1994c) avant leur utilisation dans les bioessais (les organismes malades ou blessés sont ainsi éliminés car morts avant l'essai). Collyard *et al.* (1994) proposent pour obtenir des *H. azteca* d'âge connu de croiser un mâle avec deux femelles dans 70 mL d'eau.

Du moment que la densité des organismes est maîtrisée et qu'une partie du stock des géniteurs est renouvelée régulièrement, les hyalelles, comme les chironomes, sont maintenus dans les aquariums durant de nombreux mois, sans risques de baisse du taux de reproduction des organismes et sans comportement agressif des adultes.

Tableau 7 : Quelques type de récipients et volumes utilisés pour l'élevage de *H. azteca*

Type de récipient	Volume d'eau	Référence
aquariums de 80 L	50 L	(Ingersoll et Nelson, 1990)
aquarium de 10 ou de 20 L	n.i. <sup>b</sup>	(ASTM, 1995b; Nebeker <i>et al.</i> , 1984a; Nebeker et Miller, 1988; Phipps <i>et al.</i> , 1995)
aquariums de 19 L	15 L	(Suedel et Rodgers, 1994a; Suedel et Rodgers, 1994b)
jarres de 2,5 L	1 L	(Borgmann et Munawar, 1989; Borgmann <i>et al.</i> , 1990; Borgmann <i>et al.</i> , 1989)
béchers	70 mL	(Collyard <i>et al.</i> , 1994)

<sup>b</sup> n.i. : non indiqué.

### Photopériode, température, aération et caractéristiques de l'eau d'élevage

Les conditions d'élevage proposées pour *C. riparius* sont souvent valables pour *H. azteca*. Dans les deux cas, en effet, on cherche à élever les organismes dans des conditions optimales de production.

Comme pour les chironomes, la photopériode préconisée par la grande majorité des auteurs est de 16 heures de jour et 8 heures de nuit (ASTM, 1995b; Borgmann *et al.*, 1989; Collyard *et al.*, 1994; Environment Canada, 1997b; EPA, 1994c; Nebeker *et al.*, 1984a; Nebeker et Miller, 1988; Phipps *et al.*, 1995). La luminosité doit être comprise entre 500 et 1000 lux (Environment Canada, 1997b).

La température des enceintes d'élevage s'échelonne entre 20°C (Ingersoll et Nelson, 1990; Nebeker *et al.*, 1984a; Nebeker et Miller, 1988; Phipps *et al.*, 1995) 22°C (Suedel et Rodgers, 1994a; Suedel et Rodgers, 1994b) et 25°C (Borgmann et Munawar, 1989; Borgmann *et al.*, 1990; Borgmann *et al.*, 1989; Collyard *et al.*, 1994). La température conseillée pour l'élevage est la température utilisée dans les bioessais, ceci permet d'éviter la période d'acclimatation nécessaire aux organismes pour l'adaptation de leur métabolisme aux nouvelles conditions d'exposition.

Comme pour l'élevage de *C. riparius*, les conditions d'aération et de renouvellement de l'eau ne sont pas fixées pour l'élevage de *H. azteca* et les recommandations sont les même pour les deux organismes.

### Le substrat et l'alimentation des organismes d'élevage

Les substrats et l'alimentation sont très variés (Tableau 8). Pour des raisons de facilité d'entretien et de collecte des organismes, le substrat le plus couramment utilisé est un mélange de feuilles séchées (érable, aulne, peuplier ou bouleau) dont les organismes se nourrissent au passage. Il suffit de retirer et de renouveler une partie de ce substrat pour éliminer les organismes en surnombre. Les juvéniles peuvent être collectés sur des tamis (250-275 µm) par rinçage du substrat et triés en fonction de leur taille. Des sédiments propres, colonisés ou non par des plantes aquatiques, ou du sable fin peuvent être utilisés.

Tableau 8 : Principaux substrats et aliments utilisés pour l'élevage de *H. azteca*.

Substrat	Alimentation	Référence
feuilles séchées d'érable, d'aulne, de peuplier et de bouleau pré-trempées durant plusieurs jours dans l'eau d'élevage et rincées 1 h avant d'être distribuées	feuilles séchées de céréales, d'érable, d'aulne, de peuplier et de bouleau, boulettes de nourriture pour lapin, des flocons de nourriture pour poisson, des crevettes marines gelées ou fraîches ou encore de jeunes daphnies ébouillantées	(ASTM, 1995b; Nebeker <i>et al.</i> , 1984a; Nebeker et Miller, 1988; Phipps <i>et al.</i> , 1995; Suedel et Rodgers, 1994a; Suedel et Rodgers, 1994b)
bande de gaze en coton de 5*10 cm qui sont pré-trempées avant utilisation.	TetraMin®	(Borgmann et Munawar, 1989; Borgmann <i>et al.</i> , 1990; Borgmann <i>et al.</i> , 1989)
morceaux de Nitrex	diatomées et YCT <sup>41</sup>	(Collyard <i>et al.</i> , 1994)
feuilles d'érable trempées 30 jours dans de l'eau de puits et rincées 1 h avant d'être distribuées.	feuilles d'érable et nourriture pour poisson (Ground Tetra Standard Mix®).	(Ingersoll et Nelson, 1990)

### 3. *Hyalella azteca* dans les bioessais

#### 3.1. Intérêt de ce bioessai

*Hyalella azteca* est un composant majeur de la chaîne alimentaire en terme d'abondance et d'implication dans les écosystèmes d'eau douce. Bien que la représentativité écologique de *H. azteca* soit limitée au continent nord-américain, en tant qu'organisme test, il a plusieurs caractéristiques intéressantes : son cycle de vie est relativement court (4 à 6 semaines pour atteindre la reproduction), il est d'élevage facile, il vit en contact étroit avec le sédiment dont il tolère relativement bien la physicochimie et il est sensible à la contamination (Borgmann *et al.*, 1989; Ingersoll *et al.*, 1995; Kemble *et al.*, 1994; Nebeker *et al.*, 1984a). De plus cet amphipode, bien que principalement utilisé dans les essais sur sédiment d'eau douce (Ankley *et al.*, 1996), peut aussi être utilisé pour étudier des sédiments d'estuaire (Nebeker et Miller, 1988).

#### 3.2. Les critères d'effet

Différents critères d'effet ont été proposés pour évaluer la dangerosité des sédiments : la mortalité, la croissance, le comportement, la bioaccumulation, les activités enzymatiques (acétylcholinestérase,  $\beta$ -glucuronidase). En fonction des objectifs de l'étude, ces mesures terminales sont utilisées dans des études de terrain ou de laboratoire.

Quelques études qui permettent de comparer ou d'associer des mesures terminales donnent des résultats contradictoires. Alors que Becker *et al.* (1995) montrent que la survie, le poids et la taille donnent des résultats similaires en terme de sensibilité et de capacité discriminatoire pour *H. azteca*, d'autres auteurs (Kemble *et al.*, 1994; Kubitz *et al.*, 1995; Nebeker *et al.*, 1992) trouvent que les mesures sublétales (taille, poids, production de jeunes) sont plus sensibles que la mesure de la mortalité. Ainsi, le nombre de jeunes produit par femelle et le poids moyen des adultes *H. azteca* sont des paramètres plus sensibles que la survie pour évaluer l'effet de basses concentrations en oxygène

41 YCT : (Yeast, Cerophyll®, Trout) : mélange alimentaire de levure, de feuilles séchées de céréales en poudre (Cerophyll®) et de nourriture pour truite (Trout Chow) (Environment Canada, 1997b).

(1,2 mg/L et moins) (Nebeker *et al.*, 1992), et, sur des sédiments contaminés avec des métaux, le critère d'effet le plus sensible dans des bioessais 28 jours est la longueur du corps (mm) devant la maturation sexuelle (% de mâles matures) et la survie (Kemble *et al.*, 1994). Kubitz *et al.* (1995) montrent que le poids est un critère d'effet plus sensible que la survie pour évaluer la toxicité du cuivre. Cependant Borgman *et al.* (1989) et Suedel *et al.* (1997) montrent que la mesure du poids n'est pas un critère d'effet sensible. Borgmann *et al.* (1993; 1989) montrent que la survie est un paramètre plus sensible que le poids moyen pour évaluer la toxicité des métaux (Cd, Cu, Zn, Pb, Hg) et du PCP dans des bioessais exposant des *H. azteca* de 0-1 semaine d'âge durant 6 semaines. L'ensemble de ces résultats nous amène à conseiller d'utiliser, lorsque c'est possible, deux mesures biologiques en fin d'essais pour évaluer la toxicité d'un contaminant ou d'un sédiment contaminé : la survie et un paramètre subléthal. Nous avons décidé d'observer la taille de *H. azteca* en fin d'essai car cette mesure est individuelle et elle est plus facilement mesurable dans notre laboratoire que le poids qui porte sur un lot d'organisme et qui nécessite une balance de pesée de très haute précision.

### 3.2.1. Les réponses comportementales

Il y a très peu d'études concernant le comportement des *H. azteca* suite à une exposition à des contaminants et le principal critère étudié dans ces cas là est la reproduction.

#### **La reproduction**

La reproduction peut parfois permettre de détecter la toxicité chronique de sédiments légèrement toxiques pour lesquels la survie des organismes n'est pas perturbée. Borgmann (1994) a observé que la reproduction de *H.azteca* diminue à partir de 5,4 mg/L d'ammoniac. Mais la reproduction est difficile à évaluer dans les sédiments : une exposition classique de 10 ou 14 jours est mal adaptée (une seule portée produite sur cette durée d'essais) et la récupération des jeunes est difficile. De plus l'évaluation du nombre de jeunes nés durant l'exposition d'adultes à des contaminants peut traduire non seulement un effet sur la reproduction mais elle peut plus directement refléter une mortalité des adultes (Ingersoll et Nelson, 1990). Si une perturbation de la reproduction est difficile à mettre en évidence directement, certains paramètres sublétaux, corrélés à la reproduction, peuvent permettre de prédire un effet potentiel sur la reproduction. Ainsi, la fécondité des *H. azteca* étant corrélée à la taille des organismes (la portée de juvéniles est d'autant plus importante que la femelle est grande) une perturbation des activités reproductrices peut être estimée par une inhibition de croissance. Une diminution de poids de 46% correspond à une réduction de la reproduction de 90% pour *H. azteca* (Borgmann *et al.*, 1989). Une autre possibilité pour observer l'impact de contaminants sur la reproduction de *H. azteca* est d'augmenter la durée du bioessai. Pour étudier à la fois la croissance de *H. azteca* (poids et longueur) et la production de la première portée de juvéniles, Ingersoll *et al.* (1998) proposent de réaliser des bioessais de 42 jours, avec des *H. azteca* âgés de 7-8 jours en début d'essai. La perturbation de l'accouplement (séparation des couples en amplexus) mesurée sur 4 heures a été proposée comme critère d'effet dans les bioessais (Blockwell *et al.*, 1998). Ce bioessai rapide permet de mesurer des concentrations d'effet (LOEC=17 µg/L) pour le lindane comparables à celles déterminées par des expositions plus classiques de juvéniles durant 48 heures ou d'adultes sur 10 jours (CL<sub>50</sub>=14 et 9 µg/L respectivement). Il reste à vérifier que ce bioessai soit effectivement sensible à une large gamme de contaminants.

## **L'évitement**

Quelques comportements d'évitement ont été observés lors d'études visant à évaluer la toxicité de sédiments vis à vis de *H. azteca*. Whiteman *et al.* (1996) ont observé que les organismes en contact avec de fortes concentrations en NH<sub>3</sub> nageaient plus souvent et se tenaient sur les parois des contenants. Hatch et Burton (1999) ont montré que *H. azteca* était capable d'éviter la toxicité photo-induite de HAPs en se cachant dans les feuilles, quand ce substrat était disponible. Hoke *et al.* (1995) ont évoqué la capacité d'évitement des *H. azteca*, pour expliquer la sensibilité moindre de *H. azteca* à la dieldrine (comparativement à *C. tentans*).

### 3.2.2. La mortalité et la croissance

La mortalité et la croissance sont les mesures terminales les plus couramment utilisées (Barber *et al.*, 1997; Fuchsman *et al.*, 1998; Kemble *et al.*, 1994; Kemble *et al.*, 1998; Kubitz *et al.*, 1996; Phipps *et al.*, 1995).

Les effets des contaminants sur la croissance sont principalement évalués par mesure de la taille ou du poids des organismes. D'après Ingersoll *et al.* (1998) et Becker *et al.* (1995), à la fin du bioessai le paramètre mesuré peut indifféremment être le poids ou la taille car ces deux paramètres sont corrélés. Cependant Steevens et Benson (1998) montrent quant à eux que la mesure de la longueur des organismes est un critère d'effet sublétal beaucoup plus sensible que le poids. De plus la longueur offre l'intérêt d'être une mesure individuelle qui permet d'observer une gamme de variation de croissance à l'intérieur d'un réplicat contrairement au poids qui se mesure sur un groupe d'organisme (poids moyen par réplicat). La mesure du poids peut néanmoins servir à distinguer la toxicité du cuivre de celle du zinc dans les sédiments (seul le cuivre affecte la croissance des *H. azteca* à des concentrations inférieures à la CL<sub>25</sub>-4s) (Borgmann et Norwood, 1997b).

La maturation sexuelle, la fréquence de mue, la durée de l'intermue, la longueur du corps, l'addition des segments antennaires ont été utilisés par Nelson et Brunson (1995) comme indicateurs d'effet dans des bioessais de 28 jours exposant des *Hyalella* immatures (moins de 2 semaines d'âge au début de l'essai). La taille du propodus (partie terminale du second gnathopode) (Figure 6) peut être utilisée comme un indicateur sublétal fiable de toxicité car le développement du propodus permet facilement de distinguer les immatures (de la première à la 5<sup>ème</sup> intermue) des juvéniles (intermues 6 et 7). Il existe une relation linéaire entre la longueur moyenne totale du corps (mm) et le nombre de segments antennaire de *H. azteca*. Bien que, pour un stade donné, la longueur et le nombre de segments antennaires sont différents selon le sexe, quand les données sont groupées<sup>42</sup>, les stades restent significativement différents (Nelson et Brunson, 1995).

### 3.2.3. Les activités enzymatiques

La perturbation des activités enzymatiques est un indicateur précoce de la dégradation du milieu et à ce titre elle peut permettre d'évaluer la qualité du milieu mais son développement est récent au niveau des invertébrés épibenthiques et son utilisation est délicate.

---

<sup>42</sup> Mesures effectuées sur 15 organismes.

L'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase<sup>43</sup> mesurée chez *H. azteca* exposées à des insecticides organophosphorés peut permettre de détecter une toxicité aiguë vis à vis d'organismes exposés sur le terrain (comparée à celle d'organismes sains) (Day et Scott, 1990).

L'IQ-Test® est basé sur le principe d'une observation d'une inhibition de la synthèse d'une enzyme lors de l'exposition des organismes à des toxiques, par rapport à la production de cette même enzyme chez des organismes témoins. La  $\beta$ -glucuronidase convertit la 4-méthylumbelliferyl- $\beta$ -d-glucuronide en 4-méthylumbelliférol fluorescente. Plus la toxicité est élevée, plus la synthèse de l'enzyme est inhibée et plus la fluorescence diminue par rapport à des témoins dont l'activité enzymatique est normale et la fluorescence marquée. Ce test offre l'avantage d'être court et moins coûteux qu'un test classique mais il faut encore le développer (Novotny et Horne, 1995).

#### 3.2.4. La bioconcentration, la bioaccumulation, la dépuration et la biotransformation

Les hyalelles, comme les chironomes, peuvent bioaccumuler ou bioconcentrer les contaminants, représentant une voie de transfert des contaminants vers les organismes supérieurs, fournissant des informations sur la biodisponibilité des contaminants et est un critère d'évaluation de la qualité du milieu.

L'analyse des métaux (arsenic, cadmium, cuivre, plomb et zinc) contenus dans les hyalelles collectés dans des zones contaminées indique que le sédiment est une source significative de métal dans les invertébrés (Ingersoll *et al.*, 1994). Borgmann et Norwood (1997b) montrent que la bioaccumulation de zinc, consécutive à une exposition d'une semaine, est suffisante pour déduire une toxicité chronique du zinc alors qu'on ne peut pas prévoir la toxicité chronique du cuivre à partir de la bioaccumulation (Borgmann et Norwood, 1997a). Stephenson et Turner (1993) observent que la dynamique du cadmium dans les *H. azteca* est rapide et qu'un équilibre est atteint en deux semaines. Les concentrations en cadmium contenues dans les *H. azteca* de 5 lacs sont indépendantes du poids sec de l'animal, elles varient selon les saisons de 12 à 54  $\mu\text{g/g}$  pour un des lacs. Les concentrations les plus élevées sont observées au printemps et elles pourraient refléter les fortes teneurs en cadmium aqueux (Stephenson et Mackie, 1989). Cependant, dans une étude ultérieure, Stephenson et Turner (1993) ont montré que 60% du cadmium absorbé par les *H. azteca* était d'origine nutritionnelle (via le periphyton) plutôt que d'origine aqueuse.

Les molécules organiques peuvent aussi s'accumuler dans les *H. azteca*. Borgman *et al.* ont montré que la quantité d'Aroclor ou de Tétrachlorobiphényle (TeCB)<sup>44</sup> accumulée dans les tissus est proportionnelle à celle présente dans l'eau (Borgmann *et al.*, 1990).

### **3.3. Sensibilité des organismes aux caractéristiques des sédiments**

Dans les bioessais, la réponse biologique de *H. azteca* peut être conditionnée par les caractéristiques des sédiments, en plus des contaminants toxiques proprement dits. Comme pour *C. riparius* la

---

<sup>43</sup> Acétylcholinestérase (AChE) : enzyme responsable de l'hydrolyse de l'acétylcholine au niveau du système nerveux. L'inhibition de son activité entraîne une stimulation permanente des synapses.

<sup>44</sup> Pour le TeCB, cela est vrai jusqu'à un seuil de 100  $\mu\text{g/L}$  puis la concentration accumulée reste constante à des valeurs plus élevées dans l'eau interstitielle.

géochimie des sédiments influence la réponse des organismes (Calmano et Förstner, 1996; Chapman *et al.*, 1998; Förstner, 1989; Salomons et Stigliani, 1995; Whiteman *et al.*, 1996).

### 3.3.1. Les caractéristiques géochimiques

Les *H. azteca* sont des organismes intéressants pour déterminer un potentiel toxique de sédiments dans un large éventail de conditions particulières et de teneur en matière organique (American Petroleum Institute, 1995; Suedel et Rodgers, 1994b). En effet, la survie de *H. azteca* exposées pendant 10 jours à des sédiments non toxiques (artificiels ou naturels) est toujours supérieure à 80% (taille des particules variant de 0 à 100% de sable, 0 à 100% de limon, 0 à 60% d'argile et contenu en matière organique variant de 0,12 à 7,8%) (Suedel et Rodgers, 1994b). Ces résultats sont confirmés par Ingersoll et Nelson (1990) qui ont exposé *H. azteca* à des sédiments contenant de 90% de limon et d'argile à 100% de particules sableuses sans observer d'effet négatif sur la survie ou la croissance des organismes.

Toutes ces études tendent à montrer que *H. azteca* n'a pas de préférence en ce qui concerne la qualité de la matrice. Il faut cependant considérer le fait que la composition de la matrice peut avoir un rôle à jouer dans l'importance de la toxicité de certains composés. La composition des sédiments, la nature des argiles et la teneur en carbone organique sont impliquées dans la régulation de la biodisponibilité des composés organiques polaires ou ionisables (Suedel *et al.*, 1993). Lorsque le contenu en carbone organique d'un sédiment augmente, la biodisponibilité de certains composés dans le sédiment contaminé est diminuée. La matière organique dissoute dans l'eau interstitielle du sédiment peut réduire la biodisponibilité de polluants organiques (Nebeker *et al.*, 1989).

### 3.3.2. L'ammoniac

L'ammoniac est un toxique très commun dans les sédiments. Pour *H. azteca*, la toxicité de l'ammoniac se définit mieux en terme de toxicité de l'ammoniac total ( $\text{NH}_4^+$  plus  $\text{NH}_3$ ) plutôt qu'en terme d'ammoniac non ionisé ( $\text{NH}_3$ ) (Ankley *et al.*, 1996; Borgmann, 1994). Les  $\text{CL}_{50-96\text{h}}$  de l'ammoniac total et de l'ammoniac non ionisé, estimées avec 3 types d'eau de dureté différente (42, 100 et 270 mg  $\text{CaCO}_3$  /L) et à 3 niveaux de pH (6,5, 7,5 et 8,5), confirment qu'en eau douce la toxicité de l'ammoniac est constante quel que soit le pH et que quand la dureté augmente, la toxicité de l'ammoniac (total) diminue et devient plus pH dépendante (Tableau 9). Ces résultats indiquent que l'ammoniac peut jouer sous sa forme ionisée  $\text{NH}_4^+$ , un rôle très important dans la toxicité vis à vis de *H. azteca* (Ankley *et al.*, 1996).

Les adultes sont aussi sensibles à l'ammoniac que les jeunes : en ammoniac total, la  $\text{CL}_{50-4}$  sem est de 13 mg N/L et la  $\text{CL}_{50-10}$  sem est de 1,1 mg N/L pour des *H. azteca* juvéniles (Borgmann, 1994).

La croissance des organismes n'est pas perturbée par la concentration en ammoniac : le poids des organismes exposés à l'ammoniac est du même ordre que celui des organismes contrôles. Cependant la reproduction est significativement réduite pour des concentrations en ammoniac de 4.5 mg N/L (Borgmann, 1994).

La  $\text{CL}_{50-96\text{h}}$  de l'ammoniac pour des bioessais en eau seule est de 9,2 mg N/L (pH 6,9). Pour des bioessais sur sédiment brut, la  $\text{CL}_{50-96\text{h}}$  de l'ammoniac est respectivement de 9,7 mg N/L (pH 6,9) quand on l'évalue par rapport à l'eau surnageante et de 82,0 mg N/L (pH 6,8) quand on l'évalue à partir de la concentration en ammoniac de l'eau interstitielle (Whiteman *et al.*, 1996). La plus forte valeur de  $\text{CL}_{50}$  mesurée pour l'eau interstitielle peut s'expliquer par un comportement d'évitement des *H. azteca*.

Tableau 9 :  $CL_{50-96h}$  de l'ammoniac total (mg N/L) et  $CL_{50-96h}$  de l'ammoniac non ionisé (mg  $NH_3/L$ ), à différent pH et différentes duretés pour *H. azteca*, d'après **Ankley et al.** (Ankley et al. , 1996).

(ammoniac total/ ammoniac non ionisé) Dureté (mg $CaCO_3/L$ )	pH		
	6,5	7,5	8,3
42	22,8 / 0,04	15,5 / 0,31	24 / 2,24
100	105 / 0,19	64 / 0,83	39,8 / 6,09
270	>204 / >0,37	140 / 2,14	35,2 / 5,38

### 3.4. Sensibilité des organismes aux conditions d'essai

La réponse biologique de *H. azteca* est largement influencée par les conditions d'exposition : les caractéristiques de l'eau surnageante (composition, teneur en oxygène dissous, renouvellement), l'apport et la dose de nourriture, la durée d'exposition, l'âge et la manipulation des organismes.

#### 3.4.1. La nourriture

L'apport de nourriture dans un bioessai est controversé. Certains chercheurs recommandent de nourrir car on observe une survie faible des organismes contrôles et des difficultés à interpréter les résultats sur la croissance en l'absence de nourriture (Ankley *et al.*, 1994a). D'autres recommandent de ne pas nourrir car l'addition de matériel exogène peut modifier la biodisponibilité des contaminants. Les apports de nourriture apparaissent d'autant plus importants que le bioessai couvre une large partie du cycle de vie des organismes. Le choix de l'aliment utilisé dans le bioessai semble assez large. En effet, Kemble *et al.* (1999) ont montré que, dans un bioessai de 10 jours, la survie d'amphipodes n'est pas significativement différente que les organismes soient nourris avec de l'YCT ou avec des granulés broyés de nourriture pour lapin.

Dans le cas d'une exposition de 10 jours, la survie de *H. azteca* est très significativement affectée par l'absence de nourriture: quand les animaux sont nourris la survie moyenne s'élève à 83% alors qu'elle est de 32% quand les animaux ne sont pas nourris. En prenant comme limite minimale d'acceptation pour un contrôle, 80% de survie, seulement 10% des essais pour lesquels les organismes ne sont pas nourris seraient considérés comme acceptables alors que 80% des essais dans lesquels les organismes sont nourris seraient valides. Il y a donc un fort potentiel de faux positifs si on ne nourrit pas *H. azteca* durant les essais de toxicité (Ankley *et al.*, 1994a).

La survie des *Hyalella* sur de la silice, sans apport de nourriture, est faible. Mais un taux de nourriture de 0,8 mg d'YCT suffit à atteindre un pourcentage de survie de 90% (apport de nourriture: six fois en 10 jours). Ce taux de nourriture a un effet minimal sur les variations de concentration du carbone organique. Les laboratoires de l'EPA de Duluth utilisent un taux de nourriture de 0,8 mg YCT/j pour *H. azteca* (taux pour 10 organismes sur 100 ml de sédiment) (Ankley *et al.*, 1993a). Dans les mêmes conditions, nous apportons dans nos bioessais 6 mg TetraMin®/j.

### 3.4.2. L'eau surnageante

Les caractéristiques de l'eau surnageante (teneur en oxygène dissous, pH<sup>45</sup>, dureté<sup>46</sup>, alcalinité<sup>47</sup>, salinité<sup>48</sup>, composition ionique, ratio anions/cations) peuvent influencer la survie et le développement de *H. azteca* (Kubitz et Giesy, 1996; Smith *et al.*, 1997).

*Hyalella azteca* s'adapte bien à des variations de la salinité allant jusqu'à 30 g/L mais sa reproduction (EC<sub>50</sub>) est affectée par une salinité de 10,5 g/L (Nebeker et Miller, 1988).

Le pH pour lequel la survie de *H. azteca* est optimale est compris entre 6 et 8, et pour des pH compris entre 4 et 5 une mortalité graduelle est observée (De March, 1981b). Le pH pouvant influencer la répartition des toxiques entre différentes formes, il est très important d'en tenir compte dans l'évaluation de la toxicité (Ankley *et al.*, 1996; Schubauer-Berigan et Dierkes, 1993).

L'alcalinité peut aussi être un facteur de confusion dans certains bioessais, car l'alcalinité élevée de certaines eaux interstitielles<sup>49</sup> peut être toxique pour *H. azteca* (CL<sub>50-96h</sub> = 662 (±18) mg CaCO<sub>3</sub>/L, pour des organismes âgés de 7 jours en début d'essais) (Lasier *et al.*, 1997).

Le renouvellement d'eau peut permettre de conserver des teneurs en oxygène dissous et des caractéristiques physico-chimiques dans l'eau surnageante acceptables pour les amphipodes (Kubitz et Giesy, 1996). Les renouvellements d'eau peuvent entraîner une modification de la biodisponibilité des contaminants : la survie de *H. azteca* dans des sédiments contaminés par du cadmium est meilleure dans les bioessais avec renouvellement d'eau que dans les bioessais conduits en conditions statiques. Cela est dû à une augmentation de la concentration en ion cadmium dans la colonne d'eau de l'essai conduit en conditions statiques par rapport à l'essai mené en dynamique (Nebeker *et al.*, 1984a).

### 3.4.3. L'aération

*H. azteca* ne peut pas survivre à de longues périodes d'hypoxie (Borgmann et Munawar, 1989) (CL<sub>50-24h</sub> = 0,7 mgO<sub>2</sub>/L (De March, 1981b), CL<sub>50-96h</sub> et -30j = 0,3 mgO<sub>2</sub>/L (Nebeker *et al.*, 1992)). Dans des bioessais réalisés en condition statique, une légère aération suffit généralement à éliminer les problèmes liés au manque d'oxygène cependant Ankley *et al.* (1993a) ont montré que pour des sédiments possédant une forte demande en oxygène le renouvellement d'eau est inévitable (la qualité de l'eau peut très vite devenir critique, particulièrement si on ajoute de la nourriture).

### 3.4.4. La durée de l'essai

L'utilisation de tests d'exposition court mettant en jeu les stades de vie précoces et mesurant la survie, la croissance et la reproduction sont difficiles à mettre en rapport avec des effets sur le cycle de vie

<sup>45</sup> pH : mesure de l'acidité d'une solution.  $\text{pH} = -\log(\text{H}^+)$ .

<sup>46</sup> Dureté (mg CaCO<sub>3</sub>/L) : teneur d'une eau en calcium et en éléments alcalino-terreux.

<sup>47</sup> Alcalinité (mg CaCO<sub>3</sub>/L) : somme des bases présentes en solution et dosables par acide fort (carbonate, ammoniac, phosphate, silicate et certaines bases organiques). Capacité de neutralisation des acides (pouvoir tampon).

<sup>48</sup> Salinité : teneur en sel (NaCl). Les eaux douces superficielles ont une salinité moyenne de 0,12 g/L, les eaux saumâtres ont une salinité comprise entre 3 et 22 g/L.

