

RAPPORT D'ETUDE

Consultation n° 2015-055

« Réalisation d'une étude écotoxicologique
basée sur la méthode de bio-essais sur Gammare »

Maîtrise d'ouvrage



AGENCE DE L'EAU
ADOUR-GARONNE

Agence de l'eau Adour-Garonne
90 rue de Férétra
31078 Toulouse

Maîtrise d'oeuvre



BIOMÆ S.A.S.
Hébergement Irstea Lyon-Villeurbanne
5 rue de la Doua, 69100 Villeurbanne

@ / contact@biomae.fr

☎ / 04.37.43.13.79

🌐 / www.biomae.com

Table des matières

1. BIOMÆ S.A.S.	5
a. Origine des outils BIOMÆ	5
b. Présentation de l'équipe BIOMÆ	5
c. Expertise de BIOMÆ	6
o Approche dite de « biosurveillance active »	6
o Production d'un capteur biologique « contrôle »	6
o Réalisation de biotests <i>in situ</i>	7
o Comparaison à nos valeurs de référence (bases de données)	7
2. Contexte d'étude	8
a. Description de la problématique de l'étude	8
b. Liste des stations et des campagnes de mesure	9
c. Liste des biotests mis en place au cours de l'étude	10
3. Matériels et méthodes	11
a. Matériel biologique	11
b. Procédure d'encagement	11
c. Bioaccumulation de micropolluants métalliques et organiques.....	13
d. Alimentation	15
e. Neurotoxicité	16
f. Reproduction	17
g. Perturbation endocrinienne	18
h. Traitement des données et analyse statistique	19
4. Résultats et interprétations	20
a. Rapport d'échantillonnage	20
b. Paramètres physico-chimiques	20
c. Bioaccumulation « métaux »	22
d. Bioaccumulation « organiques »	25
e. Mesure des effets toxiques.....	28
f. Bilan des analyses par station de mesure.....	30
5. Conclusion	33

Table des illustrations

Figures

Figure 1 : Hébergement de BIOMÆ S.A.S.	5
Figure 2 : Organigramme de la société BIOMÆ S.A.S.	5
Figure 3 : Représentation schématique de notre approche « in situ »	6
Figure 4 : Photographie latérale d'un gammare, Gammarus fossarum	6
Figure 5 : Dispositif de maintien d'organismes « contrôles »	7
Figure 6: Plan de localisation des 21 stations de mesure	8
Figure 7 : Colonne de tamis certifiés	11
Figure 8 : Calibration manuelle d'individus « contrôles »	11
Figure 9 : Feuille et disque d'aulne <i>Alnus glutinosa</i>	11
Figure 10 : Cylindres en polypropylène utilisées pour l'encagement de gammares	11
Figure 11 : Cages conditionnées en fûts de transport prêtes à l'envoi sur les sites d'étude	11
Figure 12 : Fûts de transport oxygénés et thermorégulés en glacière	11
Figure 13 : Transplantation in situ	12
Figure 14 : Système d'immersion contenant les cages de gammares	12
Figure 15 : Exemple de disques photocopiés	15
Figure 18 : Préparation d'une microplaque pour la mesure	16
Figure 19 : Mesure des cinétiques d'absorption	16
Figure 16 : Postes d'analyses biométriques	17
Figure 17 : Microdissection d'un gammare femelle	17
Figure 20 : Observation tégumentaire au microscope optique (x200) pour la détermination du stade de mue	18
Figure 21 : Photographie des ovocytes au microscope optique (x50) pour la mesure de la surface ovocytaire moyenne	18

Tableaux

Tableau 1 : Synthèse des stations et des campagnes de mesure	9
Tableau 2 : Synthèse des biotests de chimie et de toxicité	10
Tableau 3 : Liste des micropolluants métalliques et organiques mesurés	13
Tableau 4 : Paramètres physico-chimiques suivis	21
Tableau 5: Micropolluants métalliques pour lesquels une valeur seuil est disponible	23
Tableau 6: Micropolluants métalliques supplémentaires pour lesquels il n'y a pas de valeur seuil	24
Tableau 7: Micropolluants organiques – Hydrocarbures HAP	26
Tableau 8: Micropolluants organiques – Organochlorés	27
Tableau 9 : Effets toxiques	28

Lexique

Bioaccumulation : La bioaccumulation désigne la capacité des organismes vivants à absorber et à concentrer certaines substances chimiques.

