

50376  
1992  
343

62 208

50376  
1992  
343

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE  
U.F.R DE BIOLOGIE

## THESE

EN VUE DE L'OBTENTION DU GRADE DE  
DOCTEUR D'UNIVERSITE  
EN SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

PAR

François SEPTIER

Etude de la bioconcentration de métaux lourds chez une  
annélide polychète estuarienne endobenthique  
(Nereis diversicolor).

Utilisation des plans factoriels pour une meilleure  
évaluation des risques écotoxicologiques liés aux  
interactions métalliques



PRESENTEE ET SOUTENUE LE 8 DECEMBRE 1992 DEVANT LA COMMISSION :

### Jury :

Président : Mme N. DHAINAUT-COURTOIS  
Rapporteurs : Mr M. LAFONT  
: Mr M. VAILLANT  
Examineurs : Mr D. DIVE  
: Mr A. LEPRETRE

Le savant n'est pas l'homme qui fournit les vraies réponses ; c'est celui qui pose les vraies questions.

Claude LEVI-STRAUSS 1908

Celui qui trouve ce qu'il cherche fait en général un bon travail d'écolier ; pensant à ce qu'il désire, il néglige souvent les signes, parfois minimes, qui apportent autre chose que l'objet de ses prévisions. Le vrai chercheur doit savoir faire attention aux signes qui révéleront l'existence d'un phénomène auquel il ne s'attend pas.

Louis LEPRINCE-RINGUET 1901

## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les différentes personnalités qui ont accepté de siéger dans mon jury :

**Mme N. Dhainaut-Courtois**, Professeur à l'Université de Lille I, qui a été mon directeur de recherche durant ces trois années et qui m'a accordé sa confiance en me laissant développer un thème nouveau dans le laboratoire. Je la remercie vivement et la prie de croire à ma profonde reconnaissance.

**Mr M. Lafont**, Ingénieur de recherche au CEMAGREF, qui malgré ses charges, a accepté avec bienveillance et intérêt le travail de rapporteur.

**Mr M. Vaillant**, Docteur d'Etat, Ingénieur Rhône-Poulenc, qui avec beaucoup de patience a pris la peine de décortiquer mon travail afin de l'enrichir des méthodes statistiques appropriées. Sa rigueur scientifique et sa disponibilité ont largement contribué à la qualité de ce travail.

**Mr D. Dive**, Chargé de recherches à l'INSERM, qui par ses nombreux conseils avisés a concouru à la qualité de l'analyse statistique des données.

**Mr A. Lepretre**, Maître de Conférences, laboratoire d'écologie numérique, Lille I, qui a pris le temps de lire mon mémoire et d'y apporter les formulations mathématiques adéquates.

Toute ma gratitude va vers quelques personnes qui ont cru en mon travail et qui m'ont permis de l'achever dans de bonnes conditions.

Je remercie **Cécile**, mon épouse, qui malgré les moments difficiles n'a jamais cessé de me soutenir. Son attention permanente a été le moteur de cette thèse.

Je remercie chaleureusement **Mr et Mme Rabier** pour leur appui et leur amitié.

Merci aux différentes personnes du laboratoire qui d'une manière ou d'une autre ont montré de l'intérêt pour mon travail.

Je pense notamment à **Mr Demuynck** qui m'a apporté son appui tant matériel qu'intellectuel depuis mon arrivée dans le laboratoire.

Merci à tous mes camarades de DEA et Thèse, **Mathilde, Edwige, Nathalie, Robin, Fabien, Jean, Christelle**, avec qui j'ai partagé travail et fructueuses discussions sur de nombreux thèmes.

Je remercie également **Mr Montagne, Mme Bonet** et **Mme Masson** pour leur soutien et leur compréhension.

Je suis heureux de dédier ce travail à mes parents et à ma tante qui m'ont permis de faire les études dont ce mémoire est l'aboutissement.

Je voudrais ajouter une pensée pour **Mme Brigitte Dumas** et **Mme Georgette Briois**. Je garde un souvenir chaleureux de leurs encouragements. A leur manière, elles ont également contribué à la construction de cet ouvrage.

# SOMMAIRE

Page  
1

## Introduction

### CHAPITRE I ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

1	- Les métaux dans l'environnement	4
1.1-	Forme des métaux	5
1.2-	Forme de métaux en milieu aqueux	6
1.3-	Facteurs influençant la forme des métaux	8
2	- Les métaux et la vie	10
2.1-	Les métaux "essentiels"	10
2.2-	Les métaux lourds et les organismes aquatiques	12
2.3-	Les interactions métalliques	14

### CHAPITRE II MATERIEL ET METHODES

1	- Sites de récolte, matériel biologique	17
2	- Choix des métaux	22
3	- Récolte et préparation des animaux	21
3.1-	Campagnes 88-89	21
3.1.1-	Détermination de l'âge	21
3.1.2-	Détermination des teneurs métalliques	22
3.1.3-	Analyse granulométrique des sédiments	23
3.2-	Campagne 91	24
3.3-	Etudes expérimentales	25
	Recherche des interactions métalliques en conditions expérimentales. Effets sur la quantité de métal accumulée par <i>Nereis diversicolor</i>	
3.3.1-	Exemple théorique	25
a)	Terminologie	25
b)	Définition des termes généraux du modèle	26
c)	Traitement des résultats	27
3.3.2-	Protocole expérimental	31

<b>4</b>	<b>- Expression et traitement des résultats</b>	<b>32</b>
4.1	- Paramètres de centrage et de dispersion usuels:	32
4.2	- Comparaisons de variances	33
	4.2.1 Comparaison de deux variances	33
	4.2.2 Comparaison de plusieurs variances	33
4.3	- Analyse de la variance (ANOVA)	33
4.4	- Analyse multivariable des données	34

### **CHAPITRE III**

#### **RESULTATS**

#### **A Analyse statistique multivariable des données recueillies sur le terrain lors des campagnes 88, 89 et 91**

<b>1</b>	<b>- Campagnes 88-89</b>	<b>36</b>
1.1	<b>-Analyse multivariée des données concernant les animaux</b>	<b>43</b>
1.1.1-	Site 1 : Estuaire de l'Aa	43
	a) Cercle des corrélations du plan 1,2 de l'A.C.P.	46
	b) plan 1,2 de l'A.C.P.	49
	c) Teneurs métalliques dans les sédiments	51
1.1.2-	Site 2 : Petit port de Boulogne	53
	a) Cercle des corrélations du plan 1,2	57
	b) plan 1,2 de l'A.C.P.	59
	c) Cercle des corrélations du plan 1,3	61
	d) plan 1,3 de l'A.C.P.	62
	e) Teneurs métalliques dans les sédiments	63
1.1.3-	Discussion	65
1.2	<b>- Influence de l'âge des animaux sur les concentrations métalliques rencontrées</b>	<b>65</b>
1.3	<b>- Analyse multivariée des données concernant le sédiment</b>	<b>67</b>
1.3.1-	Normalisation	67
	a) Normalisation par la granulométrie	67
	b) Normalisation géochimique	68

1.3.2-	Site 1 : Estuaire de l'Aa	68
1.3.3-	Site 2 : Petit port de Boulogne	72
	a) Cercle des corrélations du plan 1,2 de l'A.C.P.	74
	b) Cercle des corrélations du plan 1,3 de l'A.C.P	76
1.4	- Discussion	76
2	- Campagne 91	77
2.1-	Analyse multivariée des données relatives aux sédiments	77
2.1.1-	Analyse en composantes principales sur l'ensemble des données recueillies sur les quatre zones de prélèvement	77
	a) Cercle des corrélations du plan 1,2 de l'A.C.P.	79
	b) Plan 1,2 de l'A.C.P.	80
2.1.2-	Analyse en composantes principales sur le site n°4	82
	a) Cercle des corrélations du plan 1,2 de l'A.C.P.	83
	b) Plan 1,2 e l'A.C.P.	84
3	- Discussion	85
<b>B Etude expérimentale des interactions métalliques et de leurs effets sur la pénétration des métaux dans l'animal.</b>		
<b>Méthode des plans factoriels.</b>		86
1	- Concentrations métalliques déterminées à partir d'études préalables, portant sur la résistance de l'animal et la cinétique d'accumulation.	86
1.1-	Variation des teneurs en manganèse	87
1.1.1-	Cinétique d'accumulation des métaux	89
1.2-	Variation des teneurs en fer	90
1.3-	Variation des teneurs en cadmium	92
1.4-	Variation des teneurs en zinc	92
2	- Concentrations métalliques en proportion molaire identique	93

2.1-	Variation des teneurs en manganèse	94
2.2-	Variation des teneurs en fer	98
2.3-	Variation des teneurs en cadmium	99
2.4-	Variation des teneurs en zinc	99
2.5-	Distribution des métaux dans les phases solubles et précipitées	100
<b>3</b>	<b>- Interactions cadmium, zinc, manganèse et salinité</b>	<b>101</b>
3.1-	Variation des teneurs en manganèse	102
3.2-	Variation des teneurs en zinc	104
3.3-	Variation des teneurs en cadmium	105
<b>4</b>	<b>- Teneurs métalliques dans les différentes parties de l'animal</b>	<b>107</b>
4.1-	Comparaison des concentrations métalliques	108
4.1.1-	Analyse des données relatives au manganèse	109
4.1.2-	Analyse des données relatives au cadmium	111
4.1.3-	Analyse des données relatives au zinc	113
4.1.4-	Analyse des données relatives au fer	115
4.2-	Plan factoriel appliqué aux différentes parties de l'animal	119
4.2.1-	Partie antérieure	119
	a) Variation des teneurs en manganèse	119
	b) Variation des teneurs en zinc	122
	c) Variation des teneurs en cadmium	125
4.2.2-	Partie moyenne	128
	a) Variation des teneurs en manganèse	128
	b) Variation des teneurs en zinc	129
	c) Variation des teneurs en cadmium	132
4.2.3-	Partie postérieure	133
	a) Variation des teneurs en manganèse	133
	b) Variation des teneurs en zinc	135
	c) Variation des teneurs en cadmium	136

<b>5</b>	<b>- Discussion-Conclusion</b>	<b>138</b>
	<b>Bibliographie</b>	<b>148</b>
	<b>Annexes</b>	

## INTRODUCTION

## INTRODUCTION

Depuis toujours, l'homme a cherché à tirer parti de son environnement. Sa principale activité consiste à en exploiter les ressources géochimiques et biologiques. Au cours de la première étape, les matières premières sont prélevées directement sur le terrain. Déjà à ce stade, de profonds bouleversements peuvent intervenir au sein des écosystèmes concernés. Dans un second temps, ces matières premières subissent des traitements spécifiques destinés à les transformer en produits élaborés. Au cours de cette dernière étape, de nombreuses substances sont relâchées dans l'environnement, créant de ce fait des déséquilibres importants au sein des écosystèmes. Parmi ces substances, les métaux forment un groupe important.

Comme pour de nombreux polluants, le milieu récepteur principal est l'océan. Son volume important a longtemps servi d'excuse pour ne pas limiter les rejets. Le réseau hydrographique autour duquel s'organisent les industries ne représente que 0,02% en masse de l'hydrosphère. Même si les  $1370 \cdot 10^6 \text{ km}^3$  des océans sont effectivement capables de diluer suffisamment ces rejets pour en limiter la toxicité, le parcours des effluents le long des cours d'eau et dans les estuaires laisse des traces de plus en plus "indélébiles".

L'augmentation importante des activités industrielles de ces dernières décennies a été de pair avec l'augmentation des rejets. Localement, des écosystèmes ont subi de graves modifications, diminution de la diversité des espèces voire même une destruction totale.

Depuis quelques années, une prise de conscience collective des problèmes a permis la mise en oeuvre de nombreux programmes d'étude destinés dans un premier temps à localiser cette forme de pollution et d'en étudier les effets sur la faune.

Les impératifs de la préservation de l'environnement donnent rapidement lieu à des discussions internationales comme à Strasbourg en

1968, à l'origine de la Charte Européenne de l'eau (figure 1), ou plus récemment à la conférence de Rio.

**Figure 1** : Charte Européenne de l'eau proclamée le 6 mai 1968 à Strasbourg par le conseil de l'Europe.

1. Il n'y a pas de vie sans eau. C'est un bien précieux, indispensable à toutes les activités humaines.
2. Les ressources en eaux douces ne sont pas inépuisables. Il est indispensable de les préserver, de les contrôler, et si possible de les accroître.
3. Altérer la qualité de l'eau, c'est nuire à la vie de l'homme et des autres êtres vivants qui en dépendent.
4. La qualité de l'eau doit être préservée à des niveaux adaptés à l'utilisation qui en est prévue et doit, notamment, satisfaire aux exigences de la santé publique.
5. Lorsque l'eau, après utilisation, est rendue au milieu naturel, elle ne doit pas compromettre les usages ultérieurs, tant publics que privés, qui seront faits de celui-ci.
6. Le maintien d'un couvert végétal approprié, de préférence forestier, est essentiel pour la conservation des ressources en eaux.
7. Les ressources en eaux doivent faire l'objet d'un inventaire.
8. La bonne gestion de l'eau doit faire l'objet d'un plan arrêté par les autorités compétentes.
9. La sauvegarde de l'eau implique un effort accru de recherche scientifique, de formation de spécialistes et d'information publique.
10. La gestion des ressources en eaux devrait s'inscrire dans le cadre du bassin naturel plutôt que dans celui des frontières administratives et politiques.
11. L'eau n'a pas de frontière. C'est une ressource commune qui nécessite une coopération internationale.

Depuis plusieurs années notre laboratoire s'est attaché à mettre en évidence des protéines capables de fixer certains métaux lourds, plus particulièrement le cadmium, et qui participent de ce fait à une certaine

forme de résistance de l'animal face à un environnement contaminé. En amont de ce travail, nous nous sommes quant à nous plus particulièrement attaché à la recherche des paramètres qui peuvent influencer la bioconcentration des métaux par l'animal.

L'étude a été menée sous la direction de Madame le professeur N. Dhainaut-Courtois dans le cadre du service d'écotoxicologie du laboratoire de phylogénie moléculaire des annélides (C.N.R.S E.R.S 20). L'ensemble de l'étude se rapporte à l'observation des relations entre une annélide polychète euryaline *Nereis diversicolor* (récemment rebaptisée: *Hediste diversicolor*) et son milieu fortement contaminé par certains métaux lourds.

Ce travail s'articule en deux volets. La première approche est une étude *in situ* destinée à quantifier les concentrations en différents métaux dans les animaux et dans les sédiments. La seconde approche est expérimentale, elle a pour but de mettre en évidence l'existence d'interactions entre les métaux et d'en observer les effets en terme d'accumulation d'ions métalliques par l'animal.

Les études de terrain ont été soutenues par un contrat IFREMER-Région Nord-Pas-de-Calais. Elles concernent la recherche de douze métaux dans les sédiments et les animaux sur des zones déterminées de l'estuaire de l'Aa et du petit port de Boulogne. Des corrélations ont été recherchées entre les teneurs métalliques des animaux et du sédiment. L'âge des individus ainsi que la saison ont également été pris en considération. Ces premiers résultats ont fait l'objet d'un rapport (Septier *et al*, 1990), et d'une publication dans la revue *Oceanologica acta* (Septier *et al*, 1991).

Dans la deuxième partie, nous avons développé la méthode des plans factoriels couramment employée en agronomie et en chimie industrielle. L'analyse des données par régression multiple permet l'accès à la modélisation. Cet outil mathématique a été utilisé dans la recherche des interactions entre cinq paramètres abiotiques : concentrations en cadmium, manganèse, fer et zinc dans le milieu et la variation de la salinité.

CHAPITRE I

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

## ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

### 1 LES METAUX DANS L'ENVIRONNEMENT

Sur les dix éléments les plus abondants dans la croûte terrestre, sept sont des métaux (Giddings, 1973):

- Al(7,5% en poids)
- Fe(4,7%)
- Ca(3,4%)
- Na(2,6%)
- K(2,4%)
- Mg(1,9%)
- Ti(0,6%)

Il n'est donc pas étonnant de rencontrer ces différents métaux dans notre environnement. Néanmoins, dans de nombreux écosystèmes, notamment en milieu marin et estuarien, les concentrations métalliques relevées sont particulièrement élevées. L'origine anthropique d'une grande partie de ces métaux n'est plus à démontrer. De nombreux effluents industriels contiennent des sels métalliques qui s'accumulent dans les sédiments. Dans ces énormes réservoirs de polluants que sont les sédiments, les métaux sont en partie piégés par fixation sur la matière organique ou autre processus chimique. Toute perturbation de l'environnement est susceptible d'entraîner une désorption de ces métaux avec les conséquences écologiques que l'on peut imaginer. La charge d'un sédiment est directement affectée par les taux d'entrée et de sortie du système.

Les métaux traces ne sont généralement pas éliminés des écosystèmes aquatiques par des processus naturels contrairement à de nombreux polluants organiques. La forme chimique du métal détermine son devenir. Soit il s'accumule dans les sédiments, soit il intègre la chaîne alimentaire. Dans ce dernier cas, les différents maillons de la chaîne peuvent être contaminés, atteignant parfois l'homme situé à son extrémité. On citera

notamment le drame de Minamata en 1953 (contamination par le mercure) ou les concentrations en méthylmercure dans les animaux marins consommés par les pêcheurs locaux était 500 000 fois supérieures à celle des eaux de la baie. Un autre exemple est la maladie itaï-itaï qui pourrait avoir pour origine l'ingestion de cadmium. Les effets en sont malheureusement encore visibles aujourd'hui.

Il faut souligner que la bioaccumulation qui concerne un bon nombre de polluants chimiques et organiques (notamment pesticides organochlorés et composés organohalogénés) ne semble être possible que pour certains métaux (Bouquegneau et al., 1977 ; Amiart-Triquet et al., 1980 ; Metayer et al., 1980 ; Fowler, 1982).

Les propriétés essentielles des substances écotoxiques sont les suivantes (Goodman, 1974) :

- La persistance dans l'environnement.
- La mobilité dans l'environnement.
- L'incapacité à donner des produits insolubles.
- Les propriétés toxiques intrinsèques.

### 1.1 Forme des métaux

La quantité totale de métal présent dans un écosystème importe moins que sa forme chimique (Sunda et al., 1978 ; Sanders et al., 1985). C'est de cette forme que dépendront la mobilité et la biodisponibilité du métal. Les métaux traces existent dans l'eau à l'état ionique, complexés, sous forme colloïdale ou adsorbés sur le matériel particulaire organique ou inorganique. Les métaux forment des complexes plus ou moins stables. Cette stabilité est fonction de la nature de l'ion complexant (Tableau 1).

**Tableau 1 : Classification des donneurs et des accepteurs**  
(adapté de Pearson, 1968)

<b>Accepteurs forts</b>	<b>Intermédiaires</b>	<b>Accepteurs Faibles</b>
H <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Be <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> Ca <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> , Al <sup>3+</sup> , Cr <sup>3+</sup> Co <sup>3+</sup> , Fe <sup>3+</sup> , As <sup>3+</sup>	Fe <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> Zn <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup>	Cu <sup>+</sup> , Ag <sup>+</sup> , Au <sup>+</sup> , Ti <sup>+</sup> Hg <sup>2+</sup> , Pd <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> Pt <sup>2+</sup> , Hg <sup>2+</sup> , CH <sub>3</sub> Hg <sup>+</sup>
<b>Donneurs forts</b>	<b>Intermédiaires</b>	<b>Donneurs faibles</b>
H <sub>2</sub> O, OH <sup>-</sup> , F <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> O <sup>2-</sup>	Br <sup>-</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	SH <sup>-</sup> , S <sub>2</sub> <sup>-</sup> , RS <sup>-</sup> , CN <sup>-</sup> SCN <sup>-</sup> , CO <sup>-</sup> , R <sub>2</sub> S, RSH, RS <sup>-</sup>

Les complexes stables seront formés d'un accepteur fort et d'un donneur fort ou d'un accepteur faible et d'un donneur faible.

## 1.2 Forme des métaux en milieu aqueux

Les métaux peuvent se trouver sous forme dissoute ou encore être liés à des particules. Le rapport entre les quantités dissoutes et particulaires est situé entre 2/1 et 1/1 pour le cadmium et le zinc, entre 1/2 et 1/4 pour le cuivre, le mercure, le chrome et le plomb. Le fer et l'aluminium sont pratiquement toujours transportés sous forme particulaire.

Les métaux sont véhiculés par les eaux fluviales et arrivent en milieu estuarien. Le passage d'une eau douce à une eau de mer occasionne de fortes modifications quant à la mobilité des métaux. Un certain nombre d'entre eux, comme par exemple le cadmium, sont désorbés des particules fluviales (Sibley *et al.*, 1977 ; Boutier *et al.*, 1989 ; Cossa *et al.*, 1989), et forment des chloro-complexes. Si le pH s'élève au delà de 8, le cadmium précipite sous forme de carbonate.

L'aluminium, le manganèse, le titane, le chrome et le fer forment des hydroxydes insolubles. Ces hydroxydes et particulièrement ceux de fer et manganèse jouent un rôle prépondérant dans le contrôle des concentrations des métaux de transition dans les eaux. Ceci serait dû aux fortes capacités absorbantes de ces oxydes. Leur temps de résidence en eau douce est particulièrement faible. En eau de mer ce temps de résidence est en moyenne multiplié par un facteur  $10^2$ . Cette augmentation s'observe pour tous les métaux étudiés.

Dans les mécanismes d'adsorption des métaux sur les oxydes de fer et de manganèse, le pH joue un rôle important (Welte *et al.*, 1983) :

- En solution acide, la charge de la surface est positive et l'oxyde de métal agit comme échangeur d'anions.
- En solution basique, la charge de la surface est négative, et on observe un échange de cations.
- En milieu neutre, la charge de la surface est neutre et la particule montre une capacité d'échange cations-anions.

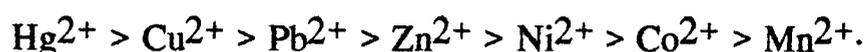
Le produit de solubilité des différents complexes métalliques (tableau 2) est un paramètre important dont dépend directement la biodisponibilité du métal.

Tableau 2 : Produits de solubilité des complexes métalliques (d'après Krauskopf, 1967), (pH7, 25°).

HYDROXYDES		SULFURES		CARBONATES	
-log K <sub>T</sub>		-log K <sub>sp</sub>		-log K <sub>sp</sub>	
Mn(OH) <sub>2</sub>	10,9	MnS	9,6	MnCO <sub>3</sub>	10,2
Cd(OH) <sub>2</sub>	14,4	CdS	27,8	CdCO <sub>3</sub>	11,3
Fe(OH) <sub>2</sub>	15,1	FeS	17,2	FeCO <sub>3</sub>	10,5
Zn(OH) <sub>2</sub>	15,5	PbS	27,5	PbCO <sub>3</sub>	13,1
Ni(OH) <sub>2</sub>	17,2	CoS	20,4	ZnCO <sub>3</sub>	10,8
Cr(OH) <sub>3</sub>	37,4	ZnS	21,6	NiCO <sub>3</sub>	6,9
Fe(OH) <sub>3</sub>	39,1	NiS	18,5	CuCO <sub>3</sub>	33,8
		CuS	36,1		
		HgS	52,4		

### 1.3 Facteurs influençant la forme des métaux

Les métaux possèdent une forte affinité pour les substances organiques et leurs produits de dégradation. Il en résulte une complexation des métaux associée à une augmentation de la solubilité, un changement dans les distributions entre les phases réduites et oxydées des métaux, ainsi qu'une modification de la biodisponibilité. La stabilité des complexes colloïdaux s'en trouve également affectée (Singer, 1977). L'affinité pour ces substances varie selon le métal considéré :



Dans les sédiments, il existe une forte corrélation entre la quantité de matière organique et les concentrations métalliques.

Förstner et Wittman (1981) ont établi une liste des éléments susceptibles de modifier l'accumulation des métaux dans les sédiments estuariens (tableau 3).

**Tableau 3** : Facteurs susceptibles d'influencer l'accumulation de métaux dans les sédiments estuariens.  
(d'après Förstner *et al.*, 1981)

	Particules minérales	Matières organiques	Hydroxydes carbonates et sulfures métalliques	Hydroxydes de fer et oxydes de manganèse	carbonate de calcium
Incorporation sous forme inerte	++	(+)			
Adsorption (physique)	+	+	(+)	(+)	(+)
Adsorption (chimique)	+	+	(+)	+	(+)
précipitation			++		
Coprécipitation				+++	+
Complexation et floculation		+++			

En fonction de la profondeur, on observe différentes couches :

- Zone réductrice à nitrates :  $Mn^{4+} \rightarrow Mn^{2+}$  ;  $Cr^{6+} \rightarrow Cr^{3+}$
- Zone réductrice à sulfates :  $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$  ;  $Cu^{2+} \rightarrow Cu^+$
- Zone de production de méthane : tous les métaux sont réduits.

De même, certaines conditions peuvent entraîner une remobilisation des métaux (Ravera, 1984) comme par exemple :

- une augmentation de la salinité,
- une diminution de l'oxygène dissous (dissolution des hydroxides de fer et manganèse),
- une diminution du pH,
- une augmentation de la concentration en agents complexants qui peuvent former des complexes métalliques solubles.

L'appréciation du contenu des sédiments en polluants est essentiel. Le sédiment joue un rôle de réservoir par une charge toxique masquée pouvant être libérée sous diverses influences ( Cf ci-dessus). Il peut également être saturé et ne plus jouer son rôle de tampon. Un autre aspect à ne pas négliger, c'est qu'il peut également garder en mémoire l'histoire des contaminations successives.

## 2 LES METAUX ET LA VIE

### 2.1 Les métaux essentiels

Aucun organisme ne peut survivre et se développer sans ions métalliques.

**Tableau 4 : Métaux essentiels et concentrations nécessaires pour l'homme(en mg/70kg)**  
( numéro atomiques en caractères gras)  
(d'après Vahrenkamp, 1973).

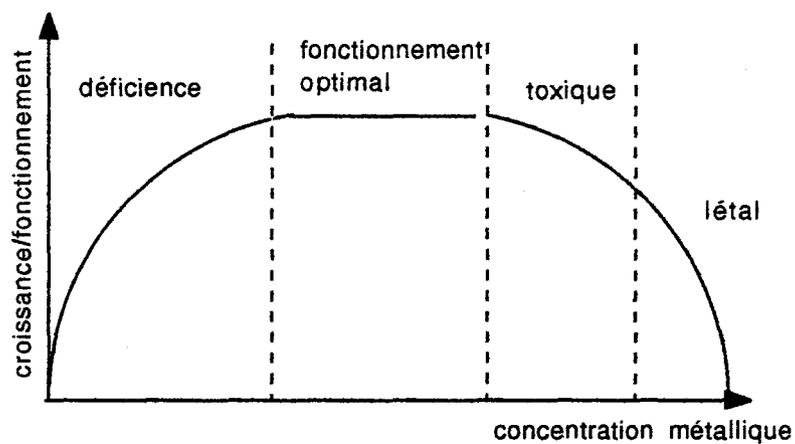
Groupe	IA	IIA							
3	<b>11</b> Na 70,00	<b>12</b> Mg 40,00	VIB	VIIB	VIII	VIII	VIII	IB	IIB
4	<b>19</b> K 250,0	<b>20</b> Ca 1700		<b>25</b> Mn 30	<b>26</b> Fe 7	<b>27</b> Co 1		<b>29</b> Cu 150	<b>30</b> Zn 3,00
5			<b>42</b> Mo 5						

Les métaux essentiels (tableau 4) sont nécessaires aux activités métaboliques de tous les organismes vivants. En règle générale, ils sont apportés par la nourriture. Toute déficience peut entraîner de graves troubles de fonctionnement : infantilisme et retard de croissance peuvent avoir pour origine une déficience en zinc (Vallée, 1976).

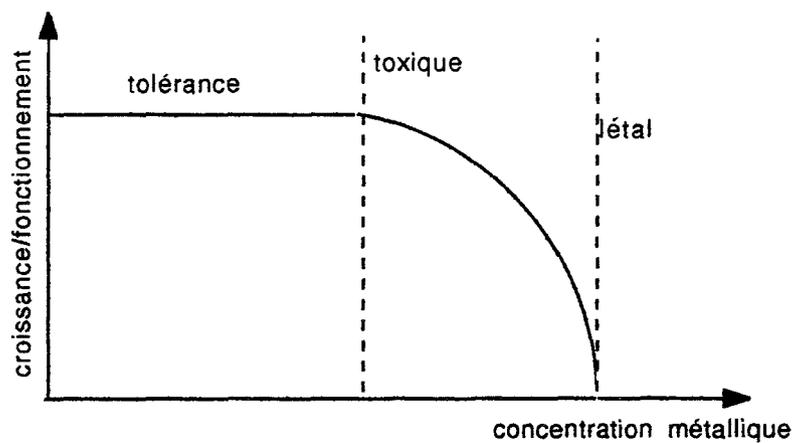
Tous ces métaux sont toxiques pour de fortes concentrations. La figure 2 illustre les effets sur l'organisme des métaux essentiels et non essentiels en fonction de la concentration.

**Figure 2 : Déficience et excès des métaux traces**  
(d'après Baccini *et al.*, 1976)

**a) Métaux essentiels**



**b) Métaux non essentiels**



**Tableau 5 : Rôle des métaux au sein de l'organisme**  
(d'après Simkiss, 1979)

Métaux	Site d'action	Rôle
Fer et cuivre	Cytochrome oxydase diverses enzymes	transfert des électrons
Calcium (métalloenzymes)	Amylase	Hydrolyse des polysaccharides
Manganèse (métalloenzymes)	Pyruvate carboxylase	métabolisme des hydrates de carbone
Fer (métalloenzymes)	Catalases	destruction du peroxyde d'hydrogène
Cobalt (métalloenzymes)	Methyl malonyl CoA mutase	Biosynthèse des acides gras
Zinc (métalloenzymes)	anhydrase carbonique	Hydratation du dioxyde de carbone
Molybdène (métalloenzymes)	Xanthine oxydase	métabolisme de la purine
Magnésium (activateur)	DNAase	
Zinc (activateur)	Acylase	Hydrolyses

## 2.2 Les métaux lourds et les organismes aquatiques.

La biodisponibilité des métaux dépend d'un grand nombre de paramètres physico-chimiques (Luten et al., 1986). L'effet des métaux sur un organisme varie en fonction :

a) - de l'oxygène dissous

b) - de la température : La température influence directement la concentration en oxygène dissous ce qui bien évidemment conditionne l'activité métabolique de l'animal.

c) - du pH : Pynnönen (1990) a montré qu'une diminution de pH 7 à pH 4 de l'eau d'élevage entraînait une diminution importante du cadmium accumulé par *Unio pictorum*.

Boudou en 1989 a étudié les interactions du mercure avec les membranes biologiques. Il montre que l'accessibilité à la zone hydrophobe de cette dernière est différente pour  $\text{HgOH}^+$ ,  $\text{HgCl}^+$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ . C'est le pH qui détermine en grande partie la forme chimique.

d) - de la dureté et de la salinité de l'eau : En milieu estuarien, la salinité joue un rôle déterminant. Les forts taux de salinité modifient la valeur du pH et influencent directement la solubilité des métaux. En eaux saumâtres, la différence de potentiel entre l'intérieur et l'extérieur du corps s'accroît, avec comme conséquence une augmentation du transport ionique (montré chez *Nereis diversicolor* par Fletcher, 1970). D'une manière générale, une diminution de la salinité entraîne une augmentation de la toxicité du cadmium (Bryan et al., 1973 ; Mance, 1987) qui serait due à une modification de la spéciation du métal. Néanmoins certaines observations semblent infirmer cette théorie. Chez *Mytilus edulis*, Phillips (1976) observe une diminution de l'accumulation du plomb suite à une baisse de salinité.

Pour une salinité nulle, le cadmium est majoritairement sous une forme ionique libre  $\text{Cd}^{2+}$ . Lorsque la salinité augmente, le pourcentage de  $\text{Cd}^{2+}$  diminue et l'on voit apparaître des chloro-complexes,  $\text{CdCl}^+$ ,  $\text{CdCl}_2$  et  $\text{CdCl}_3^-$  (Rob et al., 1988) ; parallèlement le métal se désorbe du sédiment.

e) - des interactions entre les métaux

f) - du degré de complexation des métaux lourds

g) - de la forme chimique des métaux

Les facteurs biotiques comme la taille, le sexe, le degré de maturité sont également à considérer.

Au delà de l'observation de ces effets sur le terrain, la complexité de l'environnement nécessite des études expérimentales destinées à quantifier les effets de ces différents facteurs. L'estimation de la toxicité d'un milieu ne peut se déduire de la simple observation des métaux présents. Depuis quelques années, les chercheurs ont mis l'accent sur l'étude des interactions entre les métaux. Des effets synergiques ou

encore antagonistes peuvent fortement influencer des mécanismes physiologiques.

### 2.3 Les interactions métalliques

Une étude effectuée sur *Daphnia magna* montre que comparativement à la toxicité du cadmium et du zinc, un mélange des deux métaux est moins toxique ( Attar et al., 1982). Cette observation se retrouve chez la palourde *Anodonta cygnea* où la présence de zinc en solution diminue le taux de transfert du cadmium chez l'animal. Bryan et al. (1973) et Ray (1979) trouvent les mêmes résultats respectivement chez *Nereis diversicolor* et *Nereis virens* . Par contre Veriopoulos en 1988 montre un effet inverse sur la CL 50 d'un copépode, *Tisbe holothuriae*.

D'autres auteurs, comme Fowler (1976) et Phillips (1976) qui travaillent sur *Mytilus edulis*, n'observent aucune interaction entre ces deux métaux. Ces quelques exemples montrent que l'effet observé dépend de l'organisme étudié et également du protocole expérimental employé. L'importance de ces paramètres expérimentaux a été largement démontrée, notamment en ce qui concerne l'utilisation de sédiments (Pamatmat, 1982).

#### Un cas particulier: le cadmium

Tableau 6 : Quelques propriétés physiques du cadmium  
(Cossa et al., 1989)

Numéro atomique		48
Masse atomique		112,4
Isotopes stables	106	1,2%
	108	0,9%
	110	12,4%
	111	12,8%
	112	24,1%
	113	12,3%
	114	28,9%
	116	7,6%
Point de fusion		321°C
Point d'ébullition		765°C
Masse volumique	(20°)	8,64g / cm <sup>3</sup>

Résistivité	(20°)	7,6 u / cm
Tension de vapeur	(394°)	1 mm Hg
	(767°)	760 mm Hg
Configuration électronique		5S <sup>2</sup>
Valence		+2

Certains métaux font l'objet d'une attention particulière de la part des chercheurs. C'est, par exemple, le cas du cadmium. Ce métal est considéré comme un des métaux les plus toxiques avec le mercure (Ravera, 1984 ; Cossa et al., 1989).

Le cadmium produit industriellement est principalement un sous-produit de l'extraction du zinc. La teneur moyenne en cadmium rencontrée dans les sédiments marins est de 0,2 µg/g, et de 5ng.l<sup>-1</sup> dans les eaux de surface. Le cadmium n'est pas considéré comme biologiquement essentiel. Il est à l'origine de nombreuses nuisances parfois très graves chez de nombreuses espèces aquatiques. Tout comme le mercure, il est capable de s'intégrer au métabolisme. Les organismes marins concentrent ce métal de manière parfois importante ( facteurs de concentration de 10<sup>2</sup> à 10<sup>5</sup>) La CL50 varie fortement en fonction de l'espèce considérée. Chez *Nereis diversicolor*, elle serait de 100mg.l<sup>-1</sup> pour 192h et de 10mg.l<sup>-1</sup> pour 816h (Bryan, 1976). Baudouin en 1974 montre pour *Daphnia hyalina* une CL50 (48h) de 65ppb.

Le passage du cadmium dans l'organisme peut s'effectuer selon deux voies principales : une diffusion passive (Fleming et al., 1982 ; Ray, 1984) ou par transport actif (Jenkins, 1986, ; Holwerda et al., 1989 ; Depledge et al., 1990) après adsorption sur les organismes. Les mécanismes d'endocytose et pinocytose ont également été observés (George et al., 1980).

### Relations zinc-cadmium

Les propriétés physico-chimiques du cadmium sont très proches de celles du zinc, ce qui a amené divers auteurs à suggérer que ces deux métaux étaient biologiquement antagonistes ( Schroder et al., 1967 ; Hill et al., 1970 ; Magos et al., 1978). L'inhibition de la capture de zinc en présence de cadmium a été montrée chez de nombreux organismes aquatiques,

*Mytilus edulis* (Jackim et al., 1977 ; Schulz-baldes, 1978), *Anodonta cygnea* (Hemelraad et al., 1987), *Asterias rubens* (Besten et al., 1991), et même pour l'absorption gastro-intestinale chez un poisson marin : *Pseudopleuronectes americanus*. (Shears et al., 1982).

Il serait imprudent de généraliser cette observation, comme le montrent les travaux de Ahsanullah et al. en 1981 qui observent chez la crevette *Callinassa australiensis* que l'accumulation du zinc par l'animal est supérieure, en cas d'exposition à un mélange cadmium-zinc, à l'accumulation en présence de zinc seul.

### Relations fer-cadmium

Des études portant sur le transfert transduodéal du fer ( Schäfer, 1983) ont montré que le cadmium était un des plus forts inhibiteurs de l'absorption du fer. En cas de déficience en fer, l'absorption du cadmium est stimulée (Hamilton et al., 1974). Cet antagonisme fer-cadmium est également montré par étude de la croissance d'une diatomée (Foster et al., 1982) qui conclut à l'existence probable d'un parcours métabolique partiellement commun à ces deux ions.

### Relations calcium-cadmium

Le calcium est un élément essentiel du métabolisme. La principale source de calcium pour les animaux aquatiques est l'eau environnante. La capture de calcium par les branchies est inhibée en présence de cadmium chez *Salmo gairdneri* (Versbost et al., 1989).

Les métaux lourds affectent la capture de calcium par compétition avec l'ion  $\text{Ca}^{2+}$  pour des sites de fixation. L'ion  $\text{Cd}^{2+}$  possède un rayon ionique assez proche de celui du calcium ; il peut facilement occuper les sites de fixation du calcium. Le zinc qui possède un rayon ionique plus faible est moins compétitif (Sauer et al., 1988). Expérimentalement, Massey et al., (1986) ont montré que le degré d'absorption du cadmium était directement influencé par la présence de calcium ; ce dernier jouerait un rôle protecteur vis-à-vis de la toxicité du cadmium (observation réalisée chez *Tetrahymena pyriformis* par Pyne et al., 1983).

## **CHAPITRE II**

### **Matériel et méthodes**

## 1 Sites de récolte, matériel biologique

L'estuaire de l'Aa est situé au coeur d'une région industrielle d'activité intensive. La qualité de ses eaux est fixée à un niveau 3 depuis de nombreuses années par l'Agence de l'eau Artois-Picardie. La pollution métallique y est importante, elle est essentiellement due à des apports continentaux amenés par la rivière Aa.

Le petit port de Boulogne a également été choisi car on y retrouve les mêmes espèces animales que dans l'estuaire de l'Aa. La pollution métallique est également très importante.

L'endofaune de l'estuaire est principalement représentée par une annélide polychète, *Nereis diversicolor*. On la retrouve sur la quasi totalité de l'estuaire ; c'est une des raisons principales qui nous a conduit à l'utiliser comme base pour notre étude. Elle est présente toute l'année et sa densité importante nous permet d'effectuer des prélèvements fréquents. Cette espèce est également présente dans le petit port de Boulogne.

### Schéma 1 : *Nereis diversicolor* : morphologie externe, vue dorsale.

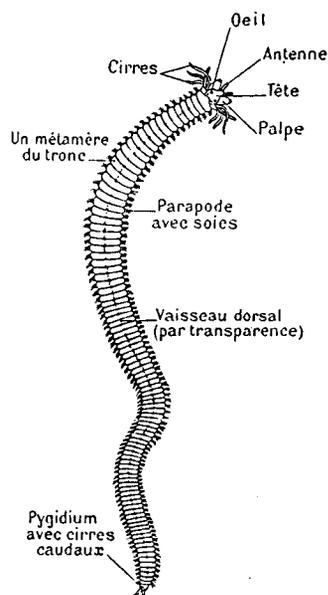
Embranchement des Annélides  
 Classe des Polychètes  
 Ordre des Polychètes errantes  
 Famille des Néréides

#### Morphologie :

Corps à symétrie bilatérale.

3 parties :

- la tête
- le tronc métamérisé
- le pygidium

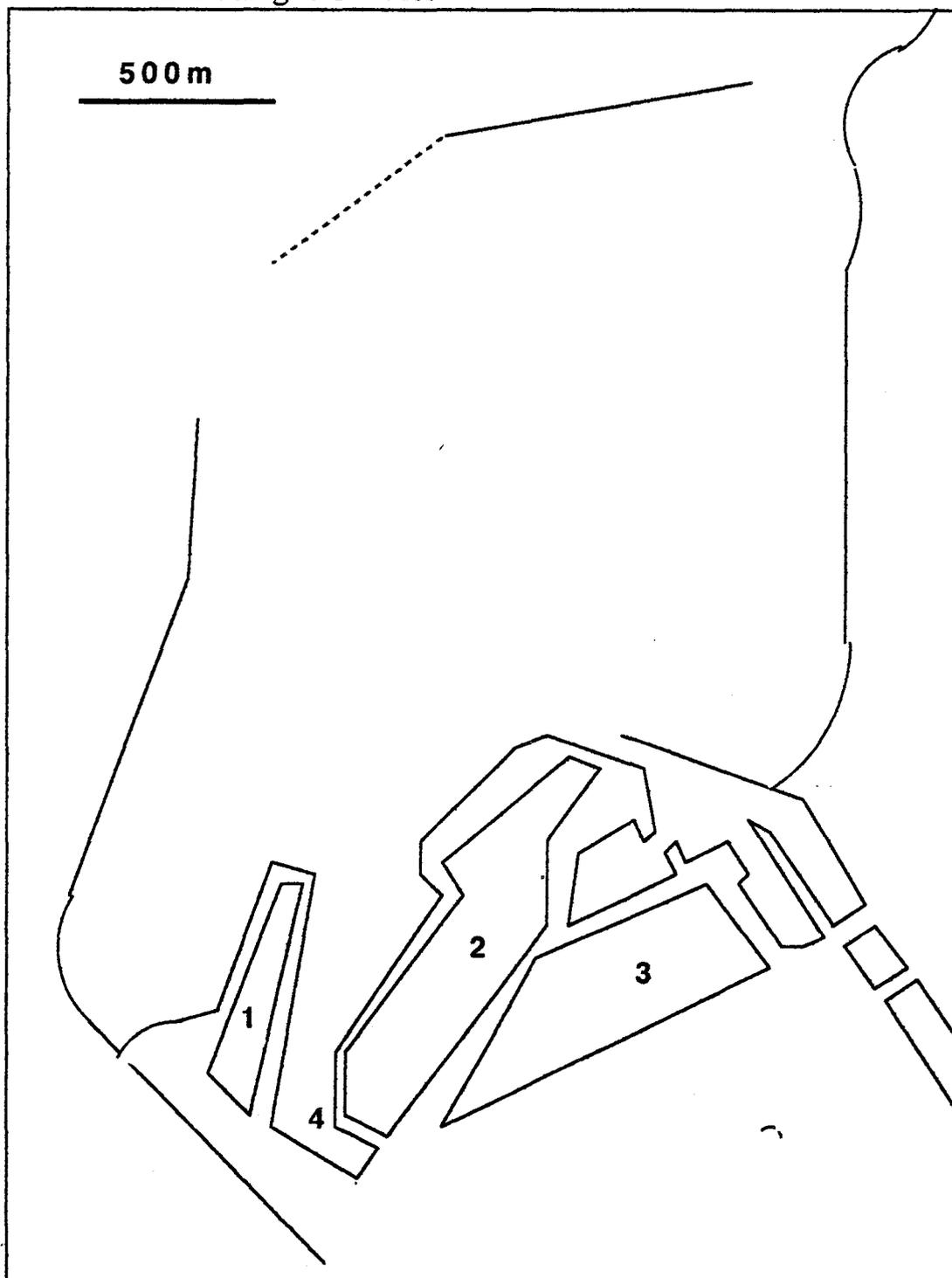


Nourriture : Elle consomme des proies appartenant à la microfaune. Elle se nourrit également à l'aide d'un film muqueux qu'elle construit à l'entrée de sa galerie et qui lui sert à piéger divers débris organiques.

Reproduction : Elle se déroule à l'état atoque. L'oeuf est benthique, la larve passe d'abord par un stade semi-pellagique, puis devient endobenthique après métamorphose.

Les figures 3 et 4 présentent les deux sites étudiés.