<sup>49</sup> Lasier *et al.* (Lasier *et al.*, 1997) ont mesuré des alcalinités allant jusqu'à 4500 mg CaCO<sub>3</sub>/L dans des eaux interstitielles de sédiments de l'Utah et de 1600 mg CaCO<sub>3</sub>/L dans des eaux interstitielles de sédiments d'estuaires.

entier. Les essais de courte durée (24, 48, 96 heures) réduisent le coût immédiat et offrent l'intérêt de mettre en évidence rapidement des toxicités aiguës mais peuvent limiter la protection de la qualité des écosystèmes à long terme. En effet on sait que certains effets ne sont pas induits jusqu'à ce que les organismes soient matures ou jusqu'à la génération F1. De plus, une exposition de courte durée peut manquer la période la plus sensible du cycle de vie qui varie d'une espèce à l'autre.

En fonction de l'objectif de l'étude on peut mener des essais chroniques qui portent sur une partie du cycle de vie des *H. azteca* ou des essais aigus dont la durée est plus courte. Des expositions de 48 heures, 96 heures, 7 jours, 10 jours, 14 jours, 28 jours (Borgmann et Munawar, 1989; Borgmann et Norwood, 1993; Burton *et al.*, 1989; Kemble *et al.*, 1998; Nebeker *et al.*, 1984a; Phipps *et al.*, 1995) ont été effectuées avec pour objectif d'observer la survie et la croissance des organismes. Plus la durée de l'essai est longue plus la toxicité est prononcée (Suedel *et al.*, 1997).

Borgman *et al.* (1994; 1993; 1990) ont étudié la bioaccumulation et la toxicité chronique de divers composés sur 10 semaines d'exposition. Ils ont aussi déterminé qu'une étude durant 6 semaines peut suffire à mesurer les effets du cadmium et du pentachlorophénol (PCP) sur la croissance et la survie des jeunes amphipodes (0-1 semaine) (Borgmann *et al.*, 1989).

Quelques bioessais sur des durées d'exposition plus courtes et parfois répétées (simulation de pollutions épisodiques) ont été réalisés (Brent et Herricks, 1998; Fisher *et al.*, 1998). Suite à une exposition de 30 min, au cadmium (1 mg/L) et au zinc (100 mg/L) on observe sur 7 jours une immobilisation de 50% des organismes exposés (Brent et Herricks, 1998).

#### 3.4.5. L'âge des organismes

Plus les animaux sont petits (en raison de l'âge, des conditions de culture ou de l'hérédité) plus ils sont sensibles aux conditions de milieu (De March, 1981b).

Lasier *et al.* (1997) ont montré une différence de sensibilité à l'alcalinité entre des *H. azteca* âgés de 7 et de 14 jours en début d'essais, dans des bioessais mesurant la CL<sub>50-96h</sub>. Les organismes les plus jeunes sont plus sensibles, avec une CL<sub>50</sub> de 674 mg CaCO<sub>3</sub>/L contre une CL<sub>50</sub> de 1182 mg CaCO<sub>3</sub>/L pour les organismes plus âgés. Les *H. azteca* immatures sont deux fois plus sensibles au plomb (Maclean *et al.*, 1996) et trois fois plus sensibles au lindane (Blockwell *et al.*, 1998) que les adultes.

Collyard *et al.* (1994) trouvent pour leur part que, pour des organismes âgés de 1 à 26 jours, il n'y a pas de classe d'âge plus particulièrement sensible aux toxiques (pesticide organophosphoré, détergent non ionique, cuivre, cadmium et zinc). Cependant, dans plusieurs cas, les organismes âgés de 0-2 jours sont plus tolérants aux toxiques que ceux âgés de 2 à 10 jours et, excepté pour le diazinon (pesticide), les organismes les plus âgés sont moins sensibles aux contaminants (Collyard *et al.*, 1994).

#### 3.4.6. La manipulation des organismes

A la fin d'un essai, un faible taux de récupération des organismes peut provenir d'un problème de récupération des organismes les plus petits. En effet alors que la longueur d'une *H. azteca* mature est de 3 mm, une *H. azteca* âgée de 1 jour mesure à peine 1 mm. La moyenne de récupération est de 63% pour des jeunes de 1 jour, de 87% pour des jeunes de 7 jours, de 93% pour des jeunes de 14 jours et de 97% pour des jeunes de 21 jours. La faible récupération des jeunes de moins de 14 jours peut empêcher d'atteindre le seuil d'acceptabilité de 80% de survie. Pour débiter un bioessai, il est conseillé d'utiliser des organismes qui auront plus de 14 jours à la fin du bioessai (Tomasovic *et al.*, 1995).

### **3.5. Traitement du sédiment : facteur de variation dans la réponse biologique**

Comme nous l'avons vu pour *C. riparius* et *C. tentans*, le prélèvement, la conservation et la préparation des sédiments perturbent l'intégrité du sédiment (ASTM, 1994a; Burton, 1992; Burton, 1995; Day *et al.*, 1995) et la survie de l'amphipode *H. azteca* peut être diminuée dans des sédiments congelés, autoclavés ou irradiés aux rayons gamma. Les raisons de cette réponse ne sont pas connues mais cela peut être dû à des changements dans la structure physico-chimique des sédiments, dans l'équilibre des composés toxiques (augmentation de la biodisponibilité, relargage de toxique) ou à une diminution de la nourriture viable disponible en raison de la stérilisation. Cependant, la croissance des organismes survivants est la même que les sédiments soient tamisés ou stérilisés par chauffage, congélation ou irradiation. Cela nous amène à penser que ce n'est pas un manque de nourriture qui affecte la survie mais plutôt une variation des conditions physico-chimiques ou de la structure des sédiments. *Hyalella azteca* survit correctement dans les sédiments non tamisés, tamisés à 2 mm ou 250 µm (Day *et al.*, 1995).

## **4. Sensibilité de *Hyalella azteca* vis à vis de quelques contaminants**

De manière générale, *Hyalella* est sensible aux métaux et à un plus large spectre de toxiques que *Chironomus*, elle représente relativement bien la sensibilité des autres espèces aquatiques et elle est occasionnellement parmi les espèces les plus sensibles (Phipps *et al.*, 1995). En essai sur sédiment brut une étude a déterminé que les organismes testés les plus sensibles sont dans l'ordre décroissant *Hyalella*, *Chironomus*, la truite puis la daphnie (Kemble *et al.*, 1994) et une étude portant sur 29 sédiments différents a confirmé qu'*H. azteca* est plus sensible que *P. promelas*, *C. dubia*, et *Lumbriculus variegatus* (Ankley *et al.*, 1991b). Borgman *et al.* (1989) ont démontré que les amphipodes sont au moins aussi sensibles que la daphnie en exposition chronique au cadmium ou au pentachlorophénol (PCP). *H. azteca* est plus sensible au fluoranthène (HAP) que *C. tentans*, *D. magna* et *S. lacustris* (Suedel et Rodgers, 1996) et plus sensible au cadmium que *P. promelas*, *C. dubia*, *D. magna* et *C. tentans* (Suedel *et al.*, 1997). *H. azteca* est 3,5 fois plus sensible que *D. magna* et plus de 200 fois plus sensible que *P. promelas* au chlorpyrifos (insecticide) (Moore *et al.*, 1998).

### **4.1. Sensibilité aux métaux**

Quelques données concernant la toxicité de métaux vis à vis de *H. azteca* sont présentées sous forme de tableaux, l'un présentant les résultats obtenus lors d'exposition en phase aqueuse (Tableau 10), l'autre présentant les résultats obtenus pour des expositions à des sédiments (Tableau 11).

**Tableau 10 : Données concernant les seuils de tolérance aux métaux pour *H. azteca* (dosages des contaminants dans la phase aqueuse).**

MÉTAL	DURÉE DU TEST	DU ÂGE DES ORGANISMES	MESURE (µg/L)	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE
<b>Arsenic</b>				
	14 j	<14 j	ERL= 1,7 (eau interstitielle) ERM= 2,3 TEL= 1,37 PEL= 1,92	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j	<14 j	ERL= 1,7 ERM= 6,8 TEL= 1,37 PEL= 10,58	
<b>Cuivre</b>				
	10 j	7-14 j	CL <sub>50</sub> = 31 (eau seule) CL <sub>50</sub> = 28 (eau interstitielle)	(Ankley <i>et al.</i> , 1993b)
	14 j	3-10 j	CL <sub>50</sub> = 43	(Kubitz <i>et al.</i> , 1995)
	96 h	7-14 j	CL <sub>50</sub> = 17 (pH6-6,5) CL <sub>50</sub> = 24 (pH7-7,5) CL <sub>50</sub> = 87 (pH8-8,5)	(Schubauer-Berigan et Dierkes, 1993)
	10 j	2-3 s	NOEC= 15 (eau seule) NOEC= 300 (eau interstitielle)	(Suedel <i>et al.</i> , 1996)
	10 j	NR	CL <sub>50</sub> = 31	(Phipps <i>et al.</i> , 1995)
	96 h	0-2 j à 20-22 j	CL <sub>50</sub> = 40 à 55	(Collyard <i>et al.</i> , 1994)
	14 j	<14 j	ERL= 5,30 (eau interstitielle) ERM= 19,8 TEL= 3,89 PEL= 9,63	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j	<14 j	ERL= 5,30 ERM= 19,80 TEL= 4,43 PEL= 13,16	
	4 s	0-1 s	CL <sub>25</sub> (NOEC-LOEC)= 5 (4-6) (eau de surface) CL <sub>25</sub> (NOEC-LOEC)= 21 (11-18) (eau interstitielle)	(Borgmann et Norwood, 1997b)
<b>Cadmium</b>				
	6 s	0-1 s	58% mortalité à 1 µg/kg	(Borgmann <i>et al.</i> , 1989)
	10 j	NR	CL <sub>50</sub> = 2,8	(Phipps <i>et al.</i> , 1995)
	96 h	0-2 j à 20-22 j	CL <sub>50</sub> = 7 à 14	(Collyard <i>et al.</i> , 1994)
	48 h	NR	CL <sub>50</sub> = 5,6,	(Suedel <i>et al.</i> , 1997)
	96 h		CL <sub>50</sub> = 2,8	
	7 j		CL <sub>50</sub> = 1,7, NOEC=1, LOEC= 2	
	10 j		CL <sub>50</sub> = 1,2, NOEC=1, LOEC= 2	
	14 j		CL <sub>50</sub> = 0,65, NOEC=0,1, LOEC= 0,25	
	96 h	7-14 j	CL <sub>50</sub> = 230 (pH6-6,5) CL <sub>50</sub> = <25 (pH7-7,5) CL <sub>50</sub> = 5 (pH8-8,5)	(Schubauer-Berigan et Dierkes, 1993)
	96 h	juvénile-adulte	CL <sub>50</sub> = 8 (eau seule)	(Nebeker <i>et al.</i> , 1986)
	10j		CL <sub>50</sub> = 2,8 (eau seule)	
	96 h		CL <sub>50</sub> = 74 (sédiment, Cd total)	
	96 h		CL <sub>50</sub> = 6,6 (sédiment, Cd dissous)	
	10 j		CL <sub>50</sub> = 80 (sédiment, Cd total)	
	14 j	<14 j	ERL= 0,10 (eau interstitielle) ERM= 0,92 TEL= 0,09 PEL= 0,43	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j	<14 j	ERL= 0,19 ERM= 1,05 TEL= 0,12 PEL= 0,46	

Tableau 10 : Données concernant les seuils de tolérance aux métaux pour *H. azteca* (dosages des contaminants dans la phase aqueuse). Suite et fin.

MÉTAL	DURÉE DU TEST	ÂGE DES ORGANISMES	MESURE (µg/L)	REFERENCIE BIBLIOGRAPHIQUE
<b>Chrome</b>	14 j	<14 j	ERL= 2,46 (eau interstitielle) ERM= 13,20 TEL= 1,28 PEL= 3,45	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j	<14 j	ERL= 0,80 ERM= 7,85 TEL= 0,62 PEL= 2,33	
<b>Nickel</b>	10 j	NR	CL <sub>50</sub> = 780	(Phipps <i>et al.</i> , 1995)
	96 h	7-14 j	CL <sub>50</sub> = 2000 (pH6-6,5) CL <sub>50</sub> = 1900 (pH7-7,5) CL <sub>50</sub> = 890 (pH8-8,5)	(Schubauer-Berigan et Dierkes, 1993)
	14 j	<14 j	ERL= 5,8 (eau interstitielle) ERM= 10,40 TEL= 4,82 PEL= 6,99	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j	<14 j	ERL= 5,8 ERM= 10,40 TEL= 4,82 PEL= 6,99	
<b>Plomb</b>	96 h	7-14 j	CL <sub>50</sub> = <90 (pH6-6,5) CL <sub>50</sub> = >5400 (pH7-7,5) CL <sub>50</sub> = >5400 (pH8-8,5)	(Schubauer-Berigan et Dierkes, 1993)
	10 j	NR	CL <sub>50</sub> = <16	(Phipps <i>et al.</i> , 1995)
	8 j	1 s	CL <sub>50</sub> = 20,16	(Maclean <i>et al.</i> , 1996)
	4 s	0-1 s	CL <sub>50</sub> = 27350 (eau de surface) CL <sub>25</sub> = 11400 (eau de surface)	(Borgmann et Norwood, 1999)
	14 j	<14 j	ERL= 0,70 (eau interstitielle) ERM= 5,50 TEL= 0,70 PEL= 4,39	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j	<14 j	ERL= 0,70 ERM= 0,90 TEL= 0,46 PEL= 1,77	
<b>Sélénium</b>	96 h	2 mois (2 mm)	CL <sub>50</sub> = 676 (sélénite) CL <sub>50</sub> = 1868 (séléniate)	(Brasher et Ogle, 1993)
	10 j	2 mois	CL <sub>50</sub> = 502 (sélénite) CL <sub>50</sub> = 1135 (séléniate)	
<b>Zinc</b>	4 s	0-1 s	CL <sub>25</sub> (NOEC-LOEC)= 26 (10-25) (eau de surface) CL <sub>25</sub> (NOEC-LOEC)=50,3 (40-50) (eau interstitielle)	(Borgmann et Norwood, 1997b)
	96 h	0-2 j à 20-22 j	CL <sub>50</sub> = 200 à 350	(Collyard <i>et al.</i> , 1994)
	10 j	NR	CL <sub>50</sub> = 73	(Phipps <i>et al.</i> , 1995)
	96 h	7-14 j	CL <sub>50</sub> = 1200 (pH6-6,5) CL <sub>50</sub> = 1500 (pH7-7,5) CL <sub>50</sub> = 290 (pH8-8,5)	(Schubauer-Berigan et Dierkes, 1993)
	14 j	<14 j	ERL= 6,30(eau interstitielle) ERM= 49,60 TEL= 3,37 PEL= 13,91	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j	<14 j	ERL= 19,00 ERM= 121,9 TEL= 8,61 PEL= 59,66	

NR : non référencé

CL<sub>50</sub> : Concentration Létale 50. Concentration d'une substance qui est censée être létale pour 50% des organismes exposés.

ERL : Effect Range Low. Seuil d'effet faible correspondant au 10<sup>ème</sup> percentile de la gamme de concentrations toxiques. Il représente une valeur seuil au-dessus de laquelle des effets défavorables sur des stades de vie ou des espèces sensibles commencent à apparaître (Long et Morgan, 1990).

ERM : Effect Range Median. Seuil d'effet médian correspondant au 50<sup>ème</sup> percentile de la gamme de concentrations toxiques. Il représente une valeur seuil au-dessus de laquelle on observe fréquemment, sinon toujours, des effets toxiques chez la plupart des espèces (Long et Morgan, 1990).

LOEC : Lowest Observed Effect Concentration. Concentration minimale d'exposition d'une substance pour laquelle un effet significatif est manifeste sur les organismes exposés.

NOEC : No Observed Effect Concentration. Concentration maximale d'une substance pour laquelle aucun effet significatif n'est observé sur les organismes exposés.

PEL : Probable Effect Level. Le PEL est défini comme la moyenne géométrique entre le 50<sup>ème</sup> percentile du jeu de concentrations produisant un effet et le 85<sup>ème</sup> percentile sans effet (Smith *et al.*, 1996). Le PEL représente la limite inférieure du niveau de concentrations chimiques habituellement ou toujours liées à des effets toxiques.

TEL : Threshold Effect Level. Le TEL est défini comme la moyenne géométrique entre le 15<sup>ème</sup> percentile du jeu de concentrations produisant un effet et le 50<sup>ème</sup> percentile sans effet (Smith *et al.*, 1996). Le TEL représente la limite supérieure du niveau de concentrations chimiques dans les sédiments, associée à des données sans effet.

**Tableau 11 : Données concernant les seuils de tolérance aux métaux pour *H. azteca* (dosages des contaminants dans la phase particulaire).**

MÉTAL	DURÉE DU TEST	ÂGE DES ORGANISMES	MESURE (mg/kg)	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE
<b>Argent</b>	10 j	juvénile	CL <sub>50</sub> > 753,3	(Hirsch, 1998)
<b>Arsenic</b>	14 j	<14 j	ERL= 12,1 ERM= 33 TEL= 11,244 PEL= 39,466	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j	<14 j	ERL= 13,1 ERM= 49,6 TEL= 10,797 PEL= 48,385	
<b>Cuivre</b>	10 j	2-3 s	NOEC= 2010 (eau interstitielle) LOEC >2010	(Huggett <i>et al.</i> , 1999)
	10 j	2-3 s	NOEC= 150 (eau seule)	(Suedel <i>et al.</i> , 1996)
	4 s	0-1 s	<b>diminution du poids</b> (0,7 mg) à 89,7 (contrôle 1,3 mg) CL <sub>25</sub> (NOEC-LOEC)= 247 (90-277)	(Borgmann et Norwood, 1997b)
	4 s			(Borgmann et Norwood, 1997b)
	14 j	<14 j	ERL= 41,3 ERM= 122,25 TEL= 28,012 PEL= 77,711	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j	<14 j	ERL= 41,3 ERM= 187,0 TEL= 28,012 PEL= 101,230	
<b>Cadmium</b>	14 j	<14 j	ERL= 0,7 ERM= 5,2 TEL= 0,591 PEL= 3,224	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j	<14 j	ERL= 0,7 ERM= 3,875 TEL= 0,583 PEL= 3,246	
	10 j	juvénile	mortalité<20% quand SEM/AVS<1 mortalité >40% quand SEM/AVS>1	(Ankley <i>et al.</i> , 1991a)
<b>Chrome</b>	14 j	<14 j	ERL= 56,0 ERM= 293,0 TEL= 47,916 PEL= 130,921	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j	<14 j	ERL= 38,5 ERM= 274,0 TEL= 36,286 PEL= 119,364	
<b>Fer</b>	28 j	<14 j	ERL= 19,70 ERM= 28 TEL= 18,84 PEL= 24,76	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)

Tableau 11 : Données concernant les seuils de tolérance aux métaux pour *H. azteca* (dosages des contaminants dans la **phase particulaire**). Suite et fin.

MÉTAL	DURÉE DU TEST	ÂGE DES ORGANISMES	MESURE (mg/kg)	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE
<b>Manganèse</b>	14 j	<14 j	ERL= 726,0 ERM= 1678,0 TEL= 614,721 PEL= 1080,688	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j	<14 j	ERL= 726,0 ERM= 1673,0 TEL= 631,327 PEL= 1184,756	
<b>Nickel</b>	10 j	juvénile	mortalité<20% quand SEM/AVS<1 mortalité >40% quand SEM/AVS>1	(Ankley <i>et al.</i> , 1991a)
	14 j	<14 j	ERL= 39,6 ERM= 47,5 TEL= 27,717 PEL= 38,496	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j	<14 j	ERL= 23,8 ERM= 44,7 TEL= 19,514 PEL= 32,821	
<b>Plomb</b>	4 s	0-1 s	CL <sub>50</sub> = 6,84 CL <sub>25</sub> = 3,73	(Borgmann et Norwood, 1999)
	14 j	<14 j	ERL= 51,0 ERM= 251,0 TEL= 34,174 PEL= 117,494	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j	<14 j	ERL= 55,0 ERM= 98,7 TEL= 37,229 PEL= 81,743	
<b>Zinc</b>	4 s	0-1 s	CL <sub>25</sub> (NOEC-LOEC)= 826 (627-1070)	(Borgmann et Norwood, 1997b)
	14 j	<14 j	ERL= 159,0 ERM= 422,0 TEL= 94,15 PEL= 384,042	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j	<14 j	ERL= 113,0 ERM= 547,0 TEL= 98,091 PEL= 543,991	

NR : non référencé

#### 4.2. Sensibilité aux molécules organiques

Quelques données concernant la toxicité de molécules organiques vis à vis de *H. azteca* sont présentées dans les Tableau 12 et Tableau 13. Le premier tableau présente les résultats obtenus lors d'expositions en phase aqueuse, le second présente les résultats obtenus pour des expositions sur phase solide.

Tableau 12 : Données concernant les seuils de tolérance aux produits organiques pour *H. azteca* (dosages des contaminants dans la **phase aqueuse**).

ORGANIQUE	DUREE DU TEST	AGE DES ORGANISMES / TAILLE	MESURE ( $\mu\text{g/L}$ )	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE
PCP	6 s	0-1 s	75% mortalité à 100 $\mu\text{g/L}$	(Borgmann <i>et al.</i> , 1989)
Alkylphénol Ethoxylate	96 h	0-2 j à 20-22 j	CL <sub>50</sub> = 500 à 1500	(Collyard <i>et al.</i> , 1994) (détergent)
Chlorpyrifos Dieldrin DDD DDT DDE	10 j	NR	CL <sub>50</sub> = 0,086 CL <sub>50</sub> = 7,6 CL <sub>50</sub> = 0,19 CL <sub>50</sub> = 0,07 CL <sub>50</sub> = 1,66	(Phipps <i>et al.</i> , 1995) (pesticides)
Diazinon	96 h	0-2 j à 20-22 j	CL <sub>50</sub> = 4 à 6	(Collyard <i>et al.</i> , 1994) (pesticide)
Dieldrin	10 j	NR	CL <sub>50</sub> = 7,6 (eau seule)	(Hoke <i>et al.</i> , 1995) (pesticide)
DDD DDT DDE	10 j	7-14 j	CL <sub>50</sub> = 0,19 CL <sub>50</sub> = 0,07 CL <sub>50</sub> = 1,66	(Hoke <i>et al.</i> , 1994) (pesticides)
Lindane	48 h 10 j 24 h 48 h 10 j	6 mm long 6 mm long <7 j <7 j <7 j	CL <sub>50</sub> = 47,6 CL <sub>50</sub> = 26,9 CL <sub>50</sub> = 29,5 CL <sub>50</sub> = 14,8 CL <sub>50</sub> = 9,8	(Blockwell <i>et al.</i> , 1998) (pesticide)
Chlorpyrifos Aldicarb Chlordane	48 h	2-3 s	CL <sub>50</sub> = 0,1 CL <sub>50</sub> = 3990 CL <sub>50</sub> = 61,1	(Moore <i>et al.</i> , 1998) (pesticides)
Fire-Trol GTS- R Fire-Trol LCG- R Silv-Ex	96	adulte (0,667± 0,239 mg)	CL <sub>50</sub> = 127 (41 mgCaCO <sub>3</sub> /L) ; CL <sub>50</sub> = 363 (162 mgCaCO <sub>3</sub> /L) CL <sub>50</sub> = 73 (41 mgCaCO <sub>3</sub> /L) ; CL <sub>50</sub> = 535 (162 mgCaCO <sub>3</sub> /L) CL <sub>50</sub> = 24 (41 mgCaCO <sub>3</sub> /L) ; CL <sub>50</sub> = 27 (162 mgCaCO <sub>3</sub> /L)	(Mc Donald <i>et al.</i> , 1997) (coupe-feu) (anti-fumée)
Phos-Chek D75- F Phos-Chek WD- 881			CL <sub>50</sub> = 53 (41 mgCaCO <sub>3</sub> /L) ; CL <sub>50</sub> = 394 (162 mgCaCO <sub>3</sub> /L) CL <sub>50</sub> = 10 (41 mgCaCO <sub>3</sub> /L) ; CL <sub>50</sub> = 22 (162 mgCaCO <sub>3</sub> /L)	
DDT Endrin	10 j	2 mois	CL <sub>50</sub> = 0,46-0,52 (eau seule) CL <sub>50</sub> = 3,8-4,3	(Nebeker <i>et al.</i> , 1989)
Fluoranthène	10 j	2-3 s (0,6-1 mm)	CL <sub>50</sub> = 46-237 (eau interstitielle) CL <sub>50</sub> = 32-54 (eau surnageante) (0,5% Carbone Organique)	(Suedel <i>et al.</i> , 1993) (HAP)
Fluoranthène	48 h 10 j 10 j	NR	CL <sub>50</sub> = 92,2 (eau seule) CL <sub>50</sub> = 30,5 (eau seule) CL <sub>50</sub> = 23,6 (eau surnageante)	(Suedel et Rodgers, 1996) (HAP)
Fluoranthène	10 j	NR	CL <sub>50</sub> = 15,4	(DeWitt <i>et al.</i> , 1989) (HAP)

NR : non référencé

Tableau 13 : Données concernant les seuils de tolérance aux produits organiques pour *H. azteca* (dosages des contaminants dans la **phase particulaire**).

ORGANIQUE	DUREE DU TEST	AGE DES ORGANISMES / TAILLE	MESURE (mg/kg)	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE
Naphtalène	14 j	<14 j	ERL= 0,055 ERM= 0,325 TEL= 0,033 PEL= 0,285	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
	28 j	<14 j	ERL= 0,013 ERM= 0,098 TEL= 0,015 PEL= 0,14	
Fluorène	14 j	<14 j	ERL= 0,050 ERM= 0,595 TEL= 0,035 PEL= 0,386	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
	28 j	<14 j	ERL= 0,010 ERM= 0,14 TEL= 0,01 PEL= 0,150	
Phénanthrène	14 j	<14 j	ERL= 0,390 ERM= 1,100 TEL= 0,197 PEL= 0,777	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
	28 j	<14 j	ERL= 0,027 ERM= 0,345 TEL= 0,019 PEL= 0,409	
Anthracène	14 j	<14 j	ERL= 0,1 ERM= 0,670 TEL= 0,032 PEL= 0,409	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
	28 j	<14 j	ERL= 0,01 ERM= 0,14 TEL= 0,01 PEL= 0,167	
Fluoranthène	10 j	2-3 s (0,6-1 mm)	CL <sub>50</sub> = 2,3-7,4 (0,5% Carbone Organique)	(Suedel <i>et al.</i> , 1993) (HAP)
Fluoranthène	14 j	<14 j	ERL= 0,16 ERM= 1,2 TEL= 0,144 PEL= 0,834	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
	28 j	<14 j	ERL= 0,033 ERM= 0,175 TEL= 0,031 PEL= 0,319	
Benzo(a)anthracène	14 j	<14 j	ERL= 0,26 ERM= 0,49 TEL= 0,103 PEL= 0,363	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
	28 j	<14 j	ERL= 0,019 ERM= 0,3 TEL= 0,016 PEL= 0,284	
Pyrène	14 j	<14 j	ERL= 0,57 ERM= 1,1 TEL= 0,231 PEL= 0,908	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
	28 j	<14 j	ERL= 0,040 ERM= 0,348 TEL= 0,044 PEL= 0,493	

Tableau 13 : Données concernant les seuils de tolérance aux produits organiques pour *H. azteca* (dosages des contaminants dans la **phase particulière**). Suite et fin.

ORGANIQUE	DUREE DU TEST	AGE DES ORGANISMES	MESURE (mg/kg)	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE
Chrysène	14 j	<14 j	ERL= 0,33 ERM= 0,69 TEL= 0,136 PEL= 0,551	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
	28 j	<14 j	ERL= 0,030 ERM= 0,5 TEL= 0,027 PEL= 0,406	
Benzo(a)pyrène	14 j	<14 j	ERL= 0,35 ERM= 0,62 TEL= 0,12 PEL= 0,394	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
	28 j	<14 j	ERL= 0,084 ERM= 0,465 TEL= 0,032 PEL= 0,32	
Indéno pyrène (1,2,3-c,d)	14 j	<14 j	ERL= 0,078 ERM= 0,41 TEL= 0,087 PEL= 0,327	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
	28 j	<14 j	ERL= 0,03 ERM= 0,25 TEL= 0,017 PEL= 0,24	
Benzo pérylène (g,h,i)	14 j	<14 j	ERL= 0,091 ERM= 0,46 TEL= 0,089 PEL= 0,35	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
	28 j	<14 j	ERL= 0,013 ERM= 0,275 TEL= 0,016 PEL= 0,252	
Dibenzo anthracène (a,h)	28 j	<14 j	ERL= 0,01 ERM= 0,015 TEL= 0,01 PEL= 0,028	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996) (HAP)
Hexachlorobenzène	10 j	2-3 mm	Survie= 92% à 60 mg/kg (1% Carbone Organique)	(Fuchsmann <i>et al.</i> , 1998) (HAP)
Hexachlorobenzène	14 j	2-3 mm	Survie= 75% à 42 mg/kg (1% Carbone Organique)	(Barber <i>et al.</i> , 1997) (HAP)
HAP totaux	14 j	<14 j	ERL= 3,553 ERM= 8,498 TEL= 1,589 PEL= 6,736	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
	28 j		ERL= 0,240 ERM= 2,226 TEL= 0,264 PEL= 3,368	
PCB totaux	28 j	<14 j	ERL= 0,05 ERM= 0,73 TEL= 0,032 PEL= 0,247	(Ingersoll <i>et al.</i> , 1996)
DDT	10 j	NR	CL <sub>50</sub> = 2500 µg/g de Carbone Organique	(Swartz <i>et al.</i> , 1994) (pesticide)
DDT	10 j	2 mois	CL <sub>50</sub> = 11 (3% Carbone Organique) CL <sub>50</sub> = 49,7 (10,7% Carbone Organique)	(Nebeker <i>et al.</i> , 1989) (pesticides)
Endrin			CL <sub>50</sub> = 4,4 (3% Carbone Organique) CL <sub>50</sub> = 6 (11,2% Carbone Organique)	

NR : non référencé.