Biodisponibilité : La biodisponibilité correspond à la dose des substances chimiques dans l'environnement réellement assimilable par un organisme vivant, et donc potentiellement toxique.

Biotest (ou bioessai) : Un biotest a pour objectif de mesurer une ou plusieurs réponses biologiques d'organismes vivants afin d'évaluer l'effet de substances chimiques ou d'échantillons environnementaux.

Biomarqueur : Un biomarqueur est un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant.¹

Ecotoxicologie : L'écotoxicologie est une discipline scientifique située à l'interface entre l'écologie et la toxicologie, née de la reconnaissance du fait qu'un nombre croissant de substances chimiques, à caractère polluant, contaminent tout ou partie de la biosphère et ont des effets délétères sur les êtres vivants.

Embryogenèse : L'embryogenèse est le processus de formation d'un organisme pluricellulaire, végétal ou animal, de la cellule œuf issue de la rencontre des gamètes parentaux à un être vivant autonome.

Micropolluant : Un micropolluant est une substance (minérale, biologique, organique, radioactive...) polluante (et donc altéragène biologique, physique ou chimique) qui, à des concentrations infimes (microgrammes ou moins) dans l'eau, l'air ou le sol, peut avoir une action toxique ou écotoxique pour tout ou partie des organismes ou l'écosystème.

Mue : Chez les arthropodes (insectes, crustacés, arachnides...), comme chez tous les Ecdysozoaires, la mue consiste au renouvellement de la cuticule, l'enveloppe externe plus ou moins rigide et inextensible de l'animal. Les mues sont nécessaires à la croissance ou à la métamorphose. Le rejet de la cuticule porte plus particulièrement le nom d'exuviation, alors que le mot mue peut englober des phénomènes préparatoires et consécutifs à l'exuviation. L'ancienne cuticule qu'abandonne l'animal, l'*exuvie*, est parfois aussi appelée mue.

Ovocyte : L'ovocyte est la cellule sexuelle femelle des métazoaires.

Ovogenèse : L'ovogenèse est le processus aboutissant à la production des ovocytes

Perturbateurs endocriniens : Un perturbateur endocrinien est une molécule qui mime, bloque ou modifie l'action d'une hormone et perturbe le fonctionnement normal d'un organisme. Ces molécules agissent sur l'équilibre hormonal et peuvent provoquer des effets indésirables sur la santé en altérant les grandes fonctions physiologiques d'un individu telles que la croissance, le développement, le comportement, ou encore la fonction sexuelle et reproductrice.

Vitellogenèse : Processus au cours duquel le vitellus est produit et est accumulé dans les ovocytes comme réserve énergétique pour assurer le développement des embryons.

¹ Lagadic *et al.* (1997).

1. BIOMÆ S.A.S.

a. Origine des outils BIOMÆ

La société BIOMÆ S.A.S. est une jeune entreprise innovante² créée en 2014 suite à un transfert de technologie de Irstea³ avec licence d'exploitation. Cette technologie a été développée et maturée pendant près de 10 ans par l'équipe d'écotoxicologie de Irstea Lyon-Villeurbanne⁴. La société est hébergée dans les locaux de Irstea du centre de Lyon-Villeurbanne.



Figure 1 : Hébergement de BIOMÆ S.A.S.

BIOMÆ propose un savoir-faire innovant et breveté dans le domaine de la biosurveillance active des milieux aquatiques d'eau douce permettant d'expertiser la contamination chimique (*i.e.*, biodisponibilité⁵ des micropolluants⁶ métalliques et organiques) et la toxicité ; ceci via la réalisation de bioessais⁷ (ou biotests) *in situ*, c'est-à-dire directement dans le milieu récepteur à étudier (*e.g.*, rivières, fleuves et canaux).