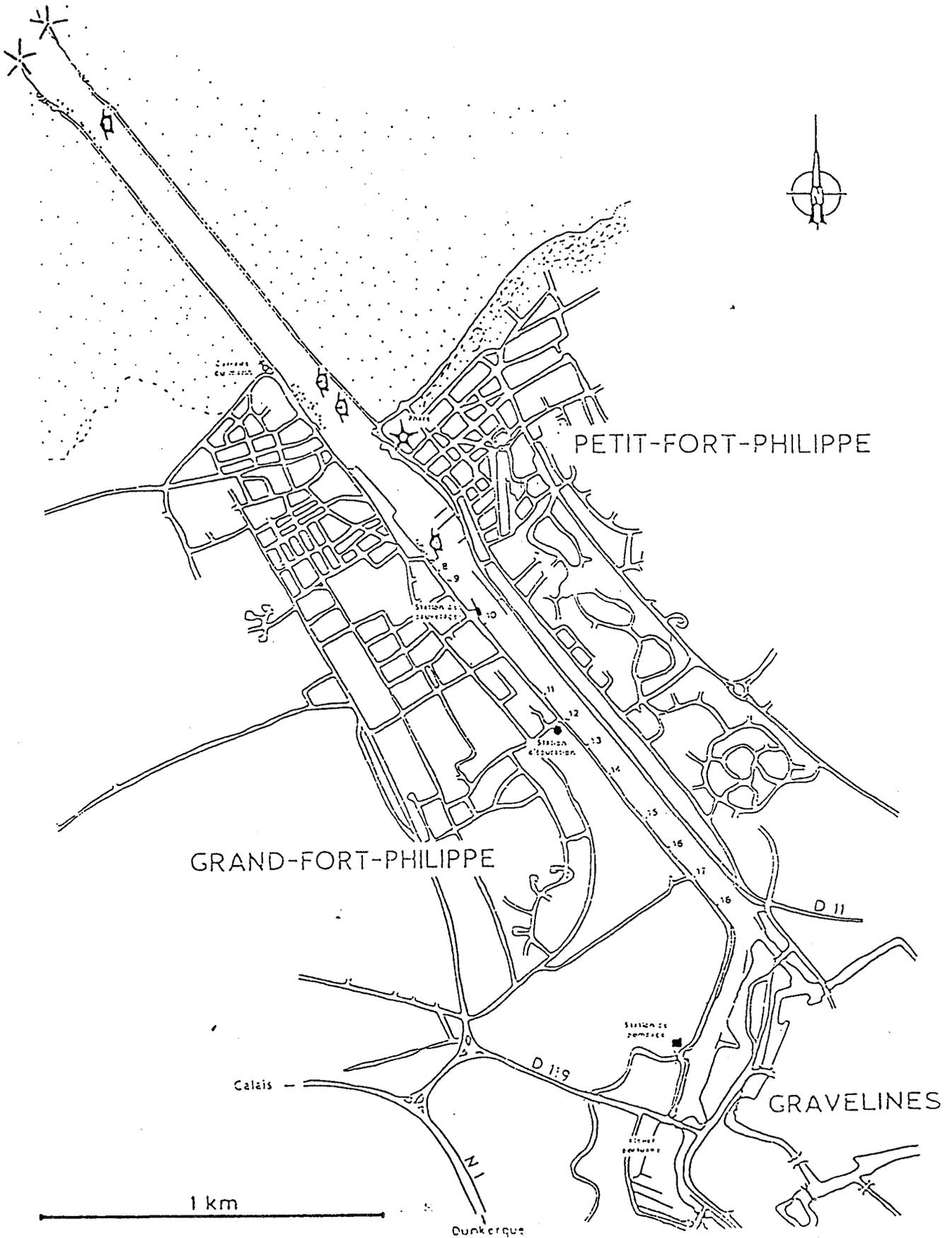
**Figure 3:** Les implantations industrielles sur le complexe portuaire de Boulogne-sur-mer



- 1 : Manipulation de clinkers et de ciments
- 2 : Complexe sidérurgique du manganèse
- 3 : Industrie alimentaire des produits de la pêche
- 4 : Petit port

Figure 4 : Estuaire de l'Aa

◆ : Sites de carottage



## 2 Choix des métaux

Le métabolisme de l'animal utilise un nombre important de métaux dits "essentiels" qui sont impliqués dans des mécanismes divers et s'intègrent dans des structures complexes, comme l'hémoglobine, ainsi que dans de nombreuses enzymes.

Le bon fonctionnement métabolique de l'animal dépend intimement des teneurs en ces différents métaux. Le manque ou l'excès d'un métal peut entraîner de graves perturbations pouvant aller jusqu'à la mort de l'individu.

Il est maintenant bien connu que certains métaux chimiquement proches peuvent se substituer l'un à l'autre sur des sites cellulaires ou protéiques. On peut citer par exemple le cas du cadmium, métal exogène, qui peut se substituer au zinc sur des protéines particulières communément appelées métalloprotéines. Certains sites protéiques peuvent accueillir divers éléments métalliques, le fer et le manganèse peuvent par exemple occuper les sites de fixation de la transferrine ; le manganèse ne peut pas déplacer le fer, mais occupe les sites laissés libres sur la molécule (Aschner *et al.*, 1990).

Tous ces phénomènes vitaux pour l'animal sont liés aux quantités de métaux présents dans l'animal. Ces quantités sont-elles modulées par les teneurs métalliques présentes dans l'environnement? Pour de nombreux métaux, il n'existe pas de proportionnalité directe entre les quantités métalliques à l'intérieur et à l'extérieur de l'animal (Septier *et al.*, 1991). La concentration de certains métaux semble être régulée par l'animal (ce sont généralement les métaux essentiels), d'autres pénètrent d'une manière qui semble être passive sans action apparente de l'animal. Pour beaucoup de métaux, la bioaccumulation via l'eau de mer s'effectue par simple diffusion passive (Ray, 1984).

Durant les campagnes 88-89, le soutien d'un contrat IFREMER-Région Nord-Pas de Calais nous a permis de rechercher un grand nombre de métaux. Douze d'entre eux ont été sélectionnés : l'aluminium, le cadmium, le chrome, le cuivre, le fer, le manganèse, le mercure, le nickel, le plomb, le titane, le vanadium et le zinc.

Pour la campagne 1991, nous nous sommes limités à la recherche de cinq métaux : cadmium, cuivre, fer, manganèse et zinc.

Les recherches d'interactions métalliques en conditions expérimentales ont porté sur le cadmium, le fer, le manganèse et le zinc. Pour ces quatre métaux, des relations linéaires d'accumulation via l'eau de mer ont été mises en évidence (Jenkins, 1986). Ces observations ont été confirmées pour les doses et durées utilisées dans nos expériences.

### **3 Récolte et préparation des animaux**

#### **3.1 Campagnes 88-89**

Cinq campagnes de prélèvement ont été effectuées sur les deux sites d'étude (Estuaire de l'Aa et petit port de Boulogne) : avril 88, juillet 88, octobre 88, février 89, avril 89.

Les animaux sont récoltés sur des zones volontairement réduites n'excédant pas quelques mètres carrés. Après un tri au laboratoire, les animaux sont placés à une température constante de 13°C dans des bacs contenant de l'eau de mer, sous aération. 48h sont nécessaires pour que l'animal rejette le sédiment en transit dans son tube digestif.

##### **3.1.1 Détermination de l'âge.**

La détermination de l'âge des animaux se fait par observation du diamètre des ovocytes des individus femelles. Une goutte de liquide coelomique est ponctionnée à l'aide d'une pipette Pasteur effilée. L'observation microscopique permet de déterminer le sexe de l'animal et de classer les individus femelles en trois catégories bien distinctes en fonction du diamètre moyen de leurs ovocytes. Les néréis mâles sont insuffisamment représentées dans les populations récoltées (moins de 1%) et ne seront pas prises en considération pour cette étude.

Les trois classes d'âge retenues sont les suivantes :

diamètre des ovocytes : classe 1 : < 80µm  
                                  classe 2 : 80 à 130 µm  
                                  classe 3 : > 130µm

### 3.1.2 Détermination des teneurs métalliques

#### Animaux

Pour chaque catégorie d'animaux, 60 individus sont séchés sur papier filtre, broyés à l'aide d'un polytron puis congelés. Ils sont ensuite lyophilisés.

Dosages. douze métaux lourds ont été recherchés : l'aluminium(Al), le cadmium(Cd), le chrome(Cr), le cuivre(Cu), le mercure(Hg), le fer(Fe), le manganèse(Mn), le nickel(Ni), le plomb(Pb), le titane(Ti), le vanadium(V) et le zinc(Zn). La minéralisation des vers est conduite à partir d'un lyophilisat réduit dans un mortier à une poudre fine de taille inférieure à 1 mm.

Une prise d'essai de 1,5g subit une prédigestion à froid dans 10 ml d'acide nitrique suprapur. On chauffe ensuite jusqu'à disparition des vapeurs nitreuses. Après addition à froid d'un mélange  $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HClO}_4$  dans les proportions 10/2/3. Le chauffage est repris jusqu'à l'apparition de fumées blanches ( Haig *et al.*, 1980).

Les échantillons concentrés à environ 2 ml sont refroidis et repris avec de l'eau distillée qsp 50 ml.

#### Sédiments

Chaque dosage a été effectué à partir d'une fraction sédimentaire (< 1mm).

Un gramme de sédiment est minéralisé dans 4 ml d'acide chlorhydrique concentré suprapur et 10 ml d'acide nitrique concentré suprapur pendant une nuit à froid dans un bécher en téflon recouvert d'un verre de montre. Après 2 heures de chauffage à reflux, le résidu est amené à sec puis repris par 15 ml d'acide chlorhydrique 1N, filtré sur papier Whatman 2V et complété avec de l'eau distillée qsp 50 ml.

Les métaux sont dosés par spectrométrie d'absorption atomique en flamme (Varian AA 1475 correction par lampe D2) pour la plupart, ou en four (Varian AA6, four CRA 90 correction par lampe H2) pour le plomb et le cadmium. L'aluminium, le nickel, le chrome, le vanadium et le titane sont dosés par spectrométrie d'émission atomique (Plasma II, Perkin Elmer).

### **3.1.3 Analyse granulométrique des sédiments**

Une fraction sédimentaire est séchée puis pesée. La séparation des différentes fractions s'effectue par voie humide sur une série de tamis. Après séchage, chaque fraction est de nouveau séchée puis pesée. Les résultats sont exprimés en % du poids total de l'échantillon.

## **3.2 Campagne 91**

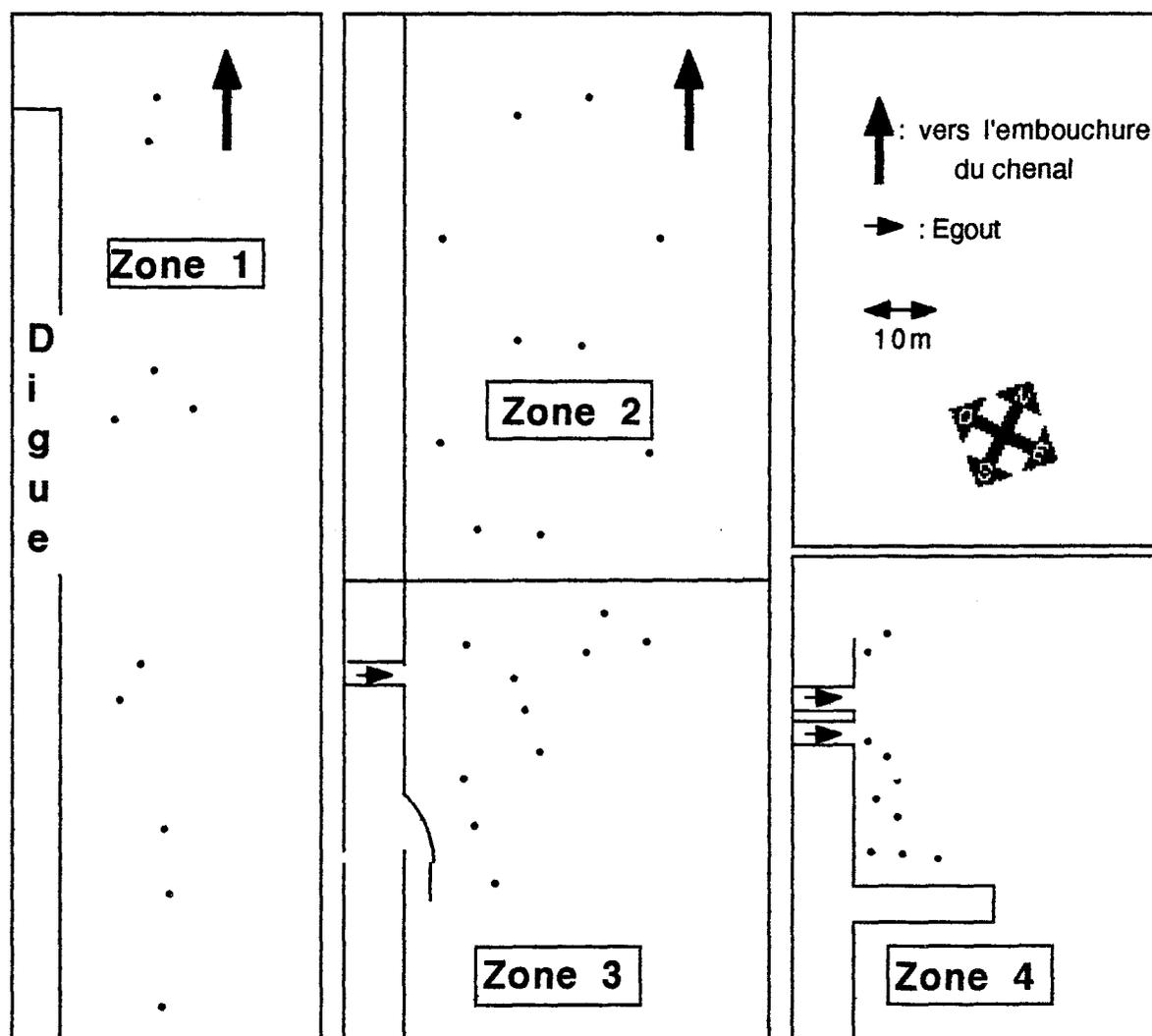
Cette campagne ne concerne que l'estuaire de l'Aa et se limite à des prélèvements de sédiment.

Les figures 4 et 5 représentent les quatre zones de prélèvement réparties sur l'estuaire de l'Aa. Sur chaque zone, 10 prélèvements ont été effectués à l'aide d'un carottier réalisé avec des tubes PVC de 30 cm de haut et 20 cm de diamètre. Chaque carotte est ensuite divisée en trois parties correspondant à trois niveaux différents: 0 à 10 cm, 10 à 20 cm, 20 à 30 cm.

L'estuaire présente de nombreuses zones d'accès difficile en raison de la mouvance des sédiments. Pour ces raisons, il n'a pas été possible d'appliquer une stratégie d'échantillonnage pour nos points de prélèvement, le choix a été effectué en fonction de l'aspect des sédiments et de l'accessibilité.

La détermination des teneurs métalliques s'effectue de la même manière que précédemment (3.1.2).

**Figure 5 :** Localisation des points de carottage des sédiments dans l'estuaire de l'Aa. (Vue rapprochée des zones déterminées sur la carte de l'estuaire figure 4). Chaque marque représente un point de carottage soit trois échantillons. a : haut (0 à 10 cm) ; b : moyen (10 à 20 cm) ; c bas (20 à 30 cm).



### 3.3 Etudes expérimentales

Recherche des interactions métalliques en conditions expérimentales. Effets sur la quantité de métal accumulé chez *Nereis diversicolor*.

Notre environnement est soumis à de nombreuses pressions d'origine anthropique. De nombreux chercheurs ont soulevé la nécessité d'étendre les essais d'écotoxicologie de manière à se rapprocher des véritables conditions du milieu (Mathes et al., 1990). Pour ce faire, il est nécessaire d'intégrer un grand nombre de facteurs, ce qui alourdit considérablement les manipulations de laboratoire. Au delà des considérations d'ordre technique, ce type d'étude consomme d'énormes quantités d'animaux. L'absence d'élevage nous oblige à prélever cette faune directement sur le terrain, ce qui constitue un facteur limitant incontournable.

Dans le cas de la recherche de l'effet de l'intoxication d'un organisme par plusieurs éléments métalliques, l'étude de chaque métal indépendamment des autres donnera des résultats difficilement exploitables car la présence d'autres agents dans le milieu susceptible de modifier les effets du métal est ignorée.

En laboratoire, la voie la plus efficace pour intégrer les interactions entre plusieurs facteurs est l'utilisation des plans d'expériences.

L'expérimentation factorielle consiste à faire varier simultanément plusieurs paramètres selon un plan déterminé. Elle permet de recueillir un maximum d'informations, d'en estimer le degré de signification et de mettre en évidence d'éventuelles interactions, et ce pour un nombre minimum d'essais planifiés de façon rationnelle.

#### 3.3.1 Exemple théorique

##### a) Terminologie

- Facteur : Variable quantitative (température, pression,...) ou qualitative.
- Niveau : Valeur choisie pour la variable dans un groupe d'essai

- Effet : Changement de réponse provoqué par un changement de niveau dans l'un des facteurs

### b) Définition des termes généraux du modèle

Le plan d'expérience se construit à partir d'un nombre  $q$  de variables explicatives contrôlées ( $x_1, \dots, x_j, \dots, x_q$ ) indépendantes les une des autres.

Chaque variable  $x$  se présente avec  $n$  niveaux espacés régulièrement ( $x_1, \dots, x_u, \dots, x_n$ ). Nous exposons ici un exemple à deux niveaux.

Chaque niveau  $n$  est codé en notation universelle de la manière suivante :  $X_i = (x_i - \text{moyenne}) / (1/2 \text{ intervalle})$ .

Les niveaux sont alors notés (-1, +1), nombres sans dimension.

Ex :  $x_u(20,10) \mu\text{g/g}$  devient  $X_u(-1,+1)$ , ce qui correspond au changement de variable :  $X_u = (x_u - 15) / 5$ .

On construit un plan où toutes les combinaisons sont représentées, soit au total  $n^q$  essais.

### Exemple plan factoriel $2^3$

Tableau 7 : Matrice d'expérience

essai	Variables explicatives			Variables du modèle			
	X1	X2	X3	1.2	1.3	2.3	1.2.3
1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1
2	+1	-1	-1	-1	-1	+1	+1
3	-1	+1	-1	-1	+1	-1	+1
4	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1
5	-1	-1	+1	+1	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1	-1	+1	-1	-1
7	-1	+1	+1	-1	-1	+1	-1
8	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1

L'ensemble des essais est répété k fois. Les résultats expérimentaux sont consignés dans le tableau 8 .

Tableau 8 : Tabulation des résultats expérimentaux

i	$y_{ih}$						total $t_i = \sum_h y_{ih}$	$\sum_h (y_{ih} - y_i)^2$
	h=1	h=2	..	..	..	h=k		
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
							$\sum_i t_i = \sum_i \sum_h y_{ih}$	$\sum_i \sum_h (y_{ih} - y_i)^2$

### c) Traitement des résultats

#### - Principe du modèle utilisé:

Le modèle utilisé est un modèle polynomial additif noté y, de la forme:

$$\hat{y} = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + \dots + b_{12} x_1 x_2 + \dots + b_j x_j + \dots + b_{jj} x_j^2 + \dots$$

-y: variable expliquée

- $x_1, \dots, x_j$  : variables contrôlées, explicatives

- $b_1, \dots, b_j$  : paramètres

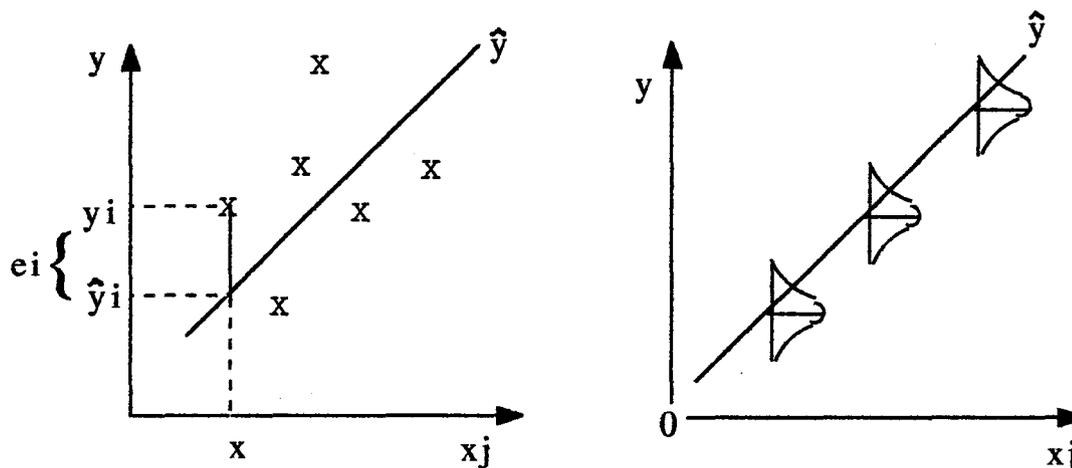
Les termes linéaires( $x_1, x_2, \dots$ ) sont interprétés comme des effets principaux, les termes produits( $x_1 x_2, \dots$ ), comme des interactions.

La formulation de la variable expliquée est liée au respect de l'additivité des effets associés aux variables. Il est parfois nécessaire d'avoir recours à des transformations mathématiques de manière à restituer cette propriété

additive. Par exemple, des effets exprimés en pourcentage devront, avant traitement, subir une transformation logarithmique.

La régression multiple intervient afin d'ajuster le modèle sur les points expérimentaux. Chaque mesure expérimentale s'écrit de la manière suivante:

$y_i$	$=$	$\hat{y}_i(x_1 \dots x_q)$	$+$	$e_i$
valeur mesurée expérimentalement		MODELE		écart ou RESIDU



Conditions d'application:

- distribution normale des résidus  $e_i$  autour du point moyen.
- stabilité de la variance

Les coefficients  $b_j$  sont calculés de manière à minimiser  $\sum e^2$ .

La solution des équations est immédiate grâce à l'équilibre du plan factoriel.

Les paramètres du modèle sont rangés par ordre décroissant de leur contribution à l'amélioration de la régression. La validation statistique des coefficients  $b_j$  s'effectue par application du test de Fisher.

Coefficient du paramètre  $b_u$  :

$$\sum_i \sum_h x_{uih}^2 = \sum_i \sum_{h(+1)=N_k=K^2P}$$

ex : pour  $k=3$ , le coefficient = 24.

Calcul des contrastes  $Y_u$  :

$$Y_u = \sum_i \sum_h X_{uih} y_{ih}$$

dans les  $k$  répétitions,  $X_{uih}$  prend  $K$  fois la même valeur, on peut donc écrire :

$$\sum_h X_{ui} y_{ih} = X_{ui} \sum_h y_{ih} = X_{ui} t_i$$

$$\text{d'où le contraste } Y_u = \sum_i X_{ui} t_i$$

où  $\sum_i X_{ui} = 0$ . Il en résulte que  $b_u = \text{contraste} / K^2P$

L'équation normale s'écrit  $K^2P \cdot b_u = y_u$ , on en déduit:  $b_u = y_u / K^2P$

La contribution de la variable  $X_u$  à "l'explication" de  $y$  est égale à

$$C_{X_u} = b_u Y_u = Y_u^2 / K^2P$$

Le test  $F$  est le rapport de la contribution de la variable considérée sur la variance des répétitions :

$$F_u = C_{X_u} / S_k^2$$

La variance des répétitions

$$S_k^2 = \sum_i \sum_h (y_{ih} - y_i)^2 / N(K-1)$$

**Tableau 9 : Présentation des résultats de l'analyse de la régression**

Contraste $Y_u$ (en ordre logique)	Ordre décroissant des carrés des $Y_u$	$F_u =$ $CX_u/Sk^2$		$F_c$ (0,05;1;N(k-1))
Y0			>	$F_c$
Y1			>	$F_c$
Y2			>	$F_c$
Y3			>	$F_c$
<b>Seuil de coupure</b>				
Y1.2			<	$F_c$
Y 1.3			<	$F_c$
Y 2.3			<	$F_c$

Sachant que  $b_u = Y_u / K2P$ , on écrit le modèle :

$$\hat{y} = b_0 + b_i X_i + \dots + b_j X_j$$

L'ensemble des calculs est effectué à partir des variables  $X_u$  orthogonalisées par un changement de variable. A titre illustratif, il est possible de revenir aux variables  $x_u$  initiales .

$$X_u = x_u - (\text{moyenne}) / (1/2 \text{ intervalle})$$

Le développement du modèle conduit à la modification des coefficients  $b_u$  et à l'apparition dans le modèle de nouvelles variables initialement non retenues par l'analyse. On obtient ainsi un modèle extrêmement confus et difficile à manipuler. La complexité des résultats est plus accessible sur les représentation graphiques où l'on a eu soin de reporter sur chaque axe, à la fois l'échelle en variables codées et l'échelle des valeurs initiales.

### 3.3.2 Protocole expérimental

Des interactions ont été recherchées entre quatre métaux: le fer, le cadmium, le manganèse et le zinc. Le choix du domaine expérimental a nécessité une étude préalable de l'effet de chaque métal (courbes d'intoxications), afin de déterminer les niveaux minimum et maximum à appliquer.

L'expérience est menée sur une durée de 72 h. Ce temps est suffisamment court pour rester dans un domaine de linéarité des réponses (dosages des métaux dans les animaux entiers), et suffisamment élevé pour obtenir des différences notables entre les réponses des niveaux haut et bas. Au-delà de cette durée, on commence à observer des cas de mortalité susceptibles de perturber les résultats. Pour l'ensemble de nos expériences, le pourcentage de mortalité reste très proche de 0%.

L'expérience nécessite 16 essais correspondant aux 16 combinaisons possibles entre les quatre métaux, compte tenu que chaque métal est apporté à deux concentrations différentes. L'étude est menée au laboratoire dans des pots en verre contenant 300 ml de solution. Le nombre d'individus par récipient préconisé par les normes OCDE est de 6 minimum (Bab et al., 1982). Pour notre expérience, nous avons fixé ce chiffre à 10. Pour chaque essai, 3 pots sont utilisés, soit 30 animaux ; l'ensemble de l'étude est également réalisé 3 ou 4 fois.

Les animaux prélevés sur le terrain sont calibrés à une taille d'environ 5 cm et utilisés trois jours après la récolte. L'eau utilisée dans nos expériences est une eau de mer naturelle provenant de la station marine de Wimereux. Cette eau est régulièrement utilisée dans des travaux expérimentaux (Noël-lambot, 1980 ; Delval, 1984 ; Nejmeddine, 1987). Elle présente des concentrations pour les principaux métaux employés inférieures aux limites de détection de nos appareils de mesure.

#### Effets recherchés

Les critères de toxicité les plus souvent employés sont des critères facilement observables tels qu'une inhibition de reproduction, une inhibition de mouvement ou encore la mortalité. Dans notre cas, l'observation de ces phénomènes n'est pas possible. Les conditions

artificielles de maintien des animaux entraînent leur mort après quatre à cinq semaines au laboratoire. La prise en compte d'un critère de mortalité ne pourrait se faire qu'avec l'emploi de doses métalliques extrêmement importantes, ce qui enlèverait tout intérêt à ce type d'étude. En présence de solutions métalliques, la résistance de l'animal est importante malgré une forte accumulation des métaux dans l'animal. La limite intervient quand tous les sites de stockage sont saturés ; les ions métalliques intègrent alors le métabolisme de l'animal entraînant sa mort. Face à ces observations, nous avons choisi comme réponse à l'exposition les variations de concentration en différents métaux à l'intérieur de l'animal. L'indépendance causes-effets n'est discutable que dans le cas de l'effet d'un facteur sur l'accumulation de l'élément correspondant chez l'animal, bien qu'aucune relation directe ne puisse être *a priori* envisagée.

Après trois jours d'intoxication, les animaux sont lavés à l'eau de mer, lyophilisés, puis minéralisés ; les quatre métaux étudiés sont ensuite recherchés par dosage en spectrophotométrie d'absorption atomique de flamme. Les résultats bruts obtenus sont traités par ordinateur (programme M.S basic sur Macintosh) qui effectue l'ensemble des calculs permettant d'obtenir la matrice des effets exprimée en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec.

#### 4 Expression et traitement des résultats

Les résultats des dosages sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec (ppm) aussi bien pour les sédiments que pour les animaux. Pour comparaison avec d'autres études, on notera que *Nereis diversicolor* contient environ 70% d'eau (moyenne sur 60 individus).

##### 4.1 Paramètres de centrage et de dispersion usuels:

-moyenne ( $\bar{x}$ )

-écart type ( $\sigma$  ou  $s$ (estimateur))

$$\sqrt{\frac{\sum x_i^2 - (\sum x_i)^2 / n}{n - 1}}$$

-coefficient de variation (CV)

$$CV = s / \bar{x}$$

## 4.2 Comparaisons de variances

### 4.2.1 Comparaison de deux variances

Le test de Fisher(ou de Snedecor) s'applique sur des populations normales ou voisines de la normale.

$$E = s_1^2 / s_2^2 \quad \text{avec} \quad s_1^2 > s_2^2$$

### 4.2.2 Comparaison de plusieurs variances

Test de Cochran sur des populations normales ou voisines de la normale d'effectif identique.

Critère à utiliser

$$E = \frac{\text{plus grand des } s_i^2}{\sum s_i^2}$$

## 4.3 Analyse de la variance (ANOVA)

Elle s'effectue sur une série de valeurs se présentant sous forme de groupes.

On cherche à savoir si les différences observées entre les groupes ont une signification. Cette méthode se base sur les propriétés additives des variances.

Soit une série de k groupes de n valeurs  $x_{ij}$ , on peut calculer la variance combinée des groupes:

Variance intra-groupes:

$$s_R^2 = \frac{\sum [\sum (x_{ij} - \bar{x}_j)^2]}{N - k}$$

Cette variance intra-groupes mesure l'influence de facteurs ayant la même incidence sur toutes les observations comme, par exemple, la méthode analytique.

Variance inter-groupes:

$$s_I^2 = \frac{\sum [n_j (\bar{x}_j - \bar{\bar{x}})^2]}{k - 1}$$

Si l'hypothèse nulle est justifiée, c'est-à-dire si tous les groupes appartiennent à une même population, les deux variances inter- et intra-groupes ne doivent pas différer de façon significative. Ce point sera vérifié à l'aide du test F:

$$F = s_I^2 / s_R^2 \quad \text{si } s_I^2 > s_R^2$$

#### 4.4 Analyses multidimensionnelles des données

Les quantités de données recueillies sur le terrain sont nombreuses et variées. L'expérimentateur se retrouve bien souvent face à des tableaux de résultats de taille importante et comportant de nombreuses variables. Les analyses univariées (histogrammes, écarts-type,...) et bivariées ne suffisent plus pour interpréter correctement l'ensemble des données. L'analyse de tels tableaux nécessite de visualiser un nuage de points dans un espace multidimensionnel. Au-delà d'un espace à trois dimensions, la visualisation spatiale n'est plus possible. Il devient nécessaire de passer par des méthodes d'analyse permettant une réduction

de cet espace tout en extrayant le maximum d'informations des tableaux de résultats. Pour l'analyse de nos tableaux, nous avons utilisé l'analyse en composantes principales (A.C.P.)

Pratiquement, le recours aux méthodes d'analyses factorielles permet d'aboutir à une ordination des données en espace réduit (deux dimensions). La détermination des axes principaux passe par la recherche de nouvelles variables, obtenues par des combinaisons linéaires des variables initiales. Ces nouvelles variables doivent comporter suffisamment d'informations sur les variables initiales pour être utilisées en tant qu'axes principaux de l'A.C.P. La carte obtenue après traitement nous donne une représentation graphique plane où les positions respectives des points sont déterminées par l'ensemble des variables. Les directions des variables sont en fait des combinaisons linéaires des composantes principales sur les cartes. Sur ces représentations, deux points éloignés représentent généralement des individus dissemblables quant aux données les concernant. Des points proches indiquent que les valeurs des variables considérées sont voisines sur les individus que ces points représentent. Un des principaux intérêts est la mise en évidence d'individus "exceptionnels" ou de sous-populations d'individus.

Les effets de projection sur un plan peuvent engendrer des rapprochements de points qui sont en fait très éloignés dans l'espace original car l'effet de perspective ne peut pas être pris en compte lors de la projection. Pour déceler de telles anomalies, il est parfois utile d'effectuer cette projection sur différents plans. Le choix des axes est déterminé en fonction de leur plus ou moins grande contribution à l'inertie du nuage initial.

## **CHAPITRE III**

### **RESULTATS**

## A) ANALYSES STATISTIQUES MULTIVARIABLES DES DONNEES RECUEILLIES SUR LE TERRAIN LORS DES CAMPAGNES 88-89 ET 91.

### 1 Campagnes 88-89

#### - Présentation des données

Notre étude a porté sur les teneurs métalliques rencontrées chez l'annélide polychète *Nereis diversicolor* à différents stades de sa vie. Cette détermination s'effectue par observation du diamètre ovocytaire des individus femelles, les mâles ne sont pas suffisamment représentés pour participer à l'étude.

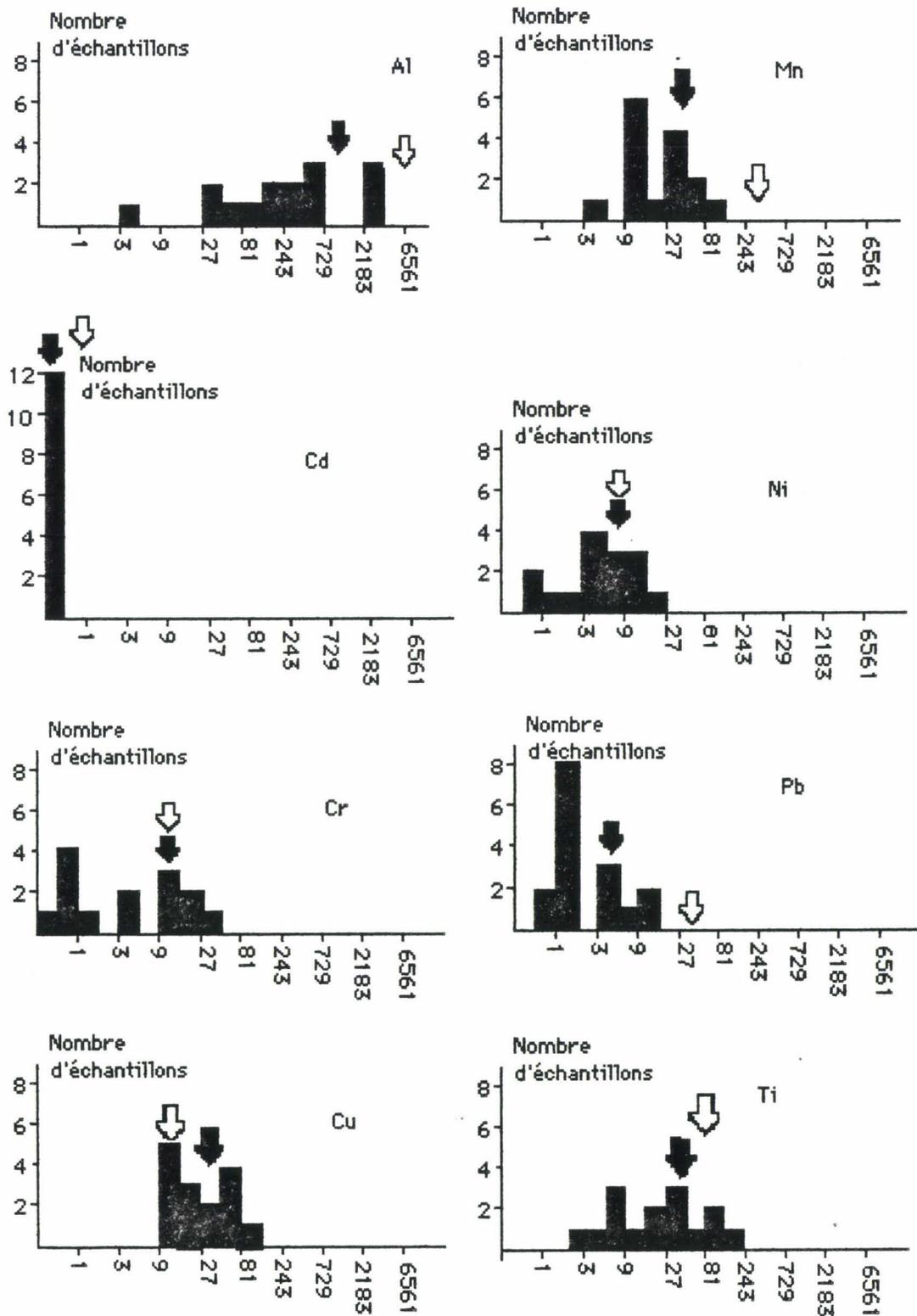
Des prélèvements ont été effectués sur des espaces limités de l'estuaire de l'Aa et du petit port de Boulogne au cours de cinq campagnes réparties sur une période de douze mois. Parallèlement, des dosages dans les sédiments ont également été effectués.

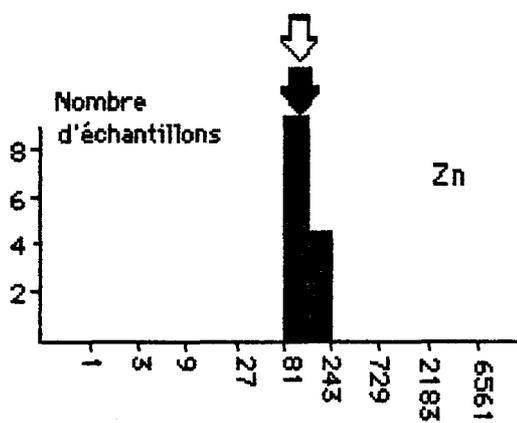
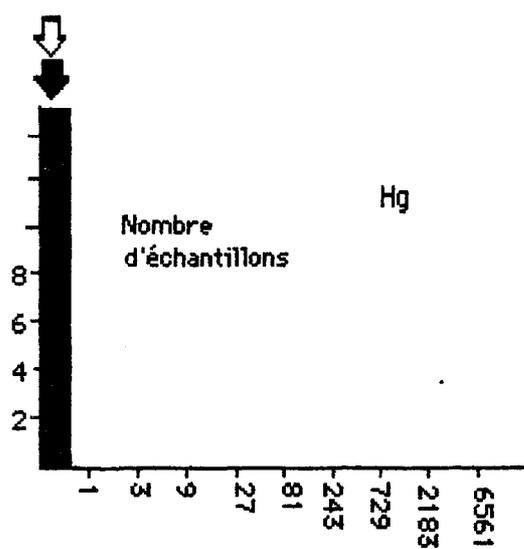
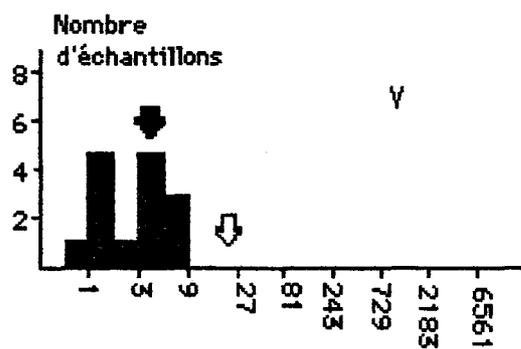
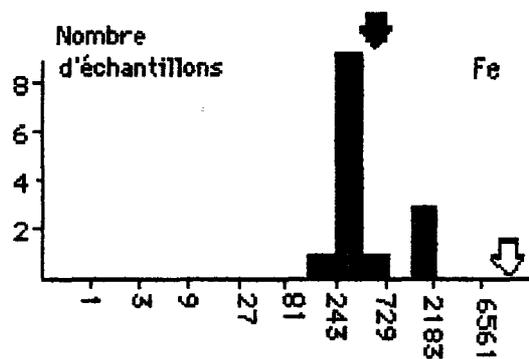
Les métaux recherchés sont les suivants: aluminium, cadmium, chrome, cuivre, fer, manganèse, mercure, nickel, plomb, titane, vanadium et zinc. Une première approche de ces résultats (Septier et al, 1991) a permis de souligner différents points:

- une pollution métallique importante sur les deux sites d'étude dans les animaux et les sédiments,
- la mise en évidence de variations saisonnières dans les taux rencontrés,
- la régulation de la teneur en certains métaux par l'animal (ex le zinc).

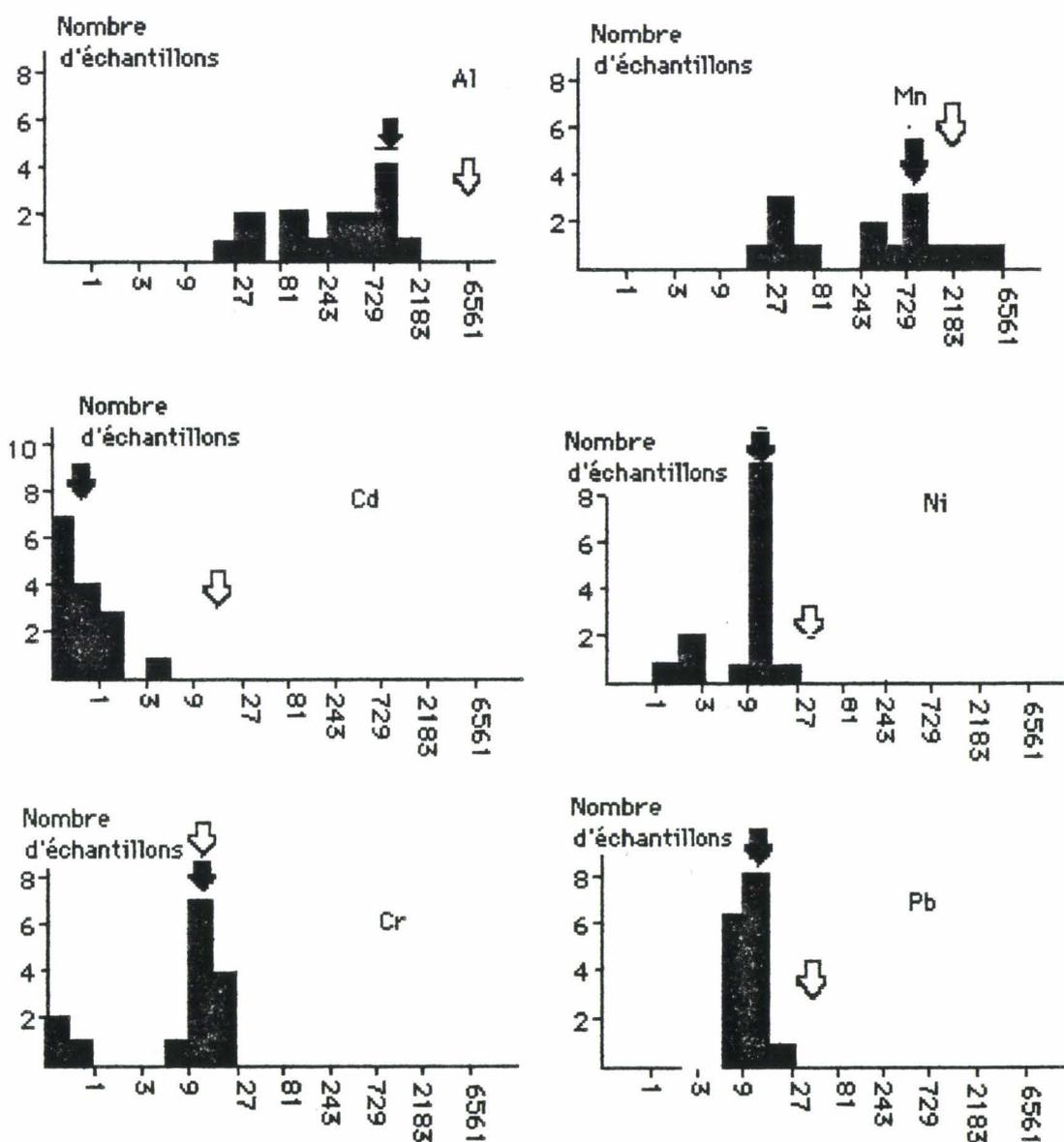
L'ensemble des résultats est résumé sur les figures 6 et 7. Pour chaque métal, l'ensemble des échantillons correspondant à un site est reporté sur un axe en fonction des teneurs métalliques rencontrées dans les animaux.

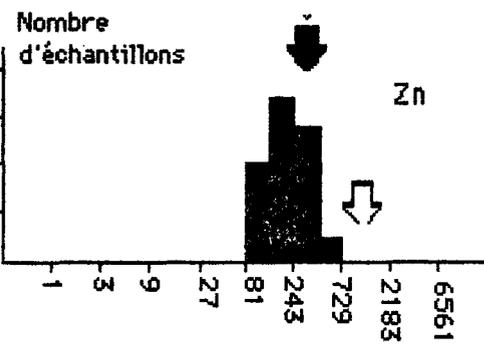
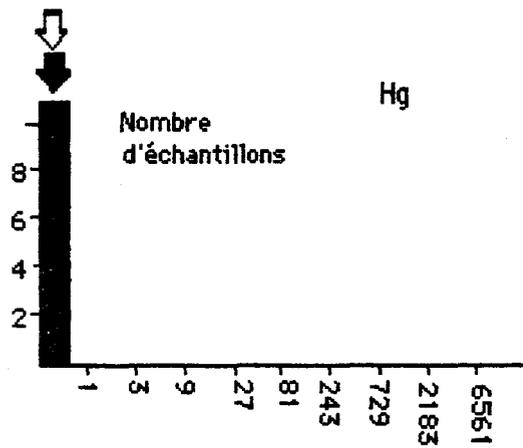
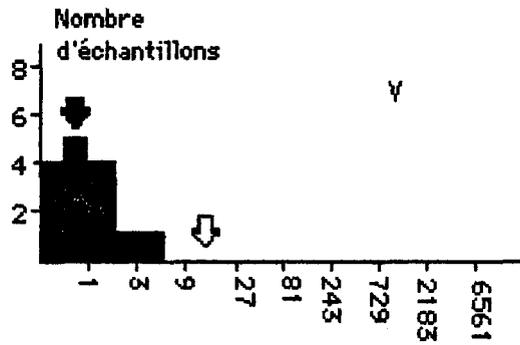
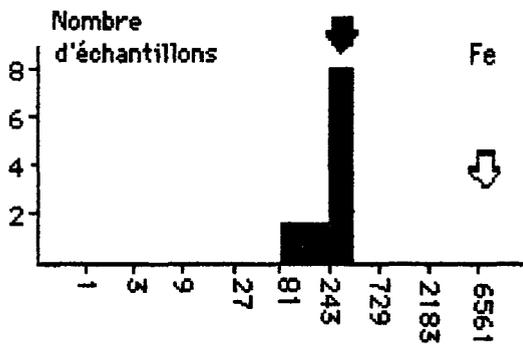
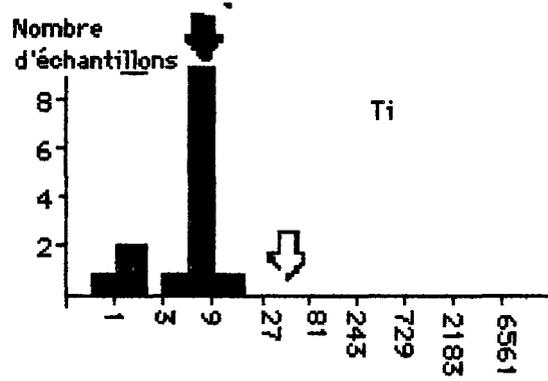
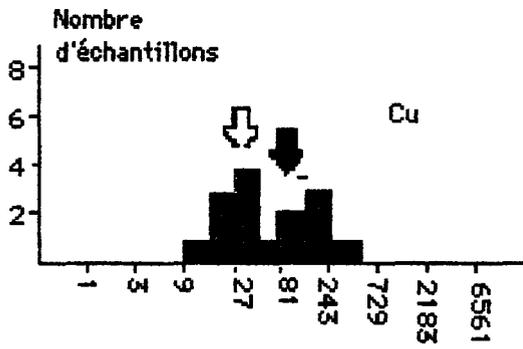
**Figure 6** : Variations des teneurs métalliques dans les vers de l'estuaire de l'Aa(X: Teneurs métalliques en  $\mu\text{g/g p.s}$ ; Nombre d'échantillons). La flèche noire localise la teneur moyenne pour les animaux, la flèche blanche indique la teneur moyenne pour les sédiments correspondant.