Mise en oeuvre de *Chironomus* et *Hyalella* pour évaluer la toxicité de sédiments et d'extraits aqueux contaminés

### 1. *Chironomus* et *Hyalella* exposés à des sédiments contaminés

De très nombreuses études de laboratoire ont utilisé *Chironomus* et *Hyalella* spp. pour étudier la qualité biologique de sédiments contaminés (Ingersoll *et al.*, 1994; Kemble *et al.*, 1994; Krantzberg, 1994).

L'étude qualitative de sites contaminés peut :

- servir dans l'élaboration de seuils de qualité des sédiments (Garric *et al.*, 1998),
- s'inscrire dans une démarche d'évaluation de risque et offre l'intérêt de caractériser la dangerosité et d'aider à la gestion des sédiments (Burton *et al.*, 1989; Dillon, 1994; Hoke *et al.*, 1990; Hoke *et al.*, 1993; Smith *et al.*, 1996),
- permettre le suivi temporel de zones contaminées (Borgmann et Norwood, 1993) ou de sites pour lesquels des actions d'évacuation de sédiment (dragages, vidanges) ont été réalisées (EPA, 1994a; EPA, 1994b). Il s'agit alors d'observer la capacité de récupération du milieu (recolonisation par des espèces polluosensibles...).

Les programmes d'étude peuvent être plus ou moins ambitieux, allant de la caractérisation de sites (Bervoets *et al.*, 1998; Borgmann et Norwood, 1997a; Huuskonen *et al.*, 1998; Kemble *et al.*, 1998; Ristola *et al.*, 1995; Swartz *et al.*, 1994) à l'étude d'un bassin (Burton *et al.*, 1989; EPA, 1997; Hoke *et al.*, 1993).

Des bioessais *in situ* peuvent être menés avec des organismes encagés (études limitées aux USA pour *H. azteca*). Les paramètres d'essais sont moins facilement contrôlables et des précautions d'acclimatation et d'exposition des organismes doivent être prises (surtout dans les cas d'exposition en eau froide <15°C) mais ces bioessais permettent d'exposer directement les organismes à la surface des sédiments. Alors que *H. azteca* est immobile et son activité est considérablement réduite en deçà de 10°C, la survie de *C. tentans* n'est pas affectée par des températures basses (5°C) mais une acclimatation est nécessaire (maximum 2°C par jour). Si l'encagement de *H. azteca*, qui est capable de résister à des stress physiques (orages), peut permettre d'étudier des pollutions épisodiques diffuses de type déversoir d'orage (Chappie et Burton, 1997), l'encagement d'organismes benthiques comme *C. riparius* est plus problématique. En effet ces organismes ont besoin de s'enfouir dans un substrat afin d'éviter les stress physiques. De plus la manipulation des organismes d'essais et la présence d'organismes indigènes taxonomiquement proches des organismes étudiés dans les sites étudiés, entraînent une réduction de la survie de organismes tests (Chappie et Burton, 1997).

### 2. *Chironomus* et *Hyalella* exposés à des extraits aqueux de sédiments

Bien que cela représente un stress pour des organismes benthiques comme les chironomes, *Chironomus* a régulièrement été exposé, comme *H. azteca*, à des extraits aqueux de sédiments (eau interstitielle ou éluatriat). Selon les études, ces expositions peuvent se justifier par des hypothèses sur les comportements des contaminants et les voies d'exposition des organismes.

Ainsi, certains auteurs considèrent que la fraction dissoute d'un contaminant est responsable de la toxicité observée (Di Toro *et al.*, 1991) et que les organismes benthiques et épibenthiques s'exposent principalement aux contaminants par la phase aqueuse (via les surfaces branchiales par exemple) (Green *et al.*, 1993; Suedel *et al.*, 1997) : les essais sur eau interstitielle ou sur lixiviat permettent alors de déterminer le potentiel toxique de contaminants hydrosolubles en conditions aérobies, et les essais sur eau interstitielle permettent d'évaluer la toxicité du sédiment brut.

Ces hypothèses sont parfois confirmées, mais les réponses biologiques obtenues à partir d'échantillons aqueux ne représentent pas toujours la toxicité du sédiment total.

Ainsi, il apparaît que l'eau interstitielle est la voie d'exposition principale des chironomes pour certains insecticides organochlorés (perméthrine et képone), pour des métaux et pour l'ammoniac (Adams *et al.*, 1985; Conrad *et al.*, 1999; Whiteman *et al.*, 1996). Des études de terrain et de laboratoire menées sur la toxicité de l'insecticide perméthrine indiquent que la concentration en insecticide du sédiment global et les bioessais sur sédiments sous-estiment l'effet toxique aigu de cette molécule, alors que la toxicité *in situ* vis à vis de *C. riparius* est plus précisément prédite avec des bioessais sur eau seule (Conrad *et al.*, 1999). Adams *et al.* (1985) ont observé que l'eau interstitielle est la voie d'exposition principale de *C. riparius* pour le képone en comparant différentes voies d'exposition (eau interstitielle, eau surnageante, sédiment ou nourriture). Pour des espèces benthiques comme *C. tentans* la biodisponibilité de l'ammoniac peut être estimée à partir de la concentration en NH<sub>3</sub> de l'eau interstitielle (Whiteman *et al.*, 1996).

De manière générale, pour *H. azteca*, la toxicité de l'eau interstitielle représente mieux la toxicité du sédiment que la toxicité mesurée par un éluviat (Schubauer-Berigan et Ankley, 1991).

Mais la toxicité de l'eau interstitielle n'est pas pour autant toujours représentative de la biodisponibilité des contaminants dans les sédiments (Ankley *et al.*, 1991b; Harkey *et al.*, 1994b; Suedel *et al.*, 1997). Ainsi la matrice sédimentaire contient une multitude de sites de piégeage pour les contaminants modifiant les équilibres phase aqueuse/phase particulaire et rendant l'eau interstitielle non représentative de la phase particulaire (plus potentiellement chargée en contaminants).

## Références bibliographiques

- 1- **Adams W.J., Kimerle R.A. et Mosher R.G. (1985)** Aquatic safety assessment of chemicals sorbed to sediments. In Cardwell R. D., Purdyet R. Bahner R. C. (Eds). *Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Seventh Symposium*, American Society for Testing and Materials. Philadelphia, USA: 429-453
- 2- **American Petroleum Institute (1995)** Reducing uncertainty in laboratory sediment toxicity tests. Part 3: copper sulfate as a reference toxicant for use in sediment toxicity tests. 4632 : 3-1-3-20. *American Petroleum Institute*,
- 3- **Ankley G.T., Benoit D.A., Balogh J.C. et Reynoldson T.B. (1994a)** Evaluation of potential confounding factors in sediment toxicity tests with three freshwater benthic invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry* **13**:627-635
- 4- **Ankley G.T., Benoit D.A., Hoke R.A., Leonard E.N., West G.V., Phipps G.L., Mattson V.R. et Anderson L.A. (1993a)** Development and evaluation of test methods for benthic invertebrates and sediments: effects of flow rate and feeding on water quality and exposure conditions. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **25**:12-19
- 5- **Ankley G.T., Call D.J., Cox J.S., Kahl M.D., Hoke R.A. et Kosian P.A. (1994b)** Organic carbon partitioning as a basis for predicting the toxicity of chlorpyrifols in sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* **13**:621-626
- 6- **Ankley G.T., Mattson V.R., Leonard E.N., West C.W. et Bennett J.L. (1993b)** Predicting the acute toxicity of copper in freshwater sediments: evaluation of the role of acid-volatile sulfide. *Environmental Toxicology and Chemistry* **12**:315-320
- 7- **Ankley G.T., Phipps G.L., Leonard E.N., Benoit D.A., Mattson V.R., Kosian P.A., Cotter A.M., Dierkes J.R., Hansen D.J. et Mahony J.D. (1991a)** Acid-volatile sulfide as a factor mediating cadmium and nickel bioavailability in contaminated sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* **10**:1299-1307
- 8- **Ankley G.T., Schubauer-Berigan M.K. et Dierkes J.R. (1991b)** Predicting the toxicity of bulk sediments to aquatic organisms with aqueous test fractions: pore water vs elutriate. *Environmental Toxicology and Chemistry* **10**:1359-1366
- 9- **Ankley G.T., Schubauer-Berigan M.K. et Monson P.D. (1996)** Influence of pH and hardness on toxicity of ammonia to the amphipod *Hyaella azteca*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **52**:2078-2083
- 10- **ASTM (1990)** Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates. E 1383-90. Technical report. *American Society for Testing and Materials*, Philadelphia, PA, USA.
- 11- **ASTM (1994a)** Standard guide for collection, storage, characterization and manipulation of sediment for toxicological testing. E 1391-94. Technical report. *American Society for Testing and Materials*, Philadelphia, PA, USA.
- 12- **ASTM (1994b)** Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates. E1383-94. Technical report. *American Society for Testing and Materials*, Philadelphia, PA, USA.

- 13- **ASTM (1995a)** Standard guide for determination of the bioaccumulation of sediment-associated contaminants by benthic invertebrates. E1688-95. Technical report. *American Society for Testing and Materials*, Philadelphia, PA, USA.
- 14- **ASTM (1995b)** Standard test methods for measuring the toxicity of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. E 1706-95. Technical report. *American Society for Testing and Materials*, Philadelphia, PA, USA.
- 15- **Baker R.L. et Ball S.L. (1995)** Microhabitat selection by larval *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae): effects of predators, food, cover and light. *Freshwater Biology* **34**:101-106
- 16- **Ball S.L. et Baker R.L. (1995)** The non-lethal effects of predators and the influence of food availability on life history of adult *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Freshwater Biology* **34**:1-12
- 17- **Barber T.R., Fuchsman P.C., Chappie D.J., Sferra J.C., Newton F.C. et Sheehan P.J. (1997)** Toxicity of hexachlorobenzene to *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans* in spiked sediment bioassays. *Environmental Toxicology and Chemistry* **16**:1716-1720
- 18- **Batac-Catalan Z. et White D.S. (1982)** Creating and maintaining cultures of *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Ent. news* **93**:54-58
- 19- **Becker D.S., Rose C.D. et Bigham G.N. (1995)** Comparison of the 10-days freshwater sediment toxicity tests using *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **14**:2089-2094
- 20- **Benoit D.A., Sibley P.K., Juenemann J.L. et Ankley G.T. (1997)** *Chironomus tentans* life-cycle test: design and evaluation for use in assessing toxicity of contaminated sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* **16**:1165-1176
- 21- **Bentivegna C.S. et Cooper K.R. (1993)** Reduced chromosomal puffing in *Chironomus tentans* as a biomarker for potentially genotoxic substances. *Environmental Toxicology and Chemistry* **12**:1001-1011
- 22- **Bervoets L. et Blust R. (1999)** Bioavailability of cadmium and zinc to midge larvae under natural and experimental conditions: effects of some environmental factors. *Belgian Journal of Zoology* **129**:269-284
- 23- **Bervoets L., Blust R., De Wit M. et Verheyen R. (1997)** Relationships between river sediment characteristics and trace metal concentrations in tubificid worms and chironomid larvae. *Environmental Pollution* **95**:345-356
- 24- **Bervoets L., Blust R. et Verheyen R. (1995)** The uptake of cadmium by the midge larvae *Chironomus riparius* as a function of salinity. *Aquatic Toxicology* **33**:227-243
- 25- **Bervoets L., Blust R. et Verheyen R. (1996a)** Effect of temperature on cadmium and zinc uptake by the midge larvae *Chironomus riparius*. *Archives of Environmental Contamination and toxicology* **31**:502-511
- 26- **Bervoets L., Blust R. et Verheyen R. (1996b)** Uptake of zinc by the midge larvae *Chironomus riparius* at different salinities : role of speciation, acclimation, and calcium. *Environmental Toxicology and Chemistry* **15**:1423-1428
- 27- **Bervoets L., Panis L. et Verheyen R. (1994)** Trace metal levels in water, sediments and *Chironomus gr thummi*, from different water courses in Flanders (Belgium). *Chemosphere* **29**:1591-1601

- 28- **Bervoets L., Solis D., Romero A.M., Van damme P.A. et Ollevier F. (1998)** Trace metal levels in chironomid larvae and sediments from a Bolivian river: Impact of mining activities. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **41**:275-283
- 29- **Besser J.M., Ingersoll C.G. et Giesy J.P. (1996)** Effects of spatial and temporal variation of acid-volatile sulfide on the bioavailability of copper and zinc in freshwater sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* **15**:286-293
- 30- **Bird G.A. (1994)** Use of Chironomid deformities to assess environmental degradation in the Yamaska river, Quebec. *Environmental Monitoring and Assessment* **30**:163-175
- 31- **Bird G.A. (1997)** Deformities in cultured *Chironomus tentans* larvae and the influence of substrate on growth, survival and mentum wear. *Environmental Monitoring and Assessment* **45**:273-283
- 32- **Bird G.A., Rosentreter M.J. et Schwartz W.J. (1995a)** Deformities in the menta of chironomid larvae from the Experimental Lakes Area, Ontario. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **52**:2290-2295
- 33- **Bird G.A., Schwartz W.J. et Joseph D.L. (1995b)** The effect of  $^{210}\text{Pb}$  and stable lead on the induction of menta deformities in *Chironomus tentans* larvae and on their growth and survival. *Environmental Toxicology and Chemistry* **14**:2125-2130
- 34- **Bleeker E.A.J., Van Der Geest H.G., Kraak M.H.S., De Voogt P. et Admiraal W. (1998)** Comparative ecotoxicity of NPAHs to larvae of the midge *Chironomus riparius*. *Aquatic Toxicology* **41**:51-62
- 35- **Blinn D.W., Dehdashti B., Runk C. et Davies R.W. (1990)** The importance of prey size and density in an endemic predator-prey couple (leech *Erpobdella montezuma* - amphipod *Hyaella montezuma*). *Journal of Animal Ecology* **59**:187-192
- 36- **Blockwell S.J., Maund S.J. et Pascoe D. (1998)** The acute toxicity of lindane to *Hyaella azteca* and the development of a sublethal bioassay based on precopulatory guarding behavior. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **35**:432-440
- 37- **Borchert J., Karbe L. et Westendorf J. (1997)** Uptake and metabolism of benzo(a)pyrene absorbed to sediment by the freshwater invertebrate species *Chironomus riparius* and *Sphaerium corneum*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **58**:158-165
- 38- **Borgmann U. (1994)** Chronic toxicity of ammonia to the amphipod *Hyaella azteca*: importance of ammonium ion and water hardness. *Environmental Pollution* **86**:329-335
- 39- **Borgmann U. et Munawar M. (1989)** A new standardized sediment bioassay protocol using the amphipod *Hyaella azteca* (Saussure). *Hydrobiologia* **188-189**:425-531
- 40- **Borgmann U. et Norwood W.P. (1993)** Spatial and temporal variability in toxicity of Hamilton Harbour sediments: evaluation of the *Hyaella azteca* 4-week chronic toxicity test. *Journal of Great Lakes Research* **19**:72-82
- 41- **Borgmann U. et Norwood W.P. (1997a)** Identification of the toxic agent in metal-contaminated sediments from Manitowadge Lake, Ontario, using toxicity-accumulation relationships in *Hyaella azteca*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **54**:1055-1063
- 42- **Borgmann U. et Norwood W.P. (1997b)** Toxicity and accumulation of zinc and copper in *Hyaella azteca* exposed to metal-spiked sediments. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **54**:1046-1054

- 43- **Borgmann U. et Norwood W.P. (1999)** Assessing the toxicity of lead in sediments to *Hyaella azteca*: the significance of bioaccumulation and dissolved metal. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **56**:1494-1503
- 44- **Borgmann U., Norwood W.P. et Clarke C. (1993)** Accumulation, regulation and toxicity of copper, zinc, lead and mercury in *Hyaella azteca*. *Hydrobiologia* **259**:79-89
- 45- **Borgmann U., Norwood W.P. et Ralph K.M. (1990)** Chronic toxicity and bioaccumulation of 2,5,2',5'- and 3,4,3',4'- tetraclorobiphenyl and Aroclor 1242 in the amphipod *Hyaella azteca*. *Archives of Environmental Toxicology* **19**:558-564
- 46- **Borgmann U., Ralph K.M. et Norwood W.P. (1989)** Toxicity test procedures for *Hyaella azteca*, and chronic toxicity of cadmium and pentachlorophenol to *Hyaella azteca*, *Gammarus fasciatus*, and *Daphnia magna*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **18**:756-764
- 47- **Brasher A.M. et Ogle R.S. (1993)** Comparative toxicity of selenite and selenate to the amphipod *Hyaella azteca*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **24**:182-186
- 48- **Brent R.N. et Herricks E.E. (1998)** Postexposure effects of brief cadmium, zinc and phenol exposures on freshwater organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry* **17**:2091-2099
- 49- **Brooke L.T., Ankley G.T., Call D.J. et Cook P.M. (1996)** Gut content weight and clearance rate for three species of freshwater invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry* **15**:223-228
- 50- **Burton G.A.J. (1992)** Sediment collection and processing: factors affecting realism. In G. A. J. Burton (Eds). *Sediment toxicity assessment*, Lewis. Chelsea, MI, USA: 37-66
- 51- **Burton G.A.J. (1995)** Critical issues in sediment bioassays and toxicity testing. *Journal of Aquatic Ecosystem Health* **4**:151-156
- 52- **Burton G.A.J. et Mcpherson C. (1994)** Sediment toxicity testing issues and methods. In D. J. Hoffman, B. A. Rattner, G. A. Burton et J. J. Cairns (Eds). *Handbook of ecotoxicology*, Lewis. Boca Raton, FL, USA:
- 53- **Burton G.A.J., Stemmer B.L. et Burnett L.C. (1989)** A multitrophic level evaluation of sediment toxicity in Waukegan and Indiana Harbors. *Environmental Toxicology and Chemistry* **8**:1057-1066
- 54- **Call D.J., Polkinghorne C.N., Markee T.P., Brooke L.T., Geiger D.L., Gorsuch J.W. et Robillard K.A. (1999)** Silver toxicity to *Chironomus tentans* in two freshwater sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* **18**:30-39
- 55- **Calmano W. et Förstner U. (1996)** *Sediments and toxic substances*. Berlin, DEU, pp 335
- 56- **Chapman P.M., Wang F., Janssen C., Persoone G. et Allen H.E. (1998)** Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **55**:2221-2243
- 57- **Chappie D.J. et Burton G.A. (1997)** Optimization of *in situ* bioassays with *Hyaella azteca* and *Chironomus tentans*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **16**:559-564
- 58- **Chazal P. (1999)**. Evaluation de la toxicité de l'ammoniac sur un macro-invertébré d'eau douce : *Chironomus riparius* en fonction du stade larvaire et du temps d'exposition. 35
- 59- **Coffman W.P. (1978)** Chironomidae. In K. W. Merritt R.W. and Cummins (Eds). *In : An introduction to the aquatic insects of North America*, Kendall and Hunt Publishing Company. Cloha, USA: 345-376

- 60- Collyard S.A., Ankley G.T., Hoke R.A. et Goldenstein T. (1994) Influence of age on the relative sensitivity of *Hyalella azteca* to diazon, alkylphenol ethoxylates, copper, cadmium and zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry* **26**:110-113
- 61- Conlan K.E. (1994) Amphipod crustaceans and environmental disturbance: a review. *Journal of Natural History* **28**:519-554
- 62- Conrad A.U., Fleming R.J. et Crane M. (1999) Laboratory and field response of *Chironomus riparius* to a pyrethroid insecticide. *Water Research* **33**:1603-1610
- 63- Cushman R.M. (1984) Chironomid deformities as indicators of pollution from a synthetic, coal-derived oil. *Freshwater Biology* **14**:179-182
- 64- Day K.E., Kirby R.S. et Reynoldson T.B. (1994) Sexual dimorphism in *Chironomus riparius* (Meigen): impact on interpretation of growth in whole-sediment toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry* **13**:35-39
- 65- Day K.E., Kirby R.S. et Reynoldson T.B. (1995) The effect of manipulations of freshwater sediments on responses of benthic invertebrates in whole-sediment toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry* **14**:1333-1343
- 66- Day K.E. et Scott I.M. (1990) Use of acetylcholinesterase activity to detect sublethal toxicity in stream invertebrates exposed to low concentrations of organophosphate insecticides. *Aquatic Toxicology* **18**:101-114
- 67- De Bisthoven L.J., Postma J.F., Parren P., Timmermans K.R. et Ollevier F. (1998) Relations between heavy metals in aquatic sediments and in *Chironomus* larvae of Belgian lowland rivers and their morphological deformities. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **55**:688-703
- 68- De March B.G.E. (1981a) Essai sur la diminution de la reproduction et de la croissance chez l'amphipode *Hyalella azteca*.
- 69- De March B.G.E. (1981b) *Hyalella azteca* (Saussure) Introduction. In S. G. Lawrence (Eds). *Manual for the culture of selected freshwater invertebrates*, **54**. Can. Spec. Publ. Fisch Aquat. Sci. Canada: 62-77
- 70- Dermott R. (1978) Benthic diversity and substrate fauna associations in lake superior. *Journal of Great Lakes Research* **4**:505-512
- 71- DeWitt T.H., Swartz R.C. et Lamberson J.O. (1989) Measuring the acute toxicity of estuarine sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* **8**:1035-1048
- 72- Di Toro D.M., Zarba C.S., Hansen D.J., Berry W.J., Swartz R.C., Cowan C.E., Pavlou S.P., Allen H.E., Thomas N.A. et Paquin P.R. (1991) Technical basis for establishing sediment quality criteria for nonionic organic chemicals using equilibrium partitioning. *Environmental Toxicology and Chemistry* **10**:1541-1583
- 73- Dillon T.M. (1994) A paradigm for developing sediment toxicity bioassays for the regulatory evaluation of dredge material. *US Army Corps of Engineers. Washington:U.S.Army Corps of Engineers.D-94-4*,
- 74- Dodge E.E. et Theis T.L. (1979) Effect of chemical speciation on the uptake of copper by *Chironomus tentans*. *Environmental Science and Technology* **13**:1287-1288
- 75- Douglas W.S., McINTOSH A. et Clausen J.C. (1993) Toxicity of sediments containing Atrazine and Carbofuran to larvae of the midge *Chironomus tentans*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **12**:847-853

- 76- **Douville M. (1996)** Rapport sur les mesures terminales concernant *Hyaella azteca* et *Chironomus tentans*. *Analex*, Montréal, Canada.
- 77- **Environment Canada (1997a)** Biological test method. Test for growth and survival in sediment using larvae of freshwater midges (*Chironomus tentans* or *Chironomus riparius*). SPE 1/RM/32. *Environment Canada*, Ottawa, Ontario, Canada.
- 78- **Environment Canada (1997b)** Biological test method. Test for growth and survival in sediment using the freshwater amphipod *Hyaella azteca*. SPE 1/RM/33. *Environment Canada*, Ottawa, Ontario, Canada.
- 79- **EPA (1993)** Assessment and remediation of contaminated sediments (ARCS) programs. EPA-905-R93-006. *Great Lakes National Program Office*, Chicago, IL, USA.
- 80- **EPA (1994a)** Assessment and remediation of contaminated sediments (ARCS) program. EPA-905-B94-002. *Great Lakes National Program Office*, Washington, USA.
- 81- **EPA (1994b)** Evaluation of dredged material proposed for discharge in waters of the U.S. EPA-823-B-94-002. Testing Manual (Draft). *U.S. Environment Protection Agency*, Duluth, USA.
- 82- **EPA (1994c)** Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. EPA 600-R94-024. Duluth, USA.
- 83- **EPA (1997)** The incidence and severity of sediment contamination in surface waters of the United States. Volume 2. Data Summaries for areas of probable concern. EPA-823-R-97-007. *Epa*,
- 84- **Fargasova A. (1997)** Sensitivity of *Chironomus plumosus* larvae to  $V^{5+}$ ,  $Mo^{6+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ , and  $Cu^{+}$  metal ions and their combinations. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **59**:956-962
- 85- **Fisher D.J., Burton D.T., Yonkos L.T., Turley S.D. et Ziegler G.P. (1998)** The relative acute toxicity of continuous and intermittent exposures of chlorine and bromine to aquatic organisms in the presence and absence of ammonia. *Water Research* **33**:760-768
- 86- **Fleming R.J., Holmes D. et Nixon S.J. (1998)** Toxicity of Permethrin to *Chironomus riparius* in artificial and natural sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* **17**:1332-1337
- 87- **Förstner U. (1989)** *Contaminated sediments*. Berlin, Allemagne, pp 157
- 88- **France R.L. (1993)** Production and turnover of *Hyaella azteca* in central Ontario, Canada compared with other regions. *Freshwater Biology* **30**:343-349
- 89- **Fuchsman P.C., Barber T.R. et Sheehan P.J. (1998)** Sediment toxicity evaluation for hexachlorobenzene: spiked sediment tests with *Leptocheirus plumosus*, *Hyaella azteca*, and *Chironomus tentans*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **35**:573-579
- 90- **Garric J., Baligand M.P., Flammarion P., Gouy V., Montuelle B. et Roulier J.L. (1998)** Etude d'établissement de seuils de qualité pour les sédiments. *Agence de l'Eau Rhin-Meuse / Cemagref bea, ecotox*
- 91- **Gauss J.D., Woods P.E., Winner R.W. et Skillings J.H. (1985)** Acute toxicity of copper to three life stages of *Chironomus tentans* as affected by water hardness-alkalinity. *Environmental Pollution* **37**:149-157
- 92- **Gerhardt A. et Janssens D., Bisthoven, J. (1995)** Behavioural, developmental and morphological responses of *Chironomus gr thummi* larvae (Diptera, Chironomidae) to aquatic pollution. *Journal of Aquatic Ecosystem Health* **4**:205-214

- 93- **Giesy J.P., Graney R.L., Newsted J.L., Rosiu J.L., Benda A., Kreis R.G. et Horvath F.J. (1988)** Comparison of three sediment bioassay methods using Detroit River sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* **7**:483-498
- 94- **Giesy J.P., Rosiu J.L., Graney R.L. et Henry M.G. (1990)** Benthic invertebrate bioassays with toxic sediment and pore water. *Environmental Toxicology and Chemistry* **9**:233-248
- 95- **Green A.S., Chandler G.T. et Blood E.R. (1993)** Aqueous, pore water, and sediment phase cadmium: toxicity relationships for a meiobenthic copepod. *Environmental Toxicity and Chemistry* **12**:1497-1506
- 96- **Green D.W.J., Williams K.A. et Pascoe D. (1985)** Studies on the acute toxicity of pollutants to freshwater macroinvertebrates. 2. Phenol. *Archiv fur Hydrobiologie* **103**:75-82
- 97- **Green D.W.J., Williams K.A. et Pascoe D. (1986)** Studies on the acute toxicity of pollutants to freshwater macroinvertebrates. 4. Lindane (γ-Hexachlorocyclohexane). *Archiv fur Hydrobiologie* **106**:263-273
- 98- **Griffiths R.W. (1992)** Effects of pH on community dynamics of Chironomidae in a large river near Sudbury, Ontario. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **49**:76-86
- 99- **Groenendijk D., Zeinstra L.W.M. et Postma J.F. (1998)** Fluctuating asymmetry and mentum gaps in populations of the midge *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) from a metal-contaminated river. *Environmental Toxicology and Chemistry* **17**:1999-2005
- 100- **Hamburger K., Dall P.C. et Lindegaard C. (1995)** Effects of oxygen deficiency on survival and glycogen content of *Chironomus anthracinus* (Diptera, Chironomidae) under laboratory and field conditions. *Hydrobiologie* **297**:187-200
- 101- **Harkey G.A., Landrum P.F. et Klaine S. (1994a)** Preliminary studies on the effect of feeding during whole sediment bioassays using *Chironomus riparius* larvae. *Chemosphere* **28**:597-606
- 102- **Harkey G.A., Landrum P.F. et Klaine S.T. (1994b)** Comparison of whole sediment, elutriate and pore-water exposures for use in assessing sediment-associated organic contaminants in bioassays. *Environmental Toxicology and Chemistry* **13**:1315-1329
- 103- **Harraty E.A. et Clements W.H. (1997)** Toxicity and bioaccumulation of a mixture of heavy metals in *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae) in synthetic sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry* **16**:317-327
- 104- **Hatch A.C. et Burton G.A.J. (1999)** Photo-induced toxicity of PAHs to *Hyaella azteca* and *Chironomus tentans*: effects of mixtures and behavior. *Environmental Pollution* **106**:157-167
- 105- **Hirsch M.P. (1998)** Toxicity of silver sulfide-spiked sediments to the freshwater amphipod (*Hyaella azteca*). *Environmental Toxicology and Chemistry* **17**:601-604
- 106- **Hoke R.A., Ankley G.T., Cotter A.M., Goldenstein T., Kosian P.A., Phipps G.L. et Van Der M., F.M. (1994)** Evaluation of equilibrium partitioning theory for predicting acute toxicity of field-collected sediments contaminated with DDT,DDE and DDD to the amphipod *Hyaella azteca*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **13**:157-166
- 107- **Hoke R.A., Giesy J.P., Ankley G.T., Newsted J.L. et Adams J.R. (1990)** Toxicity of sediments from western Lake Erie and the Umee River at Toledo, Ohio, 1987: implications for current dredged material disposal practices. *Journal of Great Lakes Research* **16**:457-470