Notre expertise en écotoxicologie⁸ est au service des acteurs de l'eau au sens large, que ce soit les gestionnaires publics des milieux aquatiques (*e.g.*, Agences de l'Eau et collectivités territoriales) ou les industriels (*e.g.*, pharmacologie, épuration des eaux usées, électricité, chimie lourde et pétrochimie, etc.).

b. Présentation de l'équipe BIOMÆ

BIOMÆ a été créée en 2014 par 4 co-fondateurs : Guillaume Jubeaux, Président, Responsable Scientifique ; Laurent Viviani, Directeur Général, Responsable Commercial ; Olivier Geffard et Arnaud Chaumot, Chercheurs au laboratoire d'écotoxicologie du centre de recherche Irstea Lyon-Villeurbanne, Co-inventeurs de la technologie et Membre du conseil scientifique de BIOMÆ.

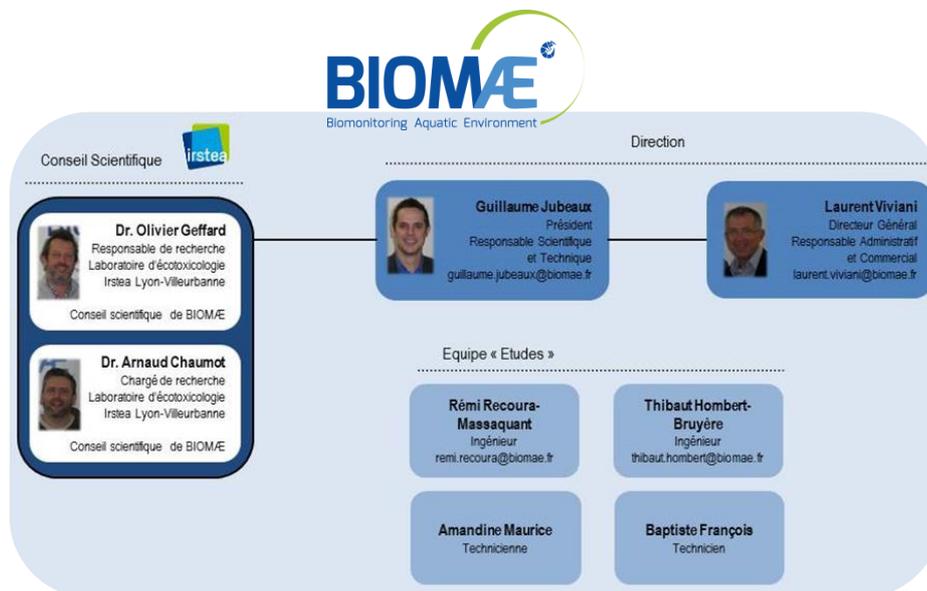


Figure 2 : Organigramme de la société BIOMÆ S.A.S.

² Biomæ est labellisée JEU (Jeune Entreprise Universitaire) et CIR (Crédit Impôt Recherche)
³ Institut de Recherche en Sciences et Technologies pour l'Environnement et l'Agriculture (ex-Cemagref)
⁴ <http://www.irstea.fr/la-recherche/unites-de-recherche/mal/laboratoire-decotoxicologie>

c. Expertise de BIOMÆ

o Approche dite de « biosurveillance active »

Notre technologie repose sur l'utilisation de transplants, c'est-à-dire d'organismes vivants « contrôles » sélectionnés au laboratoire avant d'être exposés dans le milieu récepteur. Ils sont ensuite transplantés, via une méthode d'encagement, directement sur le site d'étude pendant 7 et/ou 21 jours ; la durée d'exposition étant définie en fonction du type de biotest. Les individus sont ensuite récupérés sur le site d'étude après exposition, échantillonnés au laboratoire et analysés post-exposition.



Figure 3 : Représentation schématique de notre approche « in situ »

Notre procédé d'exposition permet une biosurveillance active de la qualité des milieux⁵. L'encagement d'organismes permet de lever les limites attachées à l'approche de biosurveillance dite passive, basée sur le prélèvement et l'analyse d'organismes autochtones. Ces limites sont : l'absence de l'espèce cible sur le site d'étude, la difficulté de calibration des organismes (taille, sexe, etc.), la difficulté d'interprétation fiable des réponses biologiques, liée à l'effet de l'habitat (prédation, compétition entre espèces, qualité et quantité de nutriments présents dans l'eau), au non contrôle du temps d'exposition des organismes, ainsi que de leur histoire de vie.

o Production d'un capteur biologique « contrôle »

L'organisme utilisé est une espèce de crevette sentinelle d'eau douce (*Gammarus fossarum*) largement présente dans les eaux continentales de surface françaises et européennes.