**Figure 7 :** Variation des teneurs métalliques dans les vers du petit port de Boulogne(X: Teneurs métalliques en  $\mu\text{g/g p.s}$ ; Y: Nombre d'échantillons).La flèche noire localise la teneur moyenne pour les animaux, la flèche blanche indique la teneur moyenne pour les sédiments correspondant.





- Approche globale des relations entre les concentrations métalliques des différents compartiments

L'étude des relations entre les concentrations métalliques des animaux et du sédiment est une approche délicate. Certains auteurs utilisent une fraction particulière du sédiment (Everaarts, 1986), d'autres un sédiment total (Bryan *et al*, 1973). Il est assez difficile d'associer la part de métaux effectivement disponible pour l'animal à une fraction du sédiment. La voie tégumentaire n'est pas l'unique possibilité pour un métal d'intégrer l'organisme. *Nereis diversicolor* se nourrit en ingérant la couche superficielle du sédiment et par la même occasion intègre les métaux associés à cette phase.

Tout en considérant ces différentes observations, nous avons néanmoins effectué une analyse conjointe des concentrations métalliques du compartiment biotique et du sédiment qui lui est associé.

L'analyse consiste à rechercher les métaux éventuellement corrélés dans ces deux phases. Les matrices des corrélations sont présentées en annexe.

La première étude concerne les animaux de l'estuaire de l'Aa et un sédiment total (fraction < 1mm). La matrice des corrélations révèle que 28 coefficients de corrélation sur 231 sont significativement différents de zéro au risque de 5% (valeur seuil de  $r=0,576$  pour 10 ddl). Pour un même métal, aucune corrélation n'existe entre les deux compartiments.

La même étude est effectuée avec un sédiment normalisé par l'aluminium. On observe que 82 coefficients de corrélation sur 222 sont significativement différents de zéro au risque de 5%. Avec notamment une corrélation négative pour le fer et positive pour le vanadium entre les deux compartiments.

La seconde analyse est effectuée avec les échantillons du petit port de Boulogne. Avec un sédiment total, on constate que 76 coefficients de corrélation sur 231 sont significativement différents de zéro au risque de 5% (valeur seuil de  $r=0,514$  pour 12 ddl). Le fer et le vanadium présentent une corrélation significative négative. Le manganèse dans le sédiment total est corrélé positivement au manganèse dans l'animal. Le cuivre dans l'animal n'est corrélé à aucun autre métal.

Avec un sédiment normalisé, 58 coefficients de corrélation sur 231 sont significativement différents de zéro au risque de 5%. Les corrélations fer-fer et vanadium-vanadium ne sont plus significatives. D'autres corrélations apparaissent, positive pour le cadmium et négative pour le plomb.

Devant la complexité de ces observations, nous avons choisi de travailler sur chaque compartiment séparé. L'analyse multivariable nous permet de visualiser les métaux "semblables" sur le plan du comportement, et d'observer l'effet des variables saison et âge des individus sur les concentrations métalliques rencontrées.

## 1.1 Analyse multivariable des données concernant les animaux

La première analyse portera sur l'ensemble des résultats obtenus pour les vers de l'estuaire de l'Aa. Les individus sont les mois de prélèvement associés à l'âge des animaux. Les variables sont les teneurs métalliques pour les métaux cités précédemment. Chaque individu est donc caractérisé par onze variables. Le mercure n'est pas traité dans cette analyse car le nombre de valeurs nulles (inférieures aux limites de détection des appareils de mesure) est trop important.

### 1.1.1 SITE 1 : Estuaire de l'Aa

Tableau 10 : Données de base.

Le codage des individus statistiques décrits dans le tableau répond au système ci-dessous:

A1 80 → Diamètre ovocytaire: 80: < 80µm ; 90: 90-116µm ; 130: >130 µm  
 ↳ Année: 1=1988; 2=1989  
 ↳ Mois de prélèvement: A: avril; J: juillet; O: octobre; F: février

	<b>Al</b>	<b>Cd</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>
A1 80	2967	0,23	23,00	55	1967	85
J1 80	600	0,27	16,00	110	400	23
O1 80	184	0,07	5,50	50	453	18
F2 80	4	0,10	0,60	21	245	5
A2 80	240	0,07	0,33	10	280	13
A1 90	2433	0,23	40,00	43	1600	78
J1 90	700	0,27	10,00	62	433	26
O1 90	333	0,07	7,00	21	493	27
F2 90	90	0,05	0,75	26	330	9
A2 90	427	0,07	0,60	11	453	17
A1 130	2767	0,23	22,00	60	1867	78
J1 130	600	0,10	11,00	80	400	28
O1 130	33	0,05	3,00	16	243	11
F2 130	52	0,05	1,20	15	320	11
A2 130	67	0,03	0,53	9	233	17

Tableau 10 (suite) : Données de base

	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Ti</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>
A1 80	13,0	9,30	170,0	8,80	197
J1 80	9,0	3,30	47,0	3,20	154
O1 80	6,0	1,00	12,3	1,70	160
F2 80	2,0	1,50	3,0	1,20	180
A2 80	0,6	0,67	25,0	3,00	143
A1 90	23,0	7,00	140,0	7,90	180
J1 90	6,3	4,00	63,0	3,80	137
O1 90	6,0	1,80	19,7	2,00	135
F2 90	3,0	1,80	8,3	1,30	158
A2 90	0,6	1,00	45,0	4,00	133
A1 130	12,0	9,30	163,0	8,00	188
J1 130	5,3	5,30	43	3,60	138
O1 130	3,3	1,20	2,7	0,97	124
F2 130	3,0	1,80	6,0	1,20	168
A2 130	1,3	0,67	6,3	1,70	133

Les variables s'expriment toutes en  $\mu\text{g/g p.s.}$  On remarquera que les ordres de grandeur varient fortement d'une variable à l'autre. Afin d'homogénéiser les données en vue du traitement ultérieur, on effectue les opérations de centrage et de réduction sur l'ensemble du tableau.

**Tableau 11** : Caractéristiques des variables utilisées dans l'analyse en composantes principales.

	Al	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn
<b>Moyenne</b>	766,47	0,126	9,434	39,267	647,8	29,733
<b>E. Type</b>	1041,27	0,09	11,48	29,918	612,03	27,083
<b>coefficient de variation</b>	135,8%	71,43%	121,69%	76,19%	94,48%	91,09%

	Ni	Pb	Ti	Y	Zn
<b>Moyenne</b>	6,293	3,309	60,287	3,491	155,2
<b>E. Type</b>	6	3,035	58,867	2,658	22,98
<b>coefficient de variation</b>	95,34%	91,72%	97,64%	76,14%	14,81%

Les coefficients de variations reflètent une forte dispersion des teneurs métalliques autour de la moyenne. Le tableau des données semble montrer que l'âge des animaux contribue faiblement à cette dispersion. Par contre, des différences importantes s'observent en fonction du mois de prélèvement.

Le faible coefficient de variation obtenu pour le zinc confirme les nombreuses observations effectuées par divers auteurs (Bryan *et al.*, 1973 ; Septier *et al.*, 1991 ; ..) sur la constance de ce métal essentiel chez de nombreux organismes. Ce phénomène pourrait s'expliquer par des mécanismes de régulation qui permettraient à l'animal de contrôler les concentrations en certains métaux essentiels dans son organisme.

tableau 12 : Matrice des corrélations(corrélations linéaires)

	Al	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb
Al	1							
Cd	.71	1						
Cr	.867	.764	1					
Cu	.384	.746	.529	1				
Fe	.987	.625	.83	.295	1			
Mn	.989	.673	.893	.37	.98	1		
Ni	.829	.716	.986	.473	.812	.863	1	
Pb	.949	.744	.837	.545	.917	.934	.786	1
Ti	.992	.755	.856	.417	.967	.973	.806	.945
V	.976	.721	.849	.388	.943	.959	.788	.912
Zn	.691	.463	.563	.232	.736	.647	.592	.666

	Ti	V	Zn
Ti	1		
V	.989	1	
Zn	.649	.601	1

47 coefficients de corrélation sur 55 sont significativement différents de zéro au risque de 5% (valeur seuil de  $r=0,514$  pour 13 ddl). Deux groupes de métaux se distinguent. Le nickel et le chrome sont fortement corrélés entre eux ; l'aluminium, le fer, le manganèse, le titane et le vanadium forment également un groupe homogène avec des corrélations très fortes.

#### a) Cercle des corrélations du plan 1.2 de l'A.C.P.

La première étape consiste à représenter les variables sur un cercle de rayon unitaire que l'on appelle cercle des corrélations. Les coordonnées des variables sur ce cercle sont les cosinus

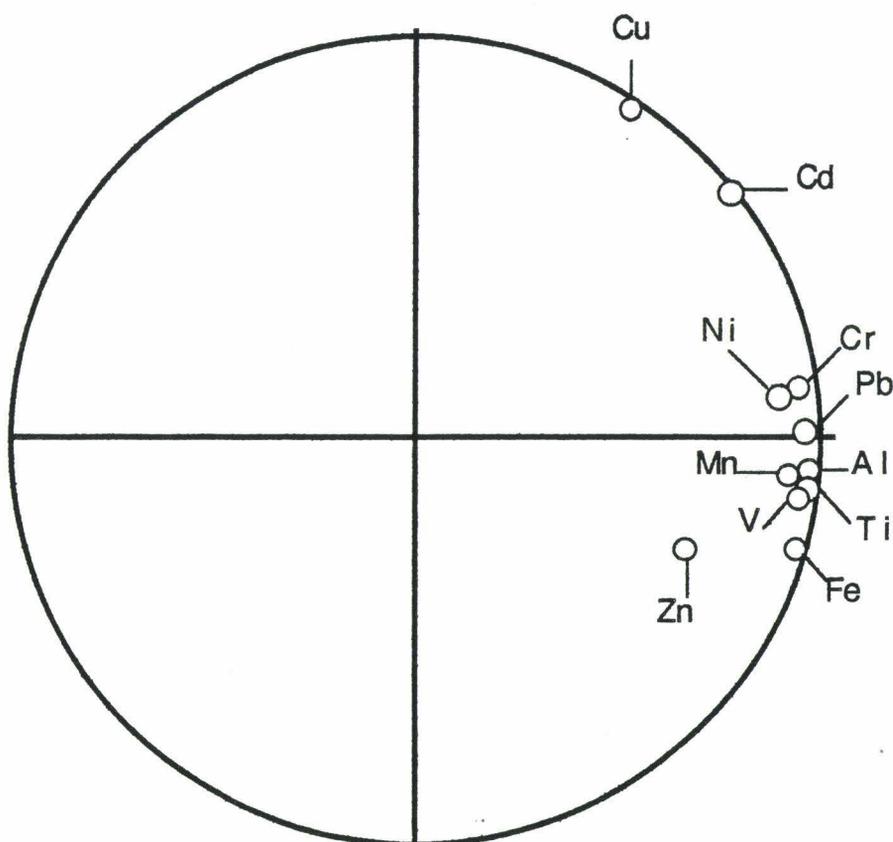
des angles entre les vecteurs qui caractérisent la variable et les axes. La variable sera d'autant mieux représentée sur le plan qu'elle sera proche du cercle de corrélation. Une variable placée sur le cercle appartiendra au plan étudié.

Seules deux composantes principales contribuent pour plus de 10% à l'inertie du nuage :

- axe 1 : 78,8%
- axe 2 : 11,3%

Ces deux composantes reconstituent 90,1% des informations du nuage dans l'espace initial.

Figure 8 : Cercle des corrélations du plan 1.2 de l'A.C.P. sur les onze variables.



A l'exception de la variable zinc qui est assez éloignée du cercle des corrélations, l'ensemble des variables est correctement représenté sur ce plan.

La contribution des autres axes de l'A.C.P. à l'inertie du nuage est insuffisante. Les combinaisons avec l'axe 1 ne permettent pas d'affiner les positions relatives des variables. Les variables aluminium, chrome, fer, manganèse, plomb et titane sont assez bien corrélées au premier axe de l'A.C.P (tableau 13). On retrouve une association des variables nickel et chrome en accord avec le fort coefficient de corrélation entre ces deux métaux. De même, le regroupement manganèse, aluminium, vanadium et titane concorde avec les observations faites sur la matrice des corrélations. La variable cuivre est fortement corrélée au deuxième axe. Le zinc est assez mal représentés par les deux axes principaux.

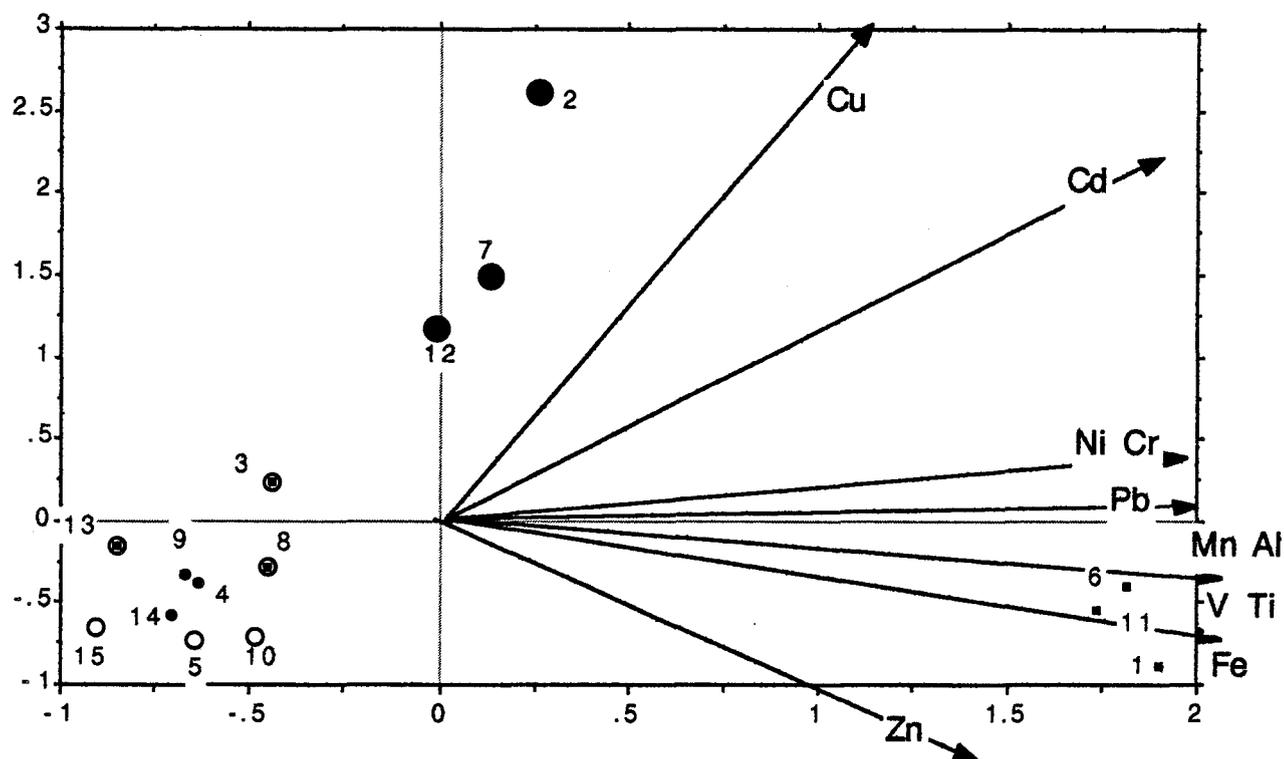
Tableau 13 : Corrélation entre les variables et les axes principaux.

	Axe 1	Axe 2
Al	0,98	-0,162
Cd	0,802	0,481
Cr	0,829	0,116
Cu	0,521	0,806
Fe	0,954	-0,272
Mn	0,972	-0,167
Ni	0,896	0,073
Pb	0,957	0,012
Ti	0,976	-0,105
V	0,955	-0,121
Zn	0,704	-0,273

## b) Plan 1.2 de l'A.C.P.

**Figure 9 :** Projection des onze variables et des quinze individus sur le Plan 1,2 de l'A.C.P.

avril 88    ◻    juillet 88    ●    octobre 88    ◻  
 février 89    •    avril 89    ○



Les axes représentant les variables sont ceux du cercle des corrélations et ne sont pas la projection des axes initiaux.

La représentation simultanée des individus et des directions des variables sur le plan 1,2 de l'A.C.P. met en évidence trois groupes d'individus qui se distinguent nettement les uns des autres. Le premier groupe rassemble les points 1, 6 et 11 qui correspondent aux trois prélèvements effectués en avril 88. Leur position sur le plan montre que pour ces échantillons, les teneurs métalliques sont particulièrement élevées pour neuf des onze métaux recherchés. Sur le deuxième axe de l'A.C.P. un second groupe d'individus s'individualise, ce sont les points 2, 7 et 12. Ces *Nereis* ont été récoltées en juillet 88. Les positions sur le plan 1,2, notamment celle de l'individu n° 2, reflètent des teneurs importantes en cuivre. Les vers récoltés durant les trois autres périodes forment le troisième groupe de points qui se situe à l'opposé des directions des variables et traduit par cette position des teneurs comparativement plus faibles par rapport aux

deux groupes précédents. A l'intérieur de ce groupe les trois périodes de prélèvements s'individualisent selon l'axe 2. Les points 5, 10 et 15 (avril 89) correspondent à des individus relativement peu contaminés pour les métaux cuivre et cadmium. Viennent ensuite les points 4, 9 et 14 (février 89) et les points 3, 8 et 13 (octobre 88). Globalement, on observe une opposition de deux groupes d'individus selon l'axe 1 de l'A.C.P. Sur l'axe 2, les points sont positionnés en fonction des teneurs en cuivre et en cadmium.

Tableau 14 : Coordonnées des individus

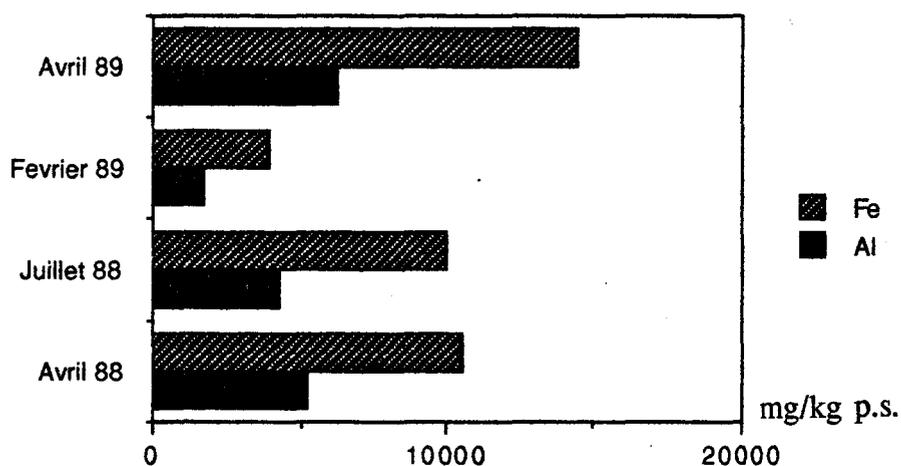
		Axe 1	Axe 2
1	A1 80	1,899	-0,886
2	J1 80	0,284	2,644
3	O1 80	-0,438	0,249
4	F2 80	-0,641	0,386
5	A2 80	-0,699	0,619
6	A1 90	1,815	0,402
7	J1 90	0,135	1,503
8	O1 90	0,455	0,274
9	F2 90	0,675	0,337
10	A2 90	0,571	0,674
11	A1 130	1,736	0,544
12	J1 130	-0,015	1,179
13	O1 130	-0,848	0,144
14	F2 130	-0,663	0,695
15	A2 130	-0,864	0,614

Parallèlement aux dosages effectués dans les animaux, les sédiments correspondants ont également été dosés. Le tableau 14 présente l'ensemble des résultats concernant les sédiments.

### c) Teneurs métalliques dans les sédiments

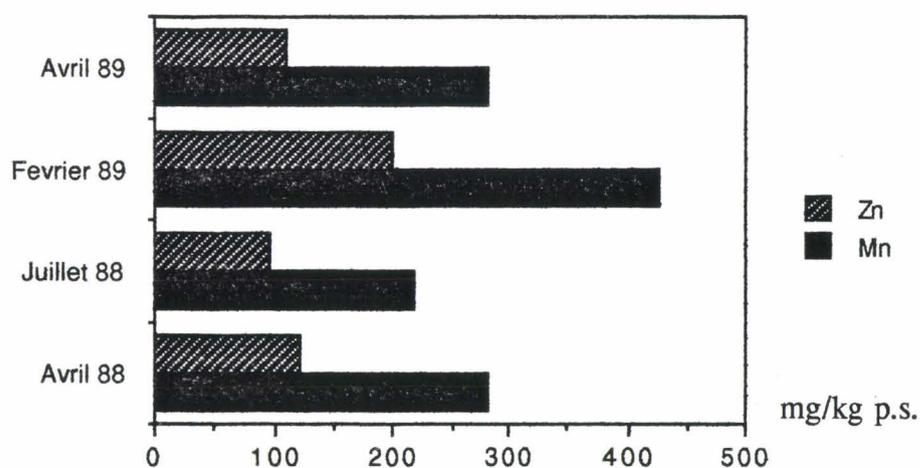
**Tableau 15 :** Teneurs métalliques dans les sédiments de l'estuaire de l'Aa. (un incident technique nous prive des valeurs concernant le mois d'octobre 88)

#### a) Teneurs en fer et aluminium



Pour le fer et l'aluminium, le mois de février( points 4, 9 et 14) se caractérise par des teneurs relativement faibles par rapport à celles observées pour les autres mois. L'observation des trois tableaux suivants(b, c et d) montre que pour le vanadium, le chrome, le cadmium et le titane, les teneurs dans le sédiment sont également plus faibles en février que pour les autres mois. Cette observation se reflète globalement dans les teneurs rencontrées chez les animaux ainsi que dans la position de ces points sur le plan 1.2 de l'A.C.P. (Fig.9).

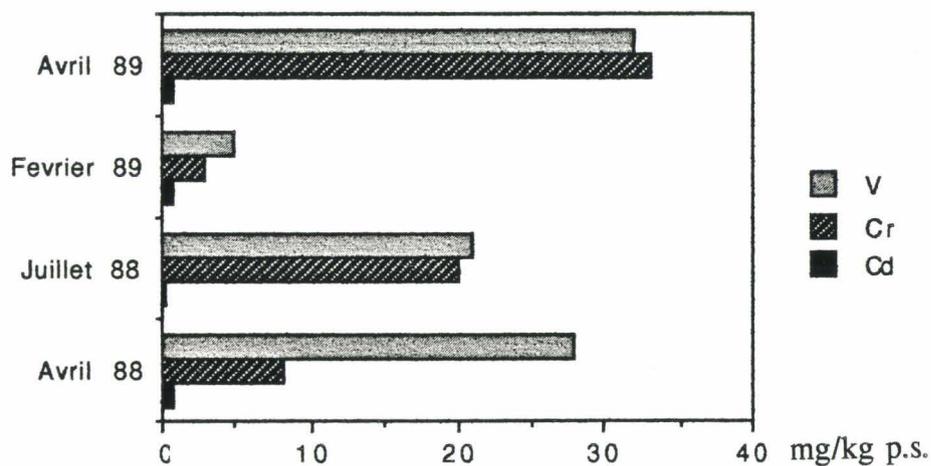
### b) Teneurs en zinc et manganèse



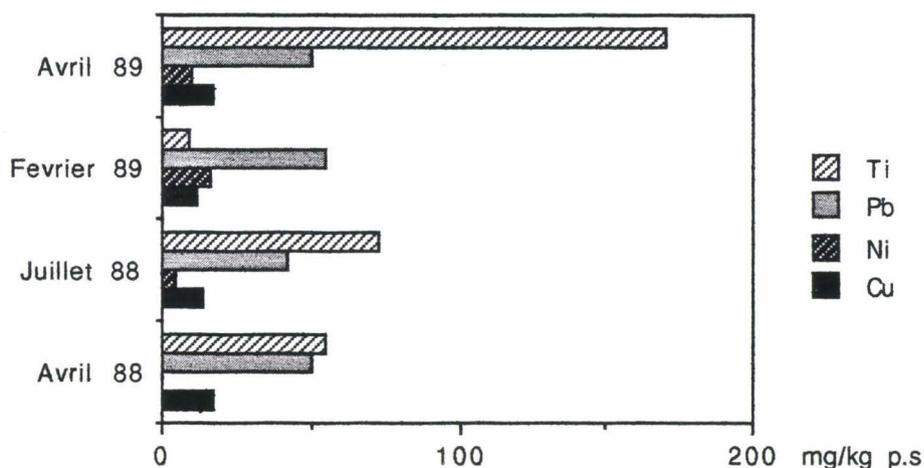
Les teneurs métalliques du sédiment rencontrées durant le mois d'avril 88 ne permettent pas de préjuger des fortes concentrations chez les animaux à l'origine de la position particulière des points 1, 6 et 11 sur 12 plan 1.2 de l'A.C.P.

De même, les fortes concentrations en cuivre chez les animaux représentés par les points 2, 7 et 12 ne se justifient pas par la teneur en cuivre du sédiment à la même époque (juillet 88).

### c) Teneurs en vanadium, chrome et cadmium



#### d) Teneurs en titane, plomb, nickel et cuivre



L'ensemble des illustrations ci-dessus, montre l'existence de variations saisonnières dans les concentrations rencontrées dans les sédiments. Il semble n'y avoir aucune relation entre ces variations et celles observées chez les animaux.

#### 1.1.2 SITE 2 : Petit port de Boulogne

La même étude est effectuée sur les teneurs métalliques rencontrées dans les animaux issus du petit port de Boulogne. Les prélèvements ont été effectués aux mêmes époques et les dosages concernent les trois catégories d'âge déjà retenues dans le cas précédent. Le tableau des données (tableau 16) renferme les teneurs métalliques exprimées en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec pour les onze métaux.

Comparativement aux données recueillies dans l'estuaire de l'Aa, des variations très nettes se dégagent. Les teneurs en cadmium sont beaucoup plus faibles dans les *Nereis* du petit port de Boulogne, par contre pour le zinc, elles sont plus importantes et également moins homogènes. L'hypothèse nulle: égalité des variances pour le zinc, est rejetée avec un risque de 0,01 par le test de Fisher.

Le manganèse se distingue également par des teneurs dans les animaux particulièrement élevées dans le petit port de Boulogne. Il faut souligner que le complexe sidérurgique du manganèse (SFPO) est situé en face de nos points de prélèvements.

**Tableau 16 :** Teneurs métalliques rencontrées dans les *Nereis* du petit port de Boulogne au cours des cinq campagnes de prélèvement.

Le codage des individus statistiques décrit dans le tableau répond au système ci-dessous:

A1 80 → Diamètre ovocytaire: 80: < 80µm ; 90: 90-116µm ; 130: >130 µm  
 ↳ Année: 1=1988; 2=1989  
 ↳ Mois de prélèvement: A: avril; J: juillet; O: octobre; F: février

		<b>Al</b>	<b>Cd</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>
1	A1 80	1067	0,83	13,00	40	413	1330
2	J1 80	1667	3,00	19,00	87	333	5000
3	O1 80	487	1,07	14,60	44	260	633
4	F1 80	248	0,15	13,00	315	320	29
5	A2 80	40	0,30	0,50	96	130	54
6	A1 90	1250	1,30	11,00	43	340	1550
7	J1 90	1067	1,33	18,00	167	300	2730
8	O1 90	317	0,67	11,80	19	293	310
9	F1 90	82	0,17	13,00	228	189	34
10	A2 90	30	0,20	0,25	55	125	48
11	A1 130	800	0,85	21,00	25	297	1165
12	J1 130	533	0,57	20,00	220	270	1267
13	O1 130	197	0,40	12,12	12	183	260
14	F1 130	95	0,20	7,50	24	225	62
15	A2 130	20	0,10	0,25	32	100	24

Tableau 16(suite)

		Ni	Pb	Ti	V	Zn
1	A1 80	10,0	12,30	29,0	1,80	347
2	J1 80	11,0	6,70	31,0	3,60	550
3	O1 80	9,3	19,00	15,0	1,67	220
4	F2 80	14,0	15,00	19,0	0,70	178
5	A2 80	2,0	13,00	1,5	0,50	170
6	A1 90	12,0	17,00	32,0	2,10	373
7	J1 90	10,0	6,70	20,0	1,80	312
8	O1 90	9,3	14,00	10,0	0,93	163
9	F2 90	18,0	13,00	5,6	0,11	194
10	A2 90	2,0	7,00	1,5	0,30	160
11	A1 130	16,0	16,70	23,0	1,60	343
12	J1 130	12,0	6,70	11,0	0,80	257
13	O1 130	8,7	11,00	7,0	0,77	155
14	F2 130	10,0	8,80	6,3	0,10	188
15	A2 130	1,7	6,00	0,7	0,30	153

Tableau 17: Caractéristiques des variables

	Al	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn
<b>Moyenne</b>	526,67	0,743	11,67	93,80	251,87	966,4
<b>E. Type</b>	523,61	0,752	6,91	93,90	90,56	1366,78
<b>coefficient de variation</b>	99,42%	101,21%	59,18%	100,1%	35,96%	141,43%

	Ni	Pb	Ti	V	Zn
<b>Moyenne</b>	9,733	11,527	14,173	1,139	250,867
<b>E. Type</b>	4,807	4,345	10,934	0,956	113,589
<b>coefficient de variation</b>	49,39%	37,69%	77,15%	83,93%	45,28%

Par comparaison avec les valeurs obtenues sur l'estuaire de l'Aa, les coefficients de variation montrent une plus grande régularité dans les concentrations métalliques rencontrées chez les animaux. Les valeurs moyennes sont ici supérieures pour le cadmium, le chrome, le cuivre, le zinc et surtout pour le manganèse dont la concentration moyenne est plus de trente fois supérieure à celle des vers de l'estuaire de l'Aa. On notera les coefficients < 50% pour le fer, le nickel, le plomb et le zinc.

**Tableau 18 :** Matrice des corrélations (corrélations linéaires)

	Al	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb
Al	1							
Cd	.898	1						
Cr	.633	.544	1					
Cu	-.071	-.129	.273	1				
Fe	.776	.556	.718	.115	1			
Mn	.904	.955	.579	.013	.546	1		
Ni	.347	.202	.79	.426	.597	.216	1	
Pb	.028	-.062	.185	-.077	.323	-.274	.401	1
Ti	.923	.736	.653	.015	.906	.711	.511	.299
V	.951	.96	.584	-.149	.687	.905	.241	.097
Zn	.958	.907	.595	-.057	.674	.922	.361	-.04

	Ti	V	Zn
Ti	1		
V	.863	1	
Zn	.859	.922	1

La matrice des corrélations montre que 30 coefficients de corrélations sur 55 sont significativement différents de zéro au seuil de 5%. (valeur seuil de  $r = 0,514$ , pour 13 ddl). Deux variables s'individualisent fortement, il s'agit du cuivre et du plomb, corrélées à aucune autre

variable. Mis à part le chrome, les autres variables sont assez bien corrélées entre elles. On distingue en particulier un rapprochement très net entre le cadmium, l'aluminium, le zinc, le vanadium et le manganèse.

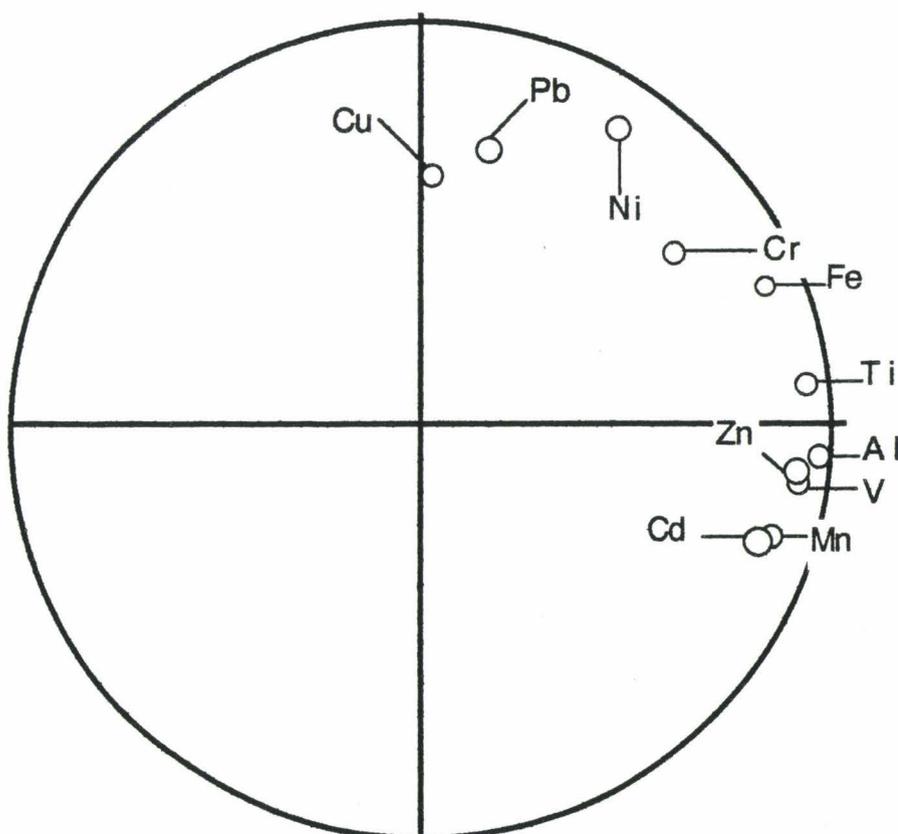
### a) Cercle des corrélations du plan 1.2

Contribution des composantes principales à l'inertie du nuage:

- axe 1 : 61,2%
- axe 2 : 18,0%
- axe 3 : 11,1%

La contribution du troisième axe ne peut être ignorée, l'analyse se fera donc sur les plans 1.2 et 1.3 de l'A.C.P.

Figure 10 : Cercle des corrélations du plan 1.2 de l'A.C.P. sur les onze variables



Les axes 1 et 2 contribuent pour 79,2% à l'inertie du nuage. L'observation de la projection des variables sur le plan 1.2 révèle que le

cuivre, le plomb, le nickel et le chrome sont assez mal représentés sur ce plan, car éloignés de la périphérie du cercle. Les variables aluminium, cadmium, fer, manganèse, vanadium et zinc sont assez bien représentées par l'axe 1 de l'A.C.P., leur proximité reflète bien les observations faites sur la matrice des corrélations. Le nickel est un peu mieux représenté par le deuxième axe. Le plomb et le cuivre contribuent également à la détermination de ce deuxième axe, mais seront beaucoup mieux représentés par l'axe 3 que nous utiliserons ultérieurement sur un plan 1.3.

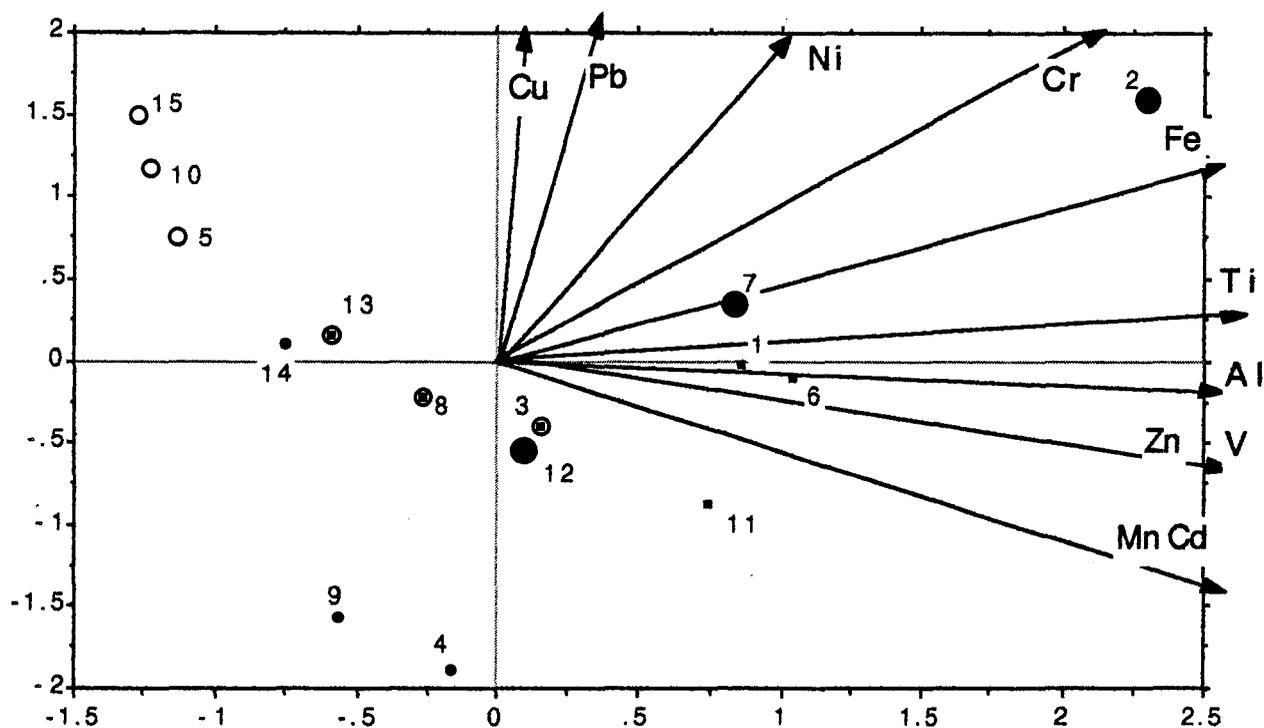
Tableau 19 : Corrélations entre les variables et les axes principaux.

	Axe 1	Axe 2	Axe 3
Al	0,972	-0,164	-0,032
Cd	0,896	0,348	0,023
Cr	0,762	0,443	0,187
Cu	0,027	0,554	0,723
Fe	0,83	0,338	-0,139
Mn	0,889	-0,36	0,258
Ni	0,508	0,773	0,125
Pb	0,117	0,608	-0,714
Ti	0,934	0,13	-0,183
V	0,943	-0,245	-0,122
Zn	0,946	-0,208	0,042

## b) Plan 1.2 de l'A.C.P.

Figure 11 : Plan 1.2 de l'A.C.P. sur les onze variables et les quinze individus

avril 88 • juillet 88 ● octobre 88 •  
février 89 • avril 89 ○



Les axes représentant les variables sont ceux du cercle des corrélations et ne sont pas la projection des axes initiaux.

Comme pour les *Nereis* de l'estuaire de l'Aa, on retrouve des groupes d'individus correspondant aux différentes campagnes de prélèvement. Les points 2, 7 et 12 (juillet 88) sont très dissociés. Ceci est principalement dû aux fortes concentrations en titane, chrome, fer, aluminium et manganèse rencontrées chez les individus représentatifs du point n°2, qui confèrent à ce point une position particulière.

L'axe 1 de l'A.C.P. matérialise un gradient de contamination métallique pour une grande partie des métaux recherchés. On retrouve le même type de répartition que pour l'estuaire de l'Aa, avec les points 1, 6 et 11 regroupés le plus à droite, sur une position qui témoigne de fortes

concentrations métalliques. On notera l'indépendance des variables cuivre et plomb par rapport aux autres variables.

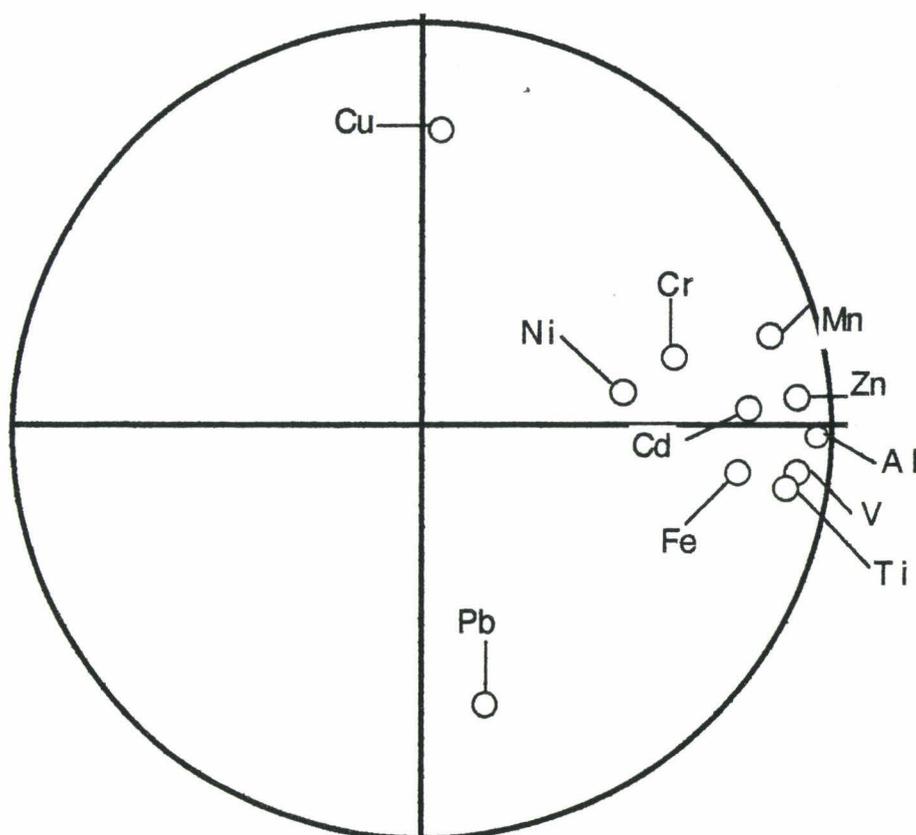
Tableau 20 : Coordonnées des individus sur les axes 1, 2 et 3.

		Axe 1	Axe 2	Axe 3
1	A1 80	0,849	-0,024	-0,822
2	J1 80	2,278	1,604	0,923
3	O1 80	0,145	-0,393	-1,393
4	F2 80	-0,160	-1,881	0,774
5	A2 80	-1,119	0,725	-0,356
6	A1 90	1,036	-0,112	-1,374
7	J1 90	0,827	0,369	1,328
8	O1 90	0,268	-0,219	-0,904
9	F2 90	-0,566	-1,560	1,004
10	A2 90	-1,218	1,227	0,209
11	A1 130	0,737	-0,870	-0,968
12	J1 130	0,101	-0,541	1,779
13	O1 130	-0,591	0,161	-0,364
14	F2 130	-0,747	0,104	-0,061
15	A2 130	-1,303	1,408	-0,226

### c) Cercle des corrélations du plan 1,3 de l'A.C.P.

Le cercle des corrélations sur un plan 1,3 de l'A.C.P. ainsi que la carte des individus sont effectués afin d'affiner ces observations et de préciser les rôles des variables cuivre et plomb qui déterminent le troisième axe de l'A.C.P.