- 108- **Hoke R.A., Giesy J.P., Zabik M. et Unger M. (1993)** Toxicity of sediments and sediment pore waters from the Grand Calumet River-Indiana Harbor, Indiana Area of Concern. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **26**:86-112
- 109- **Hoke R.A., Kosian P.A., Ankley G.T., Cotter A.M. et Vandermeiden F.M. (1995)** Check studies with *Hyaella azteca* and *Chironomus tentans* in support of the development of a sediment quality criterion for Dieldrin. *Environmental Toxicology and Chemistry* **14**:435-443
- 110- **Huggett D.B., Gillespie W.B. et Rodgers J.H.J. (1999)** Copper bioavailability in Steilacoom Lake sediments. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **36**:
- 111- **Huuskonen S.E., Ristola T.E., Tuvikene A., Hahn M.E., Kukkonen J.V.K. et Lindström-Seppä P. (1998)** Comparison of two bioassays, a fish liver cell line (PLHC-1) and a midge (*Chironomus riparius*), in monitoring freshwater sediments. *Aquatic Toxicology* **44**:47-67
- 112- **Ibrahim H., Kheir R., Helmi S., Lewis J. et Crane M. (1998)** Effects of organophosphorus, Carbamate, pyrethroid and organochlorine pesticides, and a heavy metal on survival and cholinesterase activity of *Chironomus riparius* Meigen. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **60**:448-455
- 113- **Ineichen H., Meyer B. et Lezzi M. (1983)** Determination of the developmental stage of living fourth instar larvae of *Chironomus tentans*. *Developmental Biology* **98**:278-286
- 114- **Ingersoll C. (1995)** Feeding rate for the 10-D sediment toxicity test method with *Chironomus tentans*.
- 115- **Ingersoll C.G., Ankley G.T., Benoit D.A., Brunson E.L., Burton G.A., Dwyer F.J., Hoke R.A., Landrum P.F., Norberg-King T.J. et Winger P.W. (1995)** Toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants using freshwater invertebrates: a review of methods and applications. *Environmental Toxicology and Chemistry* **14**:1885-1894
- 116- **Ingersoll C.G., Brumbaugh W.G., Dwyer F.J. et Kemble N.E. (1994)** Bioaccumulation of metals by *Hyaella azteca* exposed to contaminated sediments from the upper Clark Fork River, Montana. *Environmental Toxicology and Chemistry* **13**:2013-2020
- 117- **Ingersoll C.G., Brunson E.L., Dwyer F.J., Hardesty D.K. et Kemble N.E. (1998)** Use of sublethal endpoints in sediment toxicity tests with the amphipod *Hyaella azteca*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **17**:1508-1523
- 118- **Ingersoll C.G., Dwyer F.J. et May T.W. (1990)** Toxicity of inorganic and organic selenium to *Daphnia magna* (Cladocera) and *Chironomus riparius* (Diptera). *Environmental Toxicology and Chemistry* **9**:1171-1181
- 119- **Ingersoll C.G., Haverland P.S., Brunson E.L., Canfield T.J., Dwyer F.J., Henke C.E., Kemble N.E. et Mount D.R. (1996)** Calculation and evaluation of sediment effect concentrations for the amphipod *Hyaella azteca* and the midge *Chironomus riparius*. EPA 905-R96-008. *United States Environmental Protection Agency*, Chicago, IL.
- 120- **Ingersoll C.G. et Nelson M.K. (1990)** Testing sediment toxicity with *Hyaella azteca* (Amphipoda) and *Chironomus riparius* (Diptera). In (Eds). *Aquatic Toxicology and Risk Assessment*, 93-109
- 121- **Kahl M.D., Makynen E.A., Kosian P.A. et Ankley G.T. (1997)** Toxicity of 4-nonyphenol in a life-cycle test with the midge *Chironomus tentans*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **38**:155-160

- 122- **Kemble N.E., Brumbaugh W.G., Brunson E.L., Dwyer F.J., Ingersoll C.G., Monda D.P. et Woodward D.F. (1994)** Toxicity of metal-contaminated sediments from the upper Clark Fork River, Montana, to aquatic invertebrates and fish in laboratory exposures. *Environmental Toxicology and Chemistry* **13**:1985-1997
- 123- **Kemble N.E., Brunson E.L., Canfield T.J., Dwyer F.J. et Ingersoll C.G. (1998)** Assessing sediment toxicity from navigational pools of the upper Mississippi river using a 28-day *Hyaella azteca* test. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **35**:181-190
- 124- **Kemble N.E., Dwyer F.J., Ingersoll C.G., Dawson T.D. et Norberg-King T.J. (1999)** Tolerance of freshwater test organisms to formulated sediments for use as control materials in whole-sediment toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry* **18**:222-230
- 125- **Khangarot B.S. et Ray P.K. (1989)** Sensitivity of midge larvae of *Chironomus tentans* Fabricius (Diptera, Chironomidae) to heavy metals. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **42**:
- 126- **Kosalwat P. et Knight A.W. (1987)** Chronic toxicity of copper to a partial life cycle of the midge *Chironomus decorus*. 283-290
- 127- **Kosalwat P. et Knight A.W. (1996)** Acute toxicity of aqueous and substrate-bound copper to the midge *Chironomus decorus*. *Archives of Environmental Toxicology* **16**:275-282
- 128- **Krantzberg G. (1989)** Metal accumulation by Chironomid larvae : the effects of age and body weight on metal body burdens. *Hydrobiology* **188-189**:497-506
- 129- **Krantzberg G. (1994)** Spatial and temporal variability in metal bioavailability and toxicity of sediment from Hamilton Harbour, Lake Ontario. *Environmental Toxicology and Chemistry* **13**:1685-1698
- 130- **Kubitz J.A., Besser J.M. et Giesy J.P. (1996)** A two-step experimental design for a sediment bioassay using growth of the amphipod *Hyaella azteca* for the test end point. *Environmental Toxicology and Chemistry* **15**:1783-1792
- 131- **Kubitz J.A. et Giesy J.P. (1996)** Changes in overlying water quality and sediment toxicity to *Hyaella azteca* during a 10-day sediment bioassay: static vs. renewal regiments. In M. Munawaret G. Dave (Eds). *Development and Progress in sediment Quality Assessment : Rationale, Challenge, Techniques and Strategies*, Amstredam, The Netherlands: 101-113
- 132- **Kubitz J.A., Lewek E.C., Besser J.M., Drake J.B. et Giesy J.P. (1995)** Effects of copper-contaminated sediments on *Hyaella azteca*, *Daphnia magna*, and *Ceriodaphnia dubia*: survival, growth, and enzyme inhibition. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **29**:97-103
- 133- **Lacey R., Watzin M.C. et McIntosh A.W. (1999)** Sediment organic matter content as a confounding factor in toxicity tests with *Chironomus tentans*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **18**:231-236
- 134- **Lasier P.J., Winger P.V. et Reinert R.E. (1997)** Toxicity of alkalinity to *Hyaella azteca*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **59**:807-814
- 135- **Leppanen M.T., Postma J.F., Groenendijk D., Kukkonen J.V.K. et Buckert-De J., M.C. (1998)** Feeding activity of midge larvae (*Chironomus riparius* Meigen) in metal-polluted river sediments. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **41**:251-257

- 136- **Liber K., Call D.J., Dawson T.D., Whiteman F.W. et Dillon T.M. (1996)** Effects of *Chironomus tentans* larval growth retardation on adult emergence and ovipositing success: implications for interpreting freshwater sediment bioassays. *Hydrobiologia* **323**:155-167
- 137- **Long E.R. et Morgan L.G. (1990)** Potential for biological effects of sediment-sorbed contaminants tested in the national status and trends program. NOAA/TM/NOS/OMA-52. *National Oceanic and Atmospheric Administration*, Springfield, USA.
- 138- **Lydy M.J., Bruner K.A., Fry D.M. et Fisher S.W. (1990a)** Effects of sediment and the route of exposure on the toxicity and accumulation of neutral lipophilic and moderately water-soluble metabolizable compounds in the midge, *Chironomus riparius*. *Aquatic Toxicology and Risk Assessment* **13**:140-164
- 139- **Lydy M.J., Lohner T.W. et Fisher S.W. (1990b)** Influence of pH, temperature and sediment type on the toxicity, accumulation and degradation of Parathion in aquatic systems. *Aquatic Toxicology* **17**:27-44
- 140- **Macchiusi F. et Baker R.L. (1992)** Effects of predators and food availability on activity and growth of *Chironomus tentans* (Chironomidae, Diptera). *Freshwater Biology* **28**:207-216
- 141- **Maclean R.S., Borgmann U. et Dixon D.G. (1996)** Bioaccumulation kinetics and toxicity of lead in *Hyalella azteca* (Crustacea, Amphipoda). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **53**:2212-2220
- 142- **Malchow D.E., Knight A.W. et Maier K.J. (1995)** Bioaccumulation and toxicity of selenium in *Chironomus decorus* larvae fed a diet of seleniferous *Selenastrum capricornutum*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **29**:104-109
- 143- **Mc Donald S.F., Hamilton S.J., Buhl K.J. et Heisinger J.F. (1997)** Acute toxicity of fire-retardant and foam-suppressant chemicals to *Hyalella azteca* (Saussure). *Environmental Toxicology and Chemistry* **16**:1370-1376
- 144- **Monda D.P., Galat D.L., Finger S.E. et Kaiser M.S. (1995)** Acute toxicity of ammonia (NH<sub>3</sub>-N) in sewage effluent to *Chironomus riparius*: II. Using a generalized linear model. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **28**:385-390
- 145- **Moore D.W., Dillon T.M. et Gamble E.W. (1995)** Long-term storage of sediments: implications for sediment toxicity testing. *Environmental pollution* **89**:147-154
- 146- **Moore T.M., Huggett D.B., Gillespie W.B., Rodgers J.H.J. et Cooper C.M. (1998)** Comparative toxicity of Chlordane, Chlorpyrifos, and Aldicarb to four testing organisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **34**:152-157
- 147- **Navlor C. et Howcroft J. (1997)** Sediment bioassays with *Chironomus riparius*: understanding the influence of experimental design on test sensitivity. *Chemosphere* **35**:1831-1845
- 148- **Naylor C. et Rodrigues C. (1995)** Development of a test method for *Chironomus riparius* using a formulated sediment. *Chemosphere* **31**:3291-3303
- 149- **Nebeker A.V., Cairns M.A., Gakstetter J.H., Malueg K.W., Schuytema G.S. et Krawczyk D.F. (1984a)** Biological methods for determining toxicity of contaminated freshwater sediments to invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry* **3**:617-630
- 150- **Nebeker A.V., Cairns M.A. et Wise C.M. (1984b)** Relative sensitivity of *Chironomus tentans* life stages to copper. *Environmental Toxicology and Chemistry* **3**:151-158

- 151- Nebeker A.V. et Miller C.E. (1988) Use of the amphipod crustacean *Hyalella azteca* in freshwater and estuarine sediment toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry* **7**:1027-1033
- 152- Nebeker A.V., Onjukka S.T. et Cairns M.A. (1988) Chronic effects of contaminated sediment on *Daphnia magna* and *Chironomus tentans*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **41**:574-581
- 153- Nebeker A.V., Onjukka S.T., Cairns M.A. et Krawczyk D.F. (1986) Survival of *Daphnia magna* and *Hyalella azteca* in cadmium-spiked water and sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry* **5**:933-938
- 154- Nebeker A.V., Onjukka S.T., Stevens D.G., Chappman G.A. et Diminguez S.E. (1992) Effects of low dissolved oxygen on survival, growth and reproduction of *Daphnia*, *Hyalella* and *Gammarus*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **11**:373-379
- 155- Nebeker A.V., Schuytema G.S., Griffis W.L., Barbitta J.A. et Carey L.A. (1989) Effect of sediment organic carbon on survival of *Hyalella azteca* exposed to DDT and Endrin. *Environmental Toxicology and Chemistry* **8**:705-718
- 156- Nelson M.K. et Brunson E.L. (1995) Postembryonic growth and development of *Hyalella azteca* in laboratory cultures and contaminated sediments. *Chemosphere* **31**:3129-3140
- 157- Novotny A.N. et Horne M.T. (1995) Optimisation of *Hyalella azteca* IQ TOXICITY TEST TM for prediction of 28-day sediment toxicity test.
- 158- OECD (1998) Guidelines for the testing of chemicals: chironomid toxicity test using spiked water. draft. *OECD*,
- 159- Pascoe D., Brown A.F., Evans B.M.J. et Mckavanagh C. (1990) Effects and fate of cadmium during toxicity tests with *Chironomus riparius* - the influence of food and artificial sediment. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **19**:872-877
- 160- Pascoe D., Williams K.A. et Green D.W.J. (1989) Chronic toxicity of cadmium to *Chironomus riparius* Meigen - effects upon larval development and adult emergence. *Hydrobiologia* **175**:109-115
- 161- Pennak R.W. (1978) *Invertebrates of the United States*. New York, USA, pp
- 162- Phipps G.L., Mattson V.R. et Ankley G.T. (1995) Relative sensitivity of three freshwater benthic macroinvertebrates to ten contaminants. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **28**:281-286
- 163- Pinder L.C.V. et Morley D.J. (1995) *Chironomidae as indicators of water quality - with a comparison of the chironomid faunas of a series of contrasting cumbrian tarns*. pp 271-293
- 164- Pittinger C.A., Woltering D.M. et Masters J.A. (1989) Bioavailability of sediment-sorbed and aqueous surfactants to *Chironomus riparius* (midge). *Environmental Toxicology and Chemistry* **8**:1023-1033
- 165- Postma J.F., Buckert-De J., M.C., Staats N. et Davids C. (1994) Chronic toxicity of cadmium to *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) at different food levels. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **26**:143-148
- 166- Postma J.F., Kyed M. et Admiraal W. (1995a) Site specific differentiation in metal tolerance in the midge *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae). *Hydrobiologia* **315**:159-165

- 167- **Postma J.F., Mol S., Larsen H. et Admiraal W. (1995b)** Life-cycle changes and zinc shortage in cadmium-tolerant midges, *Chironomus riparius* (Diptera), reared in the absence of cadmium. *Environmental Toxicology and Chemistry* **14**:117-122
- 168- **Postma J.F., Van Kleunen A. et Admiraal W. (1995c)** Alterations in life-history traits of *Chironomus riparius* (Diptera) obtained from metal contaminated rivers. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **29**:469-475
- 169- **Reynoldson T.B., Day K.E., Clarke C. et Milani D. (1994)** Effect of indigenous animals on chronic end-points in freshwater sediment toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry* **13**:973-977
- 170- **Ristola T., Pellinen J., Leppänen M. et Kukkonen J. (1995)** Characterisation of lake Ladoga sediments. I. Toxicity to *Chironomus riparius* and *Daphnia magna*. 1165-1178
- 171- **Ristola T., Pellinen J., Ruokolainen M., Kostamo A. et Kukkonen J.V.K. (1999)** Effect of sediment type, feeding level, and larval density on growth and development of a midge (*Chironomus riparius*). *Environmental Toxicology and Chemistry* **18**:756-764
- 172- **Salomons W. et Stigliani W.M. (1995)** *Biogeochemistry of pollutants in soils and sediments*. Berlin, Allemagne, pp 352
- 173- **Sankarperumal G. et Pandian T.J. (1992)** Larval abundance of *Chironomus circumdatus* in relation to biotic and abiotic factors. *Hydrobiology* **246**:205-212
- 174- **Schubauer-Berigan M.K. et Ankley G.T. (1991)** The contribution of ammonia, metals and non-polar organic compounds to the toxicity of sediment interstitial water from an Illinois river tributary. *Environmental Toxicology and Chemistry* **10**:925-939
- 175- **Schubauer-Berigan M.K. et Dierkes J.R. (1993)** pH-dependent toxicity of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn to *Ceriodaphnia dubia*, *Pimephales promelas*, *Hyalella azteca* and *Lumbriculus variegatus*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **12**:1261-1266
- 176- **Schubauer-Berigan M.K., Monson P.D., West C.W. et Ankley G.T. (1995)** Influence of pH on the toxicity of ammonia to *Chironomus tentans* and *Lumbriculus variegatus*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **14**:713-717
- 177- **Schuytema G.S., Nebeker A.V., Griffis W.L. et Miller C.E. (1989)** Effects of freezing on toxicity of sediments contaminated with DDT and Endrin. *Environmental Toxicology and Chemistry* **8**:883-891
- 178- **Sibley P.K., Ankley G.T., Cotter A.M. et Leonard E.N. (1996)** Predicting chronic toxicity of sediments spiked with zinc: an evaluation of the acid-volatile sulfide model using a life-cycle test with the midge *Chironomus tentans*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **15**:2102-2112
- 179- **Sibley P.K., Benoit D.A. et Ankley G.T. (1998)** Life cycle and behavioural assessments of the influence of substrate particle size on *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae) in laboratory assays. *Hydrobiologia* **361**:1-9
- 180- **Sibley P.K., Monson P.D. et Ankley G.T. (1997)** The effect of gut contents on dry weight estimates of *Chironomus tentans* larvae: implications for interpreting toxicity in freshwater sediment toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry* **16**:1721-1726
- 181- **Smith M.E., Lazorchak J.M., Herrin L.E., Brewer-Swartz S. et Thoeny W.T. (1997)** A reformulated, reconstituted water for testing the freshwater amphipod *Hyalella azteca*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **16**:1229-1233

- 182- **Smith S.L., Macdonald D.D., Keenleyside K.A., Ingersoll C.G. et Field L.J. (1996)** A preliminary evaluation of sediment quality assessment values for freshwater ecosystems. *Journal of Great Lakes Research* **22**:624-638
- 183- **Steevens J.A. et Benson W.H. (1998)** *Hyaella azteca* 10-Day sediment toxicity test: comparison of growth measurement endpoints. *Environmental Toxicology and Water Quality* **13**:243-248
- 184- **Stephenson M. et Mackie G.L. (1989)** Net cadmium flux in *Hyaella azteca* (Crustacea: Amphipoda) populations from five central Ontario Lakes. *The Science of the Total Environment* **87-88**:463-475
- 185- **Stephenson M. et Turner M.A. (1993)** A field study of cadmium dynamics in periphyton and in *Hyaella azteca* (Crustacea: Amphipoda). *Water Air and Soil Pollution Air*:341-361
- 186- **Strong D.R.J. (1972)** Life history variation among populations of an amphipod (*Hyaella azteca*). *Ecology* **53**:1103-1111
- 187- **Sturm A. et Hansen P.D. (1999)** Altered cholinesterase and monooxygenase levels in *Daphnia magna* and *Chironomus riparius* exposed to environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **42**:9-15
- 188- **Suedel B.C., Deaver E. et Rodgers J.H. (1996)** Formulated sediment as a reference and dilution sediment in definitive toxicity tests. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **30**:47-52
- 189- **Suedel B.C. et Rodgers J.H. (1994a)** Development of formulated reference sediments for freshwater and estuarine sediment testing. *Environmental Toxicology and Chemistry* **13**:1163-1175
- 190- **Suedel B.C. et Rodgers J.H. (1994b)** Responses of *Hyaella azteca* and *Chironomus tentans* to particles-size distribution and organic matter content of formulated and natural freshwater sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* **13**:1639-1648
- 191- **Suedel B.C. et Rodgers J.H. (1996)** Toxicity of fluoranthene to *Daphnia magna*, *Hyaella azteca*, *Chironomus tentans*, and *Stylaria lacustris* in water-only and whole sediment exposures. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **57**:132-138
- 192- **Suedel B.C., Rodgers J.H. et Deaver E. (1997)** Experimental factors that may affect toxicity of cadmium to freshwater organisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **33**:188-193
- 193- **Suedel B.C., Rodgers J.H.J. et Clifford P.A. (1993)** Bioavailability of fluoranthene in freshwater sediment toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry* **12**:155-165
- 194- **Swartz R.C., Cole F.A., Lamberson J.O., Ferraro S.P., Schults D.W., Deben W.A., II H.L. et Ozretich R.J. (1994)** Sediment toxicity, contamination and amphipod abundance at a DDT and Dieldrin-contaminated site in San Francisco Bay. *Environmental Toxicology and Chemistry* **13**:949-962
- 195- **Tachet H., Bournaud M. et Richoux P. (1980)** *Introduction à l'étude des macroinvertébrés des eaux douces*. Université de Lyon I. Lyon, pp 154
- 196- **Taylor E.J., Blockwell S.J., Maund S.J. et Pascoe D. (1993)** Effects of Lindane on the life-cycle of a freshwater macroinvertebrate *Chironomus riparius* Meigen (Insecta: Diptera). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **24**:145-150

- 197- **Taylor E.J., Maund S.J. et Pascoe D. (1991a)** Evaluation of a chronic toxicity test using growth of the insect *Chironomus riparius* Meigen. In D. W. Jeffrey et B. Madden (Eds). *Bioindicators and environmental management*, Academic Press. London, GB: 343-352
- 198- **Taylor E.J., Maund S.J. et Pascoe D. (1991b)** Toxicity of four common pollutants to the freshwater macroinvertebrates *Chironomus riparius* Meigen (Insecta: Diptera) and *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **21**:371-376
- 199- **Thomas E.P., Blinn D.W. et Keim P. (1994)** A test of an allopatric speciation model for congeneric amphipods in an isolated aquatic ecosystem. *Journal of North American Benthological Society* **13**:100-109
- 200- **Timmermans K.R., Peeters W. et Tonkes M. (1992)** Cadmium, zinc, lead and copper in *Chironomus riparius* (Meigen) larvae (Diptera : Chironomidae); uptake and effects. *Hydrobiology* **241**:119-134
- 201- **Tokeshi M. (1995)** species interactions and community structure. In P. Armitage, P. S. Cranston et L. C. V. Pinder (Eds). *The Chironomidae*, Chapman & Hall. London, UK: 297-335
- 202- **Tomasovic M.J., Dwyer F.J., Greer I.E. et Ingersoll C.J. (1995)** Recovery of known-age *Hyalella azteca* (Amphipoda) from sediment toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry* **14**:1177-1180
- 203- **Townsend B.E., Lawrence J.R. et Flannagan J.F. (1981)** *Chironomus tentans* (Fabricius) Introduction. In S. G. Lawrence (Eds). *Manual for the culture of selected freshwater invertebrates*, **54**. Can. Spec. Publ. Fish Aquat. Sci. Canada: 110-126
- 204- **Urk G.V., Kerkum F.C.M. et Smit H. (1992)** Life cycle patterns, density, and frequency of deformities in *Chironomus* larvae (Diptera :Chironomidae) over a contaminated sediment gradient. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **49**:2291-2299
- 205- **Van De Bund W.J. et Davids C. (1993)** Complex relations between freshwater macro- and meiobenthos : interactions between *Chironomus riparius* and *Chydorus piger*. *Freshwater Biology* **29**:1-6
- 206- **Van Der Zandt P., Heinis F. et Kikkert A. (1996)** Effects of narcotic industrial pollutants on behaviour of midge larvae (*Chironomus riparius* Meigen, Diptera): a quantitative structure-activity relationship. *Aquatic Toxicology* **28**:209-221
- 207- **Vermeulen A.C., Dall P.C., Lindegaard C., Ollevier F. et Goddeeris B. (1998)** Improving the methodology of chironomid deformation analysis for sediment toxicity assessment: a case study in three Danish lowland streams. *Archiv fur Hydrobiologie* **144**:103-125
- 208- **Warren L.A., Teissier A. et Hare L. (1998)** Modelling cadmium accumulation by benthic invertebrates *in situ*: the relative contributions of sediment and overlying-water reservoirs to organism cadmium concentrations. *Limnology and Oceanography* **43**:1442-1454
- 209- **Warwick W.F. (1985)** Morphological abnormalities in Chironomidae (Diptera) larva as measures of toxic stress in freshwater ecosystems: indexing antennal deformities in *Chironomus riparius* Meigen. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **42**:1881-1914
- 210- **Watts M.M. et Pascoe D. (1996)** Use of the freshwater macroinvertebrate *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) in the assessment of sediment toxicity. *Water Science and Technology* **34**:101-107

- 211- **Watzin M.C., Roscigno P.F. et Burke W.D. (1994)** Community level field method for testing the toxicity of contaminated sediments in estuaries. *Environmental Toxicology and Chemistry* **13**:1187-1193
- 212- **Wellborn G.A. (1994a)** The mechanistic basis of body size differences between two *Hyalella* (Amphipoda) species. *Journal of Freshwater Ecology* **9**:159-168
- 213- **Wellborn G.A. (1994b)** Size-biased predation and prey life histories: a comparative study of freshwater amphipod populations. *Ecology* **75**:2104-2117
- 214- **Wentzel R., McIntosh A. et Atchinson G. (1977a)** Sublethal effects of heavy metal contaminated sediments on midge larvae (*Chironomus tentans*). *Hydrobiologia* **56**:153-156
- 215- **Wentzel R., McIntosh A. et McCafferty W.P. (1978)** Emergence of the midge *Chironomus tentans* when exposed to heavy metal contaminated sediment. *Hydrobiologia* **57**:195-196
- 216- **Wentzel R., McIntosh A., McCafferty W.P., Atchinson G. et Anderson V. (1977b)** Avoidance response of midge larvae (*Chironomus tentans*) to sediments containing heavy metals. *Hydrobiologia* **55**:171-175
- 217- **Whiteman F.W., Ankley G.T., Khal M.D., Rau D.M. et Balcer M.D. (1996)** Evaluation of interstitial water as a route of exposure for ammonia in sediment tests with benthic macroinvertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry* **15**:794-801
- 218- **Wildi E., Nagel R. et Steinberg C.E.W. (1994)** Effects of pH on the bioconcentration of pyrene in the larval midge, *Chironomus riparius*. *Water Research* **28**:2553-2559
- 219- **Williams K.A., Green D.W.J., Pascoe D. et Gower D.E. (1986)** The acute toxicity of cadmium to different larval stages of *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) and its ecological significance for pollution regulation. *Oecologia* **70**:362-366
- 220- **Williams K.A., Green D.W.J., Pascoe D. et Gower D.E. (1987)** Effect of cadmium on oviposition and egg viability in *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **38**:86-90
- 221- **Winnell M.H. et Jude D.J. (1984)** Associations among Chironomidae and sandy substrates in nearshore lake Michigan. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **41**:174-179
- 222- **Young L.B. et Harvey H.H. (1991)** Metal concentrations in Chironomids in relation to the geochemical characteristics of surficial sediments. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **21**:202-211



## **ANNEXE 2 : synthèse bibliographique sur *Hydra attenuata*.**

<i>Hydra attenuata.</i>
-------------------------

Cette annexe présente quelques données sur la biologie, l'écologie et la sensibilité des hydres ainsi que sur leur culture et leur utilisation dans l'évaluation de la qualité des eaux. Elle est une base utile pour la discussion des résultats obtenus dans le cadre de cette thèse.

<b>1. LA BIOLOGIE ET L'ÉCOLOGIE DE CET ORGANISME .....</b>	<b>2</b>
1.1. LA TAXONOMIE .....	2
1.2. LA MORPHOLOGIE ET LE CYCLE DE VIE .....	2
1.3. L'ÉCOLOGIE ET LE COMPORTEMENT DES HYDRES .....	4
<b>2. LA CULTURE D'<i>HYDRA ATTENUATA</i> .....</b>	<b>4</b>
<b>3. <i>HYDRA ATTENUATA</i> DANS LES BIOESSAIS .....</b>	<b>6</b>
3.1. INTÉRÊT DE CE BIOESSAI .....	6
3.2. LES CRITÈRES D'EFFET .....	6
<b>4. SENSIBILITÉ DE <i>HYDRA ATTENUATA</i> VIS À VIS DE QUELQUES CONTAMINANTS ET D'ÉCHANTILLONS NATURELLEMENT CONTAMINÉS .....</b>	<b>8</b>
<b>5. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>12</b>

<i>Hydra attenuata.</i>
-------------------------

## 1. La biologie et l'écologie de cet organisme

### 1.1. La taxonomie

D'après la clé de détermination des invertébrés, les hydres, micro-invertébrés carnivores d'eau douce appartenant au phylum des coelentérés, font partie de l'embranchement des Cnidaires de la famille des Hydridae et du genre *hydra* sp. (Grayson, 1971; Lenhoff, 1983; Tachet *et al.*, 1980).

*Hydra attenuata*, l'hydre que nous utilisons pour les bioessais, est synonyme d'*H. vulgaris* mais *H. attenuata* a la préséance taxonomique (Fu *et al.*, 1991a). Une identification du groupe est possible sur la base de l'origine géographique, et l'espèce se détermine en fonction de critères tels que la présence ou l'absence d'algues symbiotiques, la disposition des tentacules et la morphologie des nématocystes<sup>a</sup>.