Les macro-invertébrés, et notamment les gammares, ont un rôle écologique fondamental pour le maintien des écosystèmes et sont également reconnus pour accumuler et être sensible à une large gamme de contaminants chimiques⁶. Ce modèle biologique est, pour ces raisons, largement utilisé en écotoxicologie.



Figure 4 : Photographie latérale d'un gammare, *Gammarus fossarum*

⁵ Besse, et al. (2012). "Relevance and applicability of active biomonitoring in continental waters under the Water Framework Directive". *Trends in Analytical Chemistry*, 36: 113-127.

⁶ Kunz, et al. (2010). "Gammarus spp. in aquatic ecotoxicology and water quality assessment: Toward integrated multilevel tests". *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 205: 1-76.



Figure 5 : Dispositif de maintien d'organismes « contrôles »

Notre technologie repose sur l'utilisation d'organismes vivants « contrôles », issue d'une population de référence et maintenus en conditions contrôlées de laboratoire. Les organismes « contrôles » sont calibrés au laboratoire (taille, sexe, statut reproducteur, état physiologique etc.) avant d'être transplantés ; ceci afin limiter la variabilité biologique ou naturelle des réponses étudiées et de proposer un biotest reproductible. Les connaissances fondamentales acquises sur ce modèle biologique ainsi que l'acquisition de données au laboratoire et à large échelle sur le terrain ont conduit à la construction d'une base de données et à la proposition de valeurs de référence (niveau médian normal) et de valeurs seuils (au-delà de laquelle une contamination et/ou une toxicité est significative). Nos outils de modélisation mathématique et notre expertise ont permis la définition de ces valeurs références et seuils intégrant la variabilité naturelle des réponses biologiques et permettant ainsi une interprétation fiable des marqueurs mesurés en terme d'impact toxique.

○ Réalisation de biotests in situ

Les biotests *in situ* que nous proposons permettent : 1- de quantifier les teneurs en micropolluants métalliques et organiques biodisponibles accumulés par les individus « contrôles »⁷ et 2- d'évaluer les effets toxiques des micropolluants présents dans le milieu récepteur à l'aide de marqueurs moléculaires (effet neurotoxique des insecticides⁸) ou mesurés sur l'individu entier (survie, alimentation⁹ et reproduction¹⁰ ou effet de perturbateurs endocriniens¹¹).

Biotests	Informations obtenues	Durée du test
Bioaccumulation "métaux"	Contamination métallique biodisponible anormale	7 jours
Bioaccumulation "organiques"	Contamination organique biodisponible anormale	7 jours
Alimentation	Toxicité sub-létale en lien avec la présence de micropolluants	7 jours
Neurotoxicité	Toxicité sub-létale en lien avec la présence d' insecticides	7 jours
Mue et Reproduction	Toxicité sub-létale en lien avec la présence de micropolluants	Variable (14 à 21 jours)
Perturbation endocrinienne	Toxicité sub-létale en lien avec la présence de perturbateurs endocriniens	Variable (14 à 21 jours)

○ Comparaison à nos valeurs de référence (bases de données)

La force du service proposé par BIOMÆ aujourd'hui est qu'il offre le seul outil écotoxicologique permettant : 1- une comparaison fiable, entre systèmes aquatiques étudiés et dans le temps, des niveaux de contamination et de toxicité observés et, 2- à l'aide de nos référentiels associés, de conclure sur la présence d'une contamination biodisponible anormalement élevée par rapport au niveau bas national et d'interpréter de façon fiable les modulations observées des marqueurs en termes de toxicité des milieux.

⁷ Besse, et al. (2013). "Caged *Gammarus fossarum* (Crustacea) as a robust tool for the characterization of bioavailable contamination levels in continental waters: Towards the determination of threshold values". *Water Research*, 47: 650-660.