Figure 12 : Cercle de corrélation du plan 1,3 de l'A.C.P. sur les onze variables

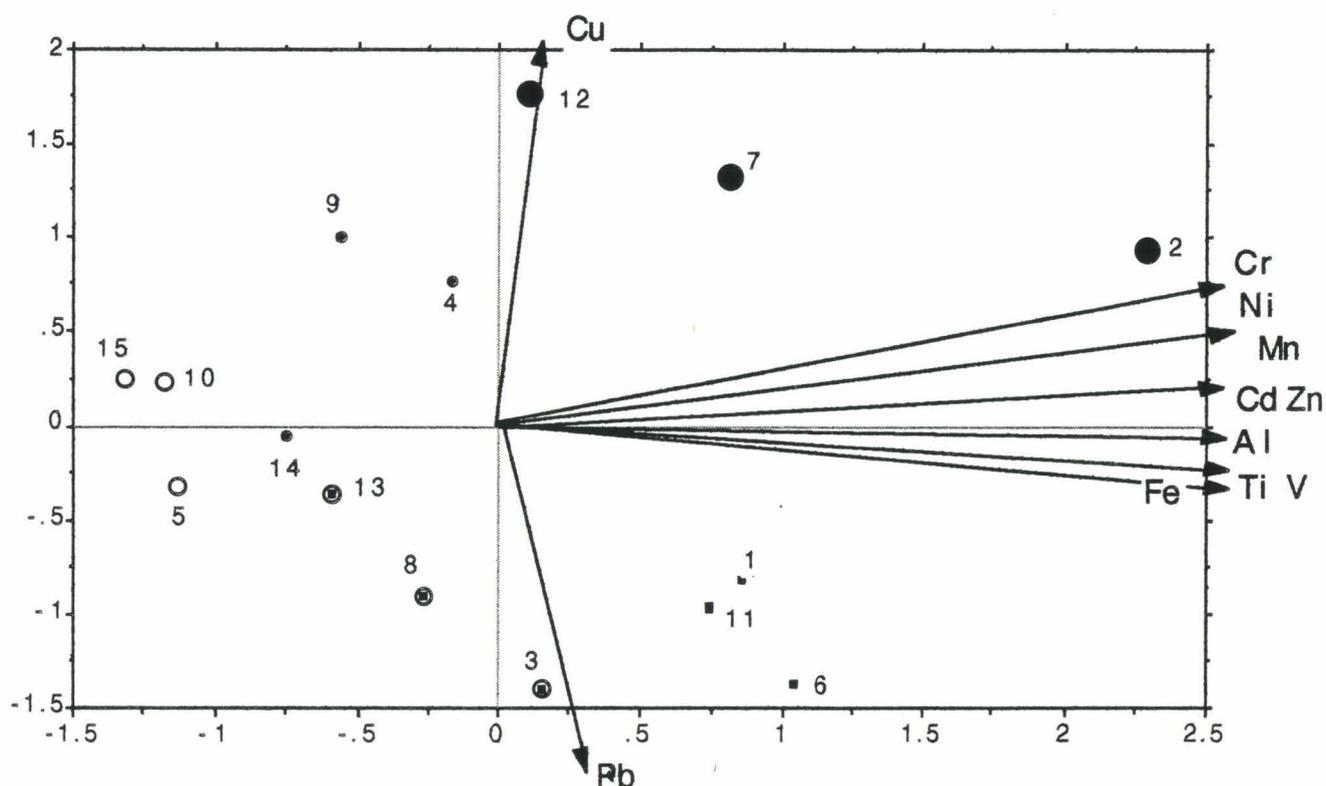


Ce cercle détermine une nouvelle position de la variable plomb avec une meilleure contribution à l'inertie du nuage. La position de la variable cuivre est également affinée par une très forte contribution à l'axe 3. Les variables nickel, chrome, cadmium et fer ont une moindre contribution à l'inertie du nuage.

## d) Plan 1.3 de l'A.C.P.

Figure 13 : Plan 1.3 de l'A.C.P. sur les onze variables et les quinze individus

avril 88    ▪            juillet 88    ●            octobre 88    ▪  
 février 89    •            avril 89    ○



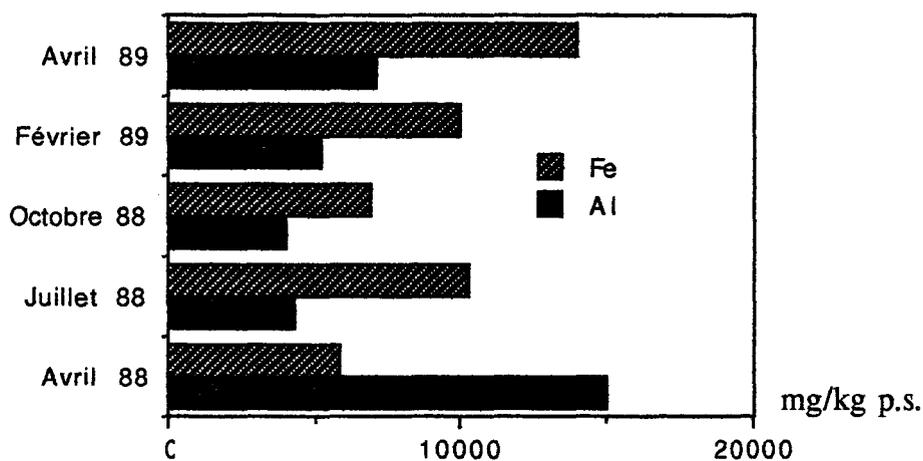
Les axes représentant les variables sont ceux du cercle des corrélations et ne sont pas la projection des axes initiaux.

On observe le même type de regroupement que sur la carte précédente, avec les regroupements caractéristiques des mois d'avril (1,6,11), (5,10,15) et de juillet (2,7,12). Les regroupements sont mieux définis par une meilleure répartition selon l'axe 3 et les variables plomb et cuivre. Cette deuxième représentation permet de préciser la position de certains individus, comme par exemple celle du point 3 qui se révèle être positionné par rapport à la variable plomb. Cette information ne pouvait être déduite de la simple observation du plan 1.2 de l'A.C.P.

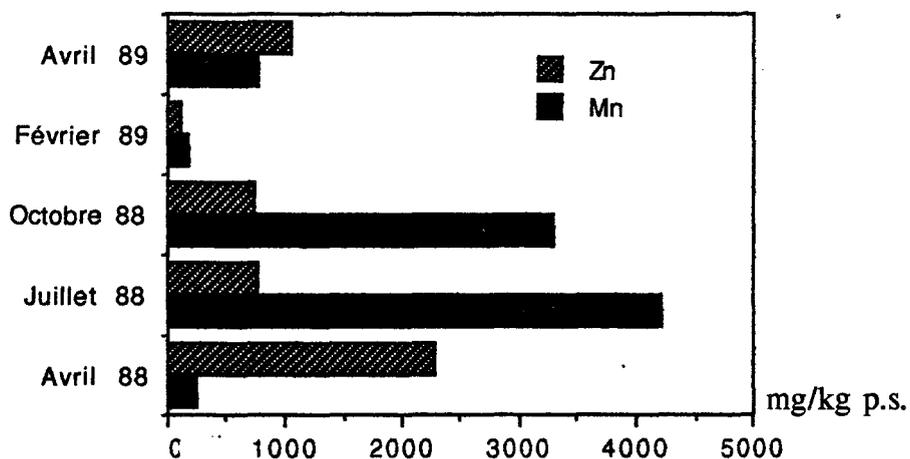
### e) Teneurs métalliques dans les sédiments

**Tableau 21** : Teneurs métalliques dans les sédiments du petit port de Boulogne (mg/kg p.s).

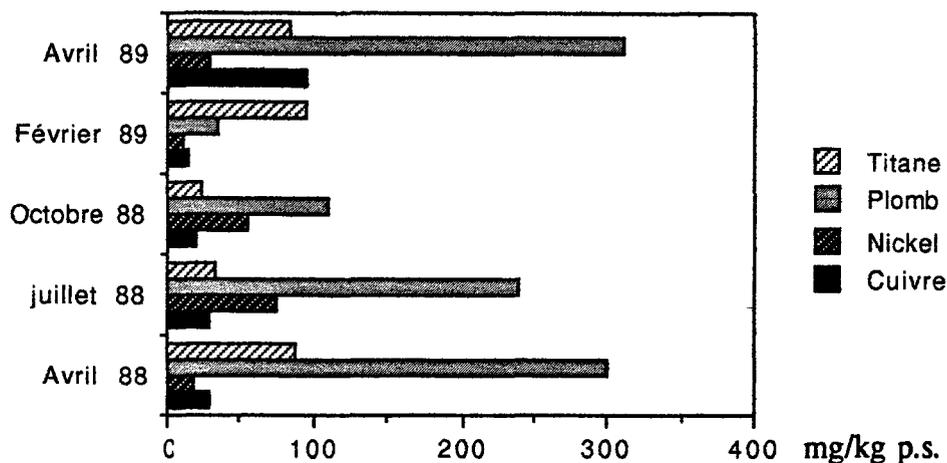
#### a) Teneurs en fer et aluminium



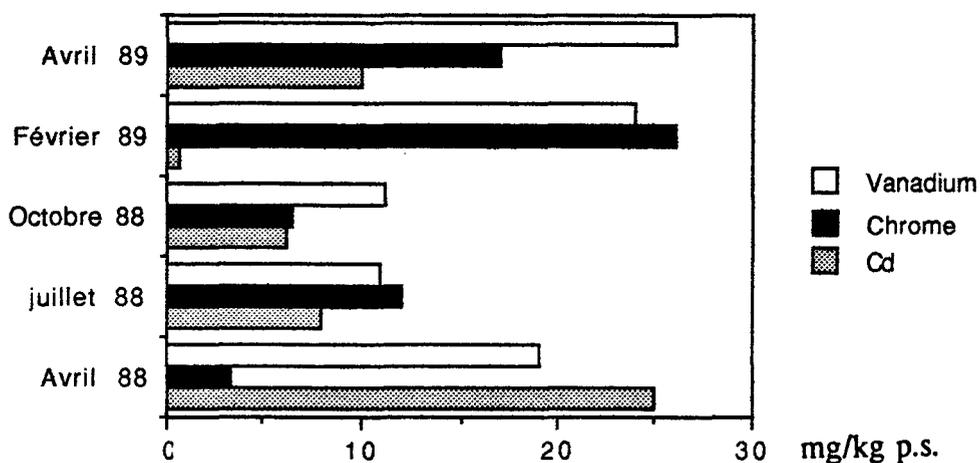
#### b) Teneur en zinc et manganèse



### c) Teneur en titane, plomb, nickel et cuivre



### d) Teneur en vanadium, chrome et cadmium



De nombreuses observations recourent celles déjà effectuées dans l'estuaire de l'Aa. Le mois de février se distingue par des teneurs plus faibles par rapport aux autres périodes de prélèvement, notamment pour le zinc, le manganèse, le plomb et le cadmium.

Les fortes teneurs en aluminium et cadmium en avril 88 sont en accord avec la position des points correspondants sur le plan factoriel. Néanmoins, il reste difficile d'établir des rapports précis entre les concentrations des animaux et du sédiment.

### 1.1.3 Discussion

Globalement les positions relatives des groupes se retrouvent sur les deux sites d'étude. L'effet saisonnier apparaît comme un élément important qui influence directement les concentrations en métaux dans les animaux.

Les différences entre les individus d'âges différents sont occultées par cet effet important de la saison. Il apparaît néanmoins pour les mois de juillet des différences notables dans les trois groupes d'individus avec dans les deux cas une augmentation des concentrations métalliques des individus âgés aux individus les plus jeunes. L'augmentation de l'activité métabolique à cette époque de l'année pourrait être à l'origine de cette observation.

Afin de mettre en évidence les éventuelles variations de concentrations métalliques dans les animaux d'âges différents, nous avons effectué une analyse de variance sur onze tableaux correspondant aux onze variables. Chaque tableau comporte trois colonnes qui représentent les trois groupes d'animaux d'âge différent. Les résultats de cette analyse sont consignés dans le tableau 22 .

## 1.2 Influence de l'âge sur les concentrations métalliques rencontrées chez *Nereis diversicolor*

L'observation des tableaux de résultats (tableaux 10 et 16) montre, pour certaines variables, une différence notable des concentrations entre les individus d'âges différents. Le stade de développement est en relation directe avec l'activité métabolique de l'animal. Son niveau d'enfouissement est également en rapport avec son âge (Septier, 1989). Or la forme chimique des métaux n'est pas la même en surface et en profondeur, la biodisponibilité de ces métaux varie donc également. L'âge des animaux est un paramètre important que l'on ne peut ignorer. Des différences dans les cinétiques d'accumulation du cadmium ont été montrées en conditions expérimentales chez *Nereis diversicolor* (Septier

et al , 1990), ainsi que *Nereis virens* (Ray et al., 1980). Dans les deux cas, les animaux les plus jeunes présentent une cinétique d'accumulation supérieure.

Afin de mettre en évidence ces éventuelles variations à partir des données recueillies sur le terrain, nous avons effectué une analyse de variance sur les trois groupes d'animaux d'âges différents.

**Tableau 22** : Différences de concentrations métalliques entre les animaux d'âges différents.

Diamètre ovocytaire: A: <80µm; B: 80-130µm ; C: >130 µm.

O : Significatif au seuil de 5%

N : Non significatif au seuil de 5%

	Estuaire de l'Aa			Petit port de Boulogne				
	Significatif à 5%			Significatif à 5%				
		A	B	C		A	B	C
Al	N				O	+		-
Cd	N				N			
Cr	N				N			
Cu	N				N			
Fe	N				O	+		-
Mn	N				N			
Ni	N				N			
Pb	N				N			
Ti	N				O	+		-
V	N				O	+		-
Zn	O	+	-	-	N			

Les différences de concentration ne sont significatives au seuil de 5% que pour quelques métaux. Il est fort possible que l'effet important de la saison sur les concentrations métalliques masque un effet mineur tel que celui de l'âge des individus. Néanmoins, on notera que dans chaque cas, ce

sont les animaux les plus jeunes qui sont également les plus chargés en métaux.

### **1.3 Analyse multivariable des données concernant le sédiment.**

Pour les sédiments, le nombre d'individus est assez faible en comparaison du grand nombre de variables étudiées. L'analyse sera donc volontairement limitée à la représentation des cercles des corrélations.

#### **1.3.1 Normalisation**

Les métaux que l'on retrouve dans les vases estuariennes et portuaires ont deux origines bien distinctes : l'érosion des sols au cours des siècles et l'apport d'origine anthropique. Il est bien souvent difficile de déterminer les proportions relatives des métaux correspondant à ces deux phénomènes. Les concentrations "naturelles" varient en fonction de nombreux paramètres comme la nature de la roche mère, la granulométrie, les conditions climatiques, la situation géographique,...

La comparaison entre sédiments d'origines différentes ne peut donc se faire qu'après correction par un facteur normalisateur permettant de réduire l'effet de cette variabilité naturelle (Loring, 1991 ; Boutier et al., 1990 ).

##### **a) Normalisation par la granulométrie**

La granulométrie est un aspect important des caractéristiques géochimiques des sédiments. En effet, il a été clairement démontré que plus de 70% des métaux se retrouvent généralement dans une fraction sédimentaire particulière de granulométrie  $< 63 \mu\text{m}$ .

La normalisation par une fraction fine spécifique de  $53 \mu\text{m}$  ou  $63 \mu\text{m}$  selon les auteurs est possible car il existe une corrélation positive entre les concentrations des métaux traces dans les sédiments et le pourcentage de fraction fine. La comparaison directe des concentrations métalliques dans les fractions fines de différents sédiments est quant à elle plus hasardeuse car la contribution de cette fraction au sédiment total est variable.

## b) Normalisation géochimique

Certains paramètres géochimiques représentent de façon spécifique les particules fines ou grossières des sédiments. Des éléments comme l'aluminium, le fer, le scandium, le césium ou le lithium sont utilisés pour réduire "l'effet granulométrique" sur la distribution des métaux.

Dans le cadre de notre étude, l'aluminium a été dosé sur tous les échantillons. Nous l'avons utilisé comme élément normalisateur en divisant l'ensemble des valeurs obtenues par les concentrations en aluminium correspondantes. De cette manière la comparaison d'échantillons prélevés à des époques différentes ou issues de sites différents reflète effectivement des variations d'origine anthropique (Boutier *et al.*, 1989).

### 1.3.2 Site 1 : Estuaire de l'Aa

Tableau 23 : Caractérisation du sédiment

	1988		1989	
	avril	juillet	février	avril
Granulométrie(%)				
> 2mm	5,88	15,26	12,6	16,25
1 à 2 mm	4,44	3,65	3,6	2,10
0,5 à 1,0 mm	5,04	3,90	2,1	3,05
0,25 à 0,50 mm	4,56	5,77	10,1	7,90
0,10 à 0,25 mm	26,04	39,28	22,5	13,50
0,063 à 0,100 mm	4,40	3,59	5,9	11,20
< 0,063 mm	49,64	28,55	43,2	46,00
Phosphore(%)	0,013		0,002	0,035
Azote(%)	0,21		0,18	0,013
Carbone organique(%)	4,0		1,9	1,6

Tous les prélèvements sont effectués sur une zone bien déterminée n'excédant pas quelques m<sup>2</sup>. Il est donc assez logique de rencontrer une relative stabilité dans ce tableau. Les fractions les plus importantes sont celles situées entre 0,10 et 0,25 mm. Elles correspondent à des sablons. Celles inférieures à 0,063 mm à des sablons très fins et pélites (Larsonneur, 1977).

#### Analyse en composantes principales

**Tableau 24** : Caractéristiques des variables

	<b>Al</b>	<b>Cd</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>
<b>moyenne</b>	4362,5	0,625	16,075	15	9700	301,25
<b>E.Type</b>	1906,73	0,287	13,33	2,449	4338,2	87,214
<b>coefficient de variation</b>	43,71%	45,92%	82,92%	16,33%	44,72%	28,95%

	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Ti</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>
<b>moyenne</b>	7,775	49,25	76,75	21,5	131,25
<b>E.Type</b>	6,812	5,377	67,756	11,902	46,971
<b>coefficient de variation</b>	87,61%	10,91%	88,28%	55,36%	35,79%

Les coefficients de variation montrent une certaine constance des concentrations métalliques en certains métaux, comme le plomb, le cuivre ou le manganèse.

Tableau 25 : Matrice des corrélations

	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Ti	γ	Zn
Cd	1									
Cr	-.672	1								
Cu	.958	-.617	1							
Fe	-.173	.809	-.045	1						
Mn	.971	-.577	.996	-.006	1					
Ni	.934	-.41	.963	.176	.981	1				
Pb	.964	-.583	.998	-.008	.999	.977	1			
Ti	-.712	.913	-.77	.554	-.715	-.571	-.732	1		
γ	-.912	.435	-.977	-.169	-.982	-.99	-.984	.637	1	
Zn	.969	-.592	.997	-.01	1	.979	1	-.723	-.982	1

19 coefficients sur 45 sont significativement différents de zéro au risque de 5% (valeur seuil de  $r=0,95$ , pour 2 ddl).

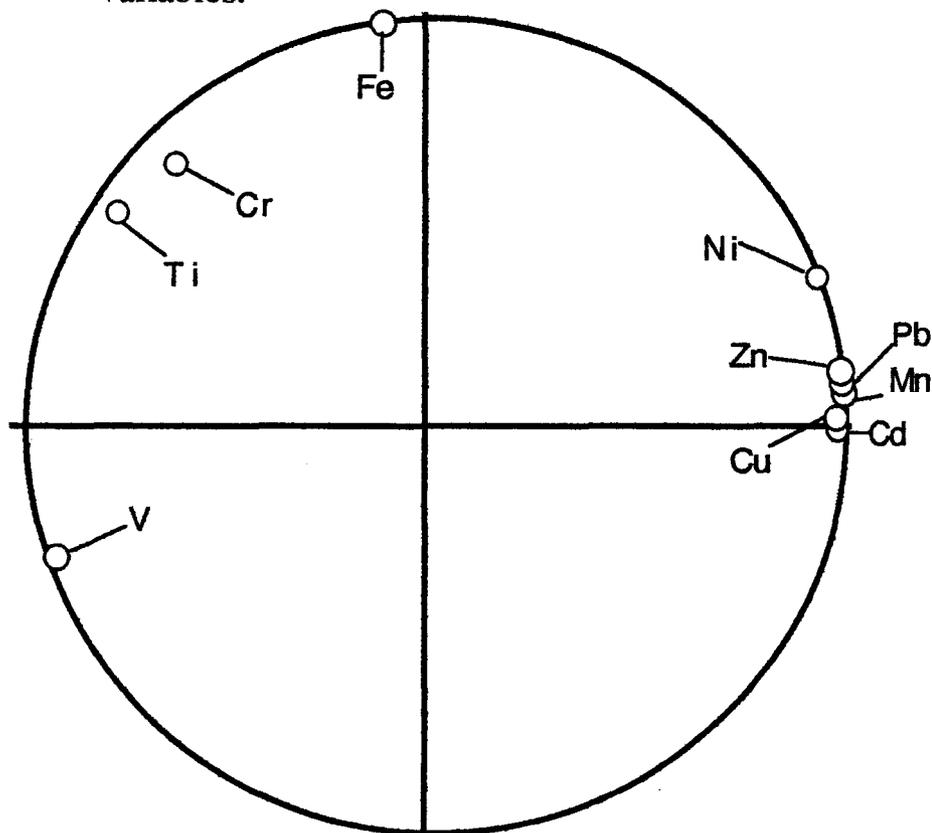
Le vanadium se distingue des autres variables par des corrélations négatives avec le cuivre, le manganèse, le nickel et le plomb.

Contribution des composantes principales à l'inertie du nuage :

- axe 1 : 78,1%
- axe 2 : 20,0%

Le troisième axe de l'A.C.P. ne présente pas une contribution suffisante pour pouvoir être pris en considération. Le cercle des corrélations sera donc tracé en projection sur les axes 1 et 2 de l'A.C.P. (figure 14)

**Figure 14** : Cercle des corrélations du plan 1.2 de l'A.C.P. sur les dix variables.



Mis à part le chrome et le titane, l'ensemble des métaux est bien représenté sur ce cercle. On observe un regroupement très marqué du zinc, plomb et manganèse. Ces trois métaux sont très fortement corrélés entre eux. Un second groupe renferme le cuivre et le cadmium également fortement corrélés entre eux. L'axe 1 de l'A.C.P. est principalement déterminé par le comportement de ces cinq variables. Le deuxième axe est principalement représenté par les variables chrome et fer.

**Tableau 26** : Corrélations entre les variables et les axes principaux.

	Axe 1	Axe 2
<b>Cd</b>	0,974	-0,008
<b>Cr</b>	-0,681	0,773
<b>Cu</b>	0,996	0,082
<b>Fe</b>	-0,133	0,978
<b>Mn</b>	0,991	0,133
<b>Ni</b>	0,945	0,319
<b>Pb</b>	0,992	0,125
<b>Ti</b>	-0,8	0,509
<b>V</b>	-0,954	-0,291
<b>Zn</b>	0,992	0,127

### 1.3.3 Site 2 : Petit port de Boulogne

**Tableau 27** : Caractérisation du sédiment

	1988			1989	
	avril	juillet	octobre	février	avril
<b>Granulométrie(%)</b>					
> 2mm	3,03	9,58		7,0	7,50
1 à 2 mm	1,66	2,26	3,95	1,0	3,65
0,5 à 1,0 mm	1,09	0,84	0,63	1,8	6,50
0,25 à 0,50 mm	7,63	4,24	15,79	31,7	15,80
0,10 à 0,25 mm	69,75	59,13	63,25	46,7	43,50
0,063 à 0,100 mm	1,94	1,33	2,18	1,0	4,40
< 0,063 mm	14,94	22,62	13,20	10,8	18,65
<b>Phosphore(%)</b>	0,012			0,021	0,058
<b>Azote(%)</b>	0,11			0,034	0,005
<b>Carbone organique(%)</b>	3,2		1,1	0,4	1,3

Les observations concernant la répartition des fractions granulométriques sont les mêmes que pour le sédiment de l'estuaire de

l'Aa: les fractions les plus représentées restent celles 0,10-0,25 mm et < 0,063 mm.

Tableau 28 : Caractéristiques des variables

	Al	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn
<b>moyenne</b>	7120	9,98	12,94	38	9380	1733
<b>E.Type</b>	4568,04	9,082	8,995	32,45	3215,9	1875
<b>coefficient de variation</b>	64,16%	91,00%	69,51%	85,39%	34,28%	108,19%

	Ni	Pb	Ti	Y	Zn
<b>moyenne</b>	37,4	198,8	64,2	18,2	991
<b>E.Type</b>	26,61	121,81	33,9	7,05	796,6
<b>coefficient de variation</b>	71,15%	61,27%	52,80%	38,74%	80,38%

Globalement, les variations sont plus importantes que dans l'estuaire de l'Aa

Tableau 29 : Matrice des corrélations

	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Ti	Y	Zn
Cd	1									
Cr	-.793	1								
Cu	.264	.054	1							
Fe	-.157	.693	.531	1						
Mn	.533	-.068	.095	.522	1					
Ni	.53	-.023	.168	.585	.995	1				
Pb	.731	-.2	.686	.493	.615	.674	1			
Ti	-.92	.883	.058	.372	-.523	-.48	-.439	1		
Y	-.797	.904	.291	.662	-.191	-.149	-.231	.887	1	
Zn	-.965	-.759	.306	-.065	.633	.619	.701	-.925	-.696	1

7 coefficients sur 45 sont significativement différents de zéro au risque de 5% (valeur seuil de  $r=0,878$ , pour 3 ddl). Si l'on compare avec les résultats obtenus sur l'estuaire de l'Aa, on constate que deux couples de métaux sont également corrélés de part et d'autre, ce sont les couples nickel-manganèse et zinc-cadmium qui passent d'une corrélation positive à une corrélation négative.

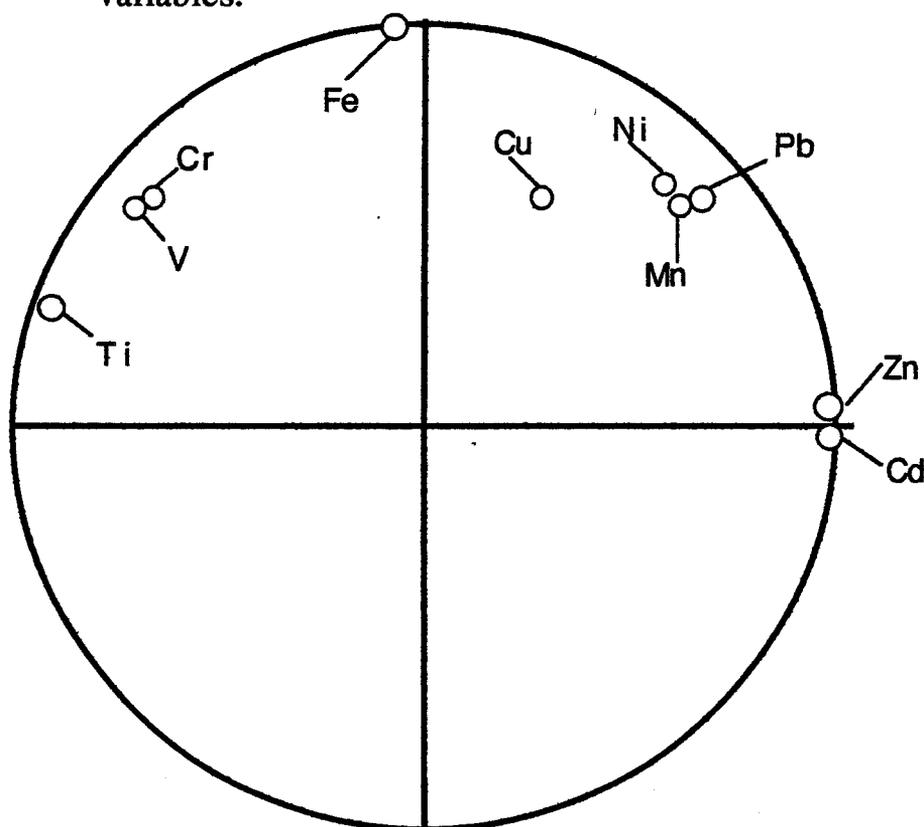
a) Cercle des corrélations du plan 1.2 de l'A.C.P.

Contribution des axes principaux de l'A.C.P. à l'inertie de nuage :

- axe 1 : 53,8%
- axe 2 : 32,1%
- axe 3 : 12,1%

Ces trois axes représentent la quasi totalité de l'inertie du nuage (98%), les représentations se feront donc sur les plans 1.2 et 1.3.

Figure 15 : Cercle des corrélations du plan 1.2 de l'A.C.P. sur les dix variables.



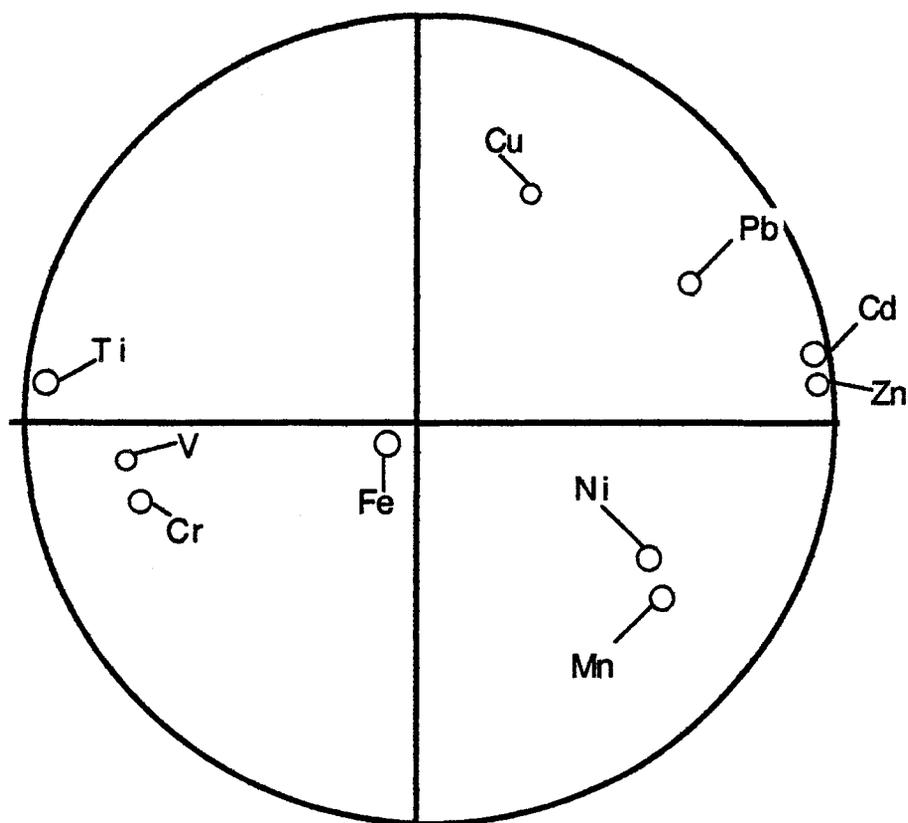
Le cuivre est mal représenté sur ce plan. On observe trois regroupements bien distincts ; le chrome et le vanadium, le nickel le plomb et le manganèse, et enfin le couple zinc et cadmium. Le cuivre a une plus forte contribution au troisième axe de l'A.C.P. et sera donc mieux représenté sur un plan 1.3.

Tableau 30 : Corrélations entre les variables et les axes principaux.

	Axe 1	Axe 2	Axe 3
Cd	0,983	-0,052	0,154
Cr	-0,757	0,61	-0,188
Cu	0,191	0,592	0,772
Fe	-0,101	0,994	-0,047
Mn	0,656	0,569	-0,489
Ni	0,642	0,633	-0,431
Pb	0,701	0,58	0,316
Ti	-0,948	0,282	0,11
V	-0,773	0,893	0,077
Zn	0,983	0,04	0,096

### b) Cercle des corrélations du plan 1.3 de l'A.C.P.

Figure 16 : Cercle des corrélations du plan 1.3 de l'A.C.P. sur les dix variables.



Une meilleure répartition selon l'axe 2 de l'A.C.P. permet de dissocier le plomb du nickel et du manganèse.

### 1.4 Discussion

Malgré les différences importantes qui marquent les deux sites d'étude, le comportement de certains métaux reste quasi identique. Les variables vanadium, titane, chrome et fer sont isolées des autres métaux. Leurs variations sont le plus souvent indépendantes des autres métaux présents. Les autres variables étudiées : cuivre, nickel, plomb,

manganèse, zinc et cadmium sont souvent corrélées entre elles ; on les retrouve regroupées sur les différents cercles des corrélations. Les relations entre ces métaux sont très complexes et peu décrites dans la littérature. D'ores et déjà, il se dégage une notion importante qui est celle d'interaction entre les métaux que nous approfondirons dans le chapitre suivant.

## **2 Campagne 91 (Travail effectué en collaboration avec R. Romont ; les résultats bruts sont consignés dans son mémoire de D.E.A.)**

Les données concernant l'étude précédente sont issues de prélèvements échelonnés sur plus d'une année. Comme le montrent les différentes cartes d'A.C.P., le facteur temps influence fortement les résultats et occulte des variations de moindre amplitude. Pour pallier ce problème, nous avons effectué une campagne ponctuelle de grande envergure (avril 1991) sur quatre sites bien définis couvrant une grande partie de l'estuaire de l'Aa (figure 5 ). Dix carottages d'une profondeur de 30 cm ont été effectués sur chaque site. Les résultats analysés concernent les teneurs métalliques dans les sédiments. Six métaux ont été recherchés : le cadmium, le cuivre, le zinc, le fer, le manganèse et l'aluminium.

Comme pour l'étude précédente, les teneurs métalliques du sédiment ont été normalisées par l'aluminium.

### **2.1 Analyse multivariée des données concernant les sédiments**

#### **2.1.1 Analyse en composantes principales sur l'ensemble des données recueillies sur les quatre zones de prélèvement.**

**Tableau 31** : Caractéristique des variables

	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Al</b>
Moyenne	9,647	13,378	136,950	4202,18	154,402	5271,43
E. Type	1,400	9,714	188,564	2833,70	102,126	3928,56
Coefficient de variation	14,51%	72,61%	137,69%	67,43%	66,14%	74,53%

**Tableau 32** : Matrice des corrélations

	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>
<b>Cd</b>	1				
<b>Cu</b>	.316	1			
<b>Zn</b>	.434	.084	1		
<b>Fe</b>	.765	.365	.3	1	
<b>Mn</b>	.827	.326	.429	.834	1

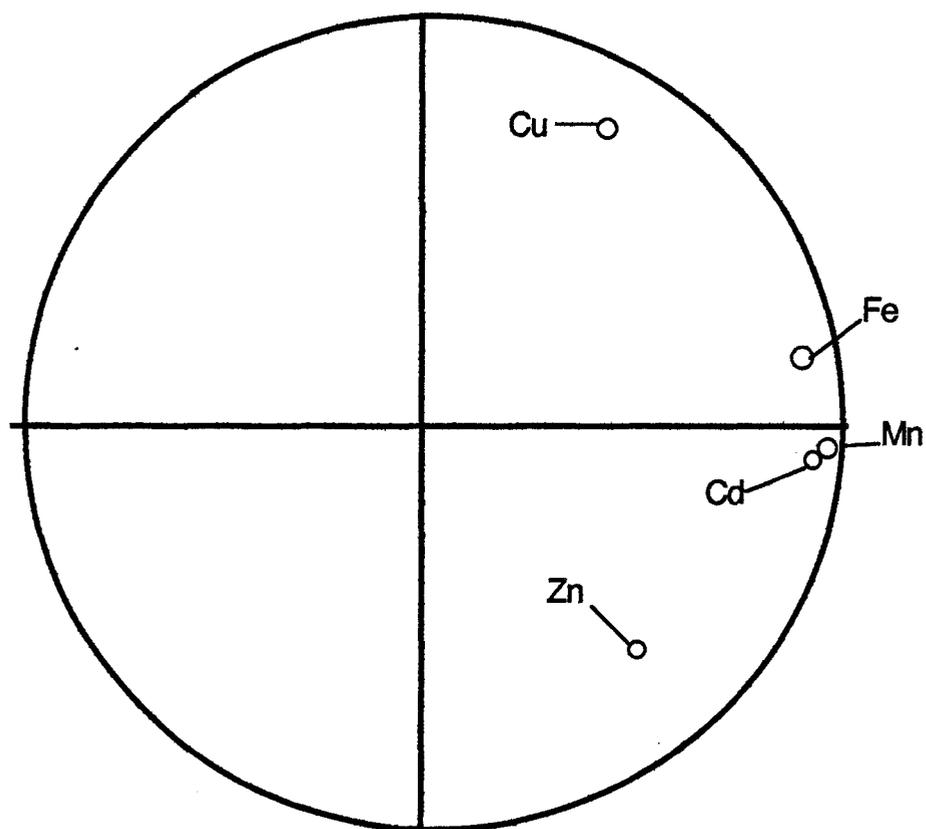
9 coefficients sur 10 sont significativement différents de zéro au risque de 5% (valeur seuil de  $r < 0,195$ , pour 118 ddl) Ils sont tous positifs, il n'existe donc pas d'antagonisme entre les métaux.

**a) Cercle des corrélations du plan 1,2 de l'A.C.P.**

Contribution des composantes principales à l'inertie du nuage :

- axe 1 : 60,5%
- axe 2 : 18,6%
- axe 3 : 13,6%

Figure 17 : Cercle des corrélations du plan 1.2 de l'A.C.P. sur les cinq variables.



Le cadmium, le fer et le manganèse sont bien représentés par l'axe 1, le cuivre et le zinc sont assez mal représentés sur ce cercle. La contribution de ces deux métaux au troisième axe de l'A.C.P. est inférieure à celle associée au deuxième axe. L'étude se limitera donc au plan 1.2.

Bien que le plan 1.2 contribue pour près de 80% à l'inertie du nuage, les fortes corrélations entre les métaux n'apparaissent pas de manière évidente pour tous les métaux. On retrouve un rapprochement cadmium-manganèse déjà observé lors de l'étude précédente.

### b) Plan 1.2 de l'A.C.P.

Figure 18 : Plan 1.2 de l'A.C.P. sur les cinq variables et les 120 individus (cf. page suivante)

Dans cette représentation, le point 1B (situé sur la zone quatre, près de la bouche d'égout (Cf figure 5)) a été supprimé car la valeur de la variable cuivre, 10 fois supérieure à la moyenne, entraînait une représentation excentrée ne permettant pas une bonne visualisation des autres points.

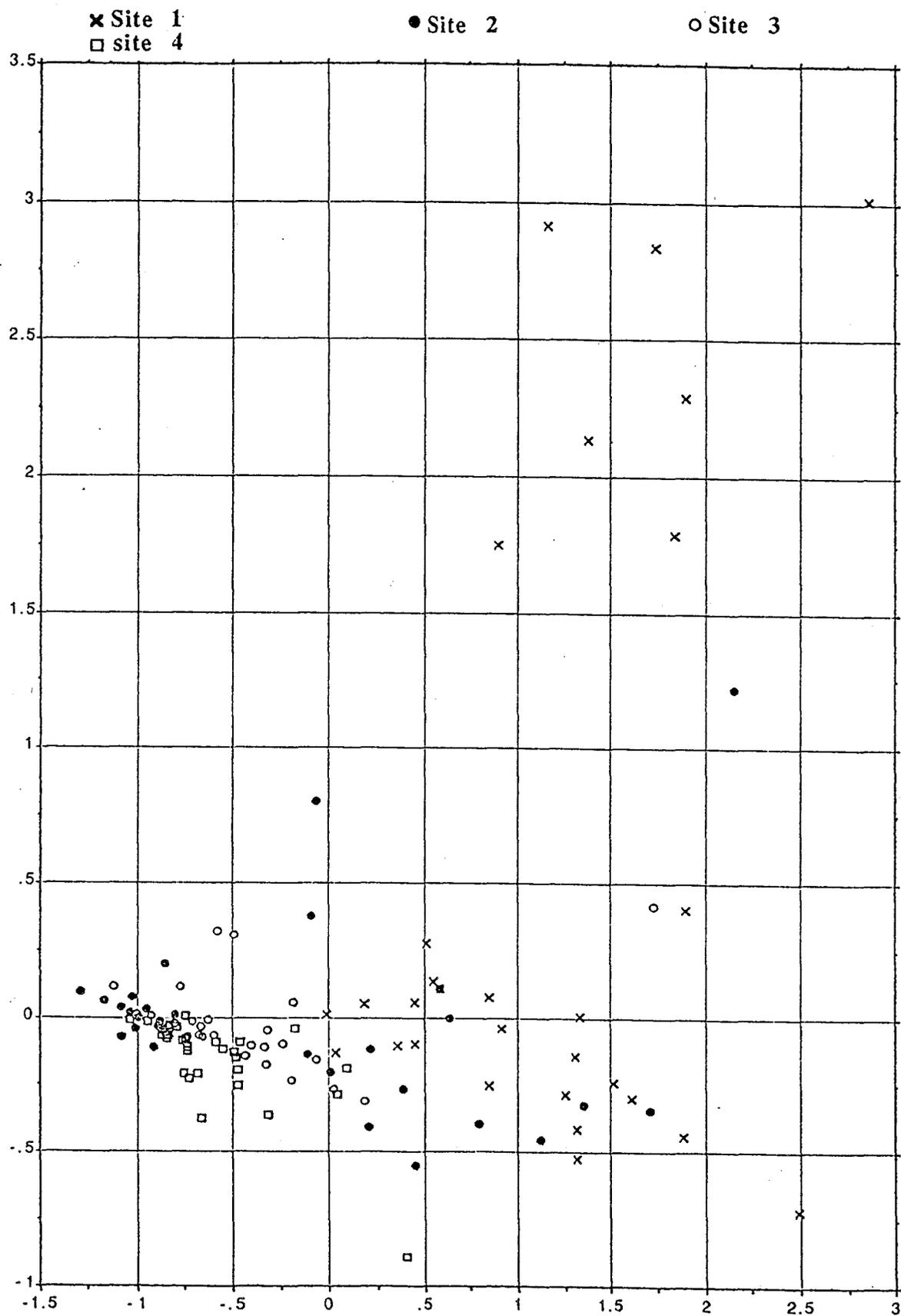
Globalement, on observe un gradient de concentration métallique le long de l'axe 1. Ce gradient concerne essentiellement les variables cadmium, manganèse et fer. On distingue assez nettement les quatre zones d'étude.

La zone 1 présente des points assez dispersés. Cette répartition s'effectue suivant l'axe 2 de l'A.C.P. et se caractérise par des concentrations importantes en zinc pour certains points situés le plus en aval de l'estuaire. Il faut tenir compte de la mauvaise qualité de représentation des variables zinc et cuivre sur le cercle des corrélations.

La zone 2 est, pour l'ensemble des métaux, la moins contaminée. Vient ensuite la zone n°3 qui présente la plus grande homogénéité, puis la zone n°4 en situation intermédiaire entre les zones 2-3 et 1.

Pour comparaison avec nos résultats précédents, nous avons effectué une nouvelle analyse avec les données recueillies sur la zone n°4 qui correspond à la zone de prélèvement retenue lors des campagnes de 88-89.

Figure 18 : Plan 1.2 de l'A.C.P. sur les cinq variables et les 120 individus



### 2.1.2 Analyse en composantes principales sur le site n°4

Tableau 33 : Caractéristique des variables

	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Al</b>
Moyenne	11,067	23,767	89,379	7237,66	274,13	8896,55
E. Type	0,640	6,312	53,367	1753,06	42,680	2110,26
Coefficient de variation	5,78%	26,59%	59,71%	24,22%	15,57%	23,72%

Tableau 34 : Matrice des corrélations

	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>
<b>Cd</b>	1				
<b>Cu</b>	.82	1			
<b>Zn</b>	.388	.538	1		
<b>Fe</b>	.688	.63	.545	1	
<b>Mn</b>	.807	.538	.396	.567	1

Tous les coefficients de corrélation sont significativement différents de zéro au risque de 5% ( valeur seuil de  $r=0,31$ , pour 38 ddl).

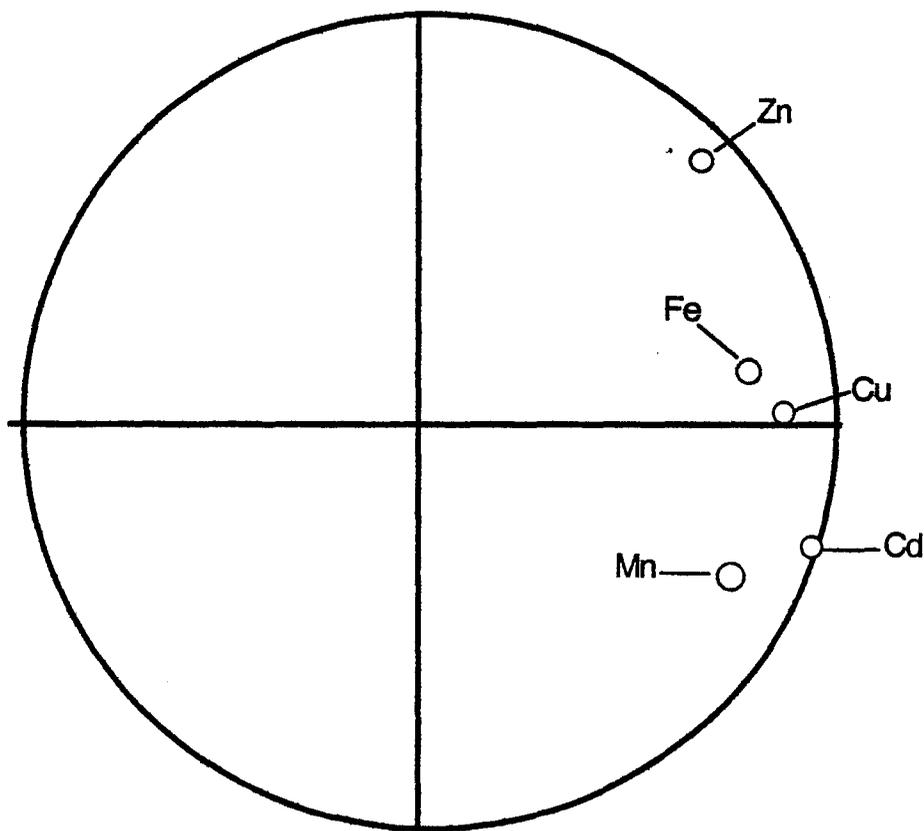
a) Cercle des corrélations du plan 1.2 de l'A.C.P.