### 1.2. La morphologie et le cycle de vie

Les hydres sont des polypes tubulaires, nus, solitaires, de quelques millimètres (5-10 mm de long pour 0,3 -1 mm de large), avec parfois quelques individus en bourgeonnement (Figure 1). Ces organismes sont généralement de teinte blanchâtre mais certains développent une couleur verte suite à la formation d'un symbiote avec des algues (groupe *viridissima*) (Lenhoff, 1983).

La partie apicale de l'hydre, appelée hydrante<sup>b</sup>, est constituée d'un hypostome surmonté d'une couronne de tentacules fins, parfois contractés, autour de l'orifice buccal (Figure 1). Sous l'hydrante, la colonne se décompose en région gastrique, zone de bourgeonnement, pédoncule et disque basal (aussi appelé sole pédieuse) qui sécrète un mucus permettant l'adhésion de l'hydre au substrat (Lenhoff, 1983).

---

<sup>a</sup> Nématocyste : vésicule urticante des coelentérés, contenant un filament enroulé en forme de harpon.

<sup>b</sup> Hydrante : zone de l'hydre correspondant à la tête et comprenant les tentacules et l'hypostome.

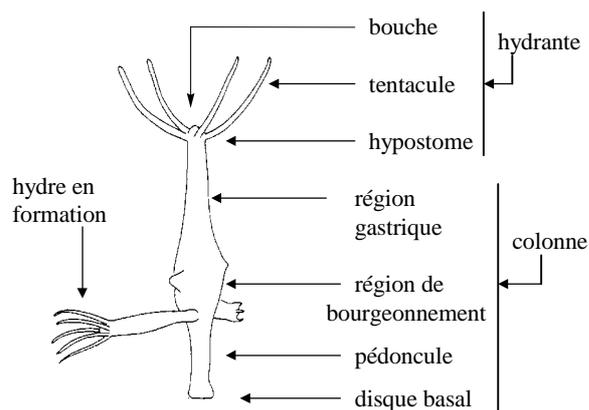


Figure 1 : Schéma général d'une hydre, d'après Lenhoff (1983).

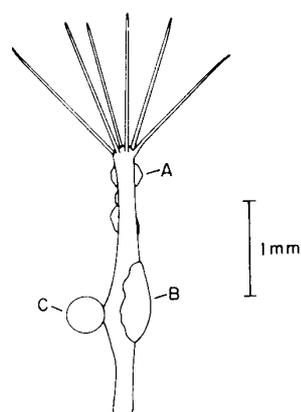


Figure 2 : Schéma d'une hydre durant sa reproduction sexuée, d'après Slobodkin et Bossert (1991). Gonade mâle (A), gonade femelle (B) et œuf (C).

La reproduction des hydres est principalement asexuée et, en conditions favorables, les hydres se multiplient par bourgeonnement (Figure 1). Dans de mauvaises conditions environnementales, les hydres développent, pour la reproduction sexuée, des gonades le long de la région gastrique par spécialisation de certaines cellules de l'ectoderme (Figure 2). Les testicules (apparaissant comme une protubérance bulbée translucide) se situent sous l'hypostome et l'oocyte (apparaissant comme un amas distendu de cellules épithéliales) se situe vers la région de bourgeonnement (Lesh-Laurie, 1982). L'hydre *H. attenuata* est gonochorique<sup>a</sup>. La reproduction asexuée redevient le mode de reproduction prédominant dès que les conditions s'améliorent.

Les hydres sont des organismes diploblastiques<sup>b</sup> (Figure 3). La couche externe (ectoderme) est constituée de cellules protectrices, sensorielles et prédatrices. Ce dernier type de cellules, les nématocystes (cnidoblastes), est caractéristique du phylum des *Coelentérés*. La couche interne (endoderme) est constituée de cellules actives dans la digestion. Les deux couches cellulaires possèdent des fonctions contractiles ou musculaires permettant à l'organisme de se déplacer et des cellules nerveuses permettant à l'hydre de coordonner ses mouvements. Ces deux épithélia sont séparés par une mince couche acellulaire, la mésogée.

L'hydre possède une totipotence cellulaire. Mutilée ou décapitée, elle peut régénérer ses parties manquantes et donner naissance à de nouveaux individus (Bode *et al.*, 1978).

<sup>a</sup> Gonochorique : espèce dont les gamètes mâles et femelles sont produits par des individus distincts.

<sup>b</sup> Diploblastique : se dit d'un organisme constitué de deux couches de cellules. Les principaux embranchements diploblastiques sont les spongiaires, les cnidaires et les cténaires.

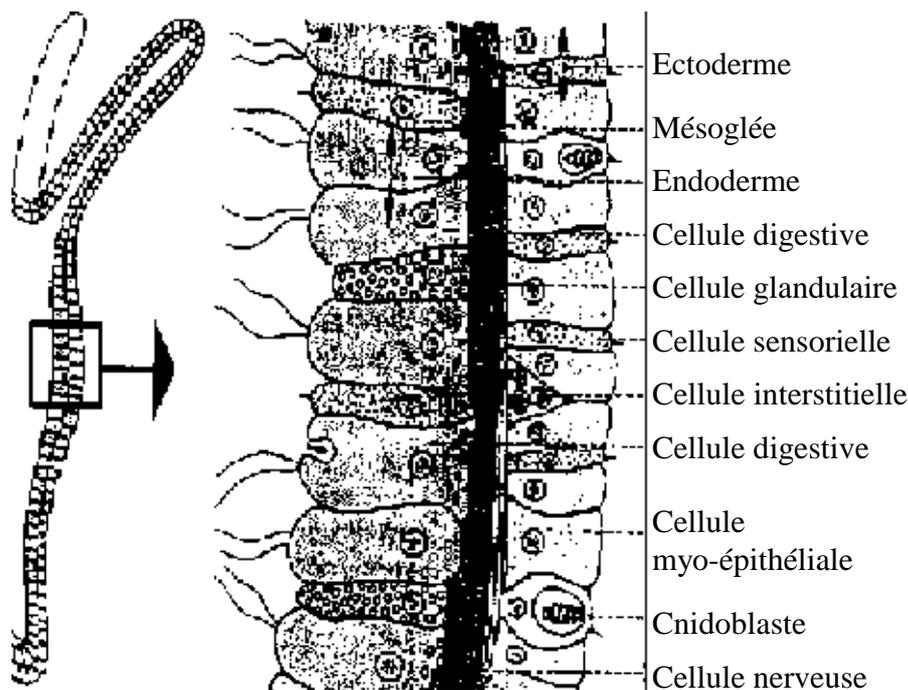


Figure 3 : Coupe longitudinale de la paroi d'une hydre.

### 1.3. L'écologie et le comportement des hydres

L'hydre peuple principalement les eaux lenticules, pas ou peu polluées et peu profondes. Elle peut se détacher de son substrat et se laisser dériver dans le courant si les conditions deviennent défavorables (manque de nourriture, surpopulation,...) pour aller se fixer à la surface de sédiments, de rochers ou de débris végétaux.

L'hydre est carnivore, elle se nourrit exclusivement de petits métazoaires, qu'elle paralyse à l'aide de ses nématocystes et qu'elle porte à son orifice buccal avec ses tentacules.

## 2. La culture d'*Hydra attenuata*

Les hydres sont maintenues dans des récipients d'élevage en matériaux non toxiques (verre, acrylique, polyéthylène, polypropylène...) et des systèmes d'élevage peuvent être conçus pour obtenir de fortes densités d'hydres (Lenhoff, 1983). Les conditions d'élevage préconisées (Trottier, 1995) sont de 16 heures de lumière et de 8 heures d'obscurité à une température de  $20 \pm 3$  °C, avec une alimentation à base d'artémies (*Artemia salina*).

Le taux de croissance de la population d'hydres (Tableau 1) peut être estimé à partir de 5 hydres de même taille possédant un jeune bourgeon. A T=0, ces 5 hydres correspondent à 10 hydrantes (5 adultes et 5 bourgeons). Les hydres sont nourries tous les jours sur une période de 5 ou 6 jours et le taux de croissance ( $k$ ) est calculé par la formule suivante (Trottier *et al.*, 1997a) :

$$k = (\ln 2) / T = 0,693 / T \text{ avec } T \text{ temps en jour nécessaire à la population pour doubler}$$

Ce taux de croissance varie généralement entre 0,3 et 0,4 pour *H. attenuata* (Trottier, 1995). Dans notre laboratoire ce taux est de 0,24 ce qui correspond à un temps moyen de doublement de la population de 2,9 jours.

Tableau 1 : Présentation de quelques données sur la croissance des hydres d'après Lenhoff et Brown (1970).

	Temps de doublement T	taux de croissance k
<i>Pelmatohydra pseudoligactis</i>	2,40	0,288
<i>P. oligactis</i>	1,98	0,350
<i>Hydra pirardi</i>	3,50	0,198
<i>H. viridissima</i>	1,20	0,577
<i>H. littoralis</i>	1,73	0,400

Le taux d'alimentation peut avoir un effet sur le taux de croissance de la population d'hydres. En effet, le nombre d'artémies disponible influence directement la croissance de *H. attenuata* : en présence d'1 artémia par jour (ou moins) les hydres cessent de bourgeonner et plus le nombre d'artémies augmente, plus l'hydre va croître et bourgeonner (Otto et Campbell, 1977). D'après ces résultats, nous recommandons de nourrir les hydres avec un apport journalier de 8 à 12 artémies/hydre, ce qui permet un doublement de la population en 3-4 jours.

La qualité du milieu de culture est très importante, car les hydres sont des organismes simples, dont la moitié des cellules épithéliales sont en contact direct avec le milieu environnant. Le milieu d'élevage doit être de composition ionique définie et exempt de contaminant. Des problèmes d'élevage ont été mis en évidence dans des milieux contenant des ions métalliques (cuivre et autres) ou présentant de fortes variations de leur composition (Lenhoff, 1983). En conditions d'élevage normales (milieu propre et exempt de contaminants), le taux de bourgeonnement des hydres est proportionnel à la quantité de nourriture. Mais le taux de bourgeonnement peut diminuer, même si l'apport de nourriture est suffisant, pour peu que le récipient d'élevage soit sale, qu'il contienne des détritiques et des rejets de nourriture des hydres (Bode *et al.*, 1978). Le nettoyage des hydres et des récipients d'essais est donc très important pour maintenir un élevage de qualité.

La morphologie des hydres n'est pas affectée par des pH variant de 5,5 à 9,5 et les embryons se développent normalement entre pH 6,25 et 8,25. Les hydres sont donc utilisables pour évaluer les qualités d'eaux dans une gamme de pH naturel assez large (Fu *et al.*, 1991a). De plus les embryons d'hydre et les hydres adultes supportent sans montrer de signes d'intoxication des duretés allant respectivement de 250 mg CaCO<sub>3</sub>/L à 750 mg CaCO<sub>3</sub>/L. Les stades désagrégés ou tulipe (traduisant la mortalité) s'observent à des duretés de 625 et 1000 mg CaCO<sub>3</sub>/L (Fu *et al.*, 1991a). Mais une salinité de 5 ppt est létale pour les hydres et ce n'est donc pas un organisme utilisable pour l'étude d'échantillons d'eau de mer ou saumâtre (Fu *et al.*, 1991a).

Différentes compositions ont été proposées pour le milieu d'élevage des hydres (Lenhoff, 1983; Lenhoff et Brown, 1970; Lesh-Laurie, 1982; Trottier, 1995). De manière générale ces solutions sont tamponnées et contiennent des agents chélatants et du calcium. Il arrive que des agents antibactériens (rifampicine,...) soient introduits dans le milieu d'élevage en faible quantité pour prévenir les problèmes de développement bactérien (Lesh-Laurie, 1982). De plus la présence de potassium semble indispensable à la reproduction asexuée des hydres. Cet apport peut se faire par le milieu de culture ou via la nourriture (Epp et Koblick, 1977).

### 3. *Hydra attenuata* dans les bioessais

#### 3.1. Intérêt de ce bioessai

Tout d'abord utilisée pour des essais de tératogénicité (Fu *et al.*, 1991b), l'hydre *H. attenuata* (groupe *vulgaris*), espèce que nous utilisons dans nos bioessais (Trottier, 1995), est un organisme d'essai intéressant car :

- elle est ubiquiste,
- sa manipulation est aisée, ses conditions d'élevage sont simples et son taux de reproduction est rapide, ce qui permet de réaliser un bioessai sur une période d'exposition de 96h,
- sa réponse sur une exposition de 96h est corrélée à la réponse de *H. azteca* exposée 14j à des sédiments bruts pluricontaminés (Cote *et al.*, 1998a),
- sa taille permet d'étudier de petits volumes,
- selon le degré d'intoxication, les changements morphologiques de l'hydre peuvent traduire des effets sublétaux,
- sa structure primaire permet un contact direct avec le milieu aqueux environnant, sa taille est de l'ordre du centimètre et elle possède une capacité de régénération.

L'ensemble de ces caractéristiques permet au bioessai hydre d'être réalisé avec de faibles volumes, sur une durée d'exposition brève et d'offrir un rapport coût / efficacité intéressant.

#### 3.2. Les critères d'effet

L'essai hydre permet d'évaluer les effets toxiques létaux, sublétaux et tératogènes de contaminants (Trottier, 1995; Trottier *et al.*, 1997b). Les paramètres d'effet, basés sur l'observation de changements morphologiques chez l'adulte ou sur le développement d'embryons artificiels sont la concentration létale (CL<sub>50</sub>), la concentration seuil d'effet (CSE) et l'indice de tératogénicité (IT).

La Figure 4 présente une hydre normale et la Figure 5 les différents états morphologiques que peut adopter une hydre selon son degré d'intoxication. Les organismes dont la désignation morphologique correspond au stade tulipe ou désagrégé (c et d) sont considérés comme non viables et sont pris en compte dans l'estimation de la CL<sub>50</sub>, les individus dont la désignation morphologique correspond au stade bulbé ou court (a et b) sont considérés comme intoxiqués. La concentration seuil d'effet (CSE) est la moyenne géométrique de la concentration pour laquelle plus de 50% des individus sont normaux, et de la concentration minimale pour laquelle plus de 50% des individus sont intoxiqués (Trottier, 1997).

L'indice de tératogénicité (IT) ou ratio adulte/embryon (A/D) correspond au ratio entre la concentration minimale avec effet sur les adultes (A) et la concentration minimale avec effet sur les embryons en cours de développement (D). Un composé n'est pas tératogène avec l'essai hydre si la substance testée affecte le développement embryonnaire à une concentration proche de celle de la dose toxique chez l'adulte (IT ≈ 1). Plus l'indice IT est élevé, plus la substance possède la capacité d'interrompre le développement embryonnaire sans affecter l'organisme adulte (un ratio A/D égal ou supérieur à 3 présuppose la capacité d'un toxique à retarder ou interrompre le processus de formation de l'embryon). A l'inverse un IT inférieur à 1 traduit une plus grande sensibilité de l'adulte à la substance testée (Trottier, 1997). Bien que les concentrations nécessaires à l'apparition d'un effet sur

l'hydre ne prédit pas de manière fiable l'effet sur les mammifères, les ratios A/D dérivés de l'hydre sont fortement corrélés à ceux obtenus *in vivo* sur les mammifères (Fu *et al.*, 1991a).

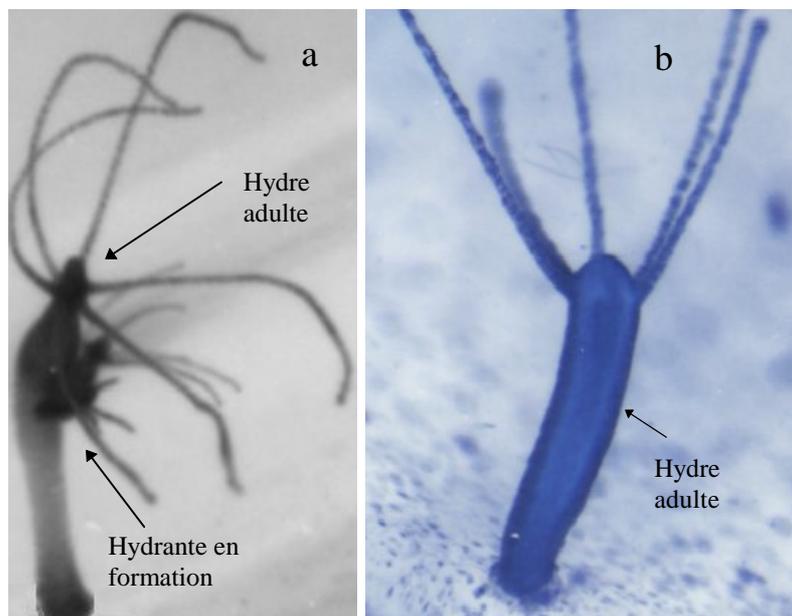


Figure 4 : Hydres normales (photographies, Vollat B., Cemagref, Equipe Ecotoxicologie, Lyon). Hydre bourgeonnante avec deux hydres bourgeonnantes (a) et hydre sans bourgeon (b).

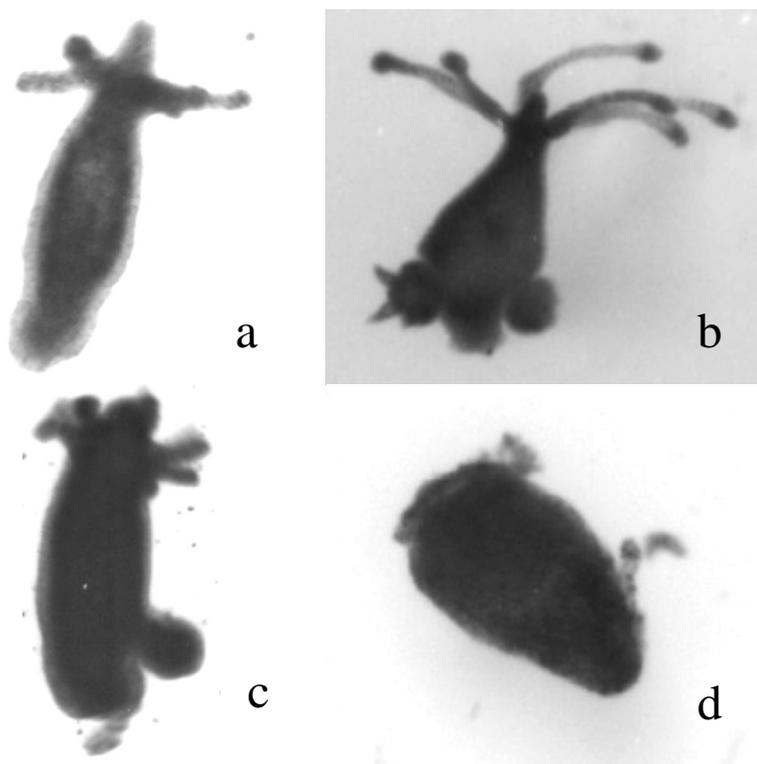


Figure 5 : Différents niveaux d'intoxication d'une hydre : stade court (a), stade bulbé (b), stade tulipe (c) et stade désagrégé (d) (photographies, Vollat B., Cemagref, Lyon.).

#### 4. Sensibilité de *Hydra attenuata* vis à vis de quelques contaminants et d'échantillons naturellement contaminés

En raison de ses caractéristiques, l'hydre a permis de caractériser le comportement de différentes populations cellulaires (Bode *et al.*, 1973; Bode *et al.*, 1978), d'étudier les processus de morphogenèse (Otto et Campbell, 1977) et de symbiose (Lenhoff, 1983). L'hydre est largement utilisée pour évaluer les mécanismes de communication entre cellules (Lesh-Laurie, 1982) et les effets tératogènes de nombreuses molécules, et Larno (Larno, 1999) a récemment proposé d'appliquer l'essai des comètes<sup>a</sup> à l'hydre pour évaluer la génotoxicité de certaines molécules métalliques et organiques. L'utilisation de l'hydre dans des bioessais pour détecter la toxicité de molécules ou d'échantillons naturels, vis à vis d'organismes adultes, est assez récente et encore peu développée. Nous exposons ci-dessous quelques résultats existant sur le sujet.

Les études sur la sensibilité des hydres selon la typologie des contaminants sont encore contradictoires.

Des études sur la capacité de bourgeonnement (reproduction asexuée) ou sur l'intégrité membranaire des hydres ont confirmé la sensibilité de ces organismes aux contaminants (PCBs, pesticides, détergents, cuivre) (Adams et Haileselassie, 1984; Benson et Boush, 1983; Bode *et al.*, 1978; Stebbing et Pomroy, 1978). D'après Bode *et al.* (1978), qui ont étudié le taux de bourgeonnement et la survie d'hydres exposées trois semaines à des détergents (tensioactifs), l'hydre est très utile pour contrôler les effets potentiellement toxiques de ces molécules dans l'environnement. Les effets de ces molécules sur l'hydre sont très rapides et très visibles. Les 24 tensioactifs testés (appartenant aux trois groupes majeurs : tensioactifs non ioniques, sulfobétaïnes et tensioactifs anioniques) ont le même effet : ils perturbent l'intégrité membranaire, entraînant une lyse cellulaire<sup>b</sup> (Bode *et al.*, 1978).

Bien que Cote *et al.* (1998a) montrent une corrélation de la réponse des bioessais hydre avec les concentrations en contaminants organiques (HAPs) il semblerait que, de manière générale, l'hydre soit moins sensible aux composés organiques que d'autres espèces d'invertébrés et ne puisse être considérée comme un modèle de sensibilité vis à vis de ces substances (Bonneris, 1999; Pollino et Holdway, 1999). Elle aurait tendance à accumuler les molécules organiques hydrophobes au niveau de sa structure lipidique et serait incapable de métaboliser les HAPs (Fu *et al.*, 1994).

D'un autre côté, l'hydre semble au moins aussi sensible que d'autres invertébrés aux éléments métalliques (Tableau 2) (Beach et Pascoe, 1998; Pollino et Holdway, 1999; Trottier et Blaise, 1997) mais, dans une étude sur la toxicité d'eaux interstitielles contaminées, Cote *et al.* (1998a) n'observent pas de corrélation entre la réponse des bioessais hydre et les concentrations en contaminants métalliques. Cette absence de corrélation peut être imputable à la présence de phases de piégeage dans l'eau interstitielle car seuls les organismes exposés à la phase sédimentaire totale montrent une

---

<sup>a</sup> Technique permettant de quantifier les dommages à l'ADN dans des cellules isolées, incluses dans de l'agarose et lysées pour assurer un déroulement partiel de l'ADN lors de la réalisation d'une électrophorèse. Durant l'électrophorèse, les fragments d'ADN relaxés migrent en dehors du nucléoïde et l'image observée a l'apparence d'une comète ce qui a donné le nom à cet essai.

<sup>b</sup> Les concentrations létales coïncident avec une tension de surface de  $49 \pm 4$  dynes/c. La gamme de concentration testée va de 2 à  $2 \times 10^{-5}$  mM.

corrélation avec la charge métallique (*C. riparius*, *H. azteca*, *E. coli*), aucune des réponses observées sur des organismes exposés à l'eau interstitielle (*D. magna*, *T. platyurus*, *B. calicyflorus*, *V. fischeri*, *H. attenuata*) n'est corrélée avec les concentrations en métaux présentes dans les eaux interstitielles. De plus le milieu hydre utilisé dans cette étude pour diluer les échantillons d'eau interstitielle contient de l'EDTA qui est un complexant connu des métaux.

Les hydres ont aussi été utilisées pour étudier la toxicité de mélanges complexes comme des eaux naturelles (Fu *et al.*, 1991a), des effluents miniers, urbains ou industriels (Blaise et Kusui, 1997; Fu *et al.*, 1994; Rippon *et al.*, 1994; Trottier, 1997; Trottier *et al.*, 1997a) et des eaux interstitielles (Cote *et al.*, 1998a; Cote *et al.*, 1998b). Tous ces auteurs confirment que le bioessai hydre fonctionne bien avec des échantillons d'eau naturelle et qu'il est sensible. Il faut cependant être prudent dans l'interprétation de bioessais hydre portant sur des eaux naturelles contaminées et s'assurer que la toxicité observée n'est pas imputable aux contaminants naturels. En effet, Cote *et al.* (1998a) ont montré une corrélation de la réponse des bioessais hydre avec les concentrations en contaminants naturels (NH<sub>3</sub>, AVS,...) présents dans les eaux interstitielles et Rippon *et al.* (1994) confirment la sensibilité des hydres à l'ammoniac.

Tableau 2 : Comparaison des  $CL_{50}$  de quelques métaux pour des espèces utilisées dans des bioessais. Les concentrations létales médianes ( $CL_{50}$ ) portent sur des tests 96 h sauf les bioessais daphnie et *H. oligactis* (48h) et Microtox® (15min).

Toxique	Organisme	Stade de vie	CL50 (mg/L)	Source
Arsenic				
• arsénite	<i>Hydra attenuata</i>	adulte	4,5-5,5	<i>Cemagref</i>
	<i>Daphnia magna</i>	adulte	6,6	(Burton <i>et al.</i> , 1987)
• arséniate	<i>Hydra attenuata</i>	adulte	15	<i>Cemagref</i>
	<i>Daphnia magna</i>	adulte	7,4	(Burton <i>et al.</i> , 1987)
Cadmium				
	<i>Gammarus pulex</i>	adulte	0,02	(Beach et Pascoe, 1998)
	<i>Daphnia magna</i>	adulte	0,041-1,90	(Trottier et Blaise, 1997)
	<i>Hydra attenuata</i>	polype	0,12	(Beach et Pascoe, 1998)
	<i>Hydra oligactis</i>	polype	0,76	(Trottier et Blaise, 1997)
	<i>Hydra attenuata</i>	polype	1,50	(Trottier et Blaise, 1997)
	Microtox®	NR	16,50-34,70	(Slooff <i>et al.</i> , 1983)
	<i>Onchorynchus mykiss</i>	NR	2,16	(Beach et Pascoe, 1998)
	<i>Chironomus riparius</i>	4 <sup>ème</sup> stade	54,00	(Pascoe <i>et al.</i> , 1989)
Chrome				
	<i>Hydra attenuata</i>	polype	0,04	(Trottier et Blaise, 1997)
	<i>Daphnia magna</i>	adulte	0,16	(Fargasova, 1994)
	Microtox®	NR	16,00-340,00	(Trottier et Blaise, 1997)
Cuivre				
	<i>Gammarus pulex</i>	juvénile	0,04	(Taylor <i>et al.</i> , 1991)
	<i>Daphnia magna</i>	jeune	0,04	(Vollat, communication personnelle)
	<i>Hydra attenuata</i>	polype	0,04	(Beach et Pascoe, 1998)
	<i>Chironomus tentans</i>	1 <sup>er</sup> stade	0,30	(Nebeker <i>et al.</i> , 1984)
	<i>Chironomus riparius</i>	2 <sup>ème</sup> stade	0,70	(Taylor <i>et al.</i> , 1991)
Mercure				
	<i>Hydra oligactis</i>	adulte	0,056	(Trottier et Blaise, 1997)
Nickel				
	<i>Hydra attenuata</i>	polype	0,86	(Trottier et Blaise, 1997)
	<i>Daphnia magna</i>	adulte	7,60	(Slooff <i>et al.</i> , 1983)
	Microtox®	NR	22,50-100,00	(Trottier et Blaise, 1997)
Plomb				
	Microtox®	NR	0,03-30,00	(Trottier et Blaise, 1997)
	<i>Daphnia magna</i>	adulte	3,60	(Trottier et Blaise, 1997)
	<i>Hydra attenuata</i>	polype	4,23	(Trottier et Blaise, 1997)
Zinc				
	<i>Daphnia magna</i>	adulte	0,54-5,10	(Trottier et Blaise, 1997)
	Microtox®	NR	1,20-5,60	(Trottier et Blaise, 1997)
	<i>Gammarus pulex</i>	adulte	1,54	(Beach et Pascoe, 1998)
	<i>Hydra attenuata</i>	polype	1,85	(Trottier et Blaise, 1997)
	<i>Hydra attenuata</i>	polype	6,63	(Beach et Pascoe, 1998)

NR : non référencé

Le Tableau 3 rapporte les concentrations toxiques observées pour quelques molécules métalliques et organiques vis à vis d'hydres.

Tableau 3 : Toxicité répertoriée de quelques produits chimiques vis à vis d'*H. attenuata*.