⁸ Xuereb, et al. (2007). "Cholinesterase activity in *Gammarus pulex* (Crustacea Amphipoda): Characterization and effects of chlorpyrifos." *Toxicology*, 236(3): 178-189.

⁹ Coulaud et al. (2011). "In situ feeding assay with *Gammarus fossarum* (Crustacea): modelling the influence of confounding factors to improve water quality biomonitoring." *Water Research*, 45(19): 6417-6429.

¹⁰ Geffard, et al. (2010). "Ovarian cycle and embryonic development in *Gammarus fossarum*: Application for reproductive toxicity assessment." *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(10): 2249-2259.

¹¹ Brevet Irstea déposé le 29 avril 2014 sous le numéro 14 53885 et intitulé : « Méthode de détermination de la reprotoxicité d'eau douce »

b. Liste des stations et des campagnes de mesure

Le tableau ci-dessous présente le(s) station(s) de mesure (code agence et nom de la station de mesure), le réseau de surveillance, le type d'hydro-écorégion (HER) ainsi que les dates d'intervention sur les stations de mesure pour chaque campagne (les dates inscrites sur les lignes du haut concernent la première campagne, et celles inscrites en bas concernent la deuxième campagne).

En **annexe**, un tableau plus détaillé est disponible, contenant les informations supplémentaires suivantes : masse d'eau, commune, code postal, coordonnées théoriques en Lambert et en WGS84, coordonnées effectives en Lambert et en WGS84 (point d'encagement), type de système d'exposition (fût ou caisse), nom du bureau d'étude sous-traitant les interventions sur les sites d'étude.

Tableau 1 : Synthèse des stations et des campagnes de mesure

Informations Agence				Dates d'intervention		
Code Agence	Station de mesure (n°)	Réseau	HER	J+0	J+7	J+N**
05191900	La Leyre à Belin Béliet (1)	RRP	M13	09/06/15	16/06/15	23/06/15
				22/09/15	29/09/15	06/10/15
05224100	Le Reijon à Tartas (2)	RCO	P13	09/06/15	16/06/15	23/06/15
				22/09/15	29/09/15	06/10/15
05226000	La Midouze à Campagne (3)	RCS	M13	09/06/15	16/06/15	23/06/15
				22/09/15	29/09/15	06/10/15
05229100	Le Midour à Lannemaignan (4)	RCO	P14	09/06/15	16/06/15	23/06/15
				22/09/15	29/09/15	06/10/15
05106850	La Gélise en amont du Rimbez (5)	RCS	GM14	09/06/15	16/06/15	23/06/15
				22/09/15	29/09/15	06/10/15
05107000	La Grande Baise à Bapaume (6)	RCS	GM14	09/06/15	16/06/15	23/06/15
				22/09/15	29/09/15	06/10/15
05083300	Le Trec à Longueville (7)	RCA	P14	10/06/15	17/06/15	24/06/15
				23/09/15	30/09/15	07/10/15
05073800	La Jalle de Blanquefort à Bordeaux (8)	RCO	P14	10/06/15	17/06/15	24/06/15
				23/09/15	30/09/15	07/10/15
05008000	La Seugne à St-Germain de Lusignan (9)	RCS	M9	10/06/15	17/06/15	24/06/15
				23/09/15	30/09/15	07/10/15
05013153	Le Tourtrat au niveau de Reparsac (10)	RCO	TP9	10/06/15	17/06/15	24/06/15
				23/09/15	30/09/15	07/10/15
05023100	La Lizonne en aval de Bioussac (11)	RRP	TP9	10/06/15	17/06/15	24/06/15
				23/09/15	30/09/15	07/10/15
05015320	Les Eaux-Clares à Puymerle (12)	RCS	TP11	11/06/15	18/06/15	25/06/15
				24/09/15	01/10/15	08/10/15
05030000	La Dronne à Coutras (13)	RCO	M14	11/06/15	18/06/15	25/06/15
				24/09/15	01/10/15	08/10/15
05157100	La Sausse à Toulouse (14)	RCO	P14	16/06/15	23/06/15	30/06/15
				23/09/15	30/09/15	07/10/15
05134000	L'Agout à Ambrès (15)	RCS	M14/3-8	16/06/15	23/06/15	30/06/15
				23/09/15	30/09/15	07/10/15
05099170	La Boralde Flaujaguèse en amont d'Espalion (16)	RRP	P3	16/06/15 *	23/06/15 *	09/07/15 *
				23/06/15	30/06/15	
				23/09/15	30/09/15	07/10/15
05093550	Le Riou Mort en aval de Viviez (17)	RCO	P3	16/06/15	23/06/15	30/06/15
				23/09/15	30/09/15	07/10/15
05129150	Le Rieu Tort à Labastide St Pierre (18)	RCD	TP14	17/06/15	24/06/15	01/07/15
				24/09/15	01/10/15	08/10/15
05156950	L'Hers mort au niveau de St-Sauveur (19)	RCS	GM14	17/06/15	24/06/15	01/07/15
				24/09/15	01/10/15	08/10/15
05158700	L'Aussonnelle à Seilh (20)	RCS	P14	17/06/15	24/06/15	01/07/15
				24/09/15	01/10/15	08/10/15
05211550	Le Luzoue à Monein (21)	RRP	P14	17/06/15	24/06/15	01/07/15
				24/09/15	01/10/15	08/10/15