Contribution des composantes principales à l'inertie du nuage :

- axe 1 : 67,9%

- axe 2 : 14,6%

Figure 19 : Cercle des corrélations du plan 1.2 de l'A.C.P. sur les six variables



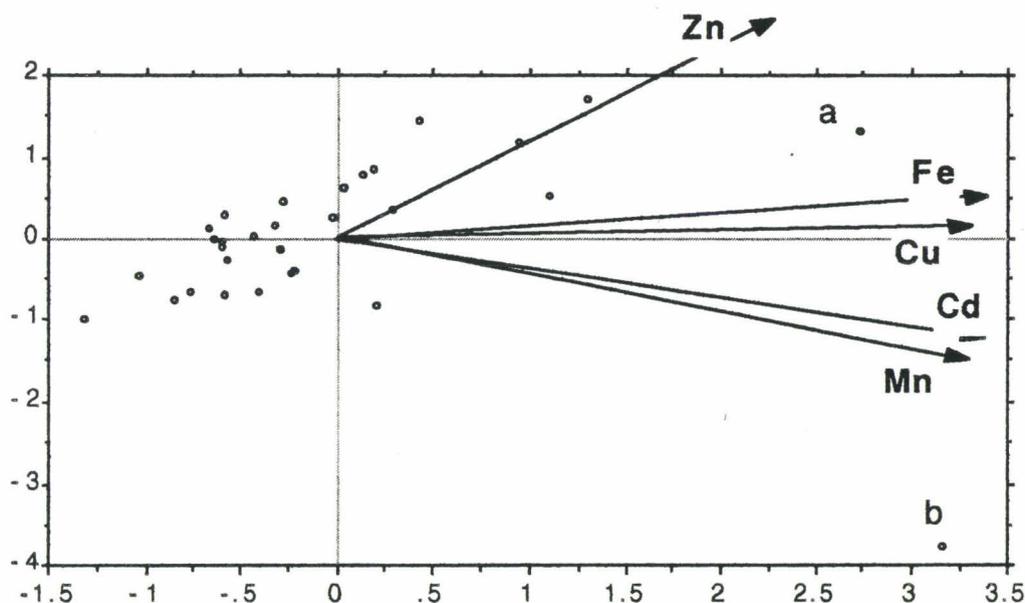
L'ensemble des variables est principalement corrélé à l'axe 1. Aucun autre axe ne permet une meilleure contribution des variables à l'inertie du nuage.

Tableau 35 : Corrélations entre les variables et les axes principaux

	Axe 1	Axe 2
Cd	0,921	0,111
Cu	0,859	-0,174
Fe	0,659	-0,356
Mn	0,83	-0,157
Zn	0,823	0,304

**b) Plan 1.2 de l'A.C.P.**

Figure 20 : Plan 1.2 de l'A.C.P. sur les cinq variables et les trente individus



Les axes représentant les variables sont ceux du cercle des corrélations et ne sont pas la projection des axes initiaux.

Les points sont regroupés sur le premier axe de l'A.C.P. qui représente la plupart des variables étudiées. On peut donc conclure à une certaine homogénéité des prélèvements effectués. Les points a et b sont très excentrés. Ceci est dû à des teneurs particulièrement élevées en zinc pour le point a. La position du point b est liée à une faible concentration d'aluminium qui a pour effet d'augmenter de manière importante les valeurs des variables après normalisation. Une analyse excluant ces deux points ne permet pas d'éclater le nuage de points sur le plan factoriel.

### 3 Discussion

Les teneurs métalliques des animaux ne sont pas le strict reflet de celles du sédiment. Les variations observées chez les animaux sont en relation avec un grand nombre de facteurs biotiques et abiotiques. Il est évident que l'état physiologique de l'animal, son âge, sa taille, ou encore son poids, vont influencer le transfert de xénobiotiques dans l'animal. La forme chimique de ces éléments est également décisive, elle varie en fonction de facteurs abiotiques comme la température, la saison, le pH, la salinité, la matière organique du sédiment, les quantités de métaux présentes, etc. Tous ces facteurs interagissent entre eux et déterminent pour les uns, les capacités de résistance de l'animal, pour les autres, la biodisponibilité des métaux présents dans les sédiments.

Cette analyse démontre combien les résultats d'observations récoltées sur le terrain sont difficiles à interpréter. Il est impossible d'intégrer l'ensemble des facteurs qui caractérise une réponse de l'environnement. Les études dans ce domaine se résument couramment à l'observation d'une ou deux variables sur une réponse, ce qui bien souvent mène à des résultats inadaptés.

Une solution adoptée par de nombreux expérimentateurs est le travail en milieu contrôlé simplifié, où un certain nombre de paramètres susceptibles de jouer sur la réponse est contrôlé. Bien que l'étude de la variation d'un seul paramètre à la fois permet d'observer le poids de chacun des facteurs étudiés sur la réponse, les interactions entre ces paramètres sont ignorées. Une fois encore, la simplification excessive de phénomènes complexes peut mener à de graves erreurs d'interprétation. En effet, dans l'environnement la variation d'un facteur entraîne bien souvent des modifications du milieu intégrant un grand nombre d'effets interactifs qui contribuent fortement à la modification du milieu. Pour mettre en évidence cette succession d'événements, les scientifiques se tournent de plus en plus vers des méthodes de calculs qui gèrent non seulement les résultats d'une expérimentation, mais également la mise en place des protocoles expérimentaux afin d'en optimiser les résultats. L'intégration d'un grand nombre de facteurs est possible par l'emploi de plans d'expériences. Ceux-ci permettent la mise en évidence des interactions entre les différents facteurs, et contribuent ainsi à réduire l'écart entre les conditions expérimentales et les véritables conditions de l'environnement.

**B) ETUDE EXPERIMENTALE DES INTERACTIONS METALLIQUES ET DE LEURS EFFETS SUR LA PENETRATION DES METAUX DANS L'ANIMAL. METHODE DES PLANS FACTORIELS.**

Cette partie expérimentale nous a fourni un nombre important de données. Les tableaux de dosage sont reportés en annexe. Afin de limiter la taille des tableaux d'analyse, seuls les effets de premier et second ordre y sont consignés. Les effets de troisième et quatrième ordre validés par l'analyse de la régression sont signalés (entre parenthèse dans le modèle) mais ne sont pas utilisés pour les représentations graphiques des interactions. Ces illustrations sont effectuées à partir des modèles en variables codées.

Les variables, qui ne sont pas directement concernées par les représentations graphiques, sont fixées à leur valeur moyenne. Ce qui correspond en variable codée à une valeur nulle.

**1 Concentrations métalliques déterminées à partir d'études préalables, portant sur la résistance de l'animal et la cinétique d'accumulation**

**Tableau 36 : Concentrations métalliques correspondant aux deux niveaux, -1 et +1.**

(mg/l)	Fe	Cd	Mn	Zn
niveau -	20	12,5	5	10
niveau +	40	25	10	20

Le niveau minimum a été choisi différent de zéro pour des raisons inhérentes à l'origine "naturelle" du matériel biologique .

Les teneurs métalliques des animaux témoins sont très variables (cf. tableau 43). En soumettant les vers à une certaine concentration métallique, on homogénéise ce niveau inférieur, ce qui facilite les comparaisons effectuées au cours des différents calculs.

### 1.1 Variation des teneurs en manganèse dans l'animal

Tableau 37 : Tableau des effets et analyse statistique

(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $S_k^2=2336,6$ .

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot S_k^2}$	$F_c$
Mn	2497	6235009	41,7	>4,04
Zn	-1419	2013561	13,5	>4,04
Niveau de coupure (seuil 0,05)				
Fe Cd	575	330625	2,21	<4,04
Mn Zn	-365	133225	0,89	<4,04
Cd Mn	361	130321	0,87	<4,54

La pénétration du manganèse dans l'animal est directement influencée par la concentration en zinc dans le milieu. Sous le niveau de coupure, la variable Fe Cd est associée au premier contraste le plus élevé non validé par l'analyse de régression. Afin d'éclaircir l'effet de cette interaction sur les teneurs en manganèse dans l'animal, une étude de ces deux métaux sera effectuée ultérieurement de manière classique (figure 23).

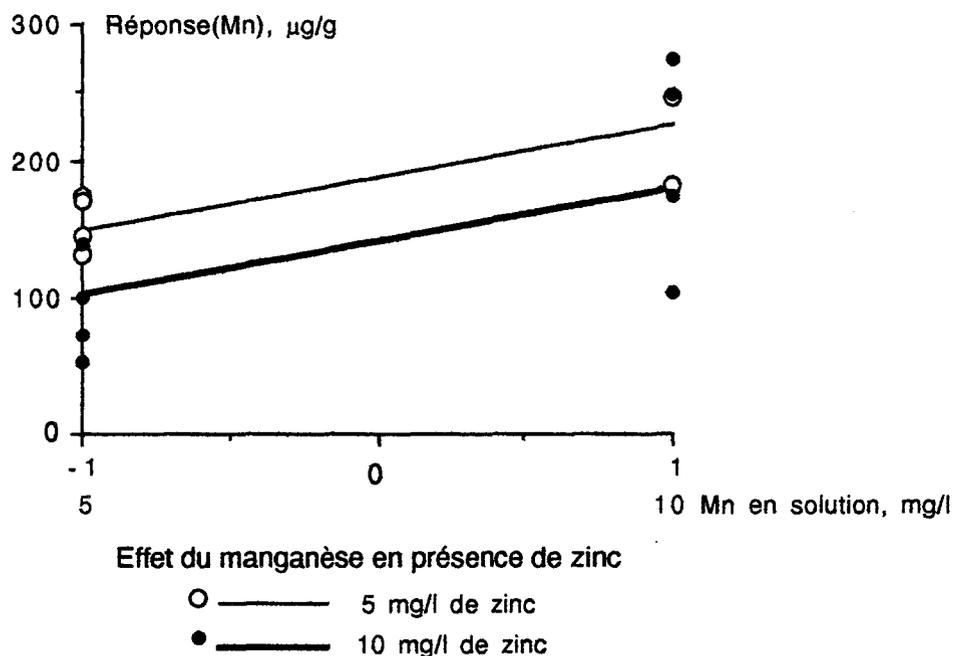
Le modèle obtenu par analyse de régression s'écrit:

$$\hat{y} = 167,0 + 39,0 \text{ Mn} - 22,2 \text{ Zn}$$

Le développement du polynôme conduit au modèle :

$$\hat{y} = 116,6 + 15,6.Mn - 4,44.Zn$$

Figure 21 : Effet du manganèse en présence de zinc.



Les courbes de réponses représentent le modèle polynomial calculé. On a reporté les points expérimentaux.

Il se dégage de cette analyse un effet marqué dû à l'augmentation du zinc en solution qui entre en compétition avec le manganèse, limitant ainsi le transfert de ce métal vers le compartiment biotique. Il n'y a pas d'interaction entre ces deux métaux. L'élimination par l'animal des quatre métaux étudiés n'a jamais pu être mise en évidence en conditions expérimentales chez *Nereis diversicolor*.

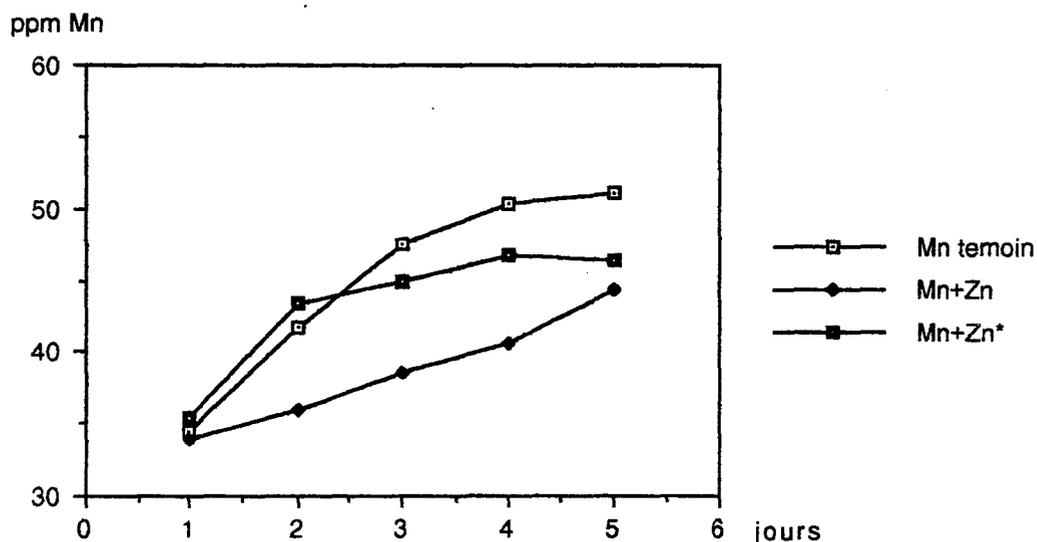
### 1.1.1 Cinétique d'accumulation des métaux

Les concentrations métalliques utilisées sont celles correspondant au niveau haut du plan d'expérience. Chaque point représente la moyenne des concentrations de trois lots de dix individus

**Figure 22** : Effets du zinc sur l'accumulation du manganèse par

*Nereis diversicolor*

\* : zinc ajouté au 2<sup>e</sup> jour

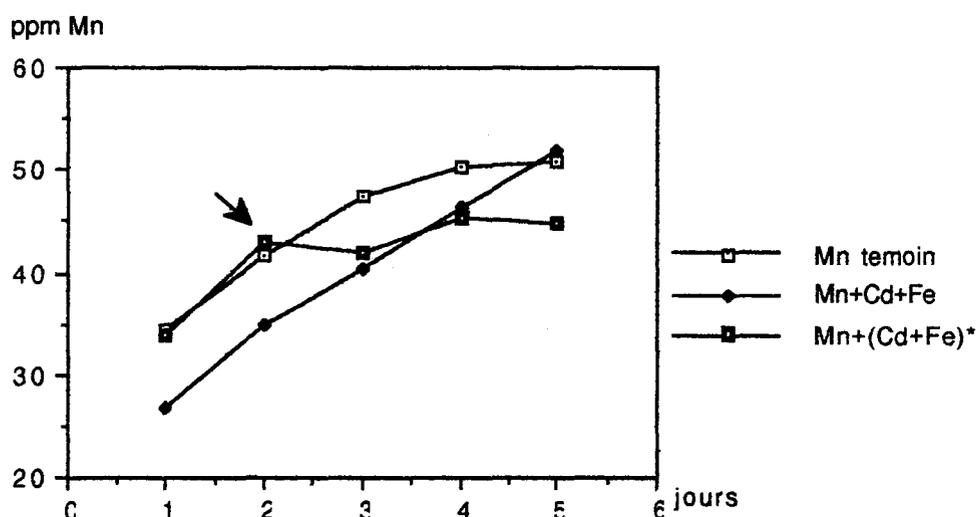


La courbe témoin montre que le manganèse s'accumule de manière linéaire dans l'animal durant les trois premiers jours. Après trois jours, la concentration en manganèse dans l'animal tend vers une valeur constante.

L'adjonction de zinc dès le début de l'expérience donne une courbe de type linéaire avec une cinétique d'accumulation bien inférieure à la courbe précédente.

Lorsque l'on ajoute le zinc au deuxième jour, on observe une brusque rupture de pente qui montre bien l'effet inhibiteur du zinc sur l'accumulation du manganèse.

**Figure 23** : Effet du couple cadmium-fer sur l'accumulation du manganèse par *Nereis diversicolor*  
\*: cadmium et fer ajoutés au 2<sup>e</sup> jour



En présence de fer et de cadmium, la cinétique d'accumulation du manganèse est supérieure à celle de la courbe témoin. L'adjonction de ces deux métaux en cours d'expérience entraîne une nette diminution de cette cinétique.

## 1.2 Variation des teneurs en fer dans l'animal

**Tableau 38** : Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $S_k^2=12339,9$

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot S_k^2}$	$F_c$
Mn Zn	919,9	846252,8	1,07	<4,02
Fe Cd	896,4	803,533,0	1,02	<4,02
Fe Mn	801,1	641761,2	0,81	<4,02

La variabilité des teneurs en fer est telle qu'aucun effet de premier ordre n'apparaît significatif.

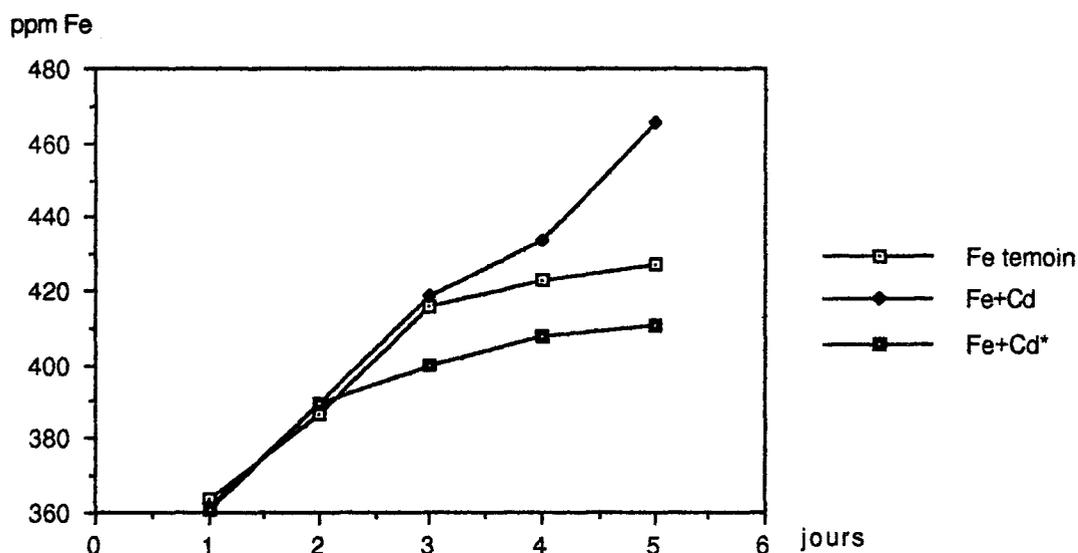
L'équation du modèle se limite au terme constant:

$$\hat{y}=405,14$$

Dans des conditions d'expérimentation classiques, nous avons néanmoins montré que le cadmium intervenait dans la bioaccumulation du fer. Si l'on observe les cinétiques d'accumulation du fer par *Nereis diversicolor* en présence et en absence de cadmium (fig.24), on observe un effet synergique. Cette interaction présente un contraste positif, mais n'est pas validée par le test.

**Figure 24 :** Effets du cadmium sur l'accumulation du fer par *Nereis diversicolor*

\* : cadmium ajouté au 2<sup>e</sup> jour



La présence du fer et du cadmium dès le début de l'expérience favorise bien la pénétration du fer dans l'animal. Si le cadmium est ajouté au deuxième jour de l'expérience, l'animal réagit différemment, et la courbe passe alors sous la courbe témoin.

### 1.3 Variation des teneurs en cadmium dans l'animal

**Tableau 39 :** Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec).  
 $Sk^2=334,59$

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot Sk^2}$	$F_c$
Cd	655,0	429025,0	20,02	>4,02
Niveau de coupure (seuil 0,05)				
Zn	73,7	5431,7	0,25	<4,02

Hormis l'effet associé au cadmium en solution, aucun autre effet ne peut être statistiquement mis en évidence. Il semble que le passage du cadmium dans l'animal soit relativement indépendant de la présence des autres métaux dans le milieu.

Le modèle est de la forme:

$$\hat{y} = 33,73 + 10,23 \cdot \text{Cd}$$

Le développement du polynôme conduit au modèle :

$$\hat{y} = 3,04 + 1,637 \cdot \text{Cd}$$

### 1.4 Variation des teneurs en zinc dans l'animal

**Tableau 40 :** Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $Sk^2=5258,21$ .

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot Sk^2}$	$F_c$
Zn	898,1	806583,6	2,40	<4,02
Fe Zn	-584,9	342108,0	01,02	<4,02
Cd Mn	511,6	261734,6	0,78	<4,02

Comme dans l'étude précédente, même l'effet du zinc en solution n'est pas validé par le test. Il semble que la biodisponibilité de ce métal soit relativement indépendante de la présence des autres métaux.

Le modèle se limite au terme constant:  $\hat{y} = 215,5$

## 2 Concentrations métalliques en proportions molaires identiques

Durant toutes ces expériences, les animaux sont maintenus dans des solutions à concentrations métalliques bien déterminées. Il est possible que les rapports de concentration métallique puissent jouer un rôle sur l'effet observé.

Afin de s'affranchir de cette source de variabilité, nous avons repris l'ensemble de l'expérience précédente en ajustant les concentrations des différents métaux sur une concentration molaire unique. Parmi les quatre métaux étudiés, le cadmium présente la toxicité la plus élevée. Afin de pouvoir comparer les effets de la variation des rapports de concentration des métaux sur la pénétration du cadmium chez l'animal, nous avons choisi de ne pas changer les concentrations de cadmium en solution, et d'ajuster la concentration molaire des autres métaux.

Tableau 41 : Concentrations molaires retenues

niveau -	$1,12 \cdot 10^{-4}$ moles./l
niveau +	$2,24 \cdot 10^{-4}$ moles/l

Tableau 42 : Equivalent en mg/l

	Fe	Cd	Mn	Zn
niveau -	6,21	12,50	6,11	7,25
niveau +	12,42	25,00	12,22	14,50

**Tableau 43 :** Niveaux de concentrations métalliques dans les témoins  
(chaque témoin représente 20 animaux)

mg/l	Fe	Cd	Mn	Zn
témoin 1	336,89	3,464	6,928	141,05
témoin 2	365,70	4,759	7,56	143,20
témoin 3	290,14	3,664	7,03	111,92
moyenne	330,09	3,96	7,17	132,06
ecart-type	38,13	0,70	0,34	17,47

## 2.1 Variation des teneurs en manganèse dans l'animal

**Tableau 44 :** Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $S_k^2=9,6$ .

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot S_k^2}$	$F_c$
Mn	601,5	361802,2	785,58	>4,17
Fe Mn	89,5	8010,2	17,41	>4,17
Cd Mn	83,1	6905,6	14,99	>4,17
Fe Cd	77,57	6017,1	13,06	>4,17
Cd Zn	59,9	3588,0	7,80	>4,17
Fe Zn	57,3	3283,3	7,12	>4,17
niveau de coupure (seuil 0,05)				
Fe	37,9	1436,41	3,12	<4,17

L'effet du zinc n'est plus détectable. Les deux autres effets mis en évidence dans l'expérience précédente (Mn et Fe/Cd) sont toujours présents, mais leur ampleur est beaucoup moins importante. De nouveaux effets de second ordre apparaissent, validés par l'analyse de régression. Toutes ces interactions favorisent la pénétration du manganèse dans

l'animal. On notera la présence d'interactions de troisième et quatrième ordre qui sont reportées dans le modèle.

Modèle calculé:

$$\hat{y} = 41,5 + 12,5\text{Mn} + 1,9\text{Fe} \cdot \text{Mn} + 1,7\text{Cd} \cdot \text{Mn} + 1,6\text{Fe} \cdot \text{Cd} + 1,2\text{Cd} \cdot \text{Zn} + 1,2\text{Fe} \cdot \text{Zn} + (1,22\text{Fe} \cdot \text{Cd} \cdot \text{Mn} + 2,04\text{Fe} \cdot \text{Cd} \cdot \text{Zn} + 1,28\text{Fe} \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn} + 1,77\text{Fe} \cdot \text{Cd} \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn})$$

Le développement du polynôme conduit au modèle :

$$\hat{y} = 74,0555 - 7,73 \cdot \text{Mn} - 6,9336 \cdot \text{Zn} - 5,1982 \cdot \text{Fe} - 4,091 \cdot \text{Cd} + 1,092 \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn} + 1,0895 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Mn} + 0,732 \cdot \text{Cd} \cdot \text{Mn} + 0,6379 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Zn} + 0,4860 \cdot \text{Cd} \cdot \text{Zn} + 0,3173 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Cd} - 0,1173 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn} + 0,082 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Cd} \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn} - 0,0768 \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn} \cdot \text{Cd} - 0,0465 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Cd} \cdot \text{Zn}$$

On notera que le retour aux variables initiales a entraîné un changement de signe de la variable principale, ce qui illustre bien les perturbations apportées par cette transformation. Les résultats numériques sur y sont évidemment inchangés.

Les figures 25 à 29 illustrent les principaux effets qui participent à la construction du modèle.

Figure 25 : Effet du manganèse en présence de fer

Réponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$

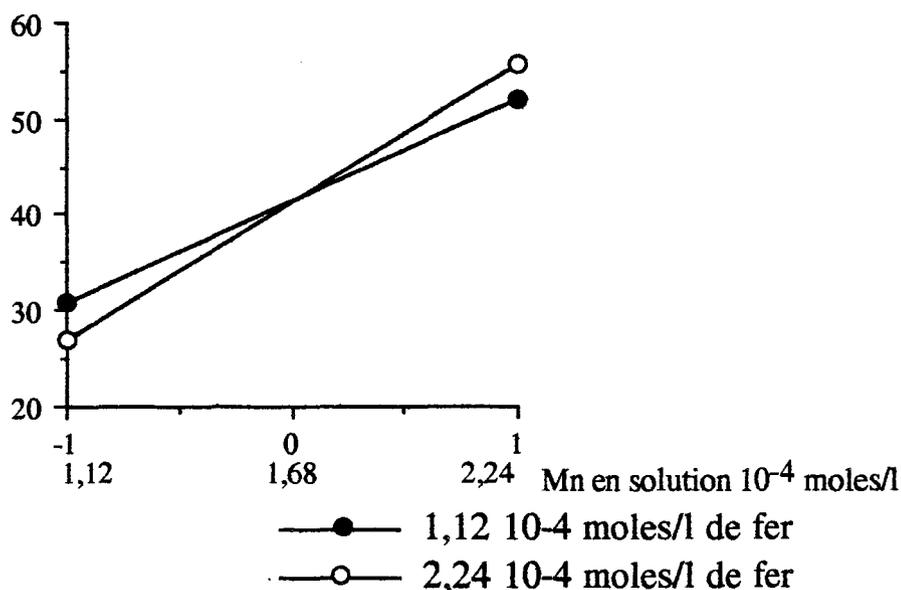
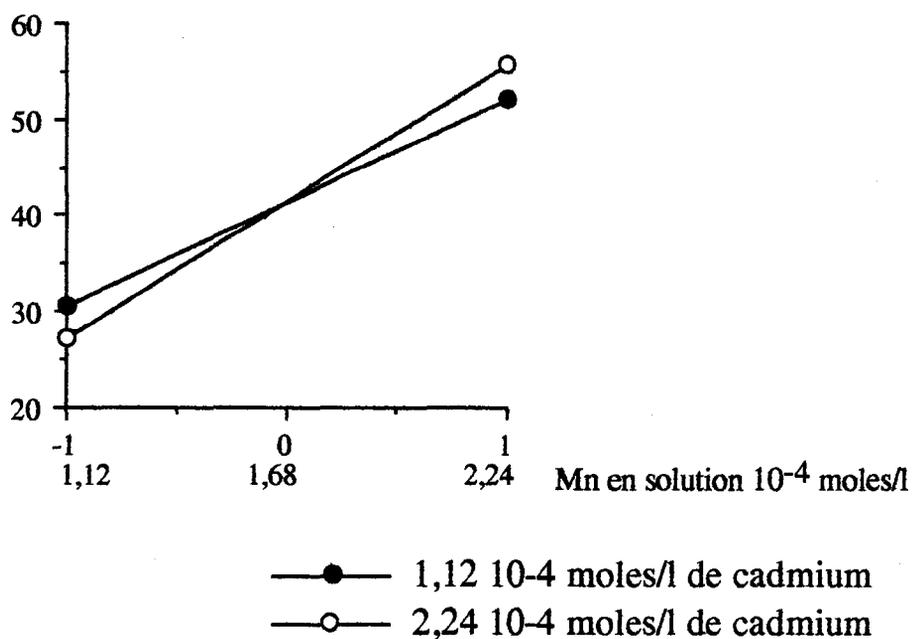


Figure 26 : Effet du manganèse en présence de cadmium.

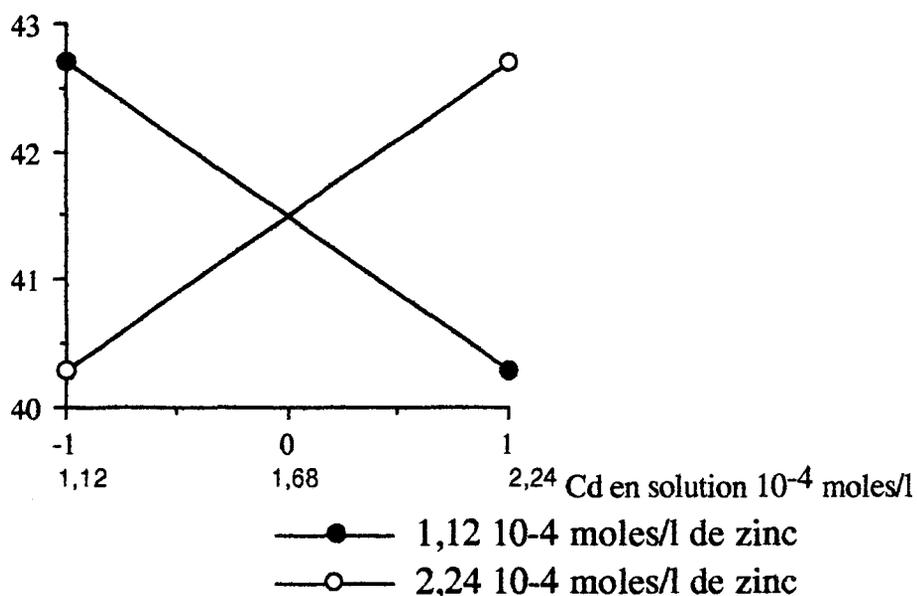
Réponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$



Les figures 25 et 26 illustrent nettement d'une part les interactions synergiques entre le fer et le manganèse, et d'autre part celles entre le cadmium et le manganèse.

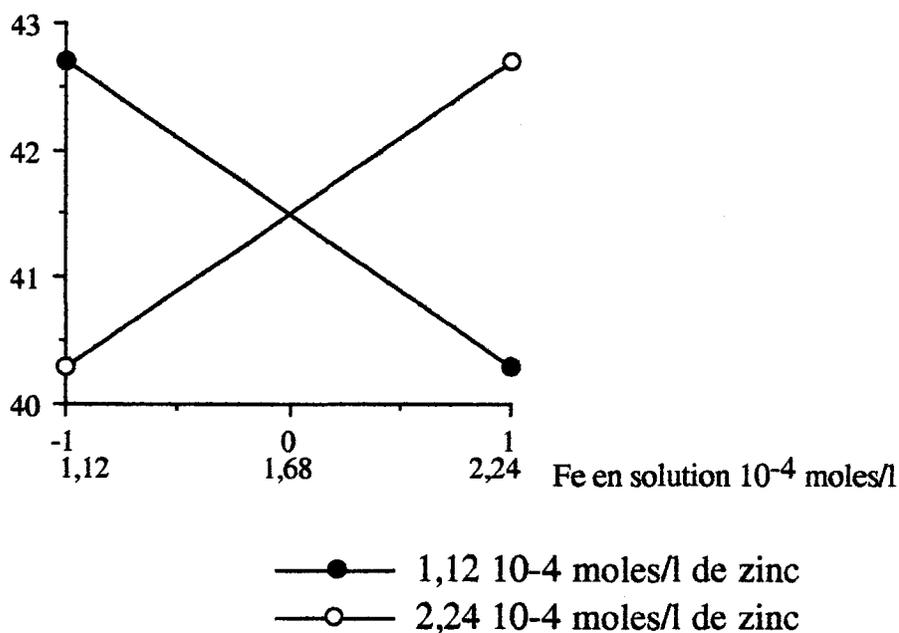
Figure 27 : Illustration de l'interaction du cadmium et du zinc

Réponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$



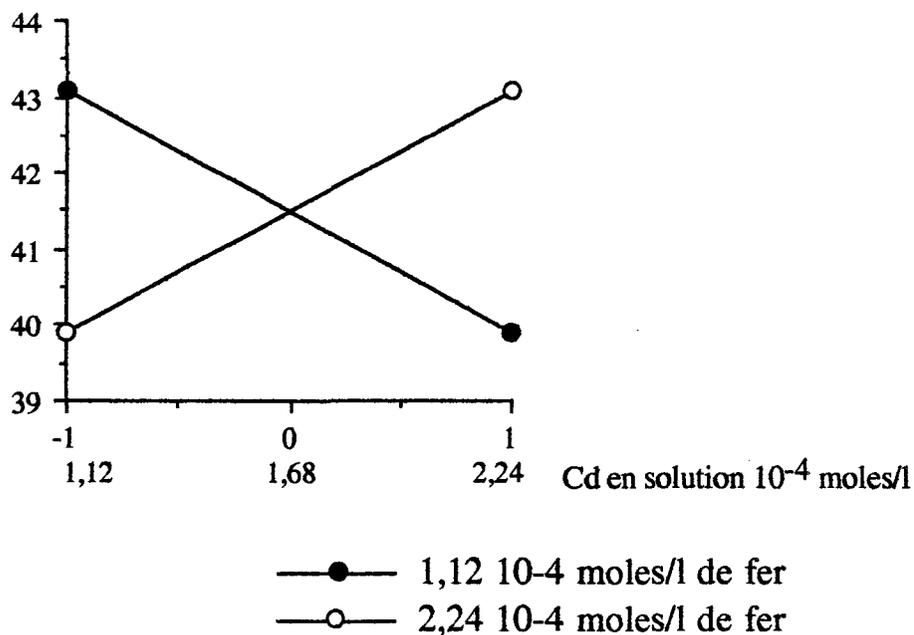
**Figure 28** : Illustration de l'interaction du fer et du zinc

Réponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$



**Figure 29** : Illustration de l'interaction du cadmium et du fer

Réponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$



Dans toutes ces représentations, on observe une variation de la pente qui illustre les effets interactifs.

## 2.2 Variation des teneurs en fer dans l'animal

**Tableau 45 :** Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $S_k^2=1999,71$ .

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot S_k^2}$	$F_c$
Fe Zn	-682,2	465396,8	4,85	>4,17
niveau de coupure (seuil 0,05)				
Fe	606,1	367357,2	3,83	<4,17

Le fer pose toujours les mêmes problèmes de variabilité importante. L'écart-type sur les effets est élevé et seule une interaction de deuxième ordre apparaît. L'effet observé va dans le même sens que dans l'expérience précédente, c'est-à-dire une diminution du transfert du fer du milieu vers l'animal.

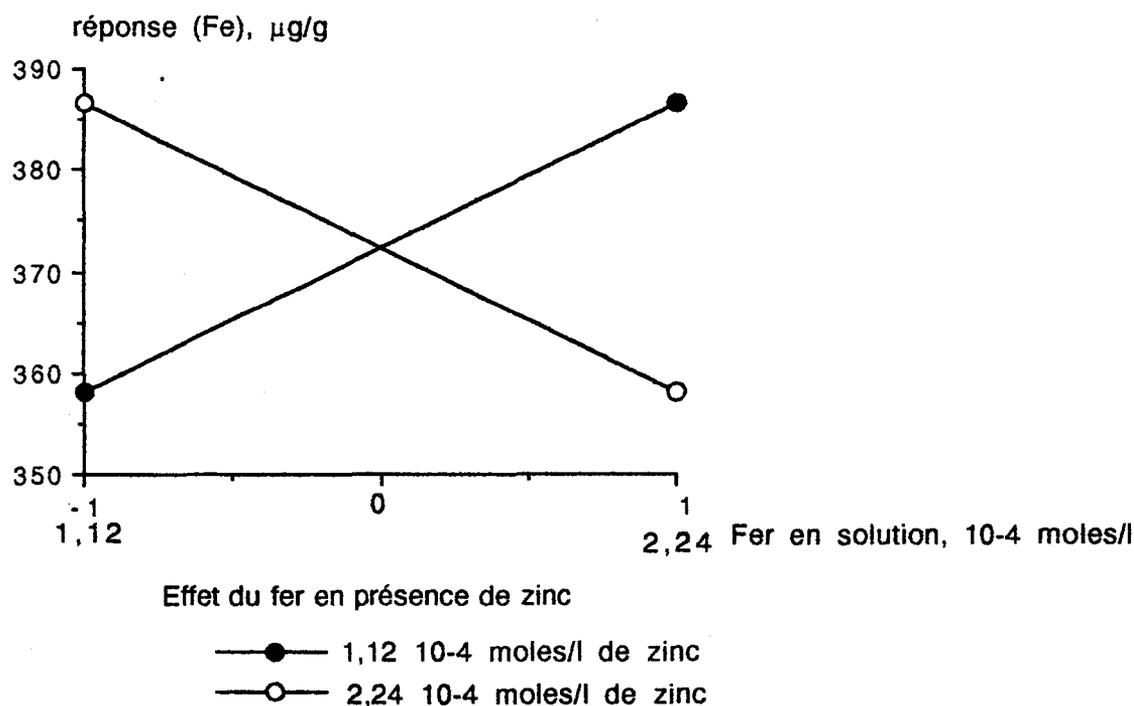
$$\hat{y} = 372,29 - 14,21 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Zn}$$

L'interaction fer zinc s'observe nettement sur la figure 30

Le développement du polynôme conduit au modèle :

$$\hat{y} = 244,40 + 13,73 \cdot \text{Fe} + 11,76 \cdot \text{Zn} - 1,26 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Zn}$$

**Figure 30 :** Effet du fer en présence de zinc.



### 2.3 Variation des teneurs en cadmium dans l'animal



**Tableau 46 :** Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $Sk^2=130.62$ .

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot Sk^2}$	Fc
Cd	1073,4	1152188	183,77	>4,17
Niveau de coupure (seuil 0,05)				
Mn	159,4	25409,4	4,05	<4,17
Mn Zn	-125,5	15750,2	2,51	<4,17

La dispersion des réponses est beaucoup plus faible que précédemment, seul l'effet du cadmium est statistiquement validé. On notera néanmoins que le contraste de la variable manganèse est assez élevé.

Le modèle s'écrit:

$$\hat{y} = 65,70 + 22,36Cd$$

Le développement du polynôme conduit au modèle :

$$\hat{y} = -1,38 + 3,578 Cd$$

### 2.4 Variation des teneurs en zinc dans l'animal

**Tableau 47 :** Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $Sk^2=615,00$ .

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot Sk^2}$	Fc
Zn	927,3	859885,3	29,13	>4,17
Niveau de coupure (seuil 0,05)				
Cd Zn	233,8	54662,4	1,85	<4,17

Deux effets de troisième et quatrième ordre de faible amplitude validés par l'analyse de régression participent à la construction du modèle

$$\hat{y} = 237,75 + 19,32Zn$$

$$(+7,46Cd.Mn.Zn + 7,74Fe.Cd.Mn.Zn)$$

Le développement du polynôme conduit au modèle :

$$\begin{aligned} \hat{y} = & 606,309 - 67,267Fe - 46,429Mn - 33,798Zn - 22,693Cd \\ & + 8,499Mn.Zn + 7,345Fe.Mn + 6,189FeZn + 4,82CdMn \\ & + 4,062CdZn + 3,589FeCd - 0,655FeMnZn - 0,3916FeCdMn \\ & - 0,33FeCdZn - 0,227CdMnZn + 0,036FeCdMnZn \end{aligned}$$

## 2.5 Distribution des métaux dans les phases solubles et précipitées.

Comme nous travaillons à la limite des seuils de solubilité des métaux, il nous a semblé judicieux d'effectuer une étude sur la concentration effective des métaux en phases solubles et précipitées. L'objectif premier est de quantifier le métal précipité susceptible d'être ingéré directement par l'animal.

L'expérience est menée comme précédemment, la seule différence étant l'absence des animaux dans les solutions. Après trois jours, des prélèvements d'eau sont effectués dans la phase soluble des seize essais (le prélèvement est effectué à la pipette approximativement à un centimètre sous la surface du liquide).

Le tableau 48 rassemble la somme arithmétique des concentrations trouvées respectivement dans les huit solutions situées au niveau bas du métal considéré et celles situées au niveau haut. Ceci peut alors être comparé aux sommes théoriques correspondant aux quantités de métal effectivement mises dans la solution. Le facteur multiplicatif théorique entre les niveaux haut et bas est de deux pour les quatre métaux étudiés.

**Tableau 48 :** Répartition des métaux dans les phases solubles et précipitées. (Concentrations exprimées en mg / l)

		Fe	Cd	Mn	Zn
OBSERVE	$\Sigma(-)$	2,375	107,98	38,02	38,68
OBSERVE	$\Sigma(+)$	2,702	200,08	82,14	78,93
	Facteur multiplicatif	1,137	1,853	2,16	2,04
THEORIQUE	$\Sigma(-)$	128,61	100	48,88	58
THEORIQUE	$\Sigma(+)$	257,22	200	97,76	116
	Facteur multiplicatif	2	2	2	2
% de perte (précipitation, adsorption,...)	(-)	98,15%	#0%	22,21%	33,30%
	(+)	98,95%	#0%	15,98%	31,95%

Le facteur multiplicatif reste très proche de la valeur théorique pour le cadmium, le zinc et le manganèse. Pour le cadmium, la totalité du métal reste dans la phase soluble ; pour le zinc et le manganèse, 70 à 80% du métal reste également dans cette phase. Le fer se comporte différemment, plus de 98% du fer précipite ou se fixe sur les supports solides présents: paroi du récipient et papier filtre. Il y a peu de différence entre les niveaux haut et bas, le facteur multiplicatif est proche de 1. L'écart entre les deux niveaux est très faible et ne permet pas d'observer des effets significatifs pour des combinaisons incluant le fer. Suite à ces résultats, les analyses relatives au fer seront abandonnées dans la suite des expériences.

### 3 Interactions cadmium, zinc, manganèse et salinité

Les expériences précédentes nous ont permis de souligner que le transfert d'éléments métalliques entre le milieu et l'animal peut être influencé dans un sens ou dans un autre par d'autres métaux présents également en solution. D'autres facteurs abiotiques peuvent également influencer ce transfert.

L'ensemble des expériences menées jusqu'à présent a été effectué dans de l'eau de mer de salinité proche de 33‰. En milieu estuarien, l'animal est soumis à des variations importantes de salinité. En période de basse mer, les animaux sur nos lieux de récolte sont en contact avec une eau dont la salinité est diminuée de moitié par rapport à l'eau de mer. Ce paramètre important oblige l'animal à s'équilibrer par rapport au milieu, et ce faisant, les transferts ioniques s'en trouvent modifiés.

Dans cette expérience, nous avons remplacé la variable fer par une variable salinité. Le niveau haut correspond à une eau de mer naturelle identique à celle employée dans les expériences précédentes, le niveau bas correspond à cette même eau diluée à 50% avec une eau bi-distillée. Cette diminution de la salinité va de pair avec une diminution en proportion identique des éléments du milieu (particules, colloïdes et minéraux).

Les concentrations métalliques retenues sont les mêmes que celle employées dans l'expérience précédente.

Afin de faciliter la lecture du modèle obtenu après développement du polynôme, la variable salinité n'est pas transformée.

### 3.1 Variation des teneurs en manganèse dans l'animal

**Tableau 49 :** Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $S_k^2=51,78$ .

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot S_k^2}$	$F_c$
Mn	326,3	106471,7	64,25	>4,54
salinité	-249,8	62,400,0	37,66	>4,54
Cd	-97,1	9428,4	5,69	>4,54
Niveau de coupure (seuil 0,05)				
Mn sal.	-69,5	4830,2	2,92	<4,54

On retrouve les mêmes effets que dans les deux expériences précédentes. L'effet du manganèse et l'effet du cadmium qui influencent la pénétration du manganèse dans l'animal. Ce sont cette fois ci des effets

directs. Les autres effets et interactions n'apparaissent plus. Il faut souligner que la proportion de cadmium par rapport aux autres métaux est supérieure à celle de la première expérience et que l'absence de fer dans cette expérience diminue la pression ionique du milieu.

$$\hat{y} = 42,38 + 10,19.Mn - 7,81. \text{sal.} - 3,05.Cd$$

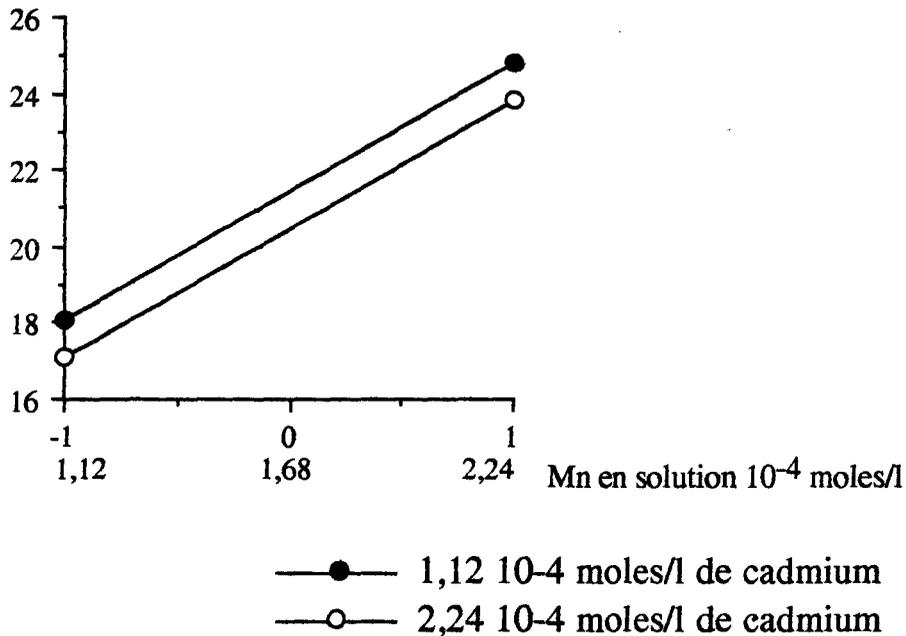
Le développement du polynôme conduit au modèle :

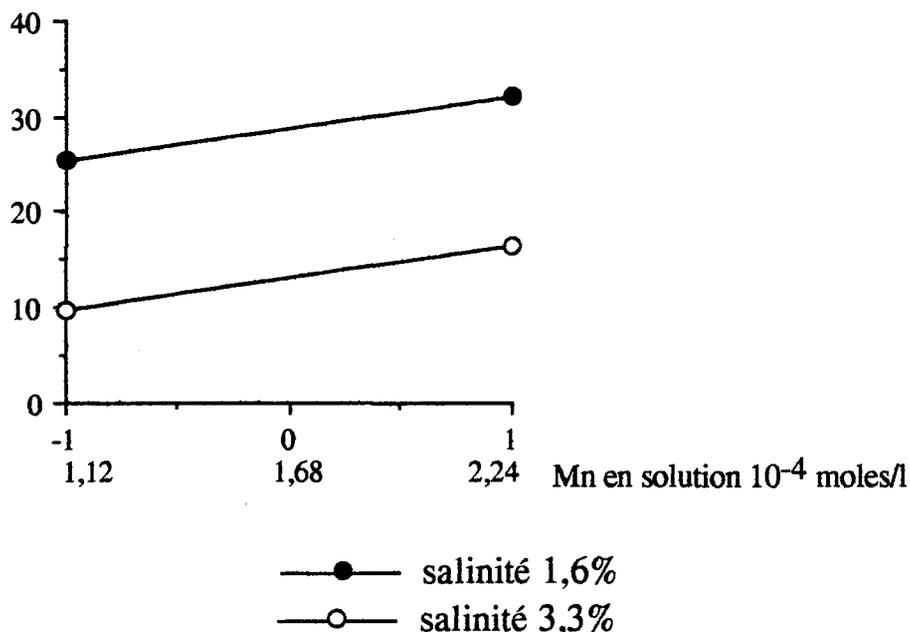
$$\hat{y} = 20,96 + 3,335.Mn - 0,488.Cd - 7,81. \text{sal.}$$

Nous avons illustré les effets principaux, cadmium et salinité par les figure 31 et 32

Figure 31 : Effet du manganèse en présence de cadmium

Réponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$



**Figure 32** : Effet du manganèse sous l'effet d'une variation de la salinitéRéponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$ 

Les figures 31 et 32 soulignent l'absence d'interaction entre cadmium, manganèse et salinité (l'effet reste le même au niveau bas et au niveau haut du manganèse).