Molécule	Effet biologique	Concentration (mg/L)	Référence
As III (arsénite)	mortalité adulte-18h	20	(Newman <i>et al.</i> , 1993)
As V (arséniat)	mortalité adulte-26h	90	(Newman <i>et al.</i> , 1993)
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> AS(O)OH (Acide diméthyl arsinique)	mortalité adulte-90h	2000	(Newman <i>et al.</i> , 1993)
Cd <sup>2+</sup>	CL <sub>50</sub> -96h	1,5	(Trottier et Blaise, 1997)
Cd <sup>2+</sup>	CL <sub>50</sub> -96h	0,12	(Beach et Pascoe, 1998)
Cd <sup>2+</sup>	CL <sub>50</sub> -48h	0,76	(Slooff <i>et al.</i> , 1983) <sup>(a)</sup>
Cr <sup>6+</sup>	CL <sub>50</sub> -96h	0,04	(Trottier et Blaise, 1997)
Cu <sup>2+</sup>	CL <sub>50</sub> -96h	0,026	(Pollino et Holdway, 1999)
Cu <sup>2+</sup>	CL <sub>50</sub> -96h	0,04	(Beach et Pascoe, 1998)
Hg <sup>2+</sup>	CL <sub>50</sub> -48h	0,056	(Slooff <i>et al.</i> , 1983) <sup>(a)</sup>
Ni <sup>2+</sup>	CL <sub>50</sub> -96h	0,86	(Trottier et Blaise, 1997)
Pb <sup>2+</sup>	CL <sub>50</sub> -96h	4,23	(Trottier et Blaise, 1997)
Zn <sup>2+</sup>	CL <sub>50</sub> -96h	1,85	(Trottier et Blaise, 1997)
Zn <sup>2+</sup>	CL <sub>50</sub> -96h	6,63	(Beach et Pascoe, 1998)
Aroclor 1016 (PCB)	CL <sub>50</sub> -72h	5	(Adams et Haileselassie, 1984)
Aroclor 1254 (PCB)	CL <sub>50</sub> -72h	20	(Adams et Haileselassie, 1984)
Aroclor 1016 (PCB)	régénération des tentacules (CI <sub>50</sub> -96h)	1	(Adams et Haileselassie, 1984)
Aroclor 1254 (PCB)	régénération des tentacules (CI <sub>50</sub> -96h)	4	(Adams et Haileselassie, 1984)
EDB (éthylène dibromide)	CL <sub>50</sub> -72h	50	(Herring <i>et al.</i> , 1988)
Allylamine	CL <sub>50</sub> -48h	17,5	(Slooff <i>et al.</i> , 1983) <sup>(a)</sup>
4-chlorophenol	CL <sub>50</sub> -96h	32	(Pollino et Holdway, 1999)
Trichloréthylène	CL <sub>50</sub> -48h	75	(Slooff <i>et al.</i> , 1983) <sup>(a)</sup>
Benzène	CL <sub>50</sub> -48h	34	(Slooff <i>et al.</i> , 1983) <sup>(a)</sup>
Pentachlorophénol	CL <sub>50</sub> -48h	0,73	(Slooff <i>et al.</i> , 1983) <sup>(a)</sup>
Endosulfan	CL <sub>50</sub> -96h	0,81	(Pollino et Holdway, 1999)

<sup>(a)</sup> : *H. oligactis*.

## 5. Références bibliographiques

- 1- **Adams J.A. et Haileselassie H.M. (1984)** The effects of polychlorinated biphenyls (Aroclors 1016 and 1254) on mortality, reproduction, and regeneration in *Hydra oligactis*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **13**:493-499
- 2- **Beach M.J. et Pascoe D. (1998)** The role of *Hydra vulgaris* (pallas) in assessing the toxicity of freshwater pollutants. *Water Research* **32**:101-106
- 3- **Benson B. et Boush G.M. (1983)** Effect of pesticides and PCBs on budding rates of green *Hydra*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **30**:344-350
- 4- **Blaise C. et Kusui T. (1997)** Acute toxicity assessment of industrial effluents with a microplate based *Hydra attenuata* assay. *Environmental Toxicology and Water Quality* **12**:53-60
- 5- **Bode H., David C.N., Gierer A., Schaller H. et Trenkner E. (1973)** Quantitative analysis of cell types during growth and morphogenesis in *Hydra*. *Wilhelm Roux'Archiv* **171**:269-285
- 6- **Bode H., Ernst R. et Arditti J. (1978)** Biological effects of surfactants, III *Hydra* as a highly sensitive assay animal. *Environmental Pollution* **17**:175-185
- 7- **Bonneris E. (1999)**. Etude de la toxicité de trois hydrocarbures aromatiques polycycliques sur *Hydra attenuata* et *Ceriodaphnia dubia*. Rapport de stage MST. *Cemagref, Lyon*, 41 p. + annexes
- 8- **Burton G.A.J., Lazorchak J.M., Waller W.T. et Lanza G.R. (1987)** Arsenic toxicity changes in the presence of sediment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **38**:491-499
- 9- **Cote C., Blaise C., Michaud J.R., Menard L., Trottier S., Gagne F. et Lifshitz R. (1998a)** Comparisons between microscale and whole-sediment assays for freshwater sediment toxicity assessment. *Environmental Toxicology and Water Quality* **13**:93-110
- 10- **Cote C., Blaise C., Schroeder J., Douville M. et Michaud J.R. (1998b)** Investigating the adequacy of selected micro-scale bioassays to predict the toxic potential of freshwater sediments through a TIER process. *Water Quality Research Journal of Canada* **33**:253-277
- 11- **Epp L.G. et Koblick D.C. (1977)** Relationship of intracellular potassium to asexual reproduction in *Hydra*. *J. Exp. Biol.* **69**:45-51
- 12- **Fargasova A. (1994)** Toxicity of Metals on *Daphnia magna* and *Tubifex tubifex*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **27**:210-213
- 13- **Fu L.J., Staples R.E. et Stahl R.G.J. (1991a)** Application of the *Hydra attenuata* assay for identifying developmental hazards among natural waters and wastewaters. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **22**:309-319
- 14- **Fu L.J., Staples R.E. et Stahl R.G.J. (1991b)** Applying the *Hydra attenuata* assay to evaluating environmental water pollution. *Toxicologist* **11**:296
- 15- **Fu L.J., Staples R.E. et Stahl R.G.J. (1994)** Assessing acute toxicities of pre- and post-treatment industrial wastewaters with *Hydra attenuata*: a comparative study of acute toxicity with the fathead minnow, *Pimephales promelas*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **13**:263-569
- 16- **Grayson R.F. (1971)** The freshwater *Hydras* of Europe. *Archiv fur Hydrobiologie* **68**:436-449

- 17- **Herring C.O., Adams J.A., Wilson B.A. et Pollard S.J. (1988)** Dose-response studies using ethylene dibromide (EDB) in *Hydra oligactis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **40**:35-40
- 18- **Larno V. (1999)** L'essai comètes dans l'évaluation génotoxique chez l'hydre d'eau douce *Hydra attenuata*. *Laboratoire des Sciences de l'Environnement*, Lyon, France.
- 19- **Lenhoff H.M. (1983)** *Hydra: research methods*. pp 463
- 20- **Lenhoff H.M. et Brown R.D. (1970)** Mass culture of *Hydra*: an improved method and its application to other aquatic invertebrates. *Laboratory Animals* **4**:139-154
- 21- **Lesh-Laurie G.E. (1982)** Hydra. In F. W. Harrison et R. R. Cowden (Eds). *Developmental biology of freshwater invertebrates*, Alan R. Liss, Inc. New York, USA: 69-127
- 22- **Nebeker A.V., Cairns M.A. et Wise C.M. (1984)** Relative sensitivity of *Chironomus tentans* life stages to copper. *Environmental Toxicology and Chemistry* **3**:151-158
- 23- **Newman L.M., Johnson E.M. et Haghdoust N.R. (1993)** A toxic and teratogenic potential ranking of sodium arsenate, sodium arsenite, and cacodylic acid by the application of the in vitro *Hydra* assay. *Teratology* **47**:430
- 24- **Otto J.J. et Campbell R.D. (1977)** Tissue economics of *Hydra*: regulation of cell cycle, animal size and development by controlled feeding rates. *Journal of Cell Science* **28**:117-132
- 25- **Pascoe D., Williams K.A. et Green D.W.J. (1989)** Chronic toxicity of cadmium to *Chironomus riparius* Meigen - effects upon larval development and adult emergence. *Hydrobiologia* **175**:109-115
- 26- **Pollino C.A. et Holdway D.A. (1999)** Potential of two *Hydra* species as standard toxicity assay animals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **43**:309-316
- 27- **Rippon G.D., Hyne R.V. et Hunt S.M. (1994)** The application of biological toxicity tests to assess the environmental impact of mining in tropical Northern Australia. *Environmental impact of mining in tropical Northern Australia* 243-249
- 28- **Slobodkin L.B. et Bossert P.E. (1991)** The freshwater cnidaria - or coelenterates. In Academic press Inc. (Eds). *Ecology and classification of North American Freshwater Invertebrates*, 125-143
- 29- **Slooff W., Canton J.H. et Hermens J.L.M. (1983)** Comparison of the susceptibility of 22 freshwater species to 15 chemical compounds. I. (sub)acute toxicity tests. *Aquatic Toxicology* **4**:113-128
- 30- **Stebbing A.R.D. et Pomroy A.J. (1978)** A sublethal technique for assessing the effects of contaminants using *Hydra littoralis*. *Water Research* **12**:631-635
- 31- **Tachet H., Bournaud M. et Richoux P. (1980)** *Introduction à l'étude des macroinvertébrés des eaux douces*. Université de Lyon I. Lyon, pp 154
- 32- **Taylor E.J., Maund S.J. et Pascoe D. (1991)** Toxicity of four common pollutants to the freshwater macroinvertebrates *Chironomus riparius* Meigen (Insecta: Diptera) and *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **21**:371-376
- 33- **Trottier S. (1995)** Mise au point d'un essai de dépistage des effets toxiques létaux et sublétaux (tératogénicité) avec le coelentéré d'eau douce *Hydra attenuata*. ST-32. Rapport Scientifique et Technique. Centre saint Laurent, Montréal, Canada.

- 34- **Trottier S. (1997)** Développement d'un nouveau essai de dépistage des effets toxiques (sub) létaux et tératogènes avec le coelentéré *Hydra attenuata* et application sur des effluents industriels. Essai en vue de l'obtention du grade de maître en environnement, Université de Sherbrooke, 1997.
- 35- **Trottier S. et Blaise C. (1997)**. Metal toxicity comparison of a new *Hydra attenuata* assay with a suite of other traditional acute bioassays. *Rapport technique Canadien des sciences halieutiques et aquatiques*, **2144**:
- 36- **Trottier S., Blaise C., Kusui T. et Johnson E.M. (1997a)** Acute toxicity assessment of aqueous samples using a microplate-based *Hydra attenuata* assay. *Environmental Toxicology and Water Quality* **12**:265-272
- 37- **Trottier S., Blaise C., Kusui T. et Johnson E.M. (1997b)** Technical methodology: acute toxicity assessment of aqueous samples using a microplate-based *Hydra attenuata* assay. *Environmental Toxicology and Water Quality* **12**:265-271



### ANNEXE 3 : Protocoles d'élevage de *C. riparius*, *H. azteca*, *H. attenuata* et *A. salina*.

Dans l'optique de développer des essais de toxicité sur les sédiments, le Cemagref s'est doté d'élevages de *Chironomus riparius*, *Hyaella azteca* et *Hydra attenuata*.

Les méthodes d'élevage présentées ici doivent fournir toute l'année des organismes en quantité suffisante pour les essais, et avoir une maintenance quotidienne la plus simple possible.

#### Protocole d'élevage de *Chironomus riparius*

1. Appareillage .....	3
2. Conditions d'élevage en continu .....	4
2.1. Milieu d'élevage .....	4
2.2. Support des organismes .....	4
2.3. Température, lumière et renouvellement du milieu d'élevage .....	4
2.4. Nourriture .....	4
3. Maintien de l'élevage .....	4
3.1. Conditionnement du sable de fontainebleau .....	4
3.2. Lancement d'un nouvel aquarium .....	4
3.3. Suivi de l'élevage .....	5
4. Collecte des adultes .....	5
5. Préparation des masses et des larves pour les biotests .....	5

#### Protocole d'élevage de *Hyaella azteca*

1. Appareillage .....	6
2. Conditions d'élevage en continu .....	6
2.1. Milieu d'élevage .....	6
2.2. Support des organismes .....	6
2.3. Température, lumière et renouvellement du milieu d'élevage .....	7
2.4. Nourriture .....	7
3. Maintien de l'élevage .....	7
3.1. Lancement d'un nouvel aquarium .....	7
3.2. Suivi de l'élevage .....	8
3.3. Renouvellement .....	8
4. Récolte des animaux pour les essais .....	8

<b>Protocole d'élevage d'<i>Hydra attenuata</i></b>
---

1. Appareillage .....	9
2. Conditions d'élevage en continu .....	9
2.1. Milieu d'élevage .....	9
2.2. Température, lumière et renouvellement du milieu d'élevage .....	9
2.3. Nourriture .....	9
3. Maintien de l'élevage.....	10

<b>Culture d'<i>Artemia salina</i></b>
--

1. Milieu .....	11
2. Oeufs .....	11
3. Éclosion.....	11
4. Désinfection des <i>Artemia salina</i> .....	13

<b>Bibliographie</b>
----------------------

Références Bibliographiques.....	14
----------------------------------	----

## Protocole d'élevage de *Chironomus riparius*

L'élevage des chironomes est réalisé en se basant sur les méthodes de l'EPA (1994), d'Environnement Canada (1997a) et de l'ASTM (1992).

### 1. Appareillage

Tout le matériel en contact avec le milieu d'essai, doit être en verre ou en matière chimiquement inerte.

Les aquariums d'élevage en continu sont constitués de deux parties de mêmes dimensions. Ces deux modules sont encastrables, la partie basse contient le support et l'eau d'élevage, la partie haute a pour but de récupérer les chironomes après émergence (Figure 1). Les adultes émergents peuvent être isolés grâce à une plaque glissée entre les deux modules et qui reste solidaire de la partie haute. Ces deux parties peuvent donc être séparées à tout moment.

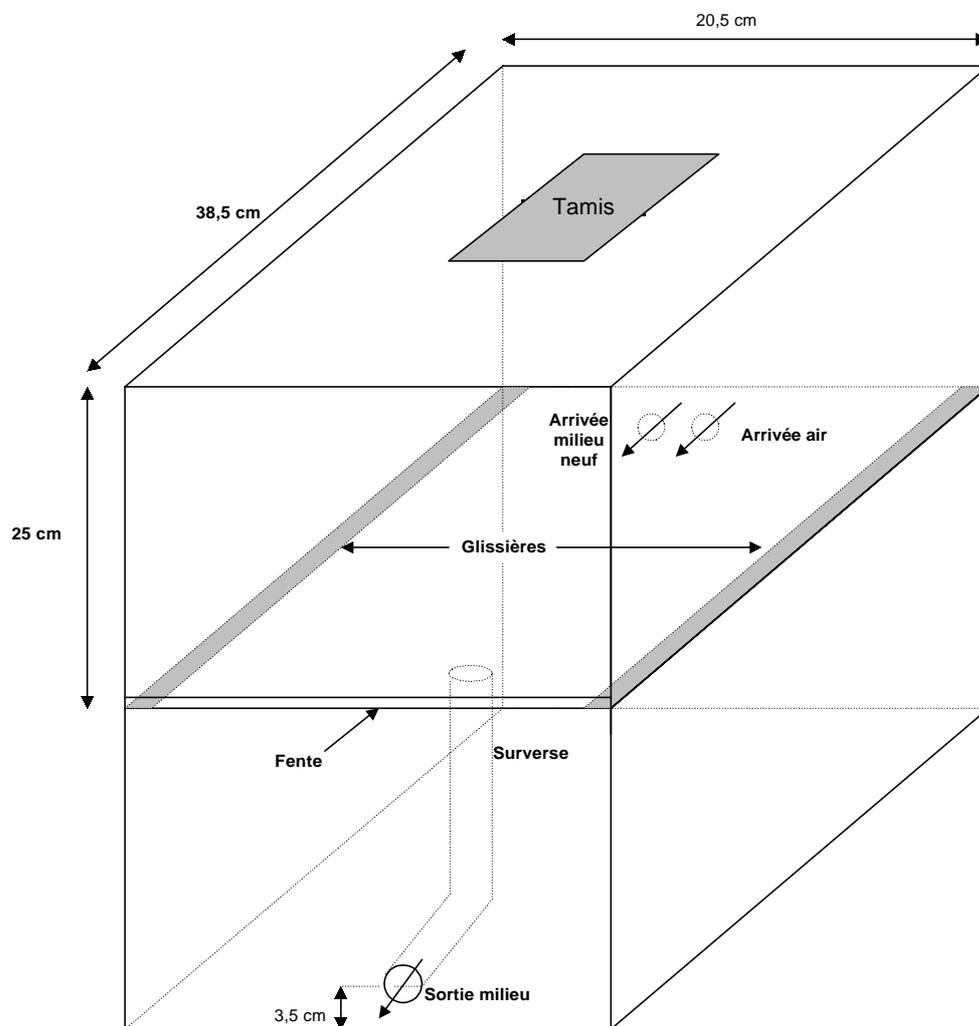


Figure 1 : Schéma d'installation des enceintes d'élevage de *C. riparius*, avec le bac inférieur où les larves se développent jusqu'au stade nymphal et le bac supérieur où les adultes émergents sont recueillis.

## **2. Conditions d'élevage en continu**

### ***2.1. Milieu d'élevage***

Le milieu d'élevage utilisé dans notre laboratoire est à base d'eau de forage pompée sur le site du *Cemagref* de Lyon (conductivité= 1125  $\mu\text{S}/\text{cm}$  ; pH= 7,3 ; dureté= 530 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$  ; ammoniac = 0,04 mg/L). Ce milieu d'élevage est appelé milieu FOS ( $\frac{1}{4}$  eau de forage +  $\frac{3}{4}$  eau osmosée ) et ses caractéristiques sont les suivantes : conductivité= 300-320  $\mu\text{S}/\text{cm}$  ; pH= 6,5-7,0 et dureté= 120-170 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ .

### ***2.2. Support des organismes***

Le substrat proposé aux chironomes pour leur développement est du sable de Fontainebleau de  $\varnothing$  150-210  $\mu\text{m}$  (#47460, Elvetec Services, 69637 Venissieux).

### ***2.3. Température, lumière et renouvellement du milieu d'élevage***

Les élevages sont conduits à une température de  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , en éclairage 16h/8h (éclairage : 500-1000 lux à la surface de l'eau) et avec renouvellement permanent du milieu, à un débit de 4 – 4,5 L/h par aquarium, qui permet quatre renouvellements d'eau par jour. Une aération modérée est maintenue dans les aquariums à l'aide d'une pierre à bullage.

### ***2.4. Nourriture***

Chaque jour ouvrable, les chironomes sont nourris avec du Tétramin® broyé à l'Ultra-Turax® dans un peu d'eau déminéralisée à raison de 250 mg du 1<sup>er</sup> au 5<sup>ème</sup> jour et de 500 mg après le 5<sup>ème</sup> jour.

## **3. Maintien de l'élevage**

### ***3.1. Conditionnement du sable de fontainebleau***

Mélanger 480 mg de Tétramin® broyé à l'Ultra-Turax aux 2 litres de substrat et disposer une couche de 2-2,5 cm de sable dans l'aquarium puis mettre l'aquarium en eau. Laisser 1 semaine au débit nominal et rajouter 480 mg de Tétramin® broyé à l'Ultra-Turax puis laisser à nouveau stabiliser 2 semaines au débit nominal. Au bout de 3 semaines le sable est prêt à être utilisé.

### ***3.2. Lancement d'un nouvel aquarium***

Les élevages sont réalisés dans des aquariums de plastique de 20 litres, en eau naturelle, recouverts du couvercle de 20 litres (Figure 1). Un nouvel aquarium peut être lancé tous les 10-12 mois pour renouveler l'élevage ou, en cas de nécessité, suite à un problème sur un aquarium existant ou pour augmenter la capacité de production de l'élevage. Le lancement d'un aquarium se fait avec 2 litres de sable de fontainebleau neuf ( $\approx 3$  cm de hauteur), lavé, puis conditionné avant la mise en place des organismes. 4 masses écloses sont rajoutées dans l'aquarium. On notera les dates de début d'ensemencement, d'ajout des masses et de première émergence. Au bout de quelques semaines l'aquarium produit des émergents et des masses en continu.

Tous les deux jours (ou tous les jours si nécessaire) la surface de l'aquarium est nettoyée avec une épuisette, les parois sont raclées au grattoir et la surverse est nettoyée avec un écouvillon. Une fois par mois le niveau de l'eau est abaissé afin de permettre le nettoyage des parois de l'aquarium qui

sont essuyées à l'aide d'un chiffon humide. A cette occasion, le système de bullage, la surverse, le système d'évacuation et l'arrivée d'eau sont démontés et mis à tremper dans un bain de Javel 5% pendant 10 minutes. Le tout est frotté avec une brosse et un écouvillon, et rincé à l'eau de ville avant leur remise en place. On laisse ensuite l'aquarium se remplir au débit nominal. Le couvercle de l'installation est aussi nettoyé. Pour cela, les émergents sont libérés à l'extérieur du laboratoire. Les parois et les parties aluminium sont essuyées à l'aide d'un chiffon mouillé.

### **3.3. Suivi de l'élevage**

Toutes les anomalies (diminution du taux d'émergence des adultes et d'éclosion des oeufs, problèmes de température ou d'eau) sont consignées dans le cahier de suivi des élevages chironomes.

## **4. Collecte des adultes**

Les aquariums recouverts d'un couvercle grillagé emprisonnent les adultes émergents (Figure 1). Les aquariums tournant en continu, des adultes émergents sont récoltés tous les jours pour la préparation des bioessais ou 1 à 2 fois par semaine quand aucun essai n'est prévu. Ces derniers sont tués ou relâchés à l'extérieur du laboratoire. Pour récupérer des adultes émergents, on glisse une plaque de Plexiglas® entre l'aquarium plein d'eau et le couvercle. On transporte ainsi le couvercle sur la paillasse où l'on aspire, à l'aide d'une pompe à vide, une vingtaine d'adultes, sans les endommager, dans une bouteille Pyrex® de 2 L. La bouteille est ensuite bouchée par du coton hydrophile, puis remplie d'eau d'élevage ou d'eau d'essai, si elle est différente de l'eau d'élevage, sur une hauteur de 1 à 2 cm. Elle est ensuite placée dans une enceinte thermostatée (armoire à température contrôlée, phytotron Forma n°1928), équipée de lampes fluorescentes blanches, assurant un éclairage 16h de jour. Les jours suivants, la ponte des masses est suivie. Les bouteilles contiennent au maximum une vingtaine d'individus et on veille à y maintenir un équilibre mâle-femelle acceptable (1 à 2 mâles pour 1 femelle).

## **5. Préparation des masses et des larves pour les biotests**

Les masses pondues dans l'eau sont récupérées par un siphonnage doux, à l'aide d'une pipette à bout évasée de 5 mL, et déposées individuellement dans des piluliers préalablement remplis d'eau d'élevage ou d'eau d'essai, si elle est différente de l'eau d'élevage. Ceux-ci sont placés dans l'armoire thermostatée et chaque jour, sur une durée de 4 à 5 jours, les masses sont observées sous la loupe binoculaire afin de suivre l'éclosion des oeufs. Dès l'éclosion, les larves sont soit conservées pour un nouvel aquarium, soit mises en incubation pour un essai, soit éliminées. Les larves utilisées pour les bioessais sont doucement transférées dans un cristalliseur rectangulaire rempli avec 1 L de milieu de test sur une hauteur de 2 à 3 cm, qui contient une monocouche de sable de Fontainebleau conditionné, à raison de 3 masses écloses du même jour par cristalliseur. De la nourriture est immédiatement fournie aux larves sous la forme de 100 mg de Tétra Animin® passé à l'Ultra-Turax. Le cristalliseur est conservé à la température prévue pour le test, en armoire thermostatée, avec un léger bullage. Les jours suivants 50% du milieu sont renouvelés si nécessaire (milieu trouble, odeur suspecte). Les chironomes ainsi préparés sont utilisés 2 à 4 jours après l'éclosion de la masse d'oeuf.

## Protocole d'élevage de *Hyaella azteca*

L'élevage des hyalles est réalisé en se basant sur les méthodes de l'EPA (1994), d'Environnement Canada (1997b) et de l'ASTM (1992).

### 1. Appareillage

Les aquariums utilisés pour l'élevage de *H. azteca* sont des cuves plastiques de 20 L (Figure 2).

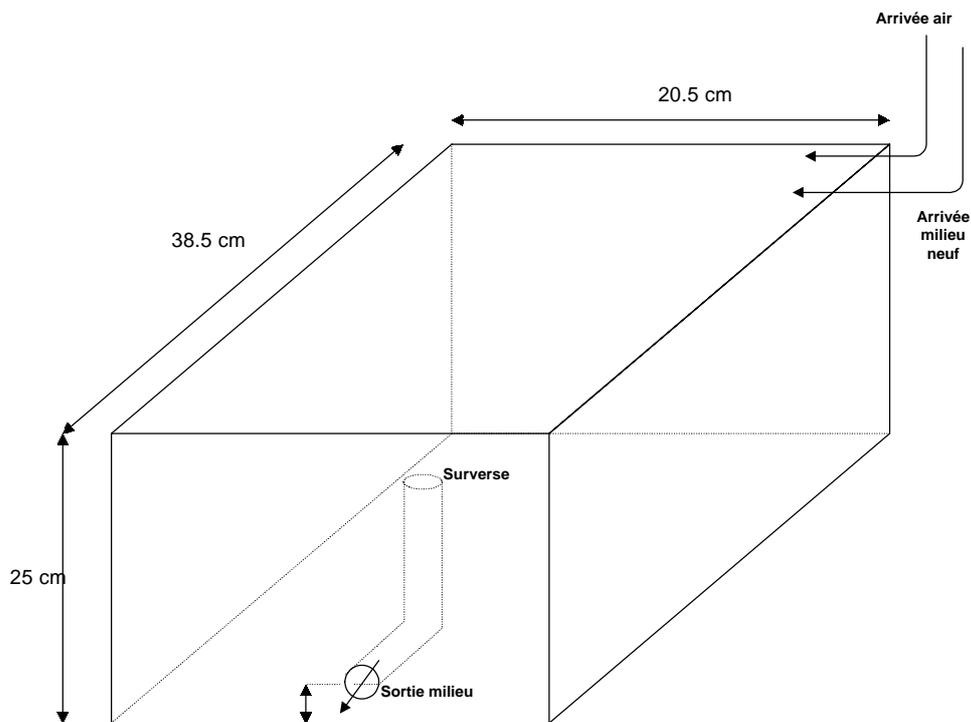


Figure 2 : Schéma d'installation des enceintes d'élevages de *H. azteca*.

### 2. Conditions d'élevage en continu

#### 2.1. Milieu d'élevage

Le milieu de culture utilisé dans notre laboratoire est à base d'eau de forage pompée sur le site du Cemagref de Lyon (conductivité= 1125  $\mu\text{S}/\text{cm}$  ; pH= 7,3 ; dureté= 530 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$  ; ammoniac = 0,04 mg/L). Ce milieu d'élevage est appelé milieu FOS ( $\frac{1}{4}$  eau de forage +  $\frac{3}{4}$  eau osmosée ) et ses caractéristiques sont les suivantes : conductivité= 300-320  $\mu\text{S}/\text{cm}$  ; pH= 6,5-7,0 et dureté= 120-170 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ .

#### 2.2. Support des organismes

Les *Hyaellas* pour se développer correctement ont besoin de caches. Nous avons fabriqué un abri (Figure 3) composé de plaques de PVC et d'un tamis en Nylon® monofilament (matériaux souvent utilisés et ne présentant pas de toxicité à long terme). Les éléments sont assemblés à la colle pour PVC. L'abri une fois fabriqué est laissé au moins 24 heures à sécher, il est rincé à l'eau courante pendant au moins 48 heures, de façon à prévenir toute pollution par les solvants.

Le toit est constitué d'une plaque de PVC de 2 ou 3 mm d'épaisseur et recouvre un tamis de même dimension, tendu sur 4 cales. Un espace est ménagé entre le tamis et le toit par l'intermédiaire des 4 cales faisant une surépaisseur de 3 à 5 mm. L'ensemble de l'abri repose sur le fond de l'aquarium par des pieds d'environ 5 mm de hauteur. La surface des abris est calculée de telle manière qu'un espace de 2 à 3 centimètres reste libre sur chacun des cotés avec le bord de l'aquarium ou l'abri le plus proche. Le fond de l'aquarium est tapissé d'abris, ceux ci devant rester petits pour une meilleure manipulation. Le meilleur développement des populations a été enregistré en ajustant la densité des hyalles en comptant entre 2 et 3 cm<sup>2</sup> d'abri par adulte. Les jeunes étant retirés une fois par semaine. Au bout de quelques jours d'utilisation les abris sont recouverts de bactéries et d'algues et les crustacés viennent rapidement en prendre possession.

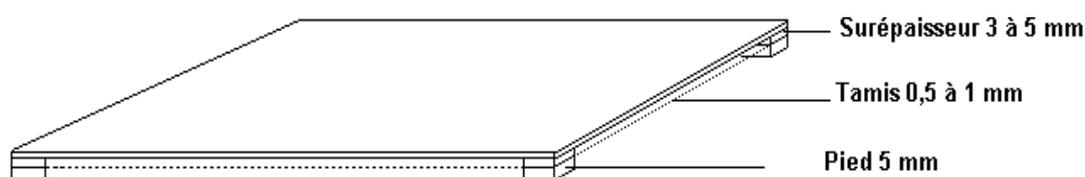


Figure 3 : Schéma d'un abri à hyalle.

### **2.3. Température, lumière et renouvellement du milieu d'élevage**

Les élevages sont conduits à une température de  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , en éclairage 16h/8h (l'intensité lumineuse est comprise entre 500 et 1000 lux au niveau de la surface de l'eau). Le renouvellement permanent du milieu à un débit de 4– 4,5 L/h par aquarium permet quatre renouvellements d'eau par jour. Une aération modérée est maintenue dans les aquariums à l'aide d'une pierre à bullage.