* : Pour ce site, le test de bioaccumulation a démarré le 16/06/15 et a été récupéré sur site le 23/06/15 - le test d'alimentation a démarré le 23/06/15 et a été récupéré sur site le 30/06/15 - le test de reprotoxicité a démarré le 23/06/15 et a été récupéré sur site le 09/07/15
** N = 14 jours sauf pour le site de la Boralde Flaujaguèse en amont d'Espalion où il s'agissait d'un J+16 jours

c. Liste des biotests mis en place au cours de l'étude

Le tableau ci-dessous présente les biotests qui ont été mis en place au cours de cette étude. Pour chaque biotest, il est détaillé l'information recherchée (intérêt), la durée du biotest, le type de gammare utilisé, le type d'analyse et le critère d'évaluation et enfin les outils utilisés par BIOMÆ pour interpréter les résultats.

Tableau 2 : Synthèse des biotests de chimie et de toxicité

Biotest	Intérêt	Durée	Gammares	Analyse	Critère d'évaluation	Outils d'interprétation
Bioaccumulation "métaux" ^a	Contamination métallique biodisponible anormale	7 jours	Mâles	Dosage chimique	Concentration en métaux (11) dans les gammares	Seuils de contamination Base de données (>250 sites)
Bioaccumulation « organiques" »	Contamination organique biodisponible anormale	7 jours	Mâles	Dosage chimique	Concentration en contaminants organiques (31) dans les gammares	Seuils de contamination Base de données (>250 sites)
Alimentation ^b	Toxicité sub-létale en lien avec la présence de micropolluants	7 jours	Mâles	Mesure biométrique	Taux d'alimentation (<i>exprimé en % inhibition</i>)	Valeurs de référence Modèle mathématique
Neurotoxicité	Toxicité sub-létale en lien avec la présence d' insecticides anti-cholinestérasiques	7 jours	Mâles	Dosage biochimique	Activité enzymatique AChE (<i>exprimée en % inhibition</i>)	Valeurs de référence
Mue et Reproduction ^b	Toxicité sub-létale en lien avec la présence de micropolluants	Variable ^c	Femelles	Mesure biométrique	Stade de mue, fécondité et de la croissance ovocytaire	Valeurs de référence Modèle mathématique
Perturbation endocrinienne ^b	Toxicité sub-létale en lien avec la présence de perturbateurs endocriniens (type invertébrés)	Variable ^c	Femelles	Mesure biométrique	Synchronisation du cycle de mue et de la croissance ovocytaire	Valeurs de référence Modèle mathématique

(a) Dans le cadre de ses travaux de R&D, Biomæ a réalisé en plus des analyses prévues au contrat, des analyses pour d'autres substances sur les sites étudiés dans le but de construire une plus large base de données « référentiel » et de définir à terme des seuils de contamination pour ces nouvelles substances. Dans le cadre de ce projet, des substances supplémentaires seront données ; toutefois il ne sera pas possible de comparer les niveaux de contamination observés à des valeurs seuils (en cours de construction pour ces éléments).