L'effet de l'augmentation de salinité est important, c'est un effet direct du même ordre de grandeur que l'effet associé au doublement de la concentration en manganèse dans le milieu.

### 3.2 Variation des teneurs en zinc dans l'animal

**Tableau 50** : Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $S_k^2=3179,73$ .

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot S_k^2}$	$F_c$
Cd	-645,8	417057,6	4,10	<4,54
Zn	478,2	228675,2	2,25	<4,54
salinité	-277,4	76950,8	0,75	<4,54

Aucun effet n'est validé par l'analyse de régression. Le modèle se limite au terme constant:  $\hat{y}= 216,58$ .

Une fois encore, aucun métal n'agit de façon nette sur la bioaccumulation du zinc. Même un doublement de la salinité du milieu ne permet pas d'observer un effet validé par l'analyse.

*Nereis diversicolor*, de part sa localisation géographique, est régulièrement soumise à des variations de salinité importantes. Lors d'une diminution de 50% de la salinité, elle est capable de réguler son volume en moins de 24. D'autre part, le zinc est un élément essentiel présent en grande quantité dans son milieu naturel. Le fait que la variation de salinité ne semble pas influencer la bioaccumulation du zinc, alors qu'elle diminue fortement celle des autres métaux, pourrait s'expliquer par une indépendance des voies de pénétration du zinc vis-à-vis de celles des autres métaux.

### 3.3 Variation des teneurs en cadmium dans l'animal

**Tableau 51 :** Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $S_k^2=912,47$ .

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot S_k^2}$	$F_c$
Cd	649,6	421980,2	14,45	>4,54
salinité	-564,6	318773,2	10,92	>4,54
Niveau de coupure (seuil 0,05)				
Cd sal.	-203,6	41453,0	1,42	<4,54

L'écart-type sur les effets est ici relativement important, on n'observe aucune nouveauté par rapport aux expériences précédentes.

L'effet de la salinité reste très important par rapport à l'effet du cadmium lui même. Ces deux paramètres sont repris dans le modèle calculé:

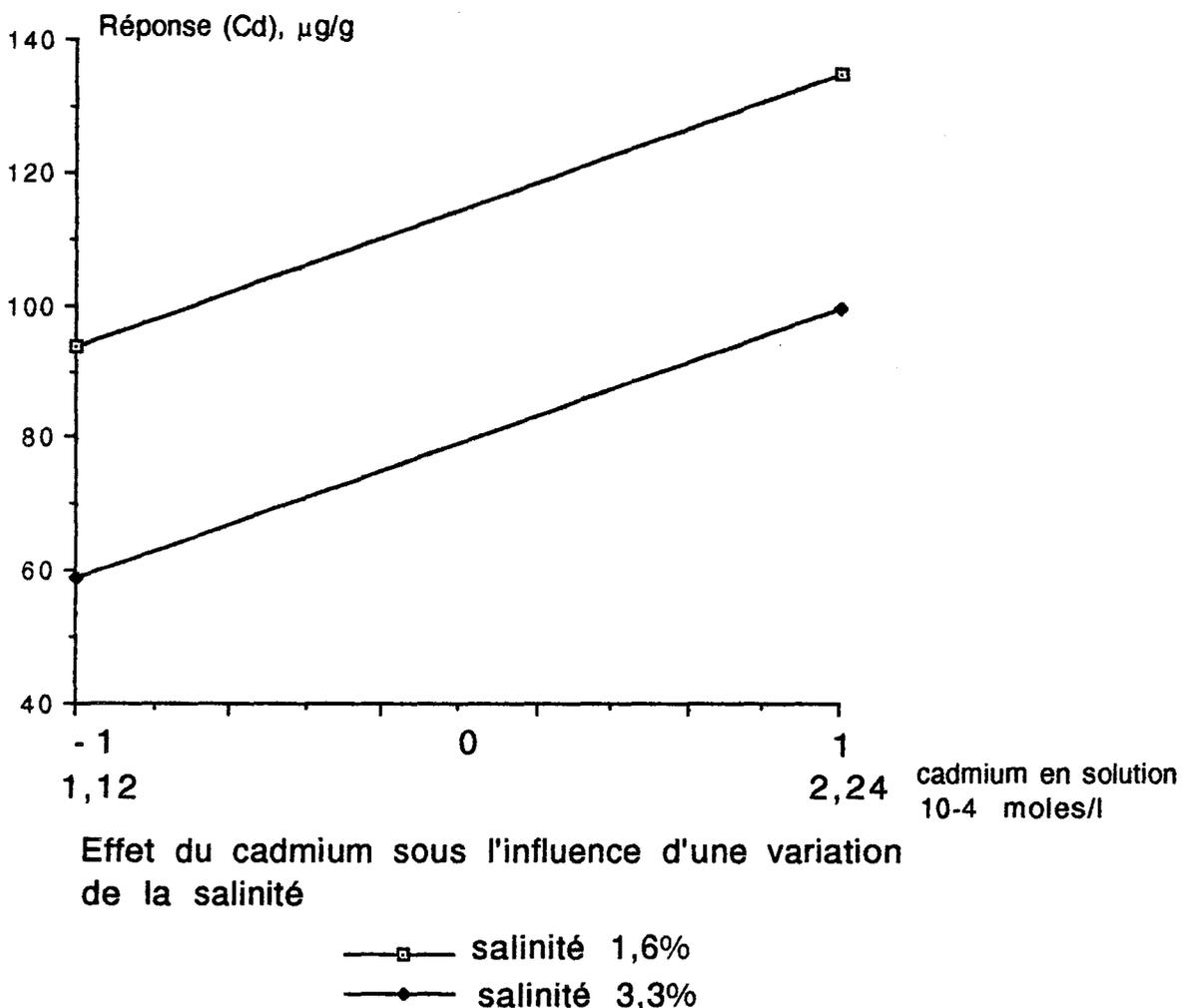
$$\hat{y} = 96,65 + 20,3.Cd - 17,64.sal.$$

Le développement du polynôme conduit au modèle :

$$\hat{y} = 90,56 + 3,24.Cd - 17,64.sal.$$

Comme dans les précédentes expériences, les différents métaux en solution n'influencent pas la bioaccumulation du cadmium par l'animal. La figure 33 illustre l'effet de la variation de salinité

**Figure 33** : Effet du cadmium sous l'influence d'une variation de la salinité.



L'effet du cadmium en solution est quasiment neutralisé par l'augmentation de la salinité qui réduit considérablement la pénétration du cadmium dans l'animal.

#### **4 Teneurs métalliques dans les différentes parties de l'animal**

Le transfert des métaux dans l'animal peut se faire selon plusieurs voies : par le tégument, diffusion ou processus actifs, ou par l'intestin (Ray, 1984 ; Depledge et al., 1990 ; Septier et al., 1991).

Sous certaines conditions (concentrations de métaux dans le milieu, stress,..), une voie de pénétration peut être favorisée par rapport à une autre. On peut supposer une certaine dépendance des phénomènes de synergie et d'antagonisme entre les métaux, vis-à-vis du mode de transfert.

Grossièrement, l'animal peut être scindé en trois parties:

- Une partie antérieure qui englobe la tête et les deux premiers métamères. C'est une voie de pénétration possible des métaux vers le milieu intérieur.
  
- Une partie moyenne qui recouvre une grande surface d'échange tant par la cuticule externe que par l'intestin.
  
- Une partie postérieure

Dans les expériences qui vont suivre, nous avons dans un premier temps cherché à mettre en évidence les différences de concentration métallique dans ces différentes parties suite à des expositions correspondant à un plan d'expérience 2<sup>4</sup> avec les variables fer, cadmium, manganèse et zinc.

Dans un second temps, le plan d'expérience sera analysé comme précédemment.

A la fin de l'expérience, les vers sont congelés, lyophilisés puis séparés en trois parties afin d'être minéralisés séparément. Nous avons donc un

tableau à double entrée qui peut être analysé par analyse de variance (ANOVA).

**Tableau 52 :** Teneurs métalliques dans les différentes parties des animaux témoins ( $\mu\text{g/g}$  poids sec.)

		Fe	Cd	Mn	Zn
<b>P A R T I E</b>	Antérieure	513,48	21,74	5,65	570,00
	Moyenne	325,90	11,57	4,48	143,77
	Postérieure	394,71	10,24	5,80	169,96

#### 4.1 Comparaison des concentrations métalliques

L'ensemble des résultats de cette partie est exprimé en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec. Il faut garder à l'esprit le fait que les rapports de poids entre les différentes parties sont très différents ; il sera nécessaire de se rapporter à ces poids moyens pour raisonner en quantité de métal.

##### - Poids moyen sec (32 échantillons)

- Partie antérieure :17,99 mg
- Partie moyenne :163,94 mg
- Partie postérieure :144,51 mg

#### 4.1.1 Analyse des données relatives au manganèse

**Tableau 53 :** Teneurs moyennes en manganèse dans les différentes parties de l'animal sur les seize essais réalisés (unités:  $\mu\text{g/g}$  poids sec)

Chaque valeur représente la moyenne des deux répétitions effectuées pour chaque essai.

C: Partie antérieure      D: Partie moyenne      E: Partie postérieure

	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>
<b>1</b>	15,94	31,34	41,38
<b>2</b>	13,47	24,18	31,56
<b>3</b>	16,29	26,51	29,75
<b>4</b>	15,76	26,96	33,68
<b>5</b>	26,25	50,52	66,93
<b>6</b>	30,68	52,15	67,03
<b>7</b>	14,12	48,78	55,88
<b>8</b>	35,95	42,57	55,26
<b>9</b>	28,85	30,96	36,13
<b>10</b>	13,07	27,96	35,67
<b>11</b>	20,83	23,46	32,92
<b>12</b>	31,93	23,76	36,38
<b>13</b>	28,20	53,13	66,25
<b>14</b>	38,91	46,77	47,09
<b>15</b>	26,05	48,56	57,57
<b>16</b>	44,72	65,25	70,67

Le tableau semble montrer des différences assez importantes dans les concentrations relevées, et notamment entre les trois colonnes C, D et E. L'analyse de la variance effectuée une analyse globale du tableau par comparaisons des variances inter-lignes et inter-colonnes avec la variance expérimentale ou résiduelle qui représente l'erreur.

**Tableau 54 :** Analyse de la variance

	$\Sigma^2$	d.d.l.	variances	test F
Variation totale	11628,209	47		$F1 = \frac{s^2_c}{s^2_r} = 44,503$
Y. intercolonne	4188,318	2	$\frac{s^2_c}{s^2_l}$ 2094,159	$P = 0,0001$
Y. interligne	6028,199	15	401,88	
Y. résiduelle	1411,692	30	$\frac{s^2_l}{s^2_r}$ 47,056	$\frac{s^2_l}{s^2_r} = 8,5405$ $p = 0,0237$

Les variances inter-colonnes et résiduelles sont significativement différentes. La répartition du manganèse dans l'animal n'est donc pas homogène. On observe également une variation inter-essais significative.

**Tableau 55 :** Caractéristiques des groupes

groupe	Moyenne	Ecart type
C	25,064	9,881
D	38,929	13,401
E	47,759	14,79

**Tableau 56:** Comparaisons de moyennes (test F)

Comparaisons	Diff. moyenne
C-D	-13,865 *
C-E	-22,696 *
D-E	-8,831 *

\* : significatif à 5 %

Toutes les comparaisons sont significatives au seuil de 5%. Le métal est réparti dans l'animal suivant un gradient allant de la tête à l'extrémité postérieure.

#### 4.1.2 Analyse des données relatives au cadmium

**Tableau 57 :** Teneurs moyennes en cadmium dans les différentes parties de l'animal sur les seize essais réalisés (unités:  $\mu\text{g/g}$  poids sec)

C: Partie antérieure      D: Partie moyenne      E: Partie postérieure

Essais	C	D	E
1	86,96	42,44	45,54
2	61,22	36,19	41,92
3	79,87	79,42	86,78
4	99,10	73,46	99,66
5	57,91	38,16	48,12
6	102,27	55,02	72,86
7	115,38	74,13	83,34
8	130,72	69,84	95,03
9	100,96	43,67	76,02
10	78,43	42,45	68,47
11	156,25	77,44	96,42
12	120,48	99,45	110,89
13	71,79	47,52	66,07
14	67,87	41,61	48,93
15	126,05	125,64	155,92
16	120,60	80,09	89,66

**Tableau 58 :** Analyse de la variance

	$\Sigma^2$	d.d.l.	variances	test F
Variation totale	43779,592	47	$\frac{2}{S.C.}$	$F1 = \frac{2}{S.C.} / \frac{2}{S.R.} = 28,9$
V. intercolonne	9440,202	2	$\frac{2}{S.L.}$	$P = 0,0001$
V. interligne	29440,164	15	$\frac{2}{S.R.}$	$\frac{2}{S.L.} / \frac{2}{S.R.} = 12,0183$
V. résiduelle	4899,225	30	163,308	$P = 0,0002$

Comme pour le manganèse, les variances inter-groupes et inter-essais sont significativement différentes de la variance résiduelle. Les variations observées dans le tableau des données ne sont pas l'effet du hasard, mais reflètent de réelles différences de concentration dans les diverses parties de l'animal.

Tableau 59 : Caractéristiques des groupes

groupe	Moyenne	Ecart type
C	98,491	28,262
D	64,158	25,294
E	80,352	29,168

Tableau 60 : Comparaisons de moyennes ( test F)

Comparaisons	Diff. moyenne
C-D	34,333 *
C-E	18,139 *
D-E	-16,194 *

\* : significatif à 5 %

Les comparaisons de moyennes entre les groupes sont toutes significatives. Le cadmium est donc plus concentré dans les parties extrêmes de l'animal avec une prédominance dans la partie antérieure.

### 4.1.3 Analyse des données relatives au zinc

**Tableau 61:** Teneurs moyennes en zinc dans les différentes parties de l'animal sur les seize essais réalisés (unités:  $\mu\text{g/g}$  poids sec)

C: Partie antérieure      D: Partie moyenne      E: Partie postérieure

Essais	C	D	E
1	1002,17	211,53	242,03
2	589,00	201,76	237,72
3	509,58	198,76	228,20
4	815,76	194,99	261,28
5	742,86	196,36	252,27
6	1395,45	290,91	414,20
7	1063,46	208,15	276,63
8	883,66	188,91	261,70
9	873,08	280,35	297,82
10	905,88	293,13	324,04
11	1371,87	270,59	350,12
12	842,17	343,65	343,58
13	802,56	301,94	376,04
14	742,53	235,51	311,19
15	965,55	434,63	403,60
16	793,97	267,61	288,82

**Tableau 62 :** Analyse de la variance

	$\Sigma^2$	d.d.l.	variances	test F
Variation totale	4984169,42	47		$F1 = \frac{s^2_c}{s^2_r} = 126,837$
V. intercolonne	4023791,97	2	$\frac{s^2_c}{s^2_l}$ 2011895,986	P = 0,0001
V. interligne	484514,278	15	$\frac{s^2_l}{s^2_r}$ 32300,952	
V. résiduelle	475863,172	30	$\frac{s^2_r}{s^2_l}$ 15862,106	$\frac{s^2_l}{s^2_r} = 2,0364$ P = 0,998

La variance inter-groupes est significativement différente de la variance résiduelle.

Tableau 63 : Caractéristiques des groupes

groupe	Moyenne	Ecart type
C	893,722	236,615
D	257,424	67,277
E	304,328	59,266

Tableau 64: Comparaisons de moyennes ( test F)

Comparaisons	Diff. moyenne
C-D	636,298 *
C-E	589,394 *
D-E	-46,904

\* : significatif à 5 %

Les moyennes des différences sont significatives entre les groupes C-D et C-E. L'écart moyen de 46,9  $\mu\text{g/g}$  entre la partie moyenne et la partie postérieure de l'animal n'est pas significatif au seuil de 5%. On peut néanmoins conclure à une concentration de zinc nettement supérieure dans la partie antérieure de l'animal, plus de trois fois supérieure à celles rencontrées dans le reste du corps.

#### 4.1.4 Analyse des données relatives au fer

**Tableau 65 :** Teneurs moyennes en fer dans les différentes parties de l'animal sur les seize essais réalisés (unités:  $\mu\text{g/g}$  poids sec)

C: Partie antérieure      D: Partie moyenne      E: Partie postérieure

Essai	C	D	E
1	719,56	382,81	458,68
2	702,86	413,24	448,16
3	535,14	364,93	376,55
4	662,16	369,95	416,15
5	683,78	386,46	524,23
6	819,32	420,81	559,93
7	815,38	148,26	994,44
8	749,02	343,24	417,25
9	715,86	472,88	453,71
10	749,67	438,45	500,32
11	963,54	338,16	600,33
12	640,96	461,69	194,55
13	703,59	414,54	530,53
14	626,70	427,19	465,93
15	753,78	439,05	556,52
16	640,20	371,14	531,96

**Tableau 66 :** Analyse de la variance

	$\Sigma^2$	d.d.l.	variances	test F
Variation totale	1521815,808	47		$F1 = \frac{s^2_c}{s^2_r} = 30,526$
V. intercolonne	901310,257	2	$\frac{s^2_c}{s^2_l}$ 450655,128	$p = 0,0001$
V. interligne	177616,389	15	$\frac{s^2_l}{s^2_r}$ 11841,093	$\frac{s^2_l}{s^2_r} = 0,8021$
V. résiduelle	442889,162	30	14762,972	$p = 0,9941$

Les différences inter-groupes sont validées par l'analyse de la variance. La variation inter-essais n'est pas significative.

Tableau 67 : Caractéristiques des groupes

groupe	Moyenne	Ecart type
C	717,595	97,22
D	387,05	75,215
E	501,797	162,043

Tableau 68 : Comparaisons de moyennes ( test F)

Comparaisons	Diff. moyenne
C-D	330,545 *
C-E	215,798 *
D-E	-114,747 *

\* : significatif à 5 %

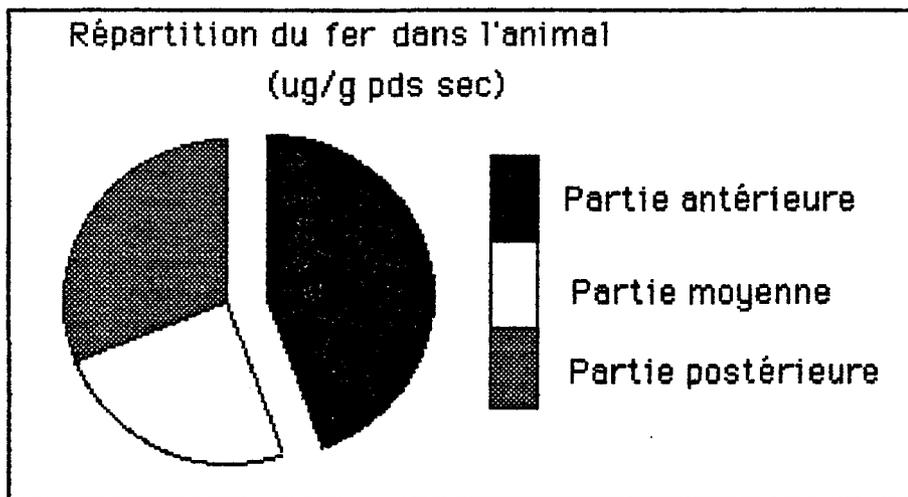
Tous les tests de comparaison sont significatifs. On observe les plus fortes teneurs en fer au niveau de la partie antérieure de l'animal. Viennent ensuite les parties postérieures et la partie moyenne, cette dernière étant la moins chargée en métal.

En résumé, c'est au niveau de l'extrémité antérieure de l'animal que les métaux ont tendance à se concentrer. Cette différence s'observe nettement pour trois des métaux étudiés. Le manganèse se comporte différemment avec une concentration dans la partie antérieure relativement faible comparativement à celles rencontrées dans les deux autres parties.

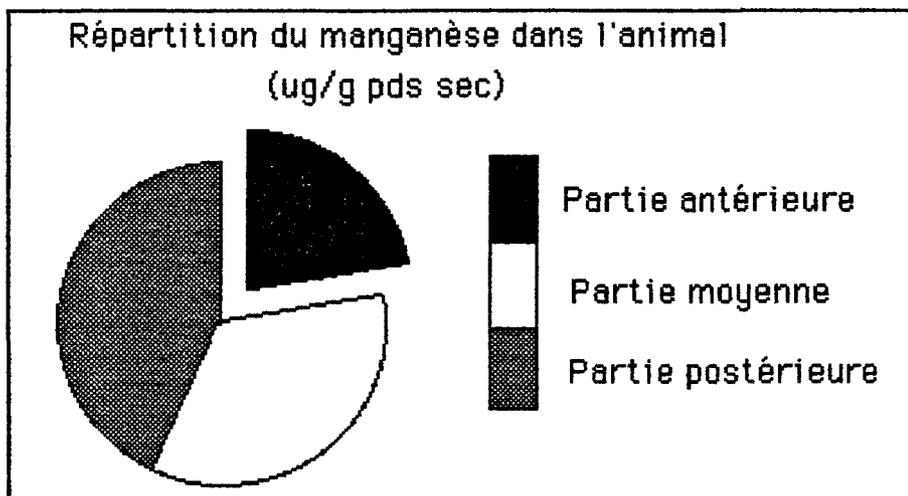
**Figure 30** : Répartition des métaux dans les différentes parties de l'animal: (Pourcentage de concentration du métal dans chaque partie)

- A : le fer
- B : le manganèse
- C : le zinc
- D : le cadmium

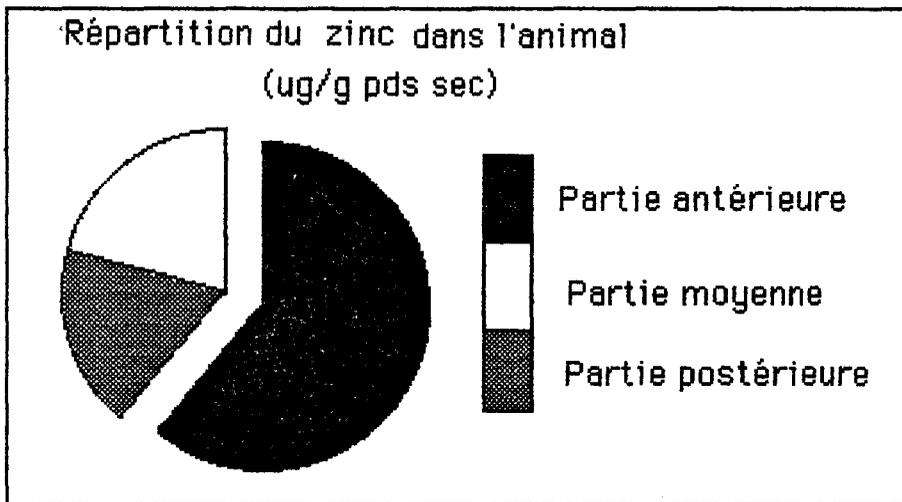
A



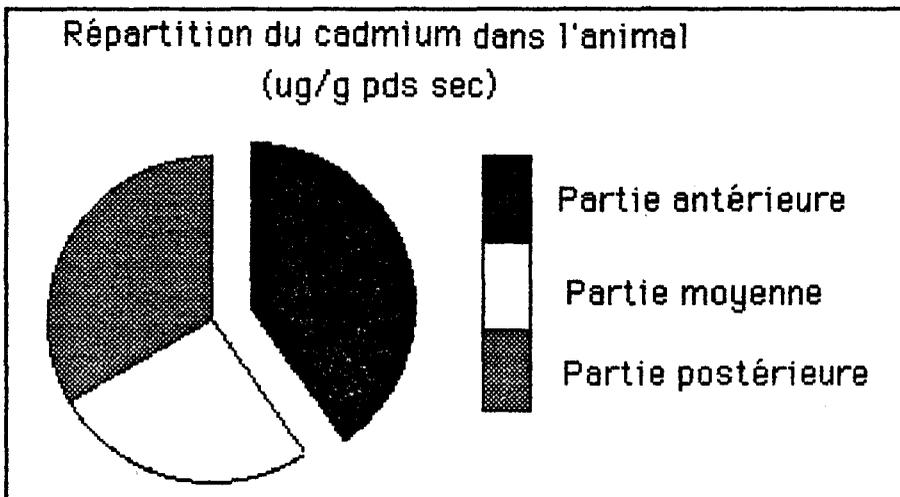
B



C



D



## 4.2 Plan factoriel appliqué aux différentes parties de l'animal

### 4.2.1 Partie antérieure

#### a) Variation des teneurs en manganèse

**Tableau 69 :** Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $S_k^2=6,29$ .

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot S_k^2}$	$F_c$
Mn	178,1	31719,6	157,55	>4,54
Zn	127,6	16281,8	80,89	>4,54
Fe Mn	126,0	15876,0	78,90	>4,54
Fe Cd	107,8	11620,8	57,69	>4,54
Fe	95,3	9082,1	45,14	>4,54
Cd Zn	36,8	1354,2	6,74	>4,54
Cd Mn	-32,8	1075,8	5,33	>4,54
Niveau de coupure (seuil 0,05)				
Cd	21,2	449,4	2,22	<4,54

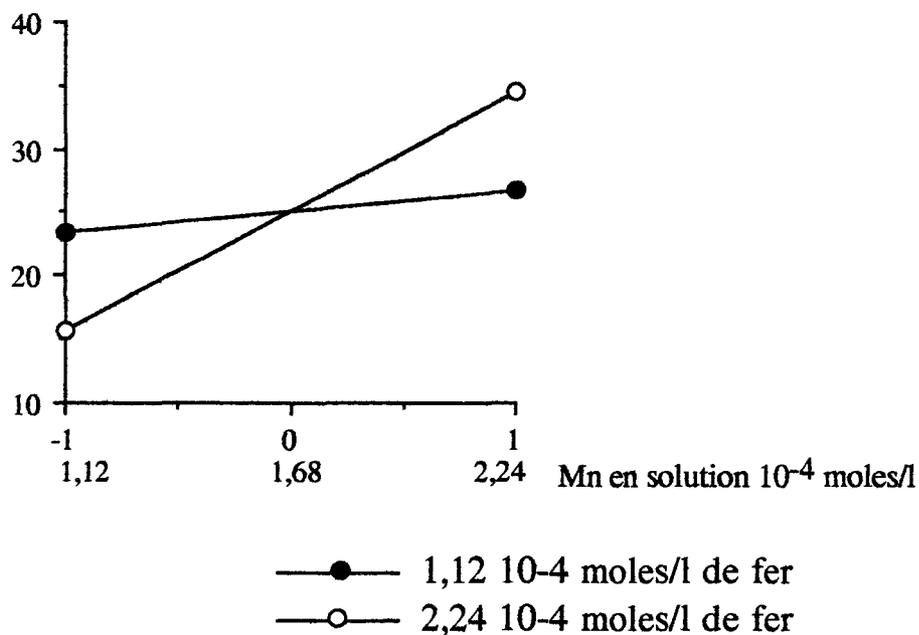
Les principaux effets sont associés aux variations des concentrations en manganèse, fer, cadmium et zinc dans le milieu. Tous ces effets sont positifs.

$$\hat{y} = 25,08 + 5,56.Mn + 3,99.Zn + 3,93.Fe.Mn + 3,37.Fe.Cd + 3,0.Fe + 1,15.Cd.Zn - 1,02.Cd.Mn - (-2,13.Fe.Cd.Mn.Zn + 0,99.Fe.Cd.Zn)$$

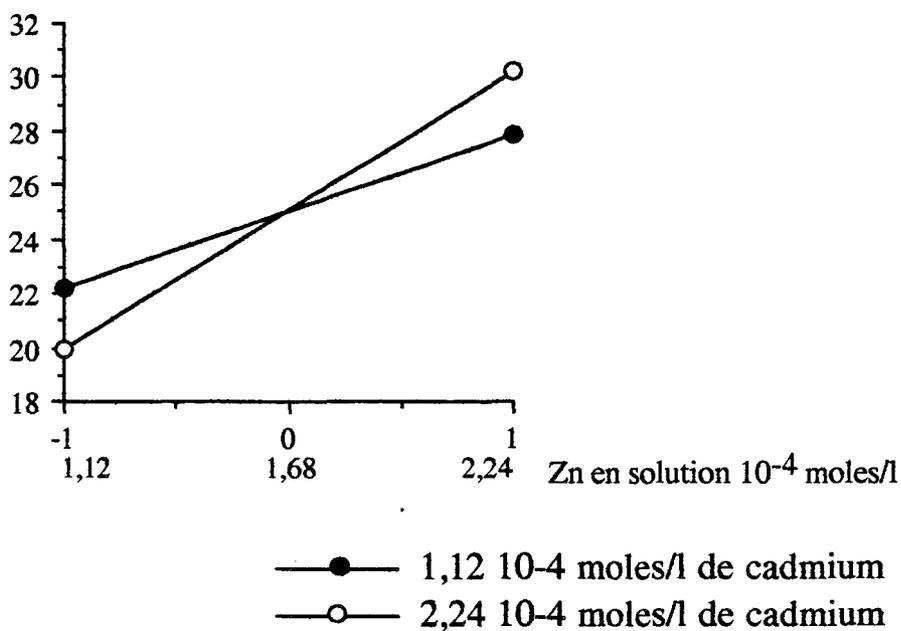
Le développement du polynôme conduit au modèle :

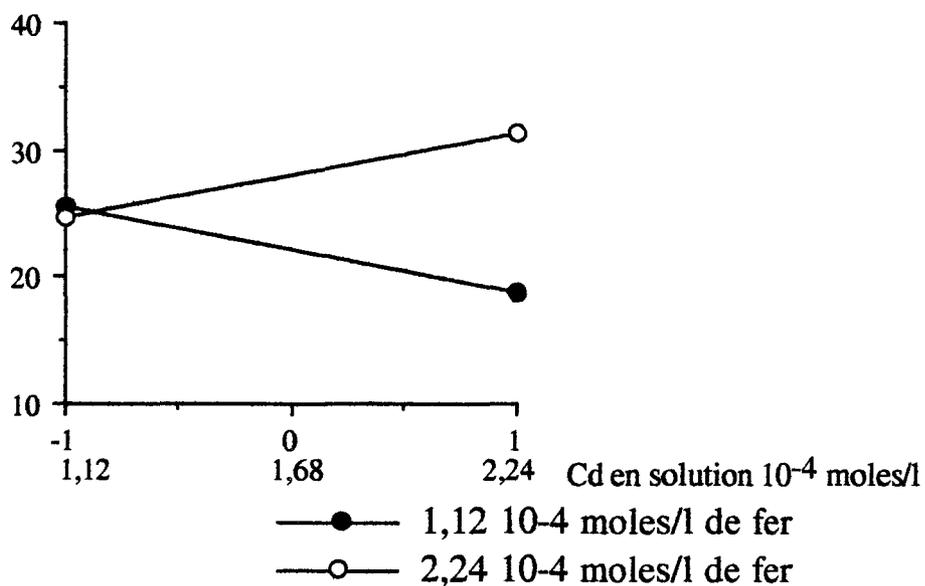
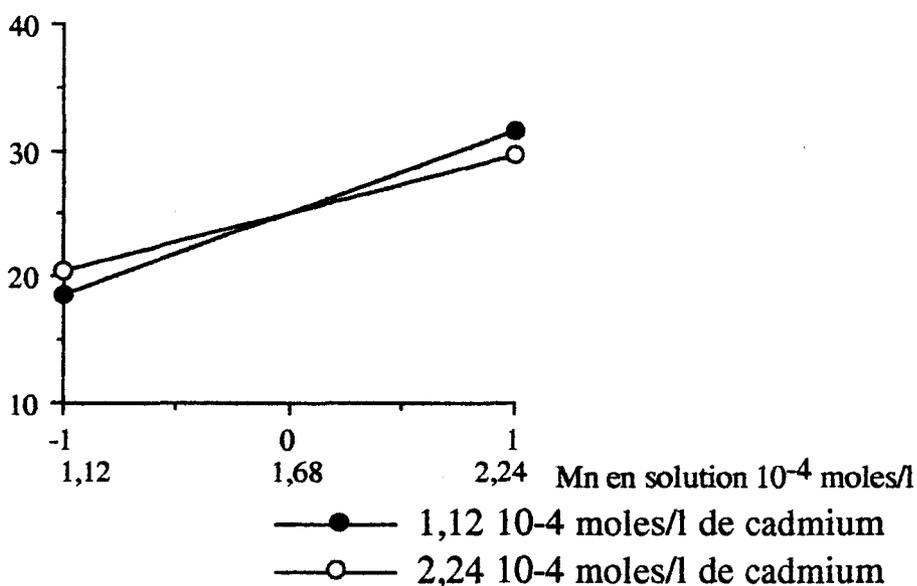
$$\hat{y} = -144,955 + 18,471.Zn + 17,787Mn + 15,302Fe + 8,946Cd - 1,73MnZn - 1,607FeMn - 1,9669FeZn - 1,077CdMn - 0,967FeCd + 0,7656CdZn + 0,1858FeMnZn + 0,1078FeCdMn + 0,0923CdMnZn - 0,0099 FeCdMnZn$$

Les figures 34 à 37 illustrent les principales interactions qui participent à la construction du modèle.

**Figure 34** : Effet du manganèse en présence de ferRéponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$ 

La variation de la pente est très nette, elle démontre l'effet synergique important entre le manganèse et le fer.

**Figure 35** : Effet du zinc en présence de cadmiumRéponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$ 

**Figure 36** : Effet du cadmium en présence de ferRéponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$ **Figure 37** : Effet du manganèse en présence de cadmiumRéponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$ 

La courbe correspondant à la concentration maximale de cadmium en solution présente une pente inférieure à celle de la courbe où cette concentration est minimale. Cette observation caractérise un effet antagoniste entre deux variables.

## b) Variation des teneurs en zinc

**Tableau 70 :** Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $S_k^2=2498,66$

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot S_k^2}$	$F_c$
Mn Zn	-3705,6	13731471	171,74	>4,54
Cd Zn	2204,1	4858057	60,76	>4,54
Fe Zn	-2197,6	4829446	60,40	>4,54
Fe Mn	1699,1	2886941	36,11	>4,54
Fe Cd	-1583,2	2506522	31,35	>4,54
Mn	970,1	941094	11,77	>4,54
Fe	-734,4	2506522	6,74	>4,54
Niveau de coupure (seuil 0,05)				
Zn	582,3	339073	4,24	<4,54
Cd	376,0	141376	1,77	<4,54

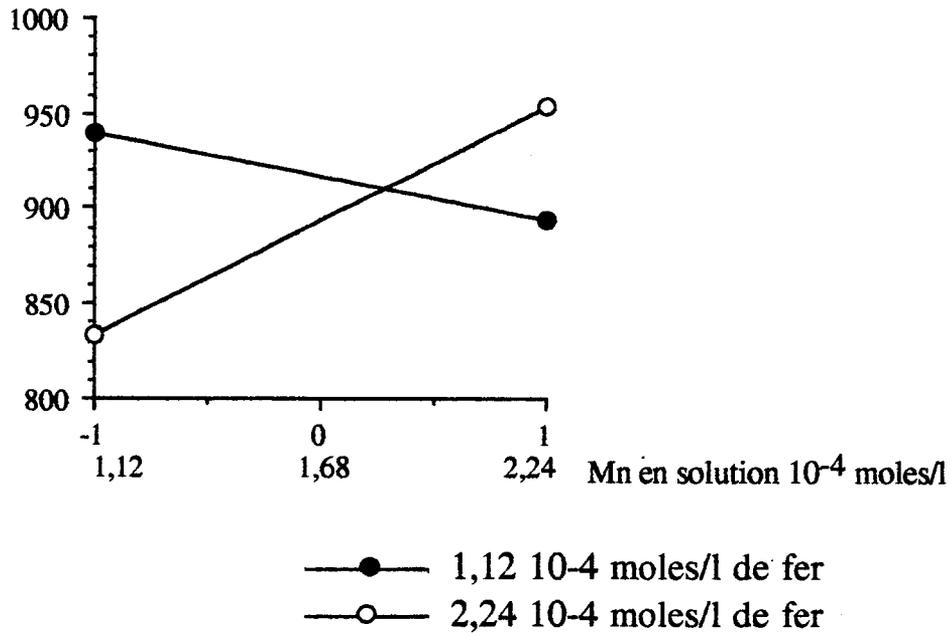
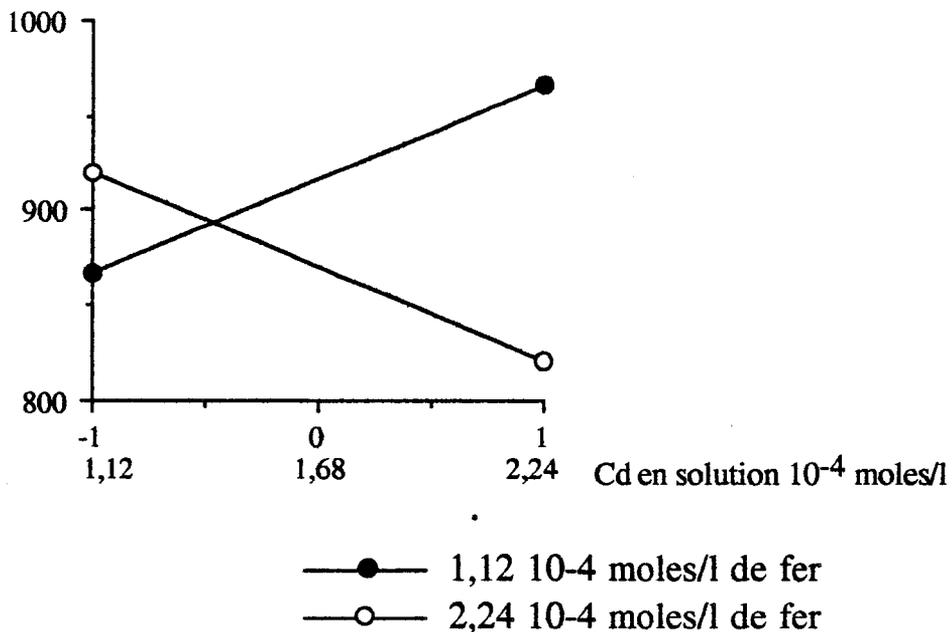
L'interaction manganèse-zinc est très importante. Le contraste associé au zinc reste très modeste en comparaison de ceux des autres variables du modèle. C'est néanmoins le contraste le plus élevé situé sous le niveau de coupure.

$$\hat{y} = 893,44 - 115,8 \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn} + 68,88 \cdot \text{Cd} \cdot \text{Zn} - 68,67 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Zn} \\ + 53,10 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Mn} - 49,47 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Cd} + 30,31 \cdot \text{Mn} - 22,95 \cdot \text{Fe} \\ (+ 125,45 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Cd} \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn} - 68,5 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Cd} \cdot \text{Mn} - 35,34 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Cd} \cdot \text{Zn} \\ - 19,37 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn})$$

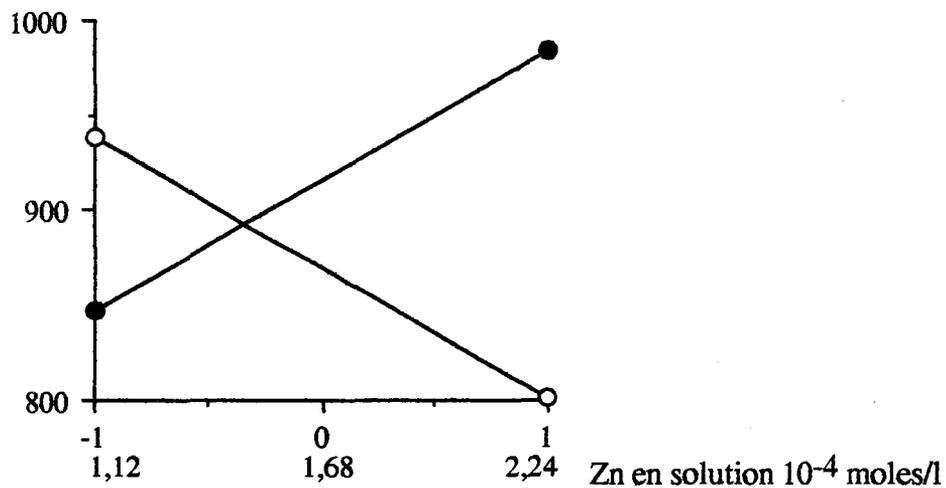
Le développement du polynôme conduit au modèle :

$$\hat{y} = 13351,836 - 1199,359 \cdot \text{Mn} - 974,55 \cdot \text{Zn} + 789,1908 \cdot \text{Fe} \\ + 383,12 \cdot \text{Cd} + 163,915 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Mn} + 108,7887 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Zn} + 96,73 \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn} \\ + 71,682 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Cd} + 69,89 \cdot \text{Cd} \cdot \text{Mn} + 57,5497 \cdot \text{Cd} \cdot \text{Zn} - 11,503 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn} \\ - 7,503 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Cd} \cdot \text{Mn} - 5,852 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Cd} \cdot \text{Zn} - 5,437 \cdot \text{Cd} \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn} \\ + 0,5837 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Cd} \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn}$$

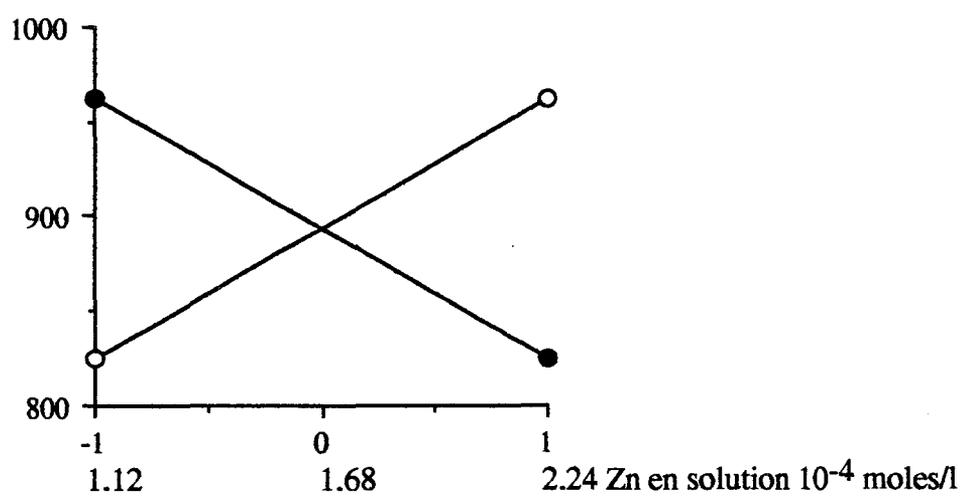
Le modèle reprend plusieurs effets de troisième ordre validés par l'analyse de régression. Les principales interactions sont illustrés dans les figures 38 à 42

**Figure 38 :** Effet du manganèse en présence de ferRéponse (Zn),  $\mu\text{g/g}$ **Figure 39 :** Effet du cadmium en présence de ferRéponse (Zn),  $\mu\text{g/g}$ 

La variation de la pente dans la figure 39, qui illustre un effet antagoniste de deux variables, est inverse de celle de la figure 38 où le zinc et le fer influence de manière synergique la bioaccumulation du zinc.