### **2.4. Nourriture**

Les aliments utilisés pour l'élevage des hyalles sont le Séra Mikron®, le Tétra Min® et le Novofect®. La nourriture des élevages ne se fait pas pendant le week-end.

Le Séra Mikron® est un aliment hyperénergétique qui doit être manipulé à doses bien définies. Pour garder à cet aliment toute sa valeur nutritive, celui-ci est préparé extemporanément pour la distribution. Chaque matin une solution mère est réalisée à la concentration de 5 g/L. Chaque aquarium reçoit tous les matins, du lundi au vendredi, 10 ml de cette suspension.

Environ 250 mg de flocons de Tetramin® est distribué les lundi, mercredi et vendredi par aquarium.

Le vendredi, ½ comprimé de Novo Fect® par aquarium est fournit aux hyalles.

Les apports de nourriture (dose et fréquence) peuvent être ajustés, à la discrétion du personnel de laboratoire, en fonction de la consommation des amphipodes (cas d'excès de nourriture).

## **3. Maintien de l'élevage**

### **3.1. Lancement d'un nouvel aquarium**

Un aquarium nouveau est démarré avec environ 500 juvéniles ayant le même âge, nés pendant la même semaine et collectés dans plusieurs aquariums différents (en général 2 ou 3). Le suivi des

premiers amplexus, intervenant entre la troisième et la quatrième semaine suivant le démarrage de l'aquarium, permet de s'assurer que l'aquarium a bien démarré.

Pour que l'élevage se porte correctement, il est nécessaire d'éliminer régulièrement le surplus des individus nés dans chacun des aquariums. Actuellement nous procédons à un tri hebdomadaire à partir du moment où les jeunes commencent à être produits.

### **3.2. Suivi de l'élevage**

Les aquariums d'élevage sont nettoyés tous les mois. C'est à cette occasion qu'on réduit la population des individus si on considère que le stock est trop important.

La surverse est enlevée, et le milieu d'élevage est envoyé sur une colonne de filtration (tamis 450 et 250  $\mu\text{m}$ ) qui permet de collecter les individus adultes et les juvéniles séparément. Ils sont transférés dans des cristallisoirs contenant du FOS. Les supports, la pierre de bullage, la surverse, et le tuyau d'arrivée d'eau sont mis à tremper dans de la Javel 5% au moins 10 minutes. L'aquarium est brossé sous l'eau chaude puis il est remis en eau à fort débit. Les accessoires sont rincés et remis en place dans l'aquarium.

Quand l'aquarium est rempli à moitié rajouter les hyalles adultes retenus sur le tamis de 450  $\mu\text{m}$ .

Les hyalles retenus sur le tamis de 250  $\mu\text{m}$  peuvent servir soit à lancer un nouvel aquarium si leur âge n'est pas précisément connu, soit à lancer un test (paragraphe 4).

Toutes les anomalies (mortalité d'adultes, baisse de production des jeunes, problèmes de température ou d'eau) sont consignées dans le cahier de suivi des élevages chironomes situé près de ceux-ci.

### **3.3. Renouvellement**

Le nombre d'aquariums fonctionnant en série est bien entendu fonction de la demande en organismes d'essai que doit assurer l'élevage.

De façon à assurer la pérennité de l'élevage, un aquarium nouveau est démarré tous les 4 mois. Lorsque l'on s'est assuré que celui-ci a bien démarré, généralement 2 semaines plus tard, on peut alors supprimer l'aquarium le plus ancien.

## **4. Récolte des animaux pour les essais**

Les jeunes sont gardés dans leur milieu de naissance et clairement étiqueté de façon à connaître leur âge, paramètre nécessaire pour entreprendre des essais. Les récipients sont placés dans une armoire thermostatée à la température de l'essai jusqu'à leur utilisation dans les bioessais.

2 types d'âges sont utilisés pour les essais : 2 à 9 jours et 7 à 14 jours.

Dans le cas de bioessai sur sédiment les hyalles utilisées sont âgées de 2 à 9 jours, pour obtenir des organismes de cet âge il faut faire un premier tri des aquariums 9 jours avant le début de l'essai, puis un deuxième tri est effectué 7 jours après. Les jeunes hyalles récoltées sont alors conservées 2 jour en cristallisoir contenant du milieu d'essai.

Dans le cas d'essai avec un toxique de référence les hyalles utilisées sont âgées de 7 à 14 jours. Pour obtenir des organismes de cet âge il faut faire un premier tri des aquariums 14 jours avant le début de l'essai puis un second tri 7 jours plus tard. Les hyalles récoltées sont alors conservées en cristallisoir dans du milieu d'essai pendant 7 jours.

## Protocole d'élevage d'*Hydra attenuata*

L'élevage des hydres est réalisé en se basant sur la méthode proposée par *Trottier et al.* (1997) au Centre Saint Laurent (1996).

### 1. Appareillage

Les hydres sont élevées dans des cristallisoirs de Pyrex® de 2L.

### 2. Conditions d'élevage en continu

#### 2.1. Milieu d'élevage

Un milieu de culture et d'essai est proposé dans le protocole du **Centre Saint Laurent** (Centre Saint-Laurent, 1996) d'où nous vient la souche en culture dans notre laboratoire.

La composition de ce milieu est la suivante : Chlorure de calcium  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  2,94 g ; tampon TES 2,2 g ; EDTA 0,080 g ; eau ultrapure 20,0 L. Il se prépare selon la procédure générale utilisée pour la fabrication des milieux. Son temps de conservation est fixé à 15 jours, en récipients fermés et à température ambiante. La minéralisation très faible de ce milieu, et son peu de représentativité par rapport aux eaux habituellement testées dans notre laboratoire nous a conduit à essayer d'autres types d'eau pour l'élevage et les essais avec cet organisme.

A l'heure actuelle nous avons essayé avec succès tous les milieux habituels avec lesquels nous travaillons avec les autres invertébrés. Il ne semble pas y avoir de contre indication. Le fait de travailler avec des milieux compatibles pour d'autres organismes nous permet de faire des comparaisons de sensibilités en ayant un maximum de conditions équivalentes.

Le milieu de culture actuellement utilisé pour les hydres est le milieu FOS (¼ eau de forage + ¾ eau osmosée ) et ses caractéristiques sont les suivantes : conductivité= 300-320  $\mu\text{S}/\text{cm}$  ; pH= 6,5 - 7,0 et dureté= 120-170 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ .

#### 2.2. Température, lumière et renouvellement du milieu d'élevage

L'élevage et les essais sont conduits à une température de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ . La souche est maintenue en enceinte thermostatée (variations inférieures à  $1,0^\circ\text{C}$ ) et la photopériode est de 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité par jour, avec une intensité comprise entre 500 et 800 lux.

Bien que ne possédant pas d'organe spécifique de la vue, l'hydre s'oriente par rapport à la lumière et il faut en tenir compte pour les récipients d'élevage; ceux-ci doivent être sur un fond noir ou sombre de façon à ce que les animaux ne soient pas désorientés.

#### 2.3. Nourriture

Chaque jour, sauf le week-end, les hydres sont nourries avec des *Artemia salina*. Les hydres utilisées pour les bioessais ne sont pas nourries 24h avant le début de l'essai.

Les artémies vivant en eaux salines, elles ne survivent pas très longtemps en eau douce, ce qui oblige à deux manipulations par jour. La première pour distribuer les artémies vivantes, la deuxième pour enlever les artémies mortes ainsi que les rejets d'exosquelettes régurgités par les hydres.

Il faut prévoir un délai de 3 à 5 heures entre ces deux manipulations de façon à laisser aux hydres le temps de se nourrir. Actuellement nous distribuons les artémies entre 9h30 et 10h. et nous nettoyons les récipients entre 13h30 et 14h.

De façon à éviter les contaminations, les artémies sont désinfectées, selon la procédure explicitée plus loin, avant d'être distribuées.

La distribution se fait à l'aide d'une pipette en répartissant les artémies sur toute la surface de la culture des hydres. Les artémies étant très photosensibles, on aura soin de ne pas éclairer les récipients par un éclairage latéral, ce qui aurait pour effet de concentrer les artémies dans la zone la plus lumineuse, celles ci restant inaccessibles aux hydres qui sont généralement fixées à la paroi de leur récipient et ne se déplacent que très lentement. L'éclairage doit donc être orthogonal par rapport aux récipients d'élevage.

Pour un repas, il faut prévoir environ 8 à 12 artémies par hydre, ce qui se fait au jugé avec un peu d'habitude. Il vaut mieux prévoir un léger excès d'artémies car en dessous d'une certaine densité les hydres ne peuvent les attraper.

L'après-midi, les cristallisoirs sont repris et vidés au dessus d'un tamis nylon de 250  $\mu\text{m}$  de maille. Le fond du récipient est rincé avec une pissette contenant le milieu d'élevage dans lequel se trouvent les hydres. Le jet doit avoir suffisamment de force pour décoller les cadavres d'artémies adhérents aux parois. Ceci est fait trois fois, en vidant à chaque fois le contenu au dessus du tamis. Le cristallisoir est alors rempli de milieu neuf.

Si les hydres sont en bonne santé, la grande majorité d'entre elles ne se seront pas décollées de leur support.

### **3. Maintien de l'élevage**

L'élevage est maintenu en cristallisoirs de Pyrex® de 2 L, avec une hauteur minimale d'eau de 5 cm. Chaque cristallisoir est identifié par une étiquette indiquant clairement le milieu qu'il contient ainsi que sa date de mise en culture.

La densité des hydres doit rester à moins d'un individu par  $\text{cm}^2$  de surface. Le surplus éventuel d'organismes est éliminé 1 fois par semaine (lundi matin), en décrochant les hydres du support par un mouvement circulaire doux de l'index et du majeur. L'ensemble des hydres décrochées se retrouve au centre du récipient, une partie d'entre elles est éliminée et l'autre est replacée dans un cristallisoir propre avec du milieu neuf.

Lorsque l'acclimatation des hydres à un nouveau milieu est envisagée celle ci est réalisée en changeant la moitié seulement du milieu par du milieu neuf dans lequel les hydres doivent être acclimatées. Au 4<sup>ème</sup> changement, on peut considérer que l'adaptation au nouveau milieu est acquise et il n'est plus nécessaire de procéder par moitié. L'acclimatation à un nouveau milieu doit donc être prévue au minimum une semaine à l'avance. Si celle ci démarre un lundi elle sera achevée le jeudi et au démarrage du premier essai les hydres seront dans ce nouveau milieu depuis 4 jours ce qui est suffisant vu le métabolisme de ces animaux.

## Culture d'*Artemia salina*

Les artémies utilisées pour la nourriture des hydres sont cultivées comme suit :

### 1. Milieu

Pour 1 litre de milieu peser 10 grammes de NaCl.

Dans environ 800 mL d'eau dissoudre le NaCl par bullage vigoureux d'air filtré à 0,22  $\mu\text{m}$ . Lorsque celui-ci est dissous ajuster à 1000 mL. Homogénéiser et conserver dans une bouteille brune fermée. Ce milieu est conservé à température ambiante.

### 2. Oeufs

Les oeufs d'artémies sont conservés en récipients de verre à l'abri de la lumière et de l'humidité. Si une conservation de plusieurs semaines est envisagée, on peut conserver ces oeufs au réfrigérateur.

### 3. Éclosion

L'éclosion des artémies se fait dans une ampoule à décanter de contenance 500 mL placée à 25°C et à la lumière (Figure 4).

Verser 250 mL de milieu salé. Ajouter environ 250 à 300 mg d'oeufs d'artémies. Vérifier que les oeufs flottent en surface et ne collent pas aux parois de l'ampoule.

Placer l'ampoule dans l'enceinte thermostatée, à la lumière, et faire buller par l'intermédiaire d'une pipette en verre, de l'air filtré à 0,22  $\mu\text{m}$ , ceci de façon modérée.

Fermer l'ampoule par un morceau de coton cardé.

A 25°C la culture doit démarrer entre 20 et 24 heures avant l'utilisation des naupliis.

Pour l'utilisation du lundi matin, les oeufs sont confiés à un automate (voir schéma page suivante).

Après avoir vérifié que le programmeur hebdomadaire est bien en fonctionnement automatique et que la délivrance du courant électrique se fera du dimanche matin 10 heures au lundi matin 11 heures, remplir l'ampoule du haut avec 250 mL de milieu salé. Vérifier que le robinet de cette ampoule est bien en position ouverte.

Disposer dans l'armoire thermostatée une ampoule à décanter très sèche contenant 250 à 300 mg d'oeufs d'artémies.

Introduire par le col de l'ampoule la pipette reliée à l'aérateur et le tuyau d'amené du milieu. La pipette d'aération doit avoir son orifice à environ 1 cm au dessus des oeufs.

Fermer l'ampoule par un morceau de coton cardé.

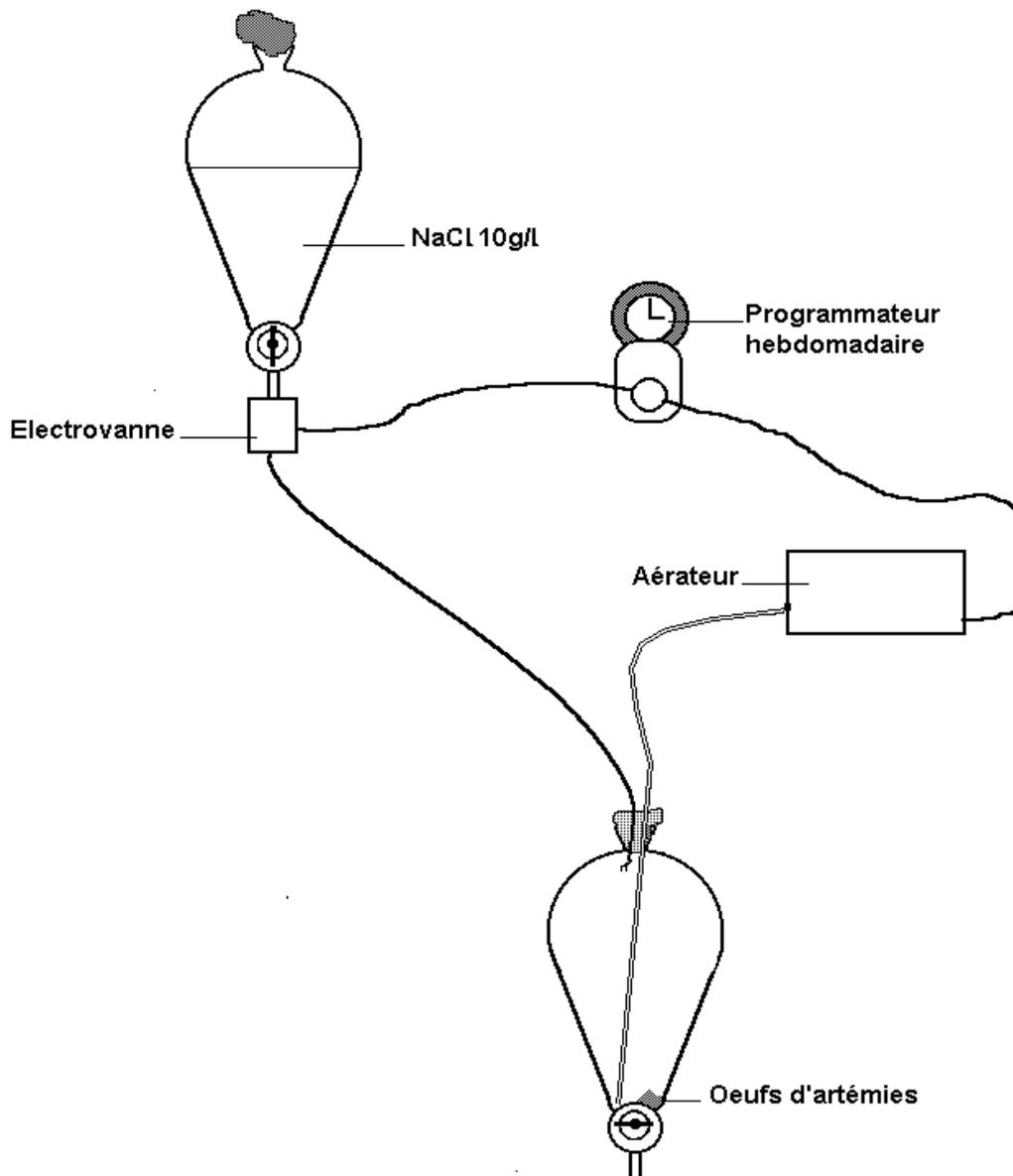


Figure 4 : Automate pour l'éclosion et l'élevage des artémias.

#### **4. Désinfection des *Artemia salina***

Avant d'être distribuées aux hydres les artémies sont désinfectées de la manière suivante :

- 1 > Sortir l'ampoule à décanter de l'enceinte thermostatée et la laisser sur un statif sans bullage.
- 2 > Dans un cristalliseur de 500 mL mettre 200 mL de milieu NaCl.
- 3 > Ajouter 2 mL d'Eau de Javel (NaOCl) à 42°.
- 4 > Ecraser le comprimé avec un petit pilon et déclencher un chronomètre.
- 5 > Attendre 3 minutes et réhomogénéiser.
- 6 > Récupérer les naupliis d'artémias sur un tamis de 250  $\mu$ m de maille.
- 7 > Plonger le tamis dans le cristalliseur contenant le désinfectant.
- 8 > Redéclencher le chronomètre pour 10 minutes.
- 9 > Veiller à ce qu'aucune bulle d'air ne se soit formée sous le tamis. Si c'est le cas, la faire disparaître en aspirant l'air à travers les mailles.
- 10 > Au bout de 10 minutes retirer le tamis.
- 11 > transférer le tamis dans du milieu de culture hydre et redéclencher le chronomètre pour 5 minutes.
- 12 > Répéter cette opération deux nouvelles fois, pendant la dernière les artémias étant libérées du tamis directement dans le milieu hydre.
- 13 > Les artémies sont distribuées dans les cultures d'hydres en ayant soin de ne pas prélever les coquilles des oeufs ou des oeufs non éclos.

<b>Références bibliographiques</b>
------------------------------------

- 1- **ASTM (1992)** Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates. E1383-92. Technical report. *American Society for Testing and Materials*, Philadelphia, PA, USA.
- 2- **Centre Saint-Laurent (1996)** Evaluation des effets toxiques létaux et sublétaux avec *Hydra attenuata*, méthode pour échantillons aqueux. *Environment Canada*, Quebec, CAN.
- 3- **Environment Canada (1997a)** Biological test method. Test for growth and survival in sediment using larvae of freshwater midges (*Chironomus tentans* or *Chironomus riparius*). EPS 1/RM/32. *Environment Canada*, Ottawa, CAN.
- 4- **Environment Canada (1997b)** Biological test method. Test for growth and survival in sediment using the freshwater amphipod *Hyalella azteca*. EPS 1/RM/33. *Environment Canada*, Ottawa, CAN.
- 5- **EPA (1994)** Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. EPA-600/R-94/024. Testing manual. *U.S. Environment Protection Agency*, Duluth, USA.
- 6- **Trottier S., Blaise C., Kusui T. et Johnson E.M. (1997)** Technical methodology: acute toxicity assessment of aqueous samples using a microplate-based *Hydra attenuata* assay. *Environmental Toxicology and Water Quality* **12**:265-271



## ANNEXE 4 : Méthodes utilisées pour les analyses physico-chimiques.

Analyses physico-chimiques effectuées au *Cemagref* de Lyon, d'après Kosmala (1998).

Nature de l'analyse	Méthode appliquée
<b>Paramètres physiques</b>	
Température	thermomètre WTW LF 196
Conductivité	conductivimètre WTW LF 196
pH	pHmètre WTW pH 196
Oxygène dissous	oxymètre WTW oxy 196
Dureté	NF T 90-005
Texture du sédiment	NF X 11-507
<b>Paramètres chimiques</b>	
Azote total (N <sub>TOT</sub> )	méthode <i>Cemagref</i> (Namour <i>et al.</i> , 1991)
COT eau	NF T 90.102
sédiment	combustion à 1300°C et mesure IR
Nitrate : NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NF T 90.012
Nitrite : NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NF T 90.013
Ammoniac : NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NF T 90.015
Orthophosphate : PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	NF T 90.023

**Kosmala, A. (1998)** Evaluation écotoxicologique de l'impact des effluents de stations d'épuration sur les cours d'eau : intérêt d'une approche intégrée. Thèse. Université de Metz, Metz, FRA, 255p.

**Namour, P., Sanejouand, H. et Lepimpec, P. (1991)** L'azote total dans les eaux. Une méthode de dosage applicable aux milieux naturels. *Information technique du Cemagref*, Lyon, FRA, **82**:1-4.



## ANNEXE 5 : Réponses des bioessais hydres réalisés sur les eaux interstitielles étudiées dans notre laboratoire.

Numéro d'enregistrement				Caractéristiques de l'eau interstitielle			CL <sub>10</sub> [IC]				CL <sub>50</sub> [IC]				CSE			
bioessai hydre	eau interstitielle	sédiment	date de prélèvement	COD (mg/L)	pH	Oxygène dissous (mg/L)	24h	48h	72h	96h	24h	48h	72h	96h	24h	48h	72h	96h
27	22	SV_6	avr 97	NM	6,8	5,38	100 [NC]	100 [NC]	100 [NC]	94,5 [NC] <sup>[a]</sup>	100 [NC]	100 [NC]	100 [NC]	100 [NC]	100	100	100	86,6
28	23	CR_7 <sup>[b]</sup>	avr 97	NM	7,3	12,5	100 [NC]	74,1 [61,4-93,3]	38,9 [34,4-41,8]	27,5 [NC] <sup>[a]</sup>	100 [NC]	100 [NC]	45,7 [35,3-49,4]	37,5 [NC] <sup>[a]</sup>	61,2	61,2	35,4	15,8
30	25	IB_9	avr 97	NM	8,0	2,9	100 [NC]	100	100	100	100							
40	35	CR_7 <sup>[b]</sup>	avr 97	NM	NM	NM	70,4 [67,6-70,8]	47,7 [42,6-47,7]	20,3 [17,7-21,6]	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	77,2 [73,2-77,2]	55,5 [48,1-55,5]	24,5 [22,0-26,7]	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	61,2	15,8	15,8	15,8
53	46	PG_10	oct 97	NM	NM	NM	100 [NC]	100	100	100	100							
54	47	SB_11	oct 97	NM	NM	NM	100 [NC]	88,7 [87,5-90,2]	52,5 [NC] <sup>[a]</sup>	52,5 [NC] <sup>[a]</sup>	100 [NC]	94,4 [93,7-97,6]	62,5 [NC] <sup>[a]</sup>	62,5 [NC] <sup>[a]</sup>	100	86,6	35,4	35,4
55	48	IB_12	oct 97	NM	7,1	5,4	100 [NC]	77,5 [NC] <sup>[a]</sup>	77,5 [NC] <sup>[a]</sup>	19,1 [19,1-31,9]	100 [NC]	87,5 [NC] <sup>[a]</sup>	87,5 [NC] <sup>[a]</sup>	42,8 [34,5-42,8]	100	86,6	35,4	15,8
56	49	J	oct 97	NM	7,1	4,1	100 [NC]	21,6 [18,3-21,6]	21,6 [18,3-21,6]	21,6 [18,3-21,6]	100 [NC]	26,7 [23,2-26,7]	26,7 [23,2-26,7]	26,7 [23,2-26,7]	15,8	15,8	15,8	15,8
57	50	CR_14	oct 97	NM	7,2	17	77,5 [NC] <sup>[a]</sup>	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	87,5 [NC] <sup>[a]</sup>	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	15,8	3,2	3,2	3,2
61	53	PG_15	nov 97	10,2	7,5	5,0	100 [NC]	100	100	100	100							
63	54	CR_16	déc 97	14,1	7,8	20,6	31,6 [26,7-45,3]	28,9 [26,8-42,6]	20,3 [16,3-23,1]	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	55,5 [48,3-67,0]	45,7 [43,1-48,1]	24,5 [20,3-27,8]	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	15,8	15,8	15,8	15,8
65	55	AR	jan 98	39,4	6,6	4,2	100 [NC]	100	100	86,6	35,4							
66	56	SV_18	fév 98	21,4	7,4	12,4	100 [NC]	22,2 [10,5-23,4]	16,3 [16,3-18,3]	16,3 [16,3-18,3]	100 [NC]	24,7 [24,1-28,4]	20,3 [20,3-23,2]	20,3 [20,3-23,2]	35,4	15,8	15,8	15,8
70	57	CR_19	fév 98	13,7	7,7	11,4	48,0 [38,8-70,3]	45,6 [15,9-61,0]	18,3 [16,3-21,6]	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	98,2 [75,1-100]	50,7 [33,8-64,2]	25,5 [20,3-26,7]	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	15,8	15,8	15,8	15,8
76	58	PG_20	mai 98	11,0	7,0	6,2	100 [NC]	100	100	100	100							
77	59	C1	jun 98	23	8,0	54,2	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	1,9 [NC] <sup>[a]</sup>	1,9 [NC] <sup>[a]</sup>	1,9 [NC] <sup>[a]</sup>	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	5,5 [NC] <sup>[a]</sup>	5,5 [NC] <sup>[a]</sup>	5,5 [NC] <sup>[a]</sup>	3,2	3,2	3,2	3,2
79	61	C2	jun 98	17,5	7,9	67,1	8,4 [6,6-9,9]	1,9 [NC] <sup>[a]</sup>	1,9 [NC] <sup>[a]</sup>	1,9 [NC] <sup>[a]</sup>	10,9 [9,1-12,4]	5,5 [NC] <sup>[a]</sup>	5,5 [NC] <sup>[a]</sup>	5,5 [NC] <sup>[a]</sup>	3,2	0,01	0,01	0,01
81	63	MZ	jun 98	14	8,2	36,1	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	1,9 [NC] <sup>[a]</sup>	1,9 [NC] <sup>[a]</sup>	1,9 [NC] <sup>[a]</sup>	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	5,5 [NC] <sup>[a]</sup>	5,5 [NC] <sup>[a]</sup>	5,5 [NC] <sup>[a]</sup>	15,8	0,3	0,3	0,3
82	65	B1	jun 98	17,8	7,9	40,0	8,4 [6,6-8,4]	1,9 [NC] <sup>[a]</sup>	1,9 [NC] <sup>[a]</sup>	1,9 [NC] <sup>[a]</sup>	10,8 [9,1-10,9]	5,5 [NC] <sup>[a]</sup>	5,5 [NC] <sup>[a]</sup>	5,5 [NC] <sup>[a]</sup>	3,2	3,2	3,2	3,2
94	76	PG_28	juil 98	1,3	7,3	5,2	100 [NC]	100	100	100	100							
96	67	Q_27 <sup>[c]</sup>	jun 98	52,5	6,7	21,5	100 [NC]	100 [NC]	23,6 [22,1-23,7]	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	100 [NC]	100 [NC]	24,9 [24,3-25,6]	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	3,2	3,2	3,2	3,2
100	76	Q_27 <sup>[c]</sup>	jun 98	51,6	7,1	20,0	100 [NC]	69,6 [32,5-77,5]	16,3 [16,3-18,3]	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	100 [NC]	77,5 [40,0-80,0]	20,3 [20,3-23,2]	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	35,4	3,2	3,2	3,2
101	77	Q_27 <sup>[c]</sup>	jun 98	50,7	6,9	21,1	22,5 [12,6-93,5]	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	81,8 [50,1-100]	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	15,8	15,8	15,8	15,8
102	78	Q_27 <sup>[c]</sup>	jun 98	52	6,9	22,9	100 [NC]	74,7 [70,3-82,6]	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	100 [NC]	80,2 [77,2-85,9]	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	86,6	35,4	15,8	3,2
103	79	Q_29	sep 98	NM	NM	NM	100 [NC]	65,8 [43,3-83,3]	43,7 [39,6-46,4]	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	100 [NC]	76,0 [55,0-86,8]	49,4 [45,9-51,7]	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	100	35,4	35,4	15,8
111	81	Q_30	oct 98	40,5	6,6	18,3	100 [NC]	41,5 [NC]	29,8 [NC]	11,0 [NC] <sup>[a]</sup>	100 [NC]	81,7 [NC]	35,9 [NC]	15,0 [NC] <sup>[a]</sup>	100	24,5	14,1	14,1
112	88	BL	déc 98	NM	8,5	NM	58,2 [44,0-88,0]	27,5 [NC] <sup>[a]</sup>	27,5 [NC] <sup>[a]</sup>	27,5 [NC] <sup>[a]</sup>	86,9 [73,9-100]	37,5 [NC] <sup>[a]</sup>	37,5 [NC] <sup>[a]</sup>	37,5 [NC] <sup>[a]</sup>	35,4	35,4	15,8	3,2
133	138	PG_39	mai 99	NM	NM	NM	100 [NC]	100	100	100	100							
138	142	GR_40	jun 99	41,5	7,3	10,9	100 [NC]	34,7 [NC] <sup>[a]</sup>	34,7 [NC] <sup>[a]</sup>	19,1 [17,6-21,4]	100 [NC]	37,5 [NC] <sup>[a]</sup>	37,5 [NC] <sup>[a]</sup>	24,8 [22,4-26,0]	100	15,8	15,8	3,2
139	143	GR_41	jun 99	41	7,3	11,4	77,5 [NC] <sup>[a]</sup>	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	1,9 [NC] <sup>[a]</sup>	0,6 [NC] <sup>[a]</sup>	87,5 [NC] <sup>[a]</sup>	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	5,5 [NC] <sup>[a]</sup>	1,1 [NC] <sup>[a]</sup>	86,6	15,8	3,2	0,01
142	145	Q_42	sept 99	NM	NM	NM	100 [NC]	72,3 [70,8-74,8]	21,6 [19,8-24,8]	11,5 [NC] <sup>[a]</sup>	100 [NC]	78,8 [77,0-78,9]	26,7 [24,5-29,2]	17,5 [NC] <sup>[a]</sup>	100	15,8	3,2	3,2
194	191	Q_51	mai 00	NM	NM	NM	41,2 [NC]	25,8 [25,8-27,6]	19,7 [16,9-26,9]	15,3 [NC]	79,9 [NC]	29,3 [29,3-31,6]	25,7 [21,1-30,6]	18,8 [NC]	10,1	0,5	0,5	0,5

[a] : Réponse en tout ou rien entre 2 concentrations successives testées.