(b) Pour ces biotests, il est nécessaire de suivre les chroniques de température lors de l'exposition (1 mesure par heure)

(c) Durée du test "température dépendant", généralement comprise entre 14 et 21 jours

3. MATERIELS ET METHODES

a. Matériel biologique

Le modèle biologique « invertébré » utilisé pour les biotests est une espèce de crustacé amphipode dulçaquicole du genre *Gammarus* : *Gammarus fossarum*. Les gammares proviennent de la population de référence identifiée et suivie par le laboratoire d'écotoxicologie de Irstea (Centre Lyon-Villeurbanne) depuis 2003 et à partir de laquelle les valeurs de référence ont été définies pour chaque biotest.

Les organismes sont pré-triés à l'aide d'une colonne de tamis (certifiés norme NF ISO 3310-1) puis triés manuellement de manière à sélectionner des gammares mâles de taille homogène ou des gammares femelles à un stade de mue et de reproduction spécifique.

Des feuilles d'aulne (*Alnus glutinosa*) sont utilisées pour alimenter les organismes pendant les expérimentations. Des disques de feuilles sont utilisés pour le biotest d'alimentation.



Figure 7 : Colonne de tamis certifiés - norme NF ISO 3310-1 - pour pré-tri (trames 2, 2.5 et 10 mm)



Figure 8 : Calibration manuelle d'individus « contrôles »



Figure 9 : Feuille et disque d'aulne *Alnus glutinosa*

b. Procédure d'encagement

Les gammares sont encagés dans des cylindres en polypropylène (hauteur : 11 cm ; diamètre 5,5 cm) percés par des trous pour garantir une libre circulation de l'eau. Les cages sont conditionnées dans des fûts contenant de l'eau de forage. Ces fûts sont transportés en glacière sur les sites d'étude et les gammares sont maintenus à une température égale à $10 \pm 4^\circ\text{C}$ et oxygénés avec des pompes autonomes d'aération.



Figure 10 : Cylindres en polypropylène utilisés pour l'encagement de gammares



Figure 11 : Cages conditionnées en fûts de transport prêtes à l'envoi sur les sites d'étude



Figure 12 : Fûts de transport oxygénés et thermorégulés en glacière

- RÈGLES D'INSTALLATION ET DE SUIVI DES SYSTÈMES D'IMMERSION -

Le présent protocole concerne l'encagement de gammares dans les cours d'eau sur un point de mesure fixe. Il s'applique à tous types de cours d'eau.

Les cages sont protégées par un système d'immersion. Le système d'immersion est placé dans le cours d'eau, face au courant, sans distinction de rives. Il est déposé directement sur le fond du cours d'eau, au bout d'un câble relié à la rive en veillant à ce qu'il n'y ait pas de risque d'exondation. Le système d'immersion posé doit être exposé dans une zone à courant et être lesté pour éviter qu'il ne se retrouve hors d'eau.

Selon la distance à la berge, le système d'immersion peut être posé soit à partir de la rive, soit à partir d'un pont mais toujours relié par une corde à camoufler soigneusement pour éviter les retraits/dégradations/pertes intempestifs par vandalisme.

Les systèmes sont immergés pendant une période de 1 à 3 semaines : durée qui correspond à la réalisation des différents biotests.

On évitera de les poser dans des secteurs à trop forte sédimentation de façon à éviter un colmatage trop rapide des cages de gammares. Un nettoyage du système d'immersion est réalisé à J+7 si les expérimentations in situ se poursuivent.

Si le déplacement « naturel » du système (e.g. par un épisode de crue violente) et/ou si une réduction importante du débit lors de la phase d'exposition ont lieu, vérifier que le système d'immersion est toujours dans une zone de courant. .



Figure 13 : Transplantation in situ des cages sur site d'étude



Figure 14 : Système d'immersion contenant les cages de gammares

Les expérimentations *in situ* durent entre 7 et/ou 14/21 jours en fonction du type de biotests. Au cours des expérimentations, un ensemble de paramètres physico-chimiques est enregistré. La température (°C), la conductivité (µS/cm), le pH ainsi que l'oxygène dissous (mg/L) sont relevés ponctuellement à chaque intervention sur le site d'étude : J0, J7 et/ou J+N (14 ou 21 jours).