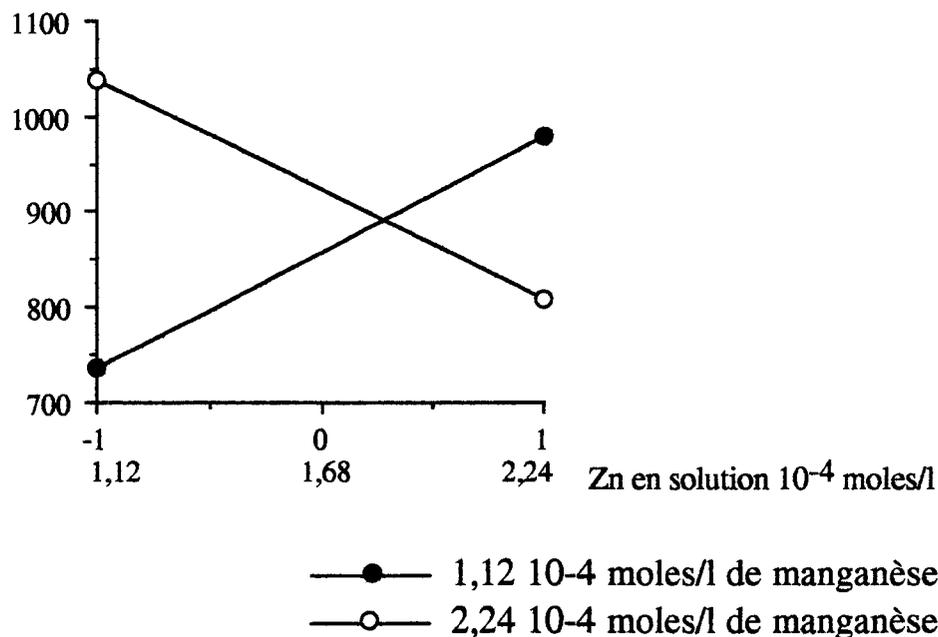
**Figure 40 :** Effet du zinc en présence de ferRéponse (Zn),  $\mu\text{g/g}$ 

—●— 1,12  $10^{-4}$  moles/l de fer  
 —○— 2,24  $10^{-4}$  moles/l de fer

**Figure 41 :** Effet du zinc en présence de cadmiumRéponse (Zn),  $\mu\text{g/g}$ 

—●— 1,12  $10^{-4}$  moles/l de cadmium  
 —○— 2,24  $10^{-4}$  moles/l de cadmium

Figure 42 : Effet du zinc en présence de manganèse

Réponse (Zn),  $\mu\text{g/g}$ 

L'effet antagoniste du zinc et du manganèse est nettement illustré par une variation de pente très marquée.

### c) Variations des teneurs en cadmium

Tableau 71 : Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $S_k^2=142,81$

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot S_k^2}$	$F_c$
Cd	642,1	412292,4	90,21	>4,54
Mn Zn	-297,9	88744,4	19,41	>4,54
Fe Zn	-241,7	58418,9	12,78	>4,54
Fe Mn	230,3	53038,1	11,60	>4,54
Zn	218,0	47524,0	10,40	>4,54
Cd Zn	175,2	30695,0	6,72	>4,54

Niveau de coupure (seuil 0,05)

Cd Mn	129,6	16796,2	3,67	<4,54
Fe	-29,0	841,0	0,18	<4,54

On voit apparaître un certain nombre d'interactions significatives, ainsi qu'un effet direct du zinc qui favoriserait le transfert du cadmium dans l'animal.

$$\hat{y}=98,49+20,06\text{Cd}-9,31\text{Mn}\cdot\text{Zn}-7,55\text{Fe}\cdot\text{Zn}+7,2\text{Fe}\cdot\text{Mn} \\ +6,81\text{Zn}+5,47\text{Cd}\cdot\text{Zn} \\ (+5,36 \text{ Fe}\cdot\text{Cd}\cdot\text{Mn}\cdot\text{Zn})$$

Le développement du polynôme conduit au modèle :

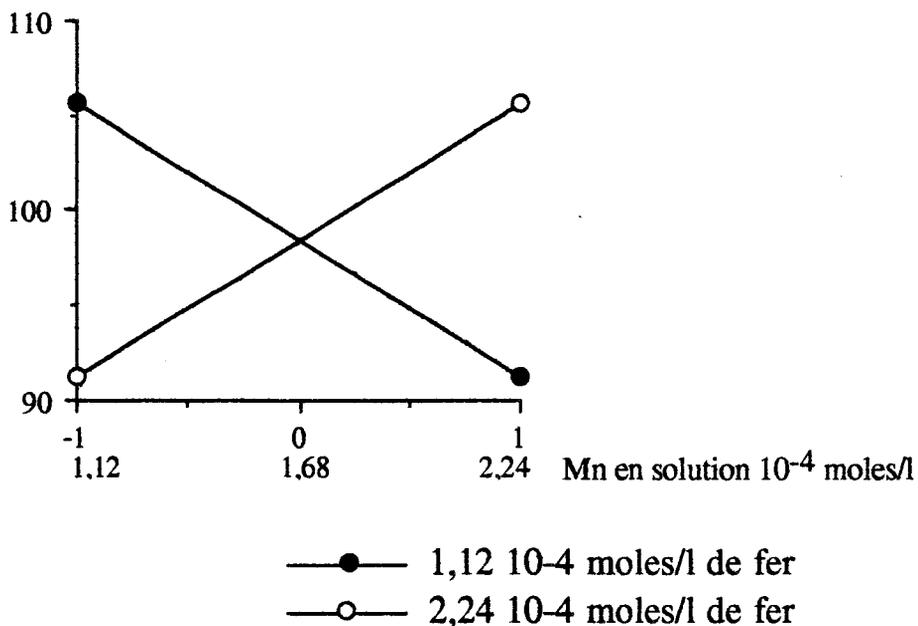
$$\hat{y}=414,328-46,269\text{Fe}-45,299\text{Mn}-28,62\text{Zn}-22,57\text{Cd} \\ +5,844\text{FeMn}+3,615\text{FeZn}+3,515\text{MnZn}+2,526\text{CdMn}+2,369\text{CdZn} \\ +2,486\text{FeCd}-0,468\text{FeMnZn}-0,271\text{FeCdMn}-0,232\text{CdMnZn} \\ -0,229\text{FeCdZn}+0,025\text{FeCdMnZn}$$

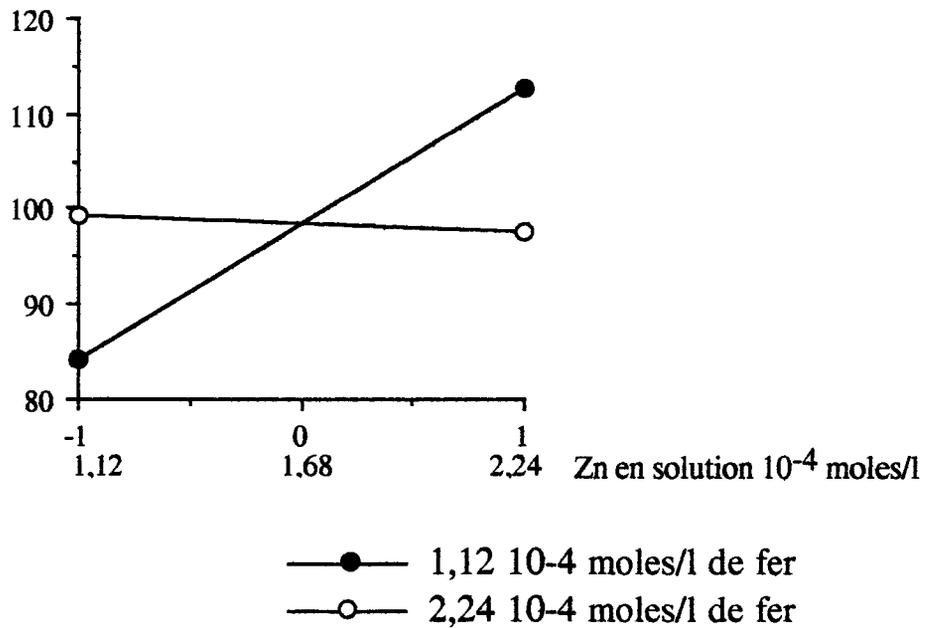
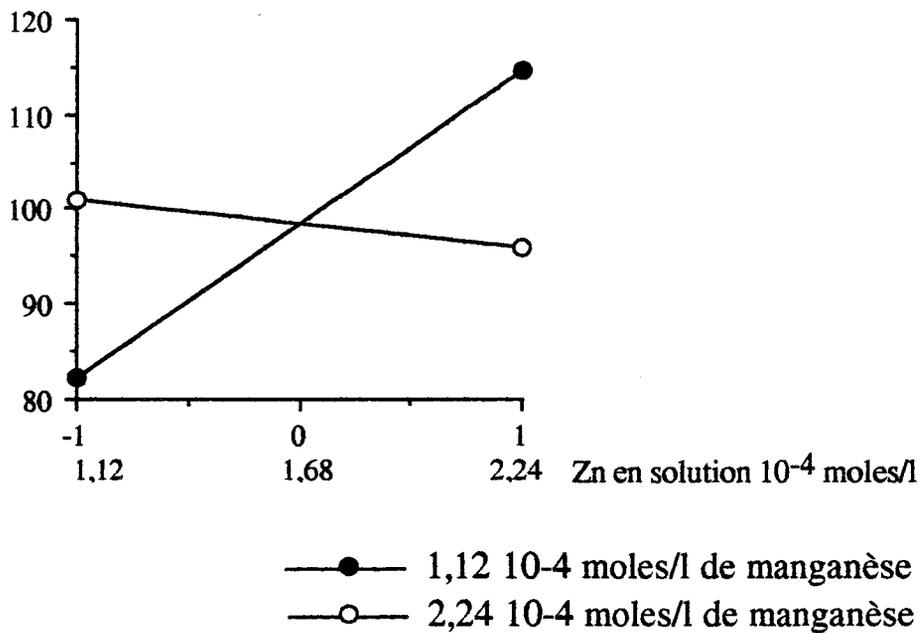
Des interactions synergiques entre le cadmium et les autres métaux sont mises en évidence dans le modèle.

La représentation graphique du modèle permet de visualiser les principaux effets intervenant dans la bioaccumulation du cadmium (fig 43 à 46).

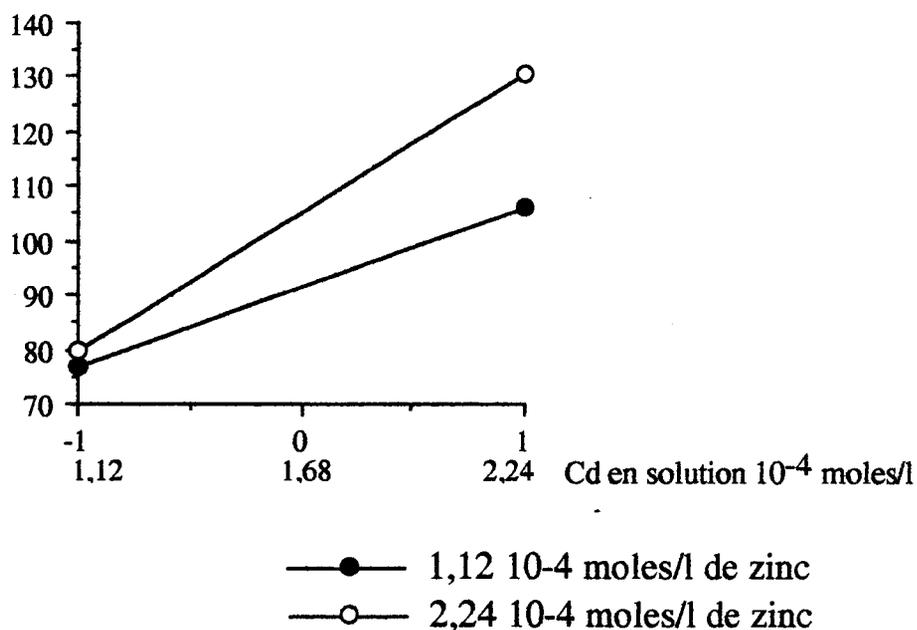
**Figure 43 :** Effet du manganèse en présence de fer

Réponse (Cd),  $\mu\text{g/g}$



**Figure 44** : Effet du zinc en présence de ferRéponse (Cd),  $\mu\text{g/g}$ **Figure 45** : Effet du zinc en présence de manganèseRéponse (Cd),  $\mu\text{g/g}$ 

Les figure 44 et 45 ont une allure identique, elles traduisent toutes deux des interactions antagonistes entre deux variables.

**Figure 46 :** Effet du cadmium en présence de zincRéponse (Cd),  $\mu\text{g/g}$ 

#### 4.2.2 Partie moyenne

##### a) Variation des teneurs en manganèse

**Tableau 72 :** Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $S_k^2=45,56$

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot S_k^2}$	$F_c$
Mn	385,2	148379,0	101,77	>4,54
Niveau de coupure (seuil 0,05)				
Fe Cd	52,2	2714,8	1,87	<4,54

La dispersion des réponses est importante ; les effets de faible amplitude sont masqués par cette variabilité. Toutefois, les signes restent les mêmes notamment pour l'interaction fer-cadmium. Ce qui semble

vouloir confirmer les précédentes observations. Le modèle obtenu se compose du terme constant et de l'effet associé au manganèse en solution:

$$\hat{y} = 38,9 + 12,0 \text{ Mn.}$$

Le développement du polynôme conduit au modèle :

$$\hat{y} = 2,9 + 3,93 \text{ Mn}$$

### b) Variation des teneurs en zinc

**Tableau 73 :** Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $S_k^2 = 553,71$

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot S_k^2}$	$F_c$
Zn	1473,1	2170024	122,47	>4,54
Cd Zn	631,6	398918	22,51	>4,54
Fe Mn	-459,9	211508	11,94	>4,54
Fe Zn	-417,8	174557	9,85	>4,54
Fe Cd	-297,2	88328	4,98	>4,54
Niveau de coupure (seuil 0,05)				
Mn	259,51	67345	3,80	<4,54
Cd	190,6	36328	2,05	<4,54

Seul l'effet du zinc se distingue des autres. Si l'on compare l'amplitude de cet effet avec celles observées dans les autres parties de l'animal, on constate qu'elle est ici fortement supérieure.

$$\begin{aligned} \hat{y} = & 257,39 + 46,03 \cdot \text{Zn} + 19,74 \cdot \text{Cd} \cdot \text{Zn} - 14,37 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Mn} \\ & - 13,05 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Zn} - 9,29 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Cd} \\ & (- 25,54 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn} - 17,51 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Cd} \cdot \text{Mn} + 12,45 \cdot \text{Cd} \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn}) \end{aligned}$$

Le développement du polynôme conduit au modèle :

$$\begin{aligned} \hat{y} = & 792,77 - 89,313 \text{ Fe} - 76,046 \text{ Mn} - 25,337 \text{ Zn} - 12,303 \text{ Cd} \\ & + 12,10 \text{ FeMn} + 5,648 \text{ FeZn} + 3,546 \text{ MnZn} + 2,227 \text{ FeCd} \\ & + 0,795 \text{ CdMn} - 0,777 \text{ CdZn} - 0,743 \text{ FeMnZn} \\ & - 0,295 \text{ FeCdMn} + 0,18 \text{ CdMnZn} \end{aligned}$$

La visualisation des principaux effets permet d'apprécier l'importance des différentes interactions (fig 47 à 50).

Figure 47 : Effet du cadmium en présence de fer

Réponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$

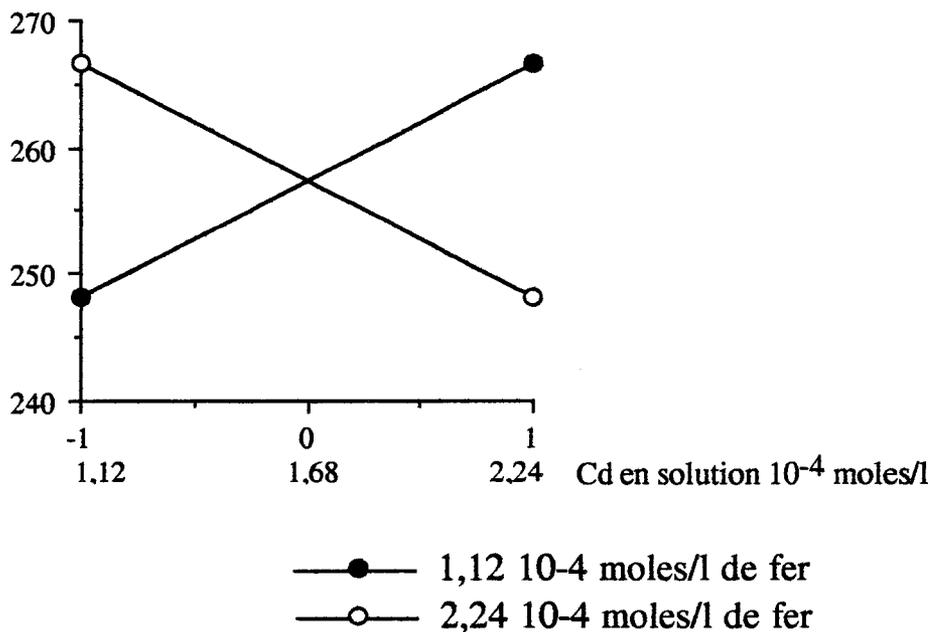
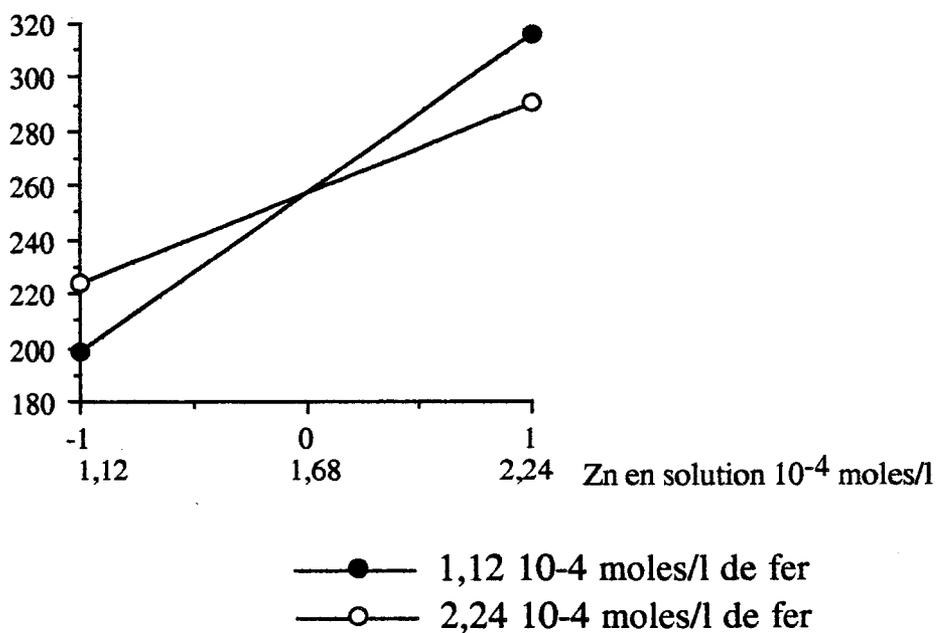
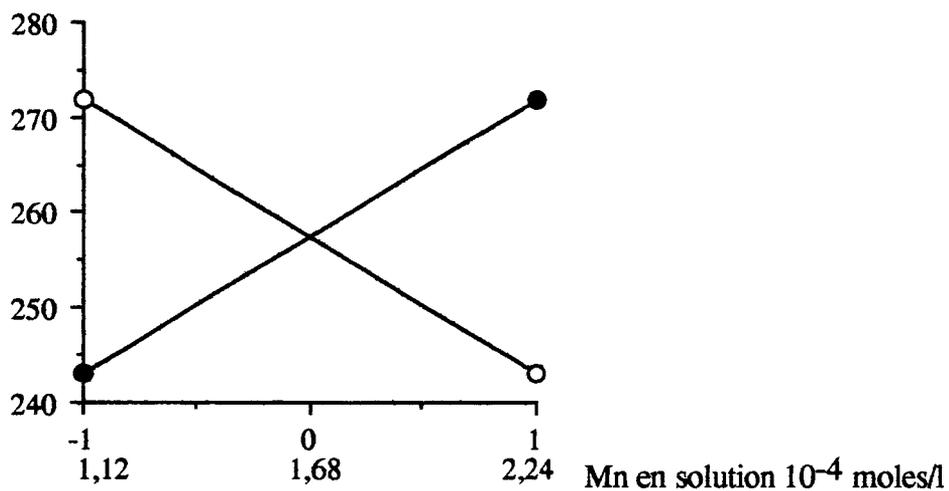


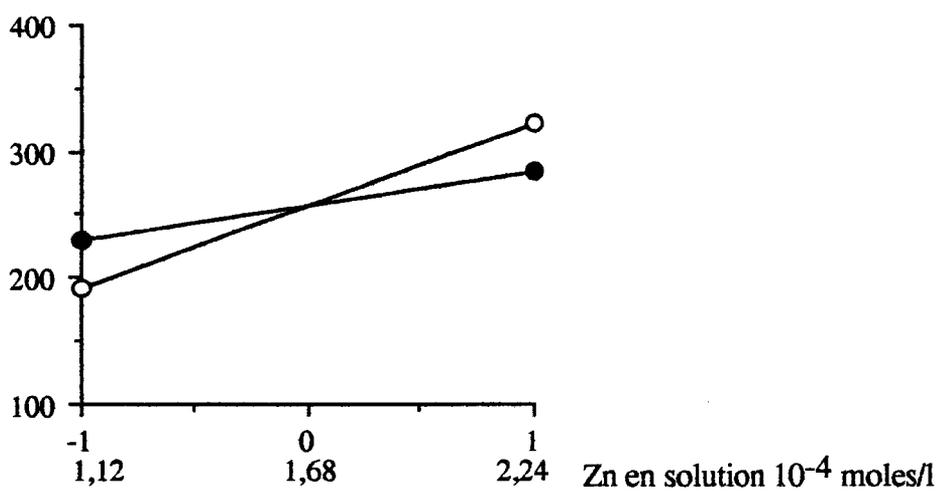
Figure 48 : Effet du zinc en présence de fer

Réponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$



**Figure 49 :** Effet du manganèse en présence de ferRéponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$ 

—●— 1,12  $10^{-4}$  moles/l de fer  
—○— 2,24  $10^{-4}$  moles/l de fer

**Figure 50 :** Effet du zinc en présence de cadmiumRéponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$ 

—●— 1,12  $10^{-4}$  moles/l de cadmium  
—○— 2,24  $10^{-4}$  moles/l de cadmium

## c) Variation des teneurs en cadmium

**Tableau 74 :** Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $S_k^2 = 164,05$

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot S_k^2}$	$F_c$
Cd	664,8	441,959,0	84,19	>4,54
Zn	178,4	31826,6	6,06	>4,54
Cd Zn	164,7	27126,1	5,16	>4,54
Niveau de coupure (seuil 0,05)				
Fe Mn	-94,9	9006,0	1,71	<4,54

Le modèle polynomial obtenu est de la forme:

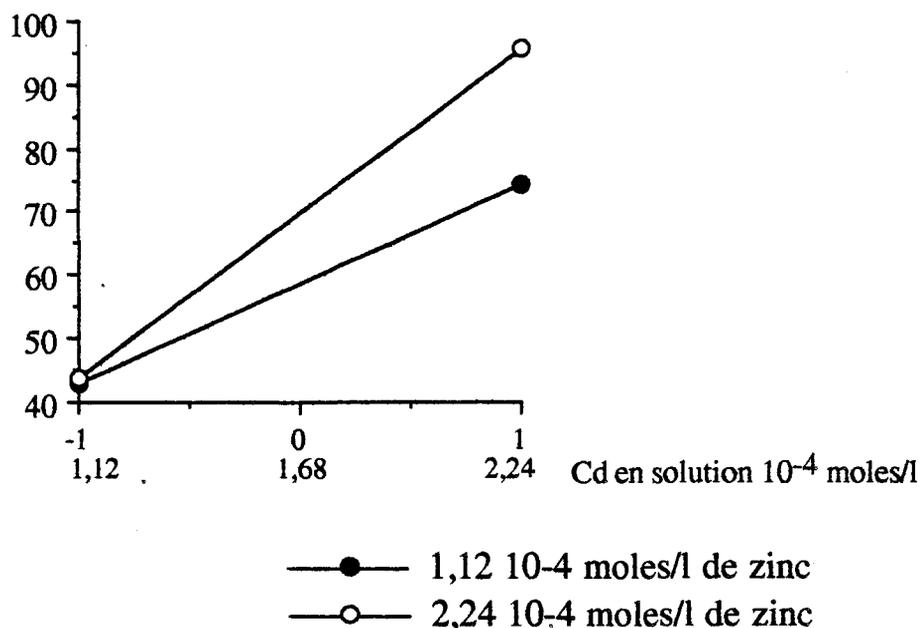
$$\hat{y} = 64,2 + 20,8 \text{ Cd} + 5,6 \text{ Zn} + 5,1 \text{ Cd.Zn} \\ (- 6,06 \text{ Fe.Mn.Zn} - 5,27 \text{ Fe.Cd.Mn})$$

Le développement du polynôme conduit au modèle :

$$\hat{y} = 336,812 - 33,379 \text{ Mn} - 32,84 \text{ Fe} - 17,721 \text{ Zn} - 6,709 \text{ Cd} \\ + 3,583 \text{ FeMn} + 1,642 \text{ MnZn} + 1,615 \text{ FeZn} + 0,828 \text{ CdMn} \\ + 0,814 \text{ FeCd} + 0,225 \text{ CdZn} - 0,176 \text{ FeMnZn} - 0,089 \text{ FeCdMn}$$

**Figure 51 :** Effet du cadmium en présence du zinc.

Réponse (Cd),  $\mu\text{g/g}$



L'observation de la figure 50 permet d'apprécier les relations entre le cadmium et le zinc. Au niveau bas du cadmium (concentration minimale en solution), l'augmentation de la concentration en zinc dans le milieu de contamination entraîne une très faible augmentation de la quantité de cadmium qui pénètre dans l'animal. Si l'on se place au niveau haut du cadmium, on observe une augmentation en cadmium de près de 30%. Cette observation montre que le rapport de concentration entre ces deux métaux en solution est un paramètre important.

### 4.2.3 Partie postérieure

#### a) Variation des teneurs en manganèse

**Tableau 75 :** Tableau des effets et analyse statistique,  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $Sk^2 = 49,57$

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot Sk^2}$	$F_c$
Mn	418,4	175058,6	110,36	>4,54
Fe Cd	98,4	9682,6	6,11	>4,54
Cd Zn	89,46	8003,1	5,04	>4,54
Cd	-39,9	1592,0	1,00	<4,54

L'interaction fer-cadmium reste validée, son effet est beaucoup plus faible que dans la partie antérieure de l'animal (fig 52). Le modèle regroupe les effets principaux illustrés dans les figures 52 et 53.

$$\hat{y} = 47,8 + 13,1.Mn + 3,1.Fe.Cd + 2,8.Cd.Zn$$

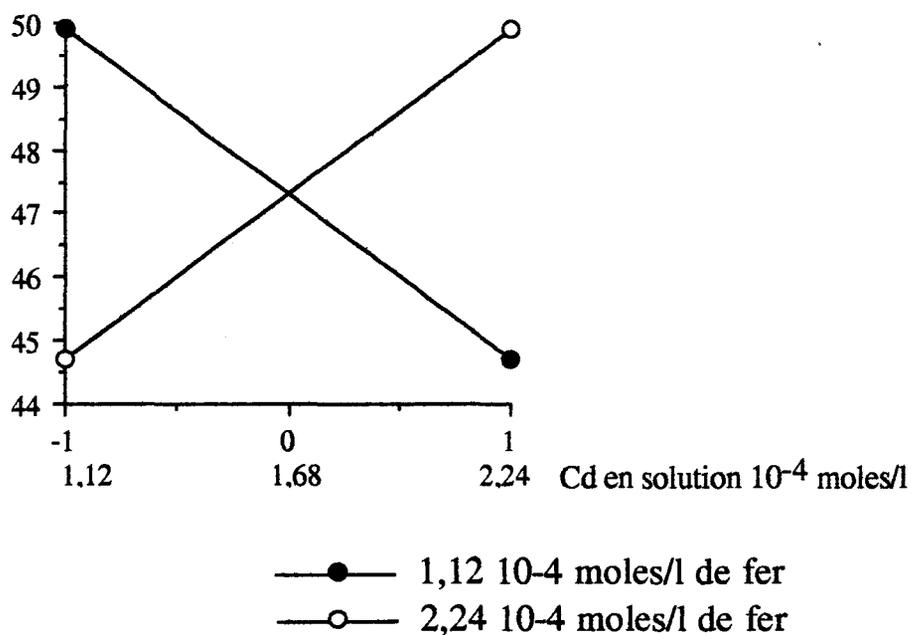
(+ 2,67 Fe.Cd.Mn.Zn)

Le développement du polynôme conduit au modèle :

$$\begin{aligned} \hat{y} = & 277,869 - 26,212Fe - 22,204Zn - 19,309Mn - 14,366Cd \\ & + 2,533FeMn + 2,17MnZn + 2,135FeZn + 1,398FeCd + 1,184CdZn \\ & + 1,285CdMn - 0,233FeMnZn - 0,116CdMnZn - 0,135FeCdMn \\ & - 0,114FeCdZn + 0,012FeCdMnZn \end{aligned}$$

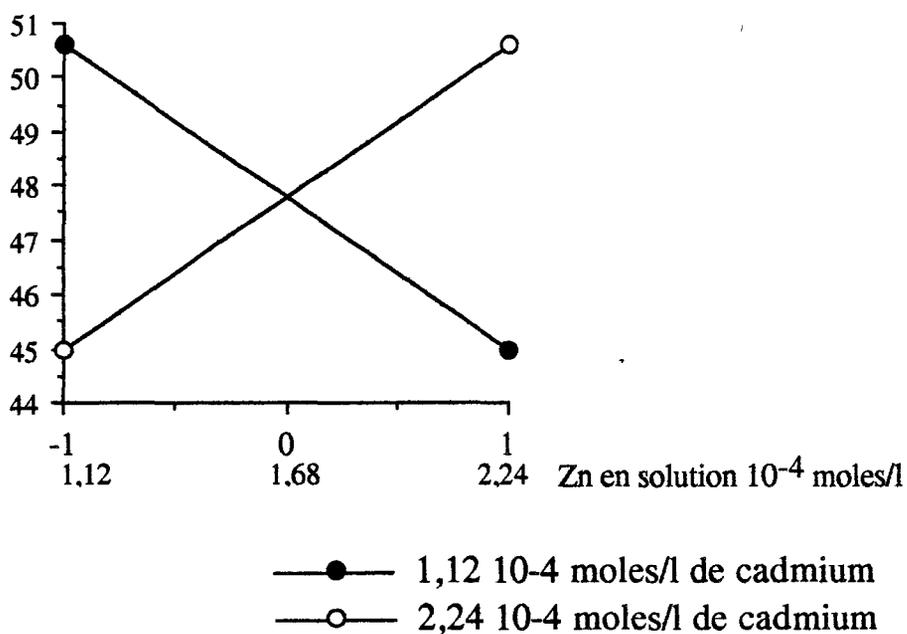
**Figure 52 :** Effet du cadmium en présence de fer

Réponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$



**Figure 53 :** Effet du zinc en présence de cadmium

Réponse (Mn),  $\mu\text{g/g}$



L'allure de ces deux courbes traduit des effets antagonistes.

### b) Variation des teneurs en zinc

**Tableau 76 :** Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $S_k^2 = 2299,07$

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k^2 P \cdot S_k^2}$	$F_c$
Zn	1046,4	1094953	14,88	>4,54
Fe Zn	-667,5	445556	6,06	>4,54
Mn	595,4	354501	4,82	>4,54
Niveau de coupure (seuil 0,05)				
Fe Cd	-440,3	193864	2,63	<4,54

L'effet du manganèse est ici beaucoup plus visible que dans les cas précédents. Cet effet positif reste toujours très important par rapport à l'effet du zinc. La figure 54 montre l'effet antagoniste du zinc et du fer.

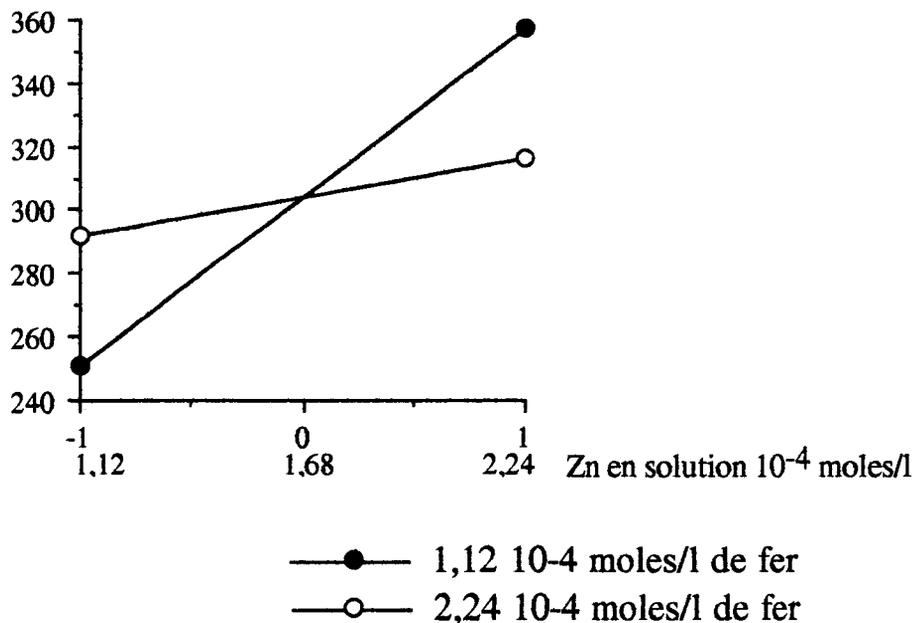
L'équation du modèle s'écrit :

$$\hat{y} = 304,2 + 18,6 \cdot \text{Mn} + 32,7 \cdot \text{Zn} - 20,9 \cdot \text{Fe} \cdot \text{Zn} \\ (-19,72 \text{ Fe} \cdot \text{Cd} \cdot \text{Mn} \cdot \text{Zn})$$

Le développement du polynôme conduit au modèle :

$\hat{y} = -1635,115 + 191,668\text{Fe} + 180,373\text{Mn} + 173,197\text{Zn} + 85,188\text{Cd} \\ - 18,71\text{FeMn} - 17,624\text{FeZn} - 16,026\text{MnZn} - 9,295\text{CdMn} \\ - 9,145\text{FeCd} - 7,833\text{CdZn} + 1,72\text{FeMnZn} + 0,998\text{FeCdMn} \\ + 0,855\text{CdMnZn} + 0,841\text{FeCdZn} - 0,092\text{FeCdMnZn}$
---

Comme pour le manganèse, c'est cette zone qui reflète le plus les observations faites sur l'animal entier.

**Figure 54** : Effet du zinc en présence de ferRéponse (Zn),  $\mu\text{g/g}$ **c) Variation des teneurs en cadmium**

**Tableau 77** : Tableau des effets et analyse statistique  
(les effets sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  de poids sec)  
 $S_k^2 = 335,10$

Variable	contraste $y_u$	$y_u^2$	$F_u = \frac{y_u^2}{k \cdot 2P \cdot S_k^2}$	$F_c$
Cd	699,5	489300,2	45,63	>4,54
Zn	278,3	77450,9	7,22	>4,54
Fe Zn	-244,3	59682,5	5,57	>4,54

Niveau de coupure (seuil 0,05)

Fe Mn	-126,3	15951,7	1,49	<4,54
-------	--------	---------	------	-------

Le zinc reste un élément important qui agit sur le transfert du cadmium du milieu dans l'animal. Son action sur le transfert du cadmium du milieu vers l'animal est présente, plus ou moins directement, dans tous les cas envisagés.

Le modèle associé à cette étude est le suivant :

$$\hat{y} = 80,3 + 21,9.Cd + 8,7.Zn - 7,6.Fe.Zn$$

$$(- 7,34 Fe.Mn.Zn)$$

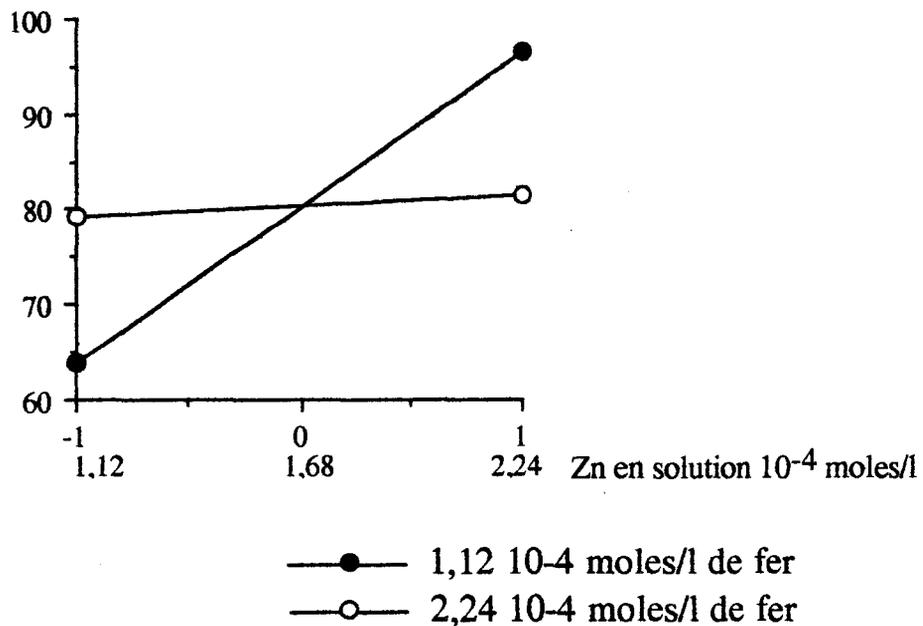
Le développement du polynôme conduit au modèle :

$$\hat{y}=118,284-21,624Mn-13,933Fe-9,534Zn+3,504Cd$$

$$+2,321FeMn+1,988MnZn+1,301FeZn-0,213FeMnZn$$

Figure 55 : Effet du zinc en présence de fer.

Réponse (Cd),  $\mu\text{g/g}$



DISCUSSION ET CONCLUSION

## 5 Discussion-Conclusion

Notre travail se rattache à l'une des thématiques de notre laboratoire, relative à l'étude des phénomènes physico-chimiques et biologiques qui conditionnent la bioaccumulation des métaux lourds dans les chaînes alimentaires. Il se décompose en deux phases :

- une étude *in situ* dont les résultats issus de l'analyse multivariable sont résumés ci-dessous,
- une approche expérimentale qui nous a fourni des modèles mathématiques illustrant l'effet des interactions métalliques et de la salinité sur la bioaccumulation des métaux par *Nereis diversicolor*.

### Etudes in situ.

Dans cette étude de terrain, trois constatations doivent être soulignées.

- Les animaux sont en contact avec de nombreux métaux. Les prélèvements que nous avons effectués ne nous ont pas permis de mettre en évidence des corrélations linéaires positives entre les concentrations métalliques du sédiment et celles des animaux. Néanmoins, la proportion de métaux réellement échangeable n'est pas déterminée, et on ne peut conclure à l'absence de proportionalité entre cette phase "disponible", et le compartiment biotique. Des études complémentaires sur l'eau interstitielle sont actuellement en cours. L'absence de relations entre les teneurs métalliques des sédiments et des animaux a également été observée chez *Arenicola marina* (étude sur le cuivre, Everaarts, 1986) et chez un bivalve *Elliptio complanata* (Tessier et al. 1984 ; Bryan et al., 1985). Nos résultats concernant le cadmium, le zinc et le cuivre sont confrontés à des données bibliographiques dans le tableau 78.

**Tableau 78** : Concentrations "naturelles" de quelques métaux dans des sédiments fins (< 63µm) océaniques. Principales origines.

Métal	Formes principales	Conc. "naturelles" Sédiments fins	Origines principales	Conc. rencontrées dans l'estuaire de l'Aa (nos résultats moyens sur 120 échantillons de granulométrie < 1mm)
Cadmium	Carbonates oxydes de Fe et Mn	20 µg/kg	Atmosphérique : 3000-5000t/an	9,6 mg/kg
Zinc	Silicates oxydes de Fe et Mn (Campbell et al., 1988)	100mg/kg	Continentele et atmosphérique	136,9 mg/kg
Chrome	Chromite silicates oxydes réductibles	80mg/kg	continentaux 8000t/an forme dissoute + 2 millions de tonnes sous forme particulaire Atmosphérique : 3000t ( Nriagu et al., 1988)	
Cuivre	Silicates oxydes de Fe et Mn	20mg/kg	Fleuves 0,5 à 1 million de t dont 37000 à 67000t sous forme dissoute atmosphérique : 15000 à 25000t d'origine anthropique (Elbaz, 1988)	13,38 mg/kg
Plomb	Oxydes réductibles	25mg/Kg	Atmosphérique : 90000t à 140000t/an(origine anthropique) Fleuves : 300000t à 900000t/an sous forme dissoute	/
Nickel	Oxyde de Mn		Atmosphérique : 22000t dont 14000t d'origine anthropique. Fleuves : 1,3 millions de t dont 65000t sous forme dissoute (Nriagu, 1980b)	/

-Les concentrations métalliques varient de manière parfois importante en fonction de l'époque de l'année considérée et ceci tant dans

les animaux que dans les sédiments. Avec les changements de saison, la température de l'eau varie fortement, 2 à 5° en janvier et 17 à 19° en août. La quantité d'oxygène dissous en est directement affectée. Elle est maximale en hiver, mais reste supérieure à 90% toute l'année. En été, les conditions plus réductrices, entraînent une remobilisation des métaux adsorbés. Les hydroxydes de fer et de manganèse ainsi que la matière organique dissoute participent activement à ce phénomène (Jenne, 1976). Parallèlement, un grand nombre de facteurs doivent également être pris en compte. Les rejets urbains et industriels varient au cours de l'année tant par leur nature que par leur volume. Leurs impacts sur l'équilibre entre les phases adsorbées et dissoutes sont imprévisibles. La quantité de matières particulaires en suspension dans l'eau de mer est trois fois moins importante en période estivale qu'en hiver. A une toute autre échelle, l'activité de la faune endobenthique est en phase avec le cycle des saisons. Le métabolisme ralentit fortement lorsque la température diminue. La bioturbation qui modifie la surface d'échange eau-sédiment diminue également. Cette variation saisonnière a été observée par Everaarts en 1986 pour les concentrations en cuivre chez *Arenicola marina*.

-Pour certains métaux, les animaux les plus jeunes ont des concentrations supérieures à celles de leurs aînés. Ce phénomène est particulièrement marqué durant la période estivale. Cette observation peut être directement reliée à une différence dans l'activité métabolique de ces deux catégories de population. Les mêmes phénomènes ont été mis en évidence en conditions expérimentales par Bryan et al. en 1978 chez *Scrobicularia plana*, par Ray et al. en 1980 chez *Nereis virens* ainsi que chez *Nereis diversicolor*. (Bryan et al., 1973 ; Septier, 1989)

**Etude expérimentale** : mise en évidence et quantification des interactions entre métaux et effets sur l'accumulation de ces métaux chez *Nereis diversicolor*. Méthode des plans d'expériences couplée à l'analyse de régression.

En conditions expérimentales, un grand nombre d'interactions a ainsi été démontré. Le sens et l'intensité de l'effet observé peuvent varier en fonction des quantités de métaux présents en solution ainsi qu'en fonction des rapports de concentration entre les métaux en présence. Les

interactions entre métaux ont un effet sur l'accumulation par l'animal d'un métal particulier. Dans la plupart des cas envisagés, cet effet est au moins aussi important que l'effet associé au doublement de la concentration du métal considéré dans la solution.

L'étude intégrant la salinité de l'eau d'élevage démontre l'importance de ce paramètre sur la biodisponibilité des métaux. Au-delà de la simple variation de biodisponibilité, la toxicité varie en fonction de la forme chimique du métal. Bryan et al en 1973 ont montré sur *Nereis diversicolor* qu'une diminution de la salinité entraînait une augmentation de la toxicité du zinc indépendante de la quantité de métal accumulé par l'animal.

La bioaccumulation du manganèse est modulée par la présence d'autres métaux. La présence de zinc diminue cette accumulation, quelles que soient les proportions relatives des métaux en solution. Lorsque les concentrations molaires des métaux sont identiques, le cadmium entraîne également une diminution de l'accumulation du manganèse. En absence de fer, aucune interaction n'est détectée. Nous avons montré que près de 98% du fer précipite. On peut penser qu'en précipitant sous forme d'hydroxydes, le fer fixe une grande partie des ions métalliques présents et modifie leur biodisponibilité. On constate des différences très marquées dans la bioaccumulation du manganèse en fonction de la partie de l'animal considérée. Les effets et interactions constatées interviennent donc en grande partie au niveau de l'interface entre l'eau et le compartiment biotique. Ce qui révèle un mode d'intégration différent selon la zone considérée.

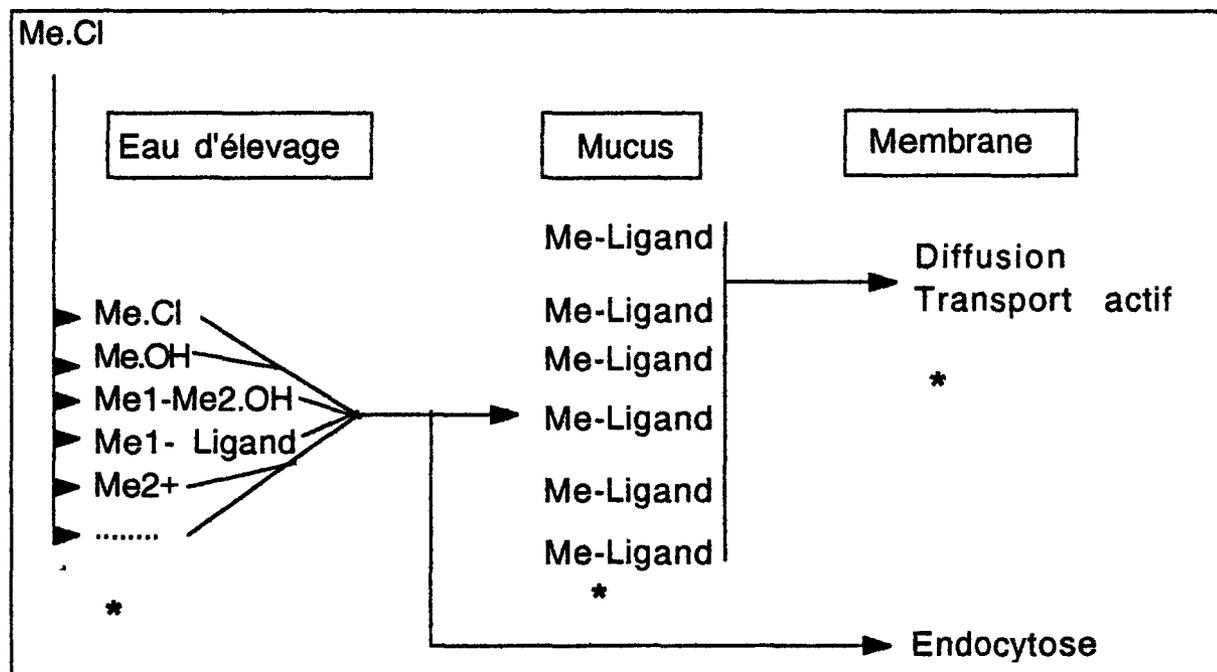
La bioconcentration du cadmium semble être beaucoup moins influencée par les autres métaux présents en solution, quels que soient les rapports de concentration entre ces métaux. L'analyse des résultats sur les différentes parties de l'animal est plus complexe. Contrairement au manganèse, on retrouve quasiment les mêmes effets et interactions sur les trois régions de l'animal. Le cadmium est un xénobiotique pour lequel l'animal n'a pas de mécanisme d'intégration privilégié. Il emprunte les voies réservées aux ions essentiels. L'absence de zone privilégiée d'intégration pourrait en partie expliquer ces observations.