[b] et [c] : Mêmes échantillons de sédiment dont l'eau interstitielle est extraite à différents temps de conservation.

100 = mesure biologique non calculable pour l'eau interstitielle brute.

[IC] = intervalle de confiance 95%.

NC = non calculable.

NM = non mesuré.



## ANNEXE 6 : Caractérisation physico-chimique et biologique des sédiments étudiés dans cette thèse.

### Toxicité des sédiments

Sédiment	Renouvellement d'eau (Nb/j)	Bioessai :		<i>C. riparius</i>		<i>H. azteca</i>		<i>H. attenuata</i>
		Type d'eau	Survie moyenne (%) [écart type]	Poids moyen (mg sec/ organisme) [écart type]	Survie moyenne (%) [écart type]	Taille moyenne (mm/ organisme) [écart type]	CL <sub>50</sub> -96h	
A	4	FMG	86 [11,4]	0,90 [0,19]	NM	NM	NM	
B1	4	FMG	86,3 [23,1]	0,49 [0,26]	NM	NM	5,5	
B2	4	FMG	74,5 [18,2]	0,61 [0,13]	NM	NM	NM	
BL	4	FMG	94 [8,9]	1,10 [0,35]	94 [8,9]	2,93 [0,54]	37,5	
C1	4	FMG	70,6 [11]	0,47 [0,11]	NM	NM	5,5	
C2	4	FMG	84 [8,9]	0,63 [0,19]	NM	NM	5,5	
CR_7	2	FMG	68 [22,8]	NM	0 [0]	NM	37,5	
CR_14	2	FMG	56 [13]	0,30 [0,14]	0 [0]	NM	17,5	
CR_16	4	FMG	80 [7,4]	0,59 [0,06]	14 [19,5]	NM	17,5	
CR_19	4	FMG	90 [10]	0,93 [0,12]	62 [16,4]	2,04 [0,34]	17,5	
IB_9	2	FMG	88 [17,9]	NM	0 [0]	NM	100,0	
IB_12	2	FMG	94 [8,9]	0,66 [0,10]	0 [0]	NM	42,8	
J	2	FMG	90 [17,3]	0,99 [0,11]	86 [5,5]	3,64 [0,74]	26,7	
MI	4	FMG	94 [8,9]	1,01 [0,22]	90 [11,3]	3,00 [0,44]	NM	
MZ	4	FMG	82,4 [11,4]	0,70 [0,11]	NM	NM	5,5	
PG_8	2	FMG	72 [20,5]	NM	80 [34,6]	NM	100,0	
PG_10	4	FMG	83,3 [11,5]	1,46 [0,19]	100 [0]	3,37 [0,56]	100,0	
PG_15	4	FMG	95 [5,8]	1,24 [0,19]	78 [13]	3,42 [0,24]	100,0	
PG_20	4	FMG	82 [16,4]	1,21 [0,15]	88 [11]	3,08 [0,22]	100,0	
Q1	4	FOS	100 [0]	0,73 [0,19]	70 [18,7]	2,95 [0,56]	17,5	
SB	2	FMG	60 [38,1]	1,27 [0,32]	98 [4,5]	3,57 [0,67]	62,5	
ST	4	FMG	92 [13]	1,12 [0,19]	92 [8,4]	3,29 [0,56]	NM	
SV_6	2	FMG	54 [8,9]	NM	0 [0]	NM	100,0	
SV_18	4	FMG	92 [8,9]	1,19 [0,16]	7,5 [15]	1,77 [0,30]	20,3	

FMG= 1/4 eau de forage + 3/4 eau osmosée

FOS =1/2 eau de forage + 1/2 eau osmosée

bioessais *C. riparius*: 4j âge, 10j d'essai, 5 réplicats

bioessais *H. azteca*: 2-9j âge, 14j d'essai, 5 réplicats

NM: non mesuré

## ANNEXE 6 suite : Caractérisation physico-chimique et biologique des sédiments étudiés dans cette thèse.

### Physico-chimie des sédiments

Sédiment	EhN (mV)	Humidité % (poids eau/poids sédiment humide)	Sable grossier Fraction % <2000µm - 500µm>	Sable moyen Fraction % <500µm - 200µm>	Sable fin Fraction % <200µm - 50µm>	Limon + argile Fraction % <50µm	Carbone total (% poids sec)	Carbone organique total (% poids sec)	Carbone minéral (% poids sec)	Azote total (% poids sec)	Rapport C/N	CaCO <sub>3</sub> (% poids sec)
A	NM	81,9	14	56	23	7	0,78	0,45	0,3	0,1	4,5	2,8
B1	NM	49,4	2	4	15	79	4,10	3,40	0,7	0,3	11,3	6,2
B2	NM	70,3	2	26	38	33	2,75	1,85	0,9	0,2	9,3	5,8
BL	NM	52,4	9	44	17	31	2,52	2,29	0,2	0,3	9,2	0,0
C1	NM	47,6	2	8	14	76	3,54	3,01	0,5	0,3	10,0	2,7
C2	NM	57,9	1	6	43	50	2,72	1,98	0,7	0,2	9,9	3,8
CR_7	25	59,2	0	2	34	63	5,58	2,72	3,7	0,3	9,0	26,2
CR_14	133	51,7	0	4	27	69	5,00	2,25	2,9	0,2	10,2	27,8
CR_16	55	49,2	0	8	33	59	5,00	2,00	3,0	0,2	11,1	6,4
CR_19	67	45,9	0	8	36	56	5,10	1,75	3,4	0,2	9,2	26,9
IB_9	NM	47,2	0	4	34	62	3,52	1,93	1,8	0,2	8,4	14,8
IB_12	68	48,0	1	7	52	40	3,50	1,70	1,9	0,2	8,9	16,4
J	87	45,8	0	2	33	65	4,70	1,44	3,4	0,2	9,0	27,8
MI	NM	43,8	11	13	44	33	3,45	1,39	2,1	0,2	8,7	17,2
MZ	NM	79,3	2	42	32	24	1,99	1,28	0,7	0,1	12,8	5,9
PG_8	NM	44,5	2	55	26	17	9,80	1,04	8,9	0,2	6,9	78,5
PG_10	131	57,0	2	4	24	71	10,10	3,59	7,7	0,3	11,2	59,0
PG_15	148	58,5	1	3	16	80	10,10	3,10	7,0	0,3	11,5	64,8
PG_20	NM	66,4	0	1	12	87	10,20	2,10	8,1	0,4	4,9	46,5
Q1	38	80,6	0	0	4	96	7,50	7,40	0,1	0,7	10,6	1,2
SB	21	52,4	1	5	50	45	4,60	1,85	3,3	0,2	8,8	24,4
ST	NM	58,2	11	8	37	44	2,65	2,22	0,4	0,2	10,1	2,2
SV_6	-42	60,4	1	1	41	57	5,83	3,24	2,7	0,2	13,0	23,2
SV_18	100	56,9	0	1	11	88	5,04	2,91	2,1	0,2	12,1	18,7

NM: non mesuré

## ANNEXE 6 suite : Caractérisation physico-chimique et biologique des sédiments étudiés dans cette thèse.

### Physico-chimie des eaux interstitielles

Sédiment	pH	Conductivité ( $\mu\text{S/cm}$ )	Carbone organique total ( $\text{mg/L}$ )	Ammoniaque $\text{NH}_4^+$ ( $\text{mgN/L}$ )	Ammoniac $\text{NH}_3$ ( $\text{mgN/L}$ )	Nitrite $\text{NO}_2^-$ ( $\text{mg/L}$ )	Nitrate $\text{NO}_3^-$ ( $\text{mg/L}$ )	Phosphate $\text{PO}_4^{3-}$ ( $\text{mg/L}$ )	Dureté (mg $\text{Ca}^{2+}/\text{L}$ )
A	7,4	745	21,4	12,40	0,12	0,02	0,20	NM	130,3
B1	7,4	590	27,8	5,50	0,06	0,01	0,01	0,49	NM
B2	7,5	485	10,2	5,03	0,06	0,02	0,20	0,49	93,7
BL	6,8	1174	33,6	5,38	0,01	0,02	0,01	3,79	NM
C1	7,3	525	1,3	5,24	0,04	0,00	0,00	3,12	NM
C2	7,0	495	14,8	6,24	0,02	0,01	0,05	3,10	87,0
CR_7	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM
CR_14	8,5	1395	NM	NM	NM	NM	NM	NM	83,0
CR_16	8,1	1770	16,3	11,90	0,56	0,02	0,20	2,48	303,7
CR_19	7,3	880	29,7	12,50	0,09	0,02	0,01	6,49	NM
IB_9	7,2	700	NM	17,00	0,10	0,02	0,20	12,40	141,0
IB_12	7,1	795	NM	5,40	0,03	0,10	0,20	4,30	116,8
J	7,9	1440	17,5	67,10	2,02	0,20	0,20	1,35	199,3
MI	8,2	1805	14,0	36,10	2,11	0,20	0,20	2,20	303,2
MZ	7,0	NM	NM	5,00	0,02	NM	NM	NM	NM
PG_8	6,6	445	40,5	18,03	0,01	0,00	0,26	NM	NM
PG_10	7,8	820	14,1	20,60	0,50	0,02	0,20	6,00	104,0
PG_15	8,0	720	15,0	2,90	0,10	0,01	0,01	2,75	NM
PG_20	7,7	829	13,7	11,40	0,22	0,02	0,20	NM	158,0
Q1	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM
SB	8,0	1040	23,0	54,20	2,04	0,10	0,20	1,96	174,5
ST	7,1	545	NM	4,10	0,018	0,10	0,20	1,80	99,3
SV_6	7,9	2130	17,8	40,00	1,20	0,10	0,20	5,32	363,8
SV_18	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM

NM: non mesuré

**ANNEXE 6 suite : Caractérisation physico-chimique et biologique des sédiments étudiés dans cette thèse.**

**Métaux dans les sédiments (mg/kg)**

Sédiment	Arsenic	Cadmium	Chrome total	Cuivre	Mercuré	Nickel	Plomb	Zinc	Somme des métaux
A	9,3	<0,2	17,6	17,0	0,200	<0,2	21,1	84,2	149,4
B1	17,4	<0,2	76,9	68,0	1,000	31,0	150,7	395,7	740,7
B2	17,2	<0,2	58,8	41,5	0,600	21,7	103,9	302,1	545,8
BL	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM
C1	10,1	<0,2	67,7	61,6	0,530	28,5	157,2	468,5	794,2
C2	10,5	<0,2	46,0	37,9	0,430	16,5	77,4	277,7	466,5
CR_7	3,3	0,9	30,0	25,0	0,500	16,0	17,0	62,0	154,7
CR_14	10,0	1,1	41,0	28,0	0,234	24,0	23,0	82,0	209,3
CR_16	10,0	1,9	60,1	43,9	0,200	42,9	30,3	146,0	335,3
CR_19	11,5	1,5	44,7	38,3	0,160	30,2	10,1	118,0	254,5
IB_9	20,0	1,2	33,0	29,0	0,124	14,0	30,0	100,0	227,3
IB_12	20,0	1,3	35,0	28,0	0,110	12,0	28,0	98,0	222,4
J	<0,05	1,3	46,0	22,0	0,066	21,0	16,0	68,0	174,4
MI	10,7	<0,2	40,9	21,7	<0,010	26,0	18,4	54,7	172,4
MZ	13,5	<0,2	33,1	34,5	0,330	14,2	53,3	185,0	334,0
PG_8	2,7	<0,2	6,8	2,7	<0,010	4,7	1,4	15,7	34,0
PG_10	<0,05	<0,2	19,0	12,0	0,070	13,0	13,0	53,0	110,1
PG_15	4,0	<0,2	26,0	18,0	0,070	21,0	20,0	83,0	172,1
PG_20	2,2	<0,2	17,3	10,9	<0,010	12,9	11,5	50,6	105,3
Q1	380,0	7,0	94,0	53,0	<0,010	50,0	530,0	530,0	1644,0
SB	16,0	1,7	39,0	30,0	0,220	17,0	36,0	92,0	231,9
ST	12,0	<0,2	57,0	36,0	<0,010	34,4	49,6	151,1	340,1
SV_6	5,4	4,2	163,0	124,0	0,300	60,2	68,5	345,0	770,6
SV_18	7,0	1,1	49,0	36,0	0,270	33,0	84,0	170,0	380,4

NM: non mesuré

**ANNEXE 6 suite : Caractérisation physico-chimique et biologique des sédiments étudiés dans cette thèse.**

**Polychloro-biphényles dans les sédiments (mg/kg)**

Sédiment	Eq Aroclor 1254	PCB28	PCB 52	PCB 101	PCB 118	PCB 138	PCB 153	PCB 170	PCB 180	Somme PCB
A	<0,050	0,144	0,096	0,010	0,010	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,260
B1	<0,050	0,020	0,010	0,021	0,028	0,034	0,039	<0,005	0,028	0,180
B2	<0,050	0,020	0,010	0,020	0,022	0,026	0,031	<0,005	0,022	0,151
BL	<0,050	<0,005	0,002	0,008	0,007	0,011	0,010	<0,005	0,005	0,043
C1	<0,050	0,023	0,017	0,031	0,034	0,048	0,053	<0,005	0,039	0,245
C2	<0,050	0,008	<0,005	0,011	0,015	0,017	0,019	<0,005	0,014	0,084
CR_7	<0,050	<0,005	0,011	0,044	0,018	0,101	0,706	<0,005	<0,005	0,880
CR_14	0,270	<0,005	<0,005	<0,005	0,067	0,009	0,014	<0,005	0,016	0,106
CR_16	<0,050	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,019	0,015	0,007	0,011	0,052
CR_19	0,400	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,016	0,015	0,010	0,015	0,056
IB_9	<0,050	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,050
IB_12	<0,050	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,050
J	<0,050	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,050
MI	<0,050	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,050
MZ	<0,050	0,038	0,026	0,015	0,025	0,025	0,022	<0,005	0,010	0,161
PG_8	<0,050	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,050
PG_10	<0,050	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,050
PG_15	<0,050	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,050
PG_20	<0,050	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,050
Q1	1,410	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	0,120	0,120	0,029	0,071	0,340
SB	<0,050	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,050
ST	<0,050	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,050
SV_6	<0,050	<0,005	0,070	0,064	0,184	0,109	<0,005	<0,005	0,084	0,511
SV_18	0,083	<0,005	<0,005	<0,005	0,038	0,014	0,006	<0,005	0,005	0,063

## ANNEXE 6 fin : Caractérisation physico-chimique et biologique des sédiments étudiés dans cette thèse.

### Hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les sédiments (mg/kg)

Sédiment	Equiv. Gasoil	Equiv. huiles minérales	Acénaphthène	Anthracène	Benzo (a) anthracène	Benzo (a) pyrène	Benzo (b) fluoranthène	Benzo (k) fluoranthène	Benzo (ghi) pérylène	Chrysène	dibenzo (a,h) anthracène	Fluoranthène	Fluorène	indéno (1,2,3-cd) pyrène	Naphthalène	Phénanthrène	Pyrène	somme HAP
A	<0,2	<0,5	0,100	0,280	1,060	1,260	1,170	0,510	0,980	0,680	<0,020	1,650	<0,050	0,970	<0,050	0,640	1,250	10,550
B1	<0,2	<0,5	<0,050	0,230	0,930	1,060	0,180	0,520	0,970	0,680	<0,020	1,900	<0,050	0,570	<0,050	0,620	1,480	9,140
B2	<0,2	<0,5	<0,050	0,200	0,690	0,760	0,850	0,380	0,700	0,560	<0,020	1,400	<0,050	0,410	<0,050	0,530	0,200	6,680
BL	<0,2	<0,5	0,370	0,690	2,870	2,300	2,880	1,510	1,820	2,860	0,710	6,300	0,510	1,840	<0,050	3,440	4,230	32,330
C1	<0,2	<0,5	0,070	0,230	0,960	1,140	1,270	0,580	1,180	0,860	<0,020	0,750	<0,050	1,210	<0,050	0,680	1,510	10,440
C2	<0,2	<0,5	0,070	0,280	0,850	0,880	0,920	0,410	0,790	0,680	<0,020	1,580	<0,050	0,480	<0,050	0,550	1,210	8,700
CR_7	<0,2	<0,5	<0,050	<0,040	0,250	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	0,250	<0,020	0,480	<0,050	<0,010	0,100	0,290	0,480	1,850
CR_14	370	121	<0,050	0,060	0,100	0,100	0,100	0,050	<0,010	0,130	<0,020	0,270	<0,050	<0,010	<0,050	0,170	0,360	1,340
CR_16	<0,2	<0,5	<0,050	0,040	0,120	0,060	0,120	0,040	<0,010	0,120	<0,020	0,240	<0,050	<0,010	<0,050	0,100	0,240	1,080
CR_19	<0,2	<0,5	<0,050	0,052	0,120	0,060	0,080	0,030	<0,010	0,140	<0,020	0,350	0,052	<0,010	0,042	0,120	0,310	1,356
IB_9	<0,2	<0,5	<0,050	<0,040	0,110	0,160	0,160	0,090	0,120	0,120	0,030	0,390	<0,050	0,200	<0,050	0,160	0,320	1,860
IB_12	<0,2	<0,5	<0,050	<0,040	0,100	0,160	<0,010	0,090	0,120	1,120	0,020	0,039	<0,050	0,200	<0,050	0,160	0,320	2,499
J	<0,2	<0,5	<0,050	<0,040	0,080	0,080	0,110	0,050	<0,010	0,130	<0,020	0,230	<0,050	<0,010	<0,050	0,120	0,200	1,000
MI	<0,2	<0,5	<0,050	<0,040	0,120	0,110	0,170	0,080	<0,010	0,120	<0,020	0,290	<0,050	<0,010	<0,050	<0,050	0,180	1,070
MZ	<0,2	<0,5	0,029	0,700	1,540	1,510	1,430	0,670	1,150	1,030	<0,020	0,390	0,600	0,690	<0,050	2,520	2,390	14,649
PG_8	<0,2	<0,5	<0,050	<0,040	0,050	0,050	0,050	0,030	<0,010	<0,050	<0,020	0,200	<0,050	<0,010	<0,050	<0,050	0,140	0,520
PG_10	<0,2	<0,5	<0,050	0,060	0,420	0,420	0,390	0,220	0,140	0,350	0,060	0,610	<0,050	0,190	<0,050	0,300	0,600	3,760
PG_15	<0,2	<0,5	<0,050	0,060	0,450	0,380	0,450	0,200	0,230	0,380	0,030	0,880	<0,050	0,320	<0,050	0,270	0,550	4,200
PG_20	<0,2	<0,5	<0,050	0,040	0,280	0,240	0,310	0,130	0,100	0,230	0,020	0,510	<0,050	0,140	<0,050	0,140	0,310	2,450
Q1	<0,2	<0,5	<0,050	0,050	0,000	0,190	0,310	0,120	<0,010	0,140	0,140	0,500	<0,050	<0,010	<0,050	0,500	0,400	2,350
SB	<0,2	<0,5	<0,050	<0,040	0,000	0,140	0,140	0,080	0,140	0,100	0,030	0,230	<0,050	0,140	<0,050	0,110	0,150	1,260
ST	<0,2	<0,5	<0,050	0,150	0,340	0,330	0,330	0,180	<0,010	0,320	<0,020	0,840	<0,050	<0,010	<0,050	0,550	0,530	3,570
SV_6	<0,2	2320	<0,050	0,130	0,300	0,210	0,290	0,100	<0,010	0,320	<0,020	<0,040	0,050	<0,010	<0,050	0,260	0,400	2,060
SV_18	<0,2	<0,5	<0,050	<0,040	0,100	0,090	0,170	0,060	0,040	0,110	<0,020	0,250	<0,050	0,050	<0,050	0,110	0,170	1,150



## ASSESSING THE POTENTIAL TOXICITY OF RESUSPENDED SEDIMENT

CORINNE BONNET,\*† MARC BABUT,‡ JEAN-FRANÇOIS FÉRARD,§ LOUIS MARTEL,|| and JEANNE GARRIC†

†Laboratoire d'écotoxicologie, Cemagref, 3 bis Quai Chauveau, 69336 Lyon cedex 9, France

‡Agence de l'eau Rhin-Meuse, Rozérieulles—BP 30019, 57161 Moulins-Lès-Metz, France

§Centre des Sciences de l'Environnement, 1 rue des Récollets, BP 4025, 57040 Metz, France

||Ministère de l'environnement et de la faune du Québec, 360 Franquet, Sainte-Foy G1P 4N3, Canada

(Received 17 February 1999; Accepted 10 August 1999)

**Abstract**—Two moderately contaminated freshwater sediments (Sorel Harbour, St. Lawrence River, Canada) were subjected to a suspension event. The objective was to assess the environmental impact of the disposal of dredged material in water, in particular, the short-term effects of dumping on the water column and the long-term effects of dredged sediment deposits. In a series of microcosms, the sediments were left to stand for 25 d under flow-through conditions (reference conditions). In a second series of microcosms, sediments were vigorously suspended for 15 min before being left to settle and were submitted to the same treatment as reference sediments during the following 25 d. Physicochemical and biological parameters (*Daphnia magna* and *Hydra attenuata* survival) were measured in overlying water throughout the experiment. Sediment toxicity was assessed with *Chironomus tentans* and *Hyalella azteca* exposed to sediments collected at both the beginning and end of the 25-d period. Pore-water toxicity was evaluated with *D. magna*. During the suspension process, in the Sorel Harbour mixed sediment overlying water, we observed effects on *H. attenuata* survival and ammonia and metals (chromium, copper, and zinc) releases. Meanwhile, in reference (nonmixed) and mixed sediments as well as in associated pore waters, there were no significant chemical modifications nor biological effects after the 25-d experiments. The developed approach, which attempts to simulate a dumping process, aims at allowing the assessment of the short- and long-term hazards resulting from a resuspension process in overlying water and in resettled sediments using both chemical and biological measurements.

**Keywords**—Sediment Resuspension impact Toxicity Metals

## INTRODUCTION

A significant part of pollutants, free or bound to suspended matter, is deposited onto sediment via adsorption, flocculation, and sedimentation [1]. Sediment is also a source of potentially hazardous chemicals to the water column [2]. Dam draining and dredging activities are among the main anthropogenic activities leading to the remobilization of metals from sediments [3]. Depending on the pollutant's toxicity and bioavailability, there are different procedures dealing with dredged material in the framework of waterways management, including beneficial use, storage in confined sites, upland disposal, or relocation in the water [4,5]. With the relocation of dredged material, the deposited sediment material remains in the river at other places. This solution has potential environmental effects if sediments are contaminated and physicochemical processes make contaminants available to the biota. Mixing processes occurring during the dumping phase of such operations can lead to a remobilization of sediment pollutants that will affect the overlying water as well as the dredged material (interstitial water components and particles), with a potential subsequent impact on pelagic or benthic organisms [2,6].

The purpose of our study was to measure the toxic impact of moderately contaminated sediments submitted to a suspension process. Such sediments, widespread in the environment, are generally rejected in waterflows during dredging activities [4]. The two main objectives of the study were to determine, through experimental simulation, if this sediment could represent immediate hazard for the water column during the

dumping process that follows a dredging action and if it could occur as a longer term hazard in the deposit area. The study was conducted with two sediments from the Sorel Harbour area, in the St. Lawrence River. These sediments contained few traces of one organic contaminant (DDT) and were mainly contaminated with metals [7]. The metal concentrations in these sediments were between the proposed threshold effect level and probable effect level values [8]. Consequently, they are considered as moderately contaminated sediments and dredging is possible.

Both the two sediments and interstitial waters were biologically and physicochemically characterized at the beginning of the experiment and 25 d later. Whole sediment toxicity was assessed with a *Chironomus tentans* 10-d test and a *Hyalella azteca* 14-d test [9,10]. Simultaneously, 48-h pore-water toxicity tests were carried out with *Daphnia magna* exposed to corresponding extracted pore water [11]. During the experiment, standard 48-h and currently developed 96-h overlying water toxicity tests were performed, respectively, with *D. magna* and *Hydra attenuata* [12]. Several physicochemical overlying water parameters were monitored. The *C. tentans* and *H. azteca* bioassays were used because these benthic and epibenthic organisms are widely documented and represent different exposition pathways and sensitivities. Using *D. magna* to study pore water allowed us to compare results between pore water and overlying water with a standard, widely used bioassay. Additional tests with *H. attenuata* allowed us to detect both lethal and possible more sensitive sublethal effects [13].

The physical structure and the acid-volatile sulfides (AVS) content of the sediments were determined. The organic content

\* To whom correspondence may be addressed  
(bonnet@lyon.cemagref.fr).



# Effects of a resuspension process on metal bioavailability and sediment toxicity

Corinne Bonnet,\*<sup>†1</sup> Jeanne Garric,<sup>†</sup> Helene. Percherancier,<sup>‡</sup> Benard Migeon,<sup>†</sup> Jean-Louis Roullet,<sup>‡</sup> Bernard Montuelle,<sup>‡</sup>

<sup>†</sup> Division Biologie des Ecosystèmes Aquatiques,

<sup>‡</sup> Division Qualité des eaux, prévention des pollutions,

Cemagref, 3 bis Quai Chauveau 69336 Lyon cedex 9, France

## Abstract

In the laboratory, a metal contaminated sediment was submitted to a resuspension process in order to further assess the quality of settled particles. Toxicity and physico-chemistry of the resettled polluted particles were measured 3 days and 28 days after mixing and compared to those of undisturbed sediment. Sediment total metal charge and toxicity did not evolve: *Chironomus riparius* detected some toxicity (lethal and sublethal effect) while *Hyalella azteca* did not. Nevertheless, metals and more particularly arsenic binding phases were affected by the mixing process, showing a transition of arsenic from sulfide and organic matter phases into iron and manganese oxyhydroxides phases.

In the conditions of our study, after the resuspension process, the contaminated sediment was found to settle without any modification in term of toxicity and contaminant load but with a modification of the metal-binding phases.

## Key words

Sediment toxicity, Metals, Resuspension effects, *C. riparius*, *H. azteca*

---

<sup>1</sup> \* To whom correspondence may be addressed

(bonnet@lyon.cemagref.fr)



**Les biotests de laboratoire utilisés pour la mesure de la toxicité de sédiments d'eau douce.**  
par Corinne BONNET et Jeanne GARRIC

**TABLE DES MATIERES**

1.1 INTRODUCTION .....	2
1.2 LES MÉTHODES DE MESURE DE LA TOXICITÉ DU SÉDIMENT .....	2
1.2.1 <i>Les biotests sur la phase aqueuse</i> .....	3
1.2.2 <i>Les biotests sur le sédiment entier</i> .....	3
1.3 LES CARACTÉRISTIQUES DES SÉDIMENTS POUVANT INFLUENCER LA RÉPONSE BIOLOGIQUE .....	4
1.3.1 <i>Les caractéristiques géochimiques des sédiments</i> .....	4
1.3.2 <i>L'oxygène dissous et l'ammoniac</i> .....	4
1.3.3 <i>Les caractéristiques biologiques des sédiments</i> .....	4
1.4 LES FACTEURS DE PERTURBATION DES ÉQUILIBRES DES SÉDIMENTS .....	5
1.4.1 <i>Le prélèvement des sédiments</i> .....	5
1.4.2 <i>La conservation des sédiments</i> .....	5
1.4.3 <i>La préparation des sédiments</i> .....	5
1.5 LES CONDITIONS D'ESSAIS INFLUENÇANT LA RÉPONSE DES ORGANISMES .....	6
1.5.1 <i>Le taux de renouvellement de l'eau surnageante</i> .....	6
1.5.2 <i>La durée d'exposition</i> .....	6
1.5.3 <i>L'âge des organismes</i> .....	6
1.5.4 <i>La nourriture</i> .....	6
1.5.5 <i>Le sédiment contrôle</i> .....	7
1.6 LES PRINCIPAUX BIOTESTS .....	7
1.6.1 <i>Les microbiotests</i> .....	10
1.6.2 <i>Les macrobiotests</i> .....	11
1.6.3 <i>Les batteries de biotest</i> .....	14
1.7 PERSPECTIVES .....	16
1.8 BIBLIOGRAPHIE .....	17