La bioaccumulation du zinc dépend des proportions entre les métaux présents en solution. En proportion molaire identique, les métaux limitent l'entrée du zinc dans l'animal, probablement par compétition sur des ligands et transporteurs membranaires. De grandes différences s'observent dans les modèles de bioaccumulation du zinc associés aux différentes parties de l'animal, ce qui semble confirmer que l'interface entre les deux compartiments est un siège important des interactions entre métaux.

L'augmentation de la salinité entraîne une diminution de la bioaccumulation du manganèse, du fer et du cadmium, seul le zinc ne semble pas affecté par cette variation. Durant cette phase d'osmorégulation, les échanges ioniques sont importants. L'absence de variation significative des concentrations en zinc montre que ce métal essentiel est régulé par l'animal.

Le schéma général des mécanismes du transport transmembranaire des métaux est illustré figure 35. Les ions inorganiques sont hydrophiles alors que les membranes plasmiques sont hydrophobes. Le transfert de ces ions dans le cytoplasme nécessite dans de nombreux cas l'intervention d'un transporteur ou ligand. Fleming et al. en 1981 ont montré que suite à une exposition de 5 minutes à une solution de  $ZnCl_2$ , près de 68% du zinc associé à la partie postérieure de *Tubifex tubifex* étaient adsorbés à la surface du corps. Pour le cadmium, cette part associée à la membrane après 26 jours d'incubation est proche de 90% chez *Lumbricus rubellus* (Ireland et al., 1981).

Figure 35 : Me : Métal ; \* : lieux possibles des interactions.



Les interactions peuvent intervenir à différents niveaux.

**- Dans le milieu d'élevage :**

les conditions physico-chimiques peuvent entraîner des co-précipitations et des phénomènes d'adsorption de métaux sur des hydroxydes de fer et de manganèse. La concentration pour ces deux métaux est un facteur qui va déterminer en partie la forme chimique des autres métaux présents.

**-Au niveau de la couche muqueuse des membranes :**

Il a été montré (Fleming *et al.*, 1982) qu'au cours d'une intoxication de type chronique, la pénétration des métaux dans l'animal se faisait en deux temps. La première phase est une adsorption au niveau du mucus qui recouvre l'animal. Le métal passe ensuite à travers la membrane par divers mécanismes. La couche de mucus arrive assez rapidement à saturation ; au bout d'un certain temps, la concentration dans le milieu d'intoxication ne gouverne plus la cinétique de pénétration des métaux dans l'animal.

Lorsque plusieurs métaux sont présents dans le milieu, ils sont en compétition pour les sites de fixation au niveau du mucus. La forme chimique du métal à ce niveau est prépondérante. Le métal qui se fixera préférentiellement à ce niveau aura un effet négatif sur la pénétration des autres métaux puisqu'il limitera leurs possibilités d'intégrer cette couche et d'entrer en contact avec la membrane.

**- Au niveau des transporteurs membranaires :**

Un certain nombre de métaux dont le cadmium sont connus pour bloquer les canaux calciques (Pound *et al.*, 1988 ; Viarengo *et al.*, 1991). La perturbation de ce mécanisme limite les mouvements ioniques passifs à travers la membrane ainsi que les processus de transport actif (Viarengo, 1985).

Quand on s'adresse au milieu naturel, les paramètres en équilibre sont très nombreux. L'intégration de tous ces éléments dans une étude expérimentale est impossible. La bioaccumulation des métaux est influencée par de très nombreux paramètres biotiques et abiotiques. Pour appréhender ces phénomènes, il est nécessaire dans un premier temps de simplifier le cadre de l'expérimentation afin de dégager un certain nombre de relations entre ces paramètres, ici les métaux, et d'en observer les effets sur l'écosystème. La construction de modèles simplifiés, mais qui restent toutefois relativement complexes, nous offre une multitude d'informations que l'on ne peut extraire directement des observations de terrain. Cette base de travail donne au scientifique de nouveaux outils pour l'interprétation des phénomènes qu'il observe sur le terrain.

La mise en évidence de l'existence d'interactions au cours de nos différentes expérimentations nous permet d'apprécier le véritable risque écotoxicologique lié à la modification du milieu. Dans un cadre différent, ces modèles peuvent être utilisés comme base d'étude à la recherche des mécanismes chimiques et biologiques régissant les différents effets observés.

**BIBLIOGRAPHIE**

## **BIBLIOGRAPHIE**

- Adams S.M., et Gidding J.M., 1982. Review and evaluation of microcosm for assessing effects of stress in marine ecosystems. *Environ. Intem.* 7, 409-418.
- Ahsanullah M., D.S. Negilski, and M.C Mobley, 1981. Toxicity of zinc, cadmium and copper to the shrimp *Callinassa australiensis*. III. Accumulation of metals. *Marine Biology* 64, 311-316.
- Amiard-Triquet C., Metayer C., et J.C. Amiard, 1980. Etude du transfert de Cd, Pb, Cu et Zn dans les chaînes trophiques néritiques et estuariennes. II. Accumulation biologique chez les poissons planctonophages. *Water Res.* 14, 1327-1332.
- Aschner M., and J.L. Aschner, 1990. Manganese transport across the blood-brain barrier : relationship to iron homeostasis. *Brain Research Bull.* Vol 24, 857-860.
- Attar N.E., and J.M.Edward, 1982. Acute toxicity of cadmium, zinc, and cadmium-zinc mixture to *Daphnia magna*. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.* 11, 291-296.
- Bab R., P. Günzel, D. Henschler, J. Köning, D. Lorke, D. Neubert, E. Schütz, D. Schuppan, and G. Zbinden, 1982. LD50 Versus acute toxicity. Critical assessment of the methodology currently in use. *Arch. Toxicol.* 51, 183-186.
- Baccini P., and P.V. Roberts, 1976. Die Belastung der Gewässer durch Metalle. *Beil. Forsch. Tech. Neu Zürcher Z.* 18, 57-58. in : Förstner et al., 1981.

- Baudouin, M.F., and P Scoppa, 1974. Acute toxicity of various metals to freshwater zooplankton. *Bull. Environ. Contam. and Toxicol.* 12, 745.
- Benyahia M., 1991. Etude de la contamination du bivalve d'eau douce *Dressena polymorpha* par le plomb. Bioaccumulation, distribution tissulaire et élimination du métal. Incidence de paramètres biotiques et abiotiques. Thèse de doctorat, 183p, Metz.
- Besten P.J., P.T. Bosma, H.J. Herwig, D.J. Zandee, and P.A. Voogt, 1991. Effects of cadmium on metal composition and adenylate energy charge in the sea star *Asterias rubens*. *L. Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 21, 112-117.
- Boudou P., 1989. Proc. Interactions entre métaux sur la bioaccumulation. Appel d'offres, Ministère de l'environnement, France.
- Bouquegneau J.M., et F. Noël-lambot, 1977. L'accumulation du mercure à partir de l'eau et de la nourriture chez les poissons marins. *Rev. Int. Oceanogr. Med.* Tome XLVIII, 107-115.
- Boutier B., J.F. Chiffolleau, M.J.M. Latouche, et I. Philipps, 1989. La contamination de la Gironde par le cadmium. Origine, extension, importance. Rapports scientifiques et techniques de l'IFREMER n°14.
- Boutier B., et C. Alzieu, 1990. Les contaminants des sédiments littoraux : les niveaux et leur signification. Rapport Scientifique et technique de l'IFREMER.
- Bryan G.W., and L.G. Hummerstone, 1973. Adaptation of the polychaete *Nereis diversicolor* to estuarine sediments containing high concentrations of zinc and cadmium. *J. Mar. Biol. Assoc.* 53, 839-857.
- Bryan G.W., 1976. Heavy metal contamination in the sea. in : Cossa et Lassus, 1989.

- Bryan G.W., and L.G. Hummerstone, 1978. Heavy metals in the burrowing bivalve *Scrobicularia plana* from contaminated and uncontaminated estuaries. J. Mar. Biol. Assoc. 58, 401-419.
- Bryan G.W., W.J. Langston, L.G. Hummerstone, and G.R. Burt, 1985. A guide to the assessment of heavy metal contamination in estuaries using biological indicators. Occas. Publ. N°4, Mar. Biol. Assoc U.K., Plymouth.
- Campbell P.G.C., A.G. Lewis, P.M. Chapman, A.A. Crowder, W.K. Fletcher, B. Imber, S.N. Luoma, P.M. Stoke, and M. Winfrey, 1988. Biologically available metals in sediments. Conseil national de recherches Canada Publication NRCC n°27694. In : Boutier B., et C. Alzieu, 1990.
- Cossa D., and P. Lassus, 1989. Le cadmium en milieu marin, biogéochimie et écotoxicologie. Rapport scientifique de l'IFREMER N°16, 86pp.
- Delval C., 1984. Réaction du flet vis à vis des pollutions par les métaux (Cu, Zn, Cd, et Pb) sur le littoral de la mer du Nord : Détoxification, métallothionéines. Thèse de troisième cycle, Station marine de Wimereux, 170p.
- Depledge M.H., and P.S. Rainbow, 1990. Models of regulation and accumulation of trace metals in marine invertebrates. Comp. Biochem. Physiol. Vol 97c, No 1 pp 1-7.
- Elbaz-Poulichet F., 1988. Apports fluviaux et estuariens de plomb, cadmium et cuivre aux océans. Comparaisons avec l'apport atmosphérique. Thèse de doctorat d'état, Université de Paris VI.
- Everaarts J.M., 1986. The uptake and distribution of copper in the lugworm, *Arenicola Marina* (*Annelida polychaeta*). 20, 253-257.
- Fleming T.P. and K.S. Richards, 1981. A technique to quantify surface adsorption of heavy metals by soft-bodied invertebrates. Comp. Biochem. Physiol. Vol 69c, 391-394.

- Fleming T.P. and K.S. Richards, 1982. Uptake and surface adsorption of zinc by the freshwater tubificid oligochaete *Tubifex tubifex*. Comp. Biochem. Physiol. Vol 71c, 69-75.
- Fletcher P., and P.H.T. Beckett, 1987. The chemistry of heavy metals in digested sewage sludge-II. Heavy metal complexation with soluble organic matter. Wat. Res. Vol. 21, 1163-1172.
- Foster P.L., and F.M.M. Morel, 1982. Reserval of cadmium toxicity in a diatom : an interaction between cadmium activity and iron. Limnol. Oceanogr. 27, 745-752.
- Förstner U., 1984. Cadmium in sediments. Experiencia 40, 23-29.
- Förstner U., and G.T.W. Wittman, 1981. Metal pollution in the aquatic environment. 2nd ed. Springer-Verlag, Berlin, 485p.
- Fowler S.W., and G. Benayoun 1974. Experimental studies on cadmium flux through marine biota. in Cossa et Lassus 1989.
- Fowler S.W., and B. Oregioni, 1976. Trace metals in mussels from the N.W. Mediterranean. Mar. Polut. Bull. 7, 26-29.
- Fowler S.W., 1982. Biological transfer and processes. In : Cossa et Lassus, 1989.
- George S.G; and B.J.S. Pirie, 1980. Metabolism of zinc in the mussel *Mytilus edulis* : a combined ultrastructural and biochemical study. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 60, 575-590. In : Benyahia, 1991.
- Giddings J.C., 1973. Chemistry, man, and environmental change. An integrated approach. San Francisco, Canfield Press. In : Förstner and Wittman, 1981.
- Goodman G.T., 1974. How do chemical substances affect the environment. Proc. Roy. Soc. Lond. B185, 127-148.
- Haig A., D.P. Sturtevant, and K.D. Austen, 1980. Simultaneous acid extraction of six traces metals from fish tissue by hot-block

digestive and determination by Atomic abs. Spectrometry. Analyst 105, 125-130.

Hamilton A.L., and L.S. Valberg, 1974. Relationships between cadmium and iron absorption. Am. J; Physiol. 227, 1033-1037.

Hemelraad J., H.A. Kleinveld, A.M. de Roos, D.A. Holwerda, and D.I. Zandee, 1987. Cadmium Kinetic in Freshwater Clams. III. Effects of zinc on uptake and distribution of cadmium in *Anodonta cygnea*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 16: 95-101.

Hill C.J., and G. Matrone, 1970. Chemical parameters in the study of *in vivo* and *in vitro* interactions of transition elements. Fed. Proc., FASEB, 29, 1474.

Holwerda D.A., J.A. De Knecht, J. Hemelraad, and P.R. Veenhof, 1989. Cadmium kinetics in freshwater clams. Uptake of cadmium by the excised gill of *Anodonta anatina*. Bull. Environ. Toxicol. 42, 382-388.

Ireland M.P., and K.S. Richards 1981. Metal content, after exposure to cadmium, of two species of earthworms of known differing calcium metabolic activity. Env. Pollut. In : Flemming and Richards, 1981.

Jackim E., G. Morrison, and R. Teele, 1977. Effects of environmental factors on radiocadmium uptake by four species of marine bivalves. Mar. Biol. 40, 303-308.

Jenkins K.D., 1986. Relationships between free cadmium ion activity in sea water, cadmium accumulation and subcellular distribution and growth in polychaetes. Environ. Health Perspect. Vol 65, 205-210.

Jenne E.A., 1976. Control of Mn, Fe, Co, Ni, Cu, and Zn concentration in soils and water : the significant role of hydrous Mn and Fe-oxides. Am. Chem. Soc. Adv. Chem. Serv. 73, 337-387.

Krauskopf K. B., 1967. Introduction to geochemistry. New York, St Louis, San Francisco, McGraw-Hill. In : Förstner and Wittman, 1981.

- Larsonneur C., 1977. La cartographie des dépôts meubles sur le plateau continental français. Méthode mise au point et utilisée en Manche. J. Rech. Oceanogr. 2, 33-39.
- Loring D.H., 1991. Normalization of heavy-metal data from estuarine and coastal sediments. ICES J. Mar. Sci. 48, 101-115.
- Luten B.J., W. Bouquet, M.M. Burggraaf, A.B. Rauchbaar, and J. Rus, 1986. Trace metals in mussels (*Mytilus edulis*) from the Waddenzee, coastal North Sea and the estuaries of Ems, western and eastern Scheldt. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 36, 770-777. In Tarazona et al., 1991.
- Magos L., and M. Webb, 1978. Theoretical and practical considerations on the problem of metal-metal interaction. Environ. Health Prospect. 25, 151.
- Mance G., 1987. Pollution threat of heavy metals in aquatic environments. Elsevier Applied Science, London.
- Massey R.C., J.A. Burrell, D.J. McWeeny, and H. Crews, 1986. Speciation Studies on Simulated Gastro-Intestinal Digest of Foodstuffs. Tox. and Environm. Chemistry Vol 13, pp. 85-93.
- Mathes K., and G. Weidemann, 1990. A baseline-Ecosystem Approach to the Analysis of Ecotoxicological Effects. Ecotoxicol. and Environ. safety 20, 197-202.
- Metayer C., J.C. Amiard, C. Amiard-Triquet, et J. Marchand, 1980. Etude du transfert de quelques oligo-éléments dans les chaînes trophiques néritiques. Helgolender Meeresunters 34, 179-191.
- Nejmeddine A., 1987. Effets biologiques du cadmium sur un invertébré marin (*Nereis diversicolor*) Isolement et caractérisation d'une métalloprotéine intervenant dans les processus de détoxification. Thèse de troisième cycle, Lille I, 111p.

- Noël-Lambot F., 1980. La bioaccumulation du cadmium en milieu marin. Thèse de doctorat. Liège, 258p.
- Nriagu J.O., 1980a. Cadmium in the environment. Wiley series in advances in Environ. Sci. and Tech. in Cossa et Lassu, 1989.
- Nriagu J.O., 1980b. Nickel in the environment. Wiley series in advances in Environ. Sci. and Tech. In : Boutier et Alzieu, 1990.
- Nriagu J.O., and E. Nieboer, 1988. Chromium in the natural and human environments. Wiley series in advances in Environ. Sci. and Tech. Vol. 20. In : Boutier et Alzieu, 1990.
- Pamatmat M.M., 1982. Metabolism of a burrowing polychaete : precaution needed when measuring toxic effects. Marine Pollution Bull. Vol 13, 364-367.
- Pearson R., 1968. Hard and soft acids and bases, HSAB, part I, Fundamental principles. J. Chem. Educ. 45, 581-587.
- Phillips D.J.H., 1976. The common mussel *Mytilus edulis* as an indicator of pollution by zinc, cadmium, lead and copper, I : Effects of environmental variables on uptake of metals. Mar. Biol. 38, 59-69.
- Phillips D.J.H., 1980. Toxicity and accumulation of cadmium in marine and estuarine biota. In : Nriagu, 1980a.
- Pounds J.G., and J.F. Rosen, 1988. Cellular  $Ca^{2+}$  homeostasis and  $Ca^{2+}$ -mediated cell processes as critical target for toxicant action : conceptual and methodological pitfalls. Toxicol. and Applied Pharmacol. 94, 331-334.
- Pyne K.S., F. Iftode, and J.J. Cury 1983. The effects of cadmium on the growth pattern and ultrastructure of the ciliate *Tetrahymena pyriformis*, and the antagonistic effect of calcium. Biol. Cell. 48, 121-132.

- Pynnönen K., 1990. Effect of acidic conditions on cadmium kinetics and electrolyte balance in the freshwater clam *Unio pictorium*. *Ann Zool. Fennici* 27, 351-360.
- Ravera O., 1984. Cadmium in freshwater ecosystems. *Experientia* 40, 2-12.
- Ray S., D.W. Macless, and D. Pezzack, 1979 . Chelation and interelemental effects on the bioaccumulation of heavy metals by marine invertebrates. In : Ray S., 1984.
- Ray S., D.W. Macless, and D. Pezzack, 1980. Accumulation of cadmium by *Nereis virens*.. *Archs. Envir. Contam. Toxic.* 9, 1-8.
- Ray S., 1984. Bioaccumulation of cadmium in marine organisms. *Experientia* 40, 14-23.
- Roméo M., 1991. Toxicologie des métaux traces dans l'environnement marin. *Océanis* vol. 17, Fasc. 4, 383-402.
- Romont R., 1991. Etude des teneurs métalliques des sédiments et de quelques invertébrés endobenthiques de l'estuaire de l'Aa. Mémoire de D.E.A. de Toxicologie de l'environnement, Metz 53p.
- Rob N.J., and P.J. Clemens van Dick, 1988. Role of complexation processes in cadmium mobilization during estuarine mixing. *Nature* Vol. 336, N°6195, 151-154.
- Sanders J.G., and S.J. Cibik, 1985. Reduction of growth rate and resting spore formation in a marine diatom to low levels of cadmium. *Mar. Environ. Res.* 16, 165-180.
- Sauer G.R., and N. Watabe, 1988. The effects of heavy metals and metabolic inhibitors on calcium uptake by gills and scales of *Fundulus heteroclitus in vitro*. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol 91C, N°2, 473-478.

- Schäfer S.G., and W. Forth 1983. The influence of tin, nickel, and cadmium on the intestinal absorption of iron. *Ecotoxicol. and Environ. Safety* 7, 87-95.
- Schroder H.A., A.P. Nason, I.H. Tipton, and J.J. Balassa, 1967. Essential trace metals in man : zinc relation to environmental cadmium. *J. Chronic. Dis.* 20, 179-210. in Förstner et al., 1981.
- Schulz-baldes M., 1978. Lead transport in the common mussel *Mytilus edulis*. *Physiology and behaviours of marine organisms*. Pergamon Press, 211-218.
- Septier F., 1989; Etude préliminaire des facteurs conditionnant la bioaccumulation et la toxicité de divers métaux lourds chez quelques invertébrés benthiques du littoral Nord-Pas de Calais. Mémoire de DEA de toxicologie de l'environnement, 120pp.
- Septier F., et S. Demuynck, 1990. Transfert des métaux traces du monde minéral aux organismes vivants. Etude en milieu estuarien. Rapport IFREMER-Région : " Devenir des micropolluants métalliques".,14pp.
- Septier F., S. Demuynck, P. Thomas, et N. Dhainaut-Courtois, 1991. Bioconcentration de métaux lourds chez une annélide polychète estuarienne : *Nereis diversicolor*. *Oceanologica Acta* vol. sp. n°11. 263-274.
- Shears M.A., and G.L. Fletcher, 1982. Regulation of  $Zn^{2+}$  uptake from the gastrointestinal tract of a marine teleost, the winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus* ). *Canadian J. of Fisheries and aquatic sciences* 40, 197-205.
- Sibley T.H., and J.J. Morgan, 1977. Equilibrium speciation of trace metals in fresh water : sea water mixture. *Proc. Int. Conf. Heavy Met. Environ.*, Toronto I, 319-338.
- Simkiss K., 1979. Metal ion in cells. *Endeavour, new Series*, Vol. 3, N°1, 1-6.

Singer P.C., 1977. Influence of dissolved organics on the distribution, transport, and fate of heavy metals in aquatic system. In : Fate of pollutants in the air and water environment. Part I, Suffet, I.H. (ed.) New York, 155-182.

Sunda W.G., D.W. Engel, et R.M.Thuotte, 1978. Effect of chemical speciation on toxicity of cadmium to grass shrimp, *Palaemonetes pugio* : importance of free cadmium ion. Sci . Technol. 12, 409-413.

Tarazona J.V., M.J. Munoz, G. Carbonell, M. Carballo, J.A. Ortiz, and A. Castano, 1991. A toxicological assesement of water pollution and its relationship to aquaculture development in Algeciras Bay, Cadiz, Spain. Arch. Environ. Toxicol. 20, 480-487.

Tessier A., P.H.C Campbell, J.D. Auclair, and M. Bisson, 1984. Relationships between the partitioning of trace metals in sediment and their accumulation in the tissues of the freshwater mollusc *Elliptio complanata* in a mining area. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 41, 1463-1472.

Vahrenkamp H., 1973. Metalle in lebensprozessen. Chemie Unserer Zeit 7, 97-105. in : Förstner et al., 1981.

Vallée B.L., 1976. Zinc biochemistry : a perspective. T.I.B.S., 88-91.

Verbost P.M., J.Van Rooij, G. Flik, R.A.C. Lock and S.E. Wendelaar Bonga, 1989. The movement of cadmium through freshwater trout branchial epithelium and interference with calcium transport. J. Exp. Biol. 145, 185-197.

Veriopoulos G. and S. Dimas. 1988. Combined Toxicity of Copper, Cadmium, Zinc, Lead, Nickel, and Chrome to the Copepod *Tisbe Holothuriae*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 41, 378-384.

Viarengo A., 1985. Biochemical effects of traces metals. Mar. Pollut. Bull. 18, 153-158. In : Roméo, 1991.

Viarengo A., and P. Nicotera, 1991. Possible role of  $\text{Ca}^{2+}$  in heavy metal cytotoxicity. *Comp. Biochem. Physiol*, vol. 100c, n°1/2, 81-84.

Welte N., N. Dies, and A. Montlei, 1983. Etude des différentes méthodes de spéciation des métaux lourds dans les sédiments. I. Etude bibliographique. *Environm.Tech. Letters*, Vol 4, 79-86.

## ANNEXES

Matrices des corrélations : étude préliminaire aux résultats du chapitre III, partie A

Construction d'un plan d'expériences 24

Résultats des dosages de métaux pour les plans d'expérience du Chapitre III, partie B.

- Plan d'expérience A : Chapitre III B 1
- Plan d'expérience B : Chapitre III B 2
- Plan d'expérience C : Chapitre III B 3
- Plan d'expérience D : Chapitre III B 4

**Matrice des corrélations**  
animaux (a) et sédiments (s) normalisés par l'aluminium  
Site de l'estuaire de l'Aa.  
 $r=0,576$  pour 10 ddl (risque 0,05)

	Cda	Cds	Cra	Crs	Cua	Cus	Fea	Fes
Cda	1							
Cds	-.47	1						
Cra	.758	-.355	1					
Crs	-.174	-.672	-.402	1				
Cua	.757	-.495	.524	.037	1			
Cus	-.376	.958	-.367	-.617	-.294	1		
Fea	.6	-.19	.823	.557	.266	-.3	1	
Fes	-.431	-.173	-.744	.809	-.076	-.045	-.924	1
Mna	.655	-.33	.889	-.452	.356	-.416	.981	-.867
Mns	-.448	-.971	-.429	-.577	-.372	.996	-.343	-.006
Nia	.731	-.244	.991	-.488	.466	-.262	.811	-.778
Nis	-.563	.934	-.582	-.41	-.439	.963	-.509	.176
Pba	.71	-.287	.837	-.496	.547	-.294	.921	-.805
Pbs	-.424	.964	-.415	-.583	-.34	.998	-.339	-.008
Tia	.72	-.374	.856	-.404	.395	-.448	.974	-.827
Tis	-.187	-.712	-.259	.913	-.148	-.77	-.292	.554
Va	.677	-.443	.853	-.318	.356	-.531	.953	-.784
Vs	.47	-.912	.525	.436	.316	-.977	.493	-.168
Zna	.395	.402	.561	-.897	.119	.322	.749	-.897
Zns	-.439	.969	-.422	-.582	-.36	.997	-.338	-.01

	Mna	Mns	Nia	Nis	Pba	Pbs	Tia	Tis
Mna	1							
Mns	-.464	1						
Nia	.866	-.323	1					
Nis	-.623	.981	-.483	1				
Pba	.94	-.362	.806	-.53	1			
Pbs	-.457	.999	-.309	.977	-.345	1		
Tia	.982	-.497	.825	-.651	.938	-.49	1	
Tis	-.208	-.715	-.347	-.571	-.362	-.732	-.174	1
Va	.972	-.573	.812	-.713	.902	-.568	.989	-.069
Vs	.596	-.982	.428	-.99	.466	-.984	.62	.638
Zna	.657	.279	.609	.103	.666	.284	.629	-.738
Zns	-.459	1	-.316	.979	-.353	1	-.492	-.723

	Va	Vs	Zna	Zns
Va	1			
Vs	.692			
Zna	.56	-.126		
Zns	-.568	-.982	.284	

**Matrice des corrélations**  
animaux (a) et sédiments (s) normalisés par l'aluminium  
Site de l'estuaire de l'Aa.  
 $r=0,576$  pour 10 ddl (risque 0,05)

	Cda	Cds	Cra	Crs	Cua	Cus	Fea	Fes
Cda	1							
Cds	-.381	1						
Cra	.758	-.008	1					
Crs	-.205	-.352	-.312	1				
Cua	.757	-.719	.524	-.127	1			
Cus	.207	.19	.415	.547	-.079	1		
Fea	.6	.341	.823	-.367	.266	.542	1	
Fes	.093	-.174	.13	.866	-.012	.881	.14	1
Mna	.655	.205	.889	-.28	.356	.586	.981	.228
Mns	-.552	.677	-.411	-.611	-.6	-.585	-.215	-.757
Nia	.731	.064	.991	-.399	.466	.345	.811	.034
Nis	-.784	.246	-.85	-.077	-.61	-.655	-.782	-.499
Pba	.71	.021	.837	-.414	.547	.357	.921	.041
Pbs	-.559	.923	-.278	-.45	-.77	-.177	.028	-.449
Tia	.72	.149	.856	-.243	.395	.588	.974	.254
Tis	-.236	-.121	-.237	.966	-.266	.703	-.206	.922
Va	.677	.141	.853	-.14	.356	.668	.953	.354
Vs	.235	-.073	.338	.716	.05	.96	.378	.969
Zna	.395	.545	.561	-.788	.119	.002	.749	-.435
Zns	-.469	.59	-.363	-.699	-.483	-.681	-.206	-.848
Ala	.677	.219	.863	-.306	.362	.565	.991	.2
Als	.182	-.089	.27	.767	.016	.946	.307	.985

	Mna	Mns	Nia	Nis	Pba	Pbs	Tia	Tis
Mna	1							
Mns	-.361	1						
Nia	.866	-.302	1					
Nis	-.872	.763	-.78	1				
Pba	.94	-.353	.806	-.845	1			
Pbs	-.125	.902	-.183	.576	-.238	1		
Tia	.982	-.406	.825	-.886	.938	-.179	1	
Tis	-.142	-.541	-.317	-.125	-.337	-.282	-.177	1
Va	.972	-.463	.812	-.902	.902	-.206	.989	-.009
Vs	.458	-.759	.247	-.661	.264	-.409	.476	.809
Zna	.657	.354	.609	-.292	.666	.431	.629	-.648
Zns	-.345	.998	-.252	.735	-.295	.836	-.388	-.656
Ala	.993	-.334	.84	-.856	.945	-.104	.993	-.167
Als	.387	-.752	.178	-.607	.19	-.408	.407	.852

	Va	Vs	Zna	Zns	Ala	Als
Va	1					
Vs	.566	1				
Zna	.56	-.219	1			
Zns	-.458	-.842	.39	1		
Ala	.977	.432	.691	-.317	1	
Als	.501	.997	-.284	-.84	.361	1

**Matrice des corrélations**  
animaux (a) et sédiments (s) normalisés par l'aluminium  
Site de Boulogne.

$r=0,515$  pour 12 ddl (risque 0,05)

	Cda	Cds	Cra	Crs	Cua	Cus	Fea	Fes
Cda	1							
Cds	.534	1						
Cra	.544	.244	1					
Crs	-.29	-.793	-.126	1				
Cua	-.129	-.421	.273	.638				
Cus	-.159	.266	-.66	.052	-.104	1		
Fea	.524	.168	.744	-.259	.097	-.77	1	
Fes	-.002	-.157	-.115	.693	.422	.53	-.421	1
Mna	955	.523	.579	-.192	.013	-.114	.521	.088
Mns	508	.533	.496	-.068	.026	.096	.19	.522
Nia	202	-.294	.79	.158	.426	-.865	.639	-.266
Nis	505	.53	.459	-.023	.064	.169	.139	.585
Pba	-.062	-.132	.185	-.327	-.077	-.54	.25	-.617
Pbs	42	.737	.017	-.2	-.035	.687	.21	.493
Tia	736	.338	.653	-.42	.015	-.609	.868	-.51
Tis	-.255	-.59	.007	.515	.429	-.196	-.176	.133
Va	.96	.587	.584	-.456	-.149	-.266	.642	-.219
Vs	-.251	-.769	.017	.832	.536	-.205	-.172	.494
Zna	.909	.454	.611	-.31	-.046	-.303	.627	-.217
Zns	.461	.965	.185	-.769	-.476	.307	.079	-.065

	Mna	Mns	Nia	Nis	Pba	Pbs	Tia	Tis
Mna	1							
Mns	.506	1						
Nia	.216	.006	1					
Nis	.521	.995	-.039	1				
Pba	-.274	-.269	.401	-.344	1			
Pbs	.516	.615	-.501	.674	-.623	1		
Tia	.711	.097	.511	.062	.299	-.052	1	
Tis	-.226	-.273	.457	-.266	.071	-.399	-.255	1
Va	.905	.411	.241	.393	.097	.326	.836	-.348
Vs	-.259	.001	.31	.006	.09	-.408	-.313	.48
Zna	.932	.244	.357	.245	-.07	.29	.84	-.175
Zns	.406	.633	-.36	.619	-.079	.701	.198	-.588

	Va	Vs	Zna	Zns
Va	1			
Vs	-.379	1		
Zna	.918	-.331	1	
Zns	.498	-.679	.294	1

**Matrice des corrélations**  
animaux (a) et sédiments (s) totaux non normalisés  
Site de Boulogne.  
 $r=0,515$  pour 12 ddl (risque 0,05)

	Cda	Cds	Cra	Crs	Cua	Cus	Fea	Fes
Cda	1							
Cds	.25	1						
Cra	.544	.131	1					
Crs	-.435	-.732	-.37	1				
Cua	-.129	-.439	.273	.564	1			
Cus	-.254	.135	-.767	.117	-.219	1		
Fea	.524	.353	.744	-.425	.097	-.732	1	
Fes	-.283	-.442	-.641	.664	.259	.759	-.747	1
Mna	.955	.231	.579	-.334	.013	-.217	.521	-.165
Mns	.524	-.275	.476	-.331	.028	-.212	.166	-.078
Nia	.202	.022	.79	-.008	.426	-.846	.639	-.62
Nis	.552	-.19	.427	-.351	.014	-.081	.121	.012
Pba	-.062	.281	.185	-.324	-.077	-.376	.25	-.632
Pbs	.248	.741	-.177	-.487	-.332	.658	-.098	.194
Tia	.736	.568	.653	-.517	.015	-.499	.868	-.643
Tis	-.455	.225	-.443	.461	.126	.267	-.175	.24
Va	.96	.437	.584	-.579	-.149	-.285	.642	-.435
Vs	-.598	-.005	-.719	.604	.093	.529	-.508	.535
Zna	9.09	.458	.611	-.401	-.046	-.271	.627	-.327
Zns	2.34	.997	.096	-.764	-.496	.166	.317	-.441
Ala	8.98	.529	.633	-.553	-.071	-.344	.739	-.471
Als	0.44	.925	.023	-.475	-.326	.08	.323	-.41

	Mna	Mns	Nia	Nis	Pba	Pbs	Tia	Tis
Mna	1							
Mns	.533	1						
Nia	.216	-.034	1					
Nis	.584	.985	-.121	1				
Pba	-.274	-.316	.401	-.398	1			
Pbs	.309	-.041	-.462	.118	-.233	1		
Tia	.711	.095	.511	.102	.299	.205	1	
Tis	-.401	-.961	.04	-.919	.124	.107	-.078	1
Va	.905	.423	.241	.452	.097	.321	.863	-.389
Vs	-.559	-.883	-.268	-.834	-.014	.091	-.409	.917
Zna	.932	.267	.257	.319	-.07	.363	.84	-.163
Zns	.201	-.255	-.028	-.172	.296	.754	.531	.189
Ala	.904	.33	.347	.371	.028	.364	.923	-.263
Als	.031	-.599	.142	-.534	.378	.572	.506	.548

	Va	Vs	Zna	Zns	Ala	Als
Va	1					
Vs	-.586	1				
Zna	.918	-.413	1			
Zns	.422	-.019	.418	1		
Ala	.951	-.533	.947	.497	1	
Als	.24	.289	.33	.908	.368	1



## Plan d'expérience A

Quatre répétitions

Dosages du cadmium, manganèse, fer et zinc dans les animaux  
( $\mu\text{g/g}$  poids sec)

Cadmium	Manganèse
---------	-----------

7,26	23,98	33,27	23,88	154,09	147,25	170,45	171,63
6,23	22,56	24,67	25,24	155,35	131,11	126,13	146,15
13,66	43,93	49,42	59,65	167,35	44,79	131,25	144,79
13,69	67,86	52,23	52,89	175,54	170,76	145,24	130,75
8,94	23,39	35,29	21,99	271,52	192,40	295,53	209,74
6,39	23,05	39,91	21,33	234,57	229,29	263,9	189,89
12,42	43,6	49,39	55,76	234,03	202,72	241,43	253,05
12,64	57,47	64,32	46,35	248,14	247,46	247,93	182,86
5,48	28,44	38,86	23,92	167,29	138,22	129,15	125,43
5,75	25,64	38,27	29,52	137,17	106,96	100,00	93,62
11,53	48,02	55,74	53,34	133,44	116,81	73,38	98,97
12,59	47,33	65,06	45,25	140,33	99,87	52,45	72,95
7,09	17,36	30,79	50,22	250,38	229,37	91,23	177,54
6,67	17,13	56,93	22,55	233,97	178,14	98,51	124,09
15,01	60,28	66,78	47,83	239,52	272,17	44,05	113,39
16,83	20,25	52,42	53,69	274,85	248,83	102,59	174,04

Fer	Zinc
-----	------

247,26	425,96	762,86	550,56	96,71	249,00	207,06	197,61
256,61	440,72	410,07	473,07	131,09	300,67	213,47	225,53
250,51	425,59	435,81	468,34	137,53	220,28	204,08	182,24
309,5	538,48	481,99	546,54	112,23	451,59	209,37	172,5
252,28	327,12	485,96	300,48	148,69	244,76	196,23	143,75
261,19	495,77	534,61	426,42	132,41	235,52	226,11	172,02
215,00	364,72	478,56	405,42	131,45	267,83	197,13	209,10
295,46	506,38	475,68	382,86	142,79	308,8	216,94	163,34
290,92	404,5	480,27	539,65	150,86	318,02	271,83	162,07
301,68	391,76	486,95	379,56	142,60	295,25	298,45	244,19
240,9	315,39	431,69	506,68	137,01	323,16	239,34	221,91
325,18	383,87	450,65	366,89	121,17	234,27	202,00	122,03
288,8	383,94	394,15	546,33	172,37	282,11	219,53	256,38
309,05	357,47	480,53	394,45	160,32	275,96	287,13	197,04
263,33	529,15	436,35	348,85	153,23	368,13	274,61	224,36
275,25	432,16	490,31	470,49	179,92	315,55	256,05	239,07

## Plan d'expérience B

Trois répétitions

Dosages du cadmium, manganèse, fer et zinc dans les animaux  
( $\mu\text{g/g}$  poids sec)

### Fer

344,69	384,81	352,9
367,58	363,99	348,1
331	331,22	330,15
393,55	491,73	320,51
335,01	381,88	291,05
381,04	446,49	522,26
340,96	412,23	310,64
364,58	420,34	370,5
352,10	377,53	366,08
365,35	343,03	368,05
444,18	460,7	309,03
386,24	400,68	358,62
377,63	352,52	343,09
390,43	372,83	318,25
337,35	425,45	339,85
373,35	421,84	349,78

### Cadmium

38,12	43,93	49,53
37,5	30,36	40,79
77,00	68,51	86,15
53,00	101,93	80,00
43,31	44,36	40,70
41,84	66,41	43,03
99,42	85,44	106,94
93,74	102,54	81,55
45,66	36,34	48,66
41,21	47,81	45,06
97,00	86,48	75,32
65,53	105,97	95,27
34,97	45,18	40,80
45,00	45,07	44,47
88,67	110,32	85,8
96,13	76,95	93,88

### Manganèse

32,71	33,07	32,58
29,75	28,03	33,92
28,44	28,12	29,91
26,00	32,14	23,16
45,62	48,8	59,02
52,48	55,3	52,52
56,76	54,37	53,10
50,64	52,88	56,00
30,54	28,90	30,80
27,65	23,09	28,59
26,94	27,62	30,98
28,80	28,11	25,55
52,41	52,37	52,34
53,56	46,30	48,14
47,19	49,92	44,71
68,13	68,18	76,21

### Zinc

215,68	200,63	242,6
209,33	182,35	208,37
225,22	167,96	222,05
202,88	224,24	224,00
221,57	214,91	222,62
204,27	278,90	250,05
231,6	191,33	264,57
199,58	220,00	217,64
285,94	217,50	249,93
252,06	258,27	310,09
292,55	245,13	259,97
214,63	258,47	248,36
214,29	251,85	246,64
248,78	234,77	227,93
278,65	303,44	240,32
290,29	260,74	279,07

## Plan d'expérience C

Deux répétitions

Dosages du cadmium, manganèse, fer et zinc dans les animaux  
( $\mu\text{g/g}$  poids sec)

### Fer

303,58	341,5
344,19	253,45
371,85	394,37
342,9	351,11
375,85	440,67
306,97	343,76
430,19	278,32
407,42	325,51
420,09	339,89
285,00	191,58
371,37	223,54
241,9	289,82
310,65	318,00
348,78	284,10
424,41	290,77
361,42	266,6

### Cadmium

83,41	77,36
175,79	105,28
92,31	72,24
142,61	139,33
139,71	74,29
145,9	131,55
98,36	63,34
134,34	152,84
48,21	45,52
78,34	134,72
134,49	33,2
90,33	74,85
66,89	53,05
77,52	100,00
96,74	42,45
83,97	103,8

### Manganèse

45,19	41,16
41,14	28,23
42,08	34,24
38,22	32,31
77,98	69,28
61,35	53,26
71,75	49,61
58,68	58,57
28,98	33,61
33,5	18,84
34,87	17,07
24,11	21,46
39,19	38,57
35,41	41,57
56,69	46,44
44,73	38,2

### Zinc

223,84	192,02
213,05	154,57
301,81	232,53
239,38	245,31
287,02	223,08
179,08	193,83
313,46	180,86
230,18	194,00
199,31	174,98
194,9	133,38
308,36	178,62
228,70	119,01
207,55	251,61
185,11	212,88
342,97	170,2
239,02	180,00

# Plan d'expérience D

Deux répétitions

Dosages du cadmium, manganèse, fer et zinc dans les animaux  
( $\mu\text{g/g}$  poids sec)

Partie antérieure

## Fer

712,02	727,1
684,31	721,41
412,98	655,30
636,89	687,43
664,4	703,16
816,5	822,14
802,14	828,62
738,80	759,24
708,8	722,92
752,3	747,04
887,9	1039,18
637,12	644,80
699,00	708,18
633,19	620,21
717,90	789,66
611,03	669,37

## Cadmium

84,03	89,89
60,94	61,50
76,54	83,20
97,7	100,5
54,48	61,34
96,99	107,55
107,60	123,16
119,92	141,52
96,48	105,44
77,7	79,16
128,8	183,7
111,75	129,95
66,63	76,95
64,12	71,62
125,23	126,87
117,1	124,1

## Manganèse

15,62	16,26
11,21	15,73
14,75	17,83
15,03	16,49
25,38	27,12
32,31	29,05
14,08	14,76
33,33	38,57
30,06	27,64
12,14	14
19,35	22,31
28,47	35,39
29,3	27,10
36,79	41,03
24,36	27,74
42,12	47,32

## Zinc

989,96	1014,38
564,20	613,8
501,10	518,06
814,07	817,45
738,03	747,69
1341,00	1449,90
1038,90	1088,02
886,02	881,30
849,86	896,30
878,2	933,56
1267,4	1476,34
798,74	885,60
796,1	809,02
729,67	755,39
955,7	975,40
766,9	821,04

# Plan d'expérience D

Deux répétitions

Dosages du cadmium, manganèse, fer et zinc dans les animaux  
( $\mu\text{g/g}$  poids sec)

Partie moyenne

## Fer

366,89	398,73
396,55	429,93
358,9	370,96
362,23	377,67
384,12	388,8
403,9	433,32
303,78	296,62
335,28	351,20
463,1	482,66
427,46	449,44
330,07	346,25
455,20	468,18
398,04	431,04
424,47	429,91
426,84	451,26
365,5	376,78

## Cadmium

36,78	48,1
33,47	38,91
67,7	91,14
70,8	76,12
34,12	42,2
49,04	61,00
67,99	80,27
64,87	74,81
41,45	45,89
38,74	46,16
69,04	85,84
92,67	106,23
44,05	50,99
37,42	45,8
97,48	153,8
72,59	87,59

## Manganèse

28,94	33,74
23,3	25,06
25,81	27,21
27,01	26,91
51,37	49,67
50,06	54,24
47,62	49,94
37,87	47,27
26,17	35,75
24,43	31,49
22,54	24,38
22,05	25,47
46,98	59,28
47,42	46,12
42,25	51,87
49,74	80,76

## Zinc

208,06	215,0
203,91	199,61
192,54	204,98
195,14	194,84
199,9	192,82
299,89	281,93
227,32	188,98
171,8	206,02
269,7	291,0
304,73	281,53
259,38	281,80
309,77	377,53
304,12	299,76
246,2	224,82
392,46	476,8
253,40	281,8

## Plan d'expérience D

Deux répétitions

Dosages du cadmium, manganèse, fer et zinc dans les animaux  
( $\mu\text{g/g}$  poids sec)

Parties postérieure

Fer	
-----	--

431,74	485,62
442,03	454,29
403,17	349,93
397,9	434,4
539,41	509,05
579,36	540,5
587,12	612,88
406,23	428,27
429,94	477,48
483,18	517,46
588,27	612,39
303,14	85,96
476,12	584,94
498,19	433,67
529,37	583,67
543,51	520,41

Cadmium	
---------	--

40,06	51,02
37,37	46,47
89,18	84,38
93,64	105,68
53,34	42,9
59,72	86,0
80,81	85,87
88,13	101,93
66,31	85,73
60,43	76,51
98,19	94,65
107,3	114,48
71,49	60,65
59,92	37,94
113,70	198,14
104,71	74,61

Manganèse	
-----------	--

37,91	44,85
39,02	24,10
32,17	27,33
38,13	29,23
59,23	74,63
66,36	67,7
61,01	50,75
59,18	51,34
39,79	32,47
34,81	36,53
34,36	31,48
32,07	40,69
61,6	70,9
57,11	37,07
54,43	60,71
64,74	76,6

Zinc	
------	--

229,41	254,65
233,72	241,72
224,19	232,21
248,37	274,19
244,79	259,75
287,04	537,36
283,13	270,13
265,47	257,93
321,73	273,91
342,15	305,93
338,44	361,8
349,17	337,99
356,27	395,87
296,75	325,63
427,12	390,08
308,98	268,66