En parallèle, des enregistreurs de température, paramétrés pour réaliser une mesure par heure, sont placés dans les systèmes d'immersion pendant toute la durée de l'exposition *in situ*. Les chroniques de températures sont nécessaires au calcul du taux d'alimentation attendu hors contamination chimique (cf. biotest d'alimentation), ainsi qu'au calcul des pourcentages attendus pour les différents stades de mue, ceci hors contamination chimique (cf. biotests de reproduction et de perturbation endocrine). Les valeurs attendues sont obtenues à partir d'un modèle prédictif, développé par Irstea, qui tient compte de l'effet de la température sur ces réponses biologiques.

c. Bioaccumulation de micropolluants métalliques et organiques

Des gammarès mâles « contrôles » sont exposés *in situ* pendant sept jours. Des analyses sur des gammarès « témoins » non exposés sur le terrain (T0), sont réalisées à chaque étude pour les métaux et les contaminants organiques.

Après exposition, les gammarès sont poolés et répartis de façon aléatoire dans un flaconnage adapté en fonction du type d'analyse : métaux ou organiques. Les échantillons sont congelés dans l'azote liquide puis stockés dans un congélateur -20°C. Les échantillons sont lyophilisés dans des chambres individuelles. Après lyophilisation, les échantillons sont placés au congélateur -20°C jusqu'à leur analyse.

Le dosage de micropolluants est réalisé via différentes méthodes :

- 1- les composés métalliques sont analysés par plasma à couplage inductif couplé à la spectrométrie de masse (ICPMS, Thermo série X7 II) après minéralisation des échantillons par micro-ondes avec de l'acide nitrique ;
- 2- les composés organiques sont analysés par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse en tandem (GCMSMS).

Les données sont exprimées en microgramme par gramme de masse sèche pour les métaux ($\mu\text{g/g MS}$) et en nanogramme par gramme de masse sèche pour les composés organiques (ng/g MS).

Le facteur d'incertitude pour chaque micropolluant est d'environ 30%, une fois la limite de quantification atteinte.

Tableau 3 : Liste des micropolluants métalliques et organiques mesurés

Famille	Paramètre	Limite de quantification	Unité	Technique analytique	N° CAS	Code SANDRE
Métaux	Argent (Ag)	0,05	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-22-4	1368
Métaux	Arsenic (As)	0,02	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-38-2	1369
Métaux	Cadmium (Cd)	0,1	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-43-9	1388
Métaux	Chrome Total (Cr)	0,05	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-47-3	1389
Métaux	Cobalt (Co)	0,02	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-48-4	1379
Métaux	Cuivre (Cu)	0,1	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-50-8	1392
Métaux	Mercure (Hg)	0,02	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7439-97-6	1387
Métaux	Nickel (Ni)	0,05	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-02-0	1386
Métaux	Plomb (Pb)	0,05	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7439-92-1	1382
Métaux	Sélénium (Se)	0,1	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7782-49-2	1385
Métaux	Zinc (Zn)	0,5	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-66-6	1383
Hydrocarbures AP	Acénaphène	1	ng/g	GCMSMS	83-32-9	1453
Hydrocarbures AP	Acénaphthylène	1	ng/g	GCMSMS	208-96-8	1622
Hydrocarbures AP	Anthracène	1	ng/g	GCMSMS	120-12-7	1458
Hydrocarbures AP	Benzo (a) Anthracène	1	ng/g	GCMSMS	56-55-3	1082
Hydrocarbures AP	Benzo (a) Pyrène	1	ng/g	GCMSMS	50-32-8	1115
Hydrocarbures AP	Benzo (b+j) Fluoranthène	1	ng/g	GCMSMS	207-08-9 205-82-3	3000
Hydrocarbures AP	Benzo (e) Pyrène	1	ng/g	GCMSMS	192-97-2	1460

Hydrocarbures AP	Benzo (g,h,i) Perylène	1	ng/g	GCMSMS	191-24-2	1118
Hydrocarbures AP	Benzo (k) Fluoranthène	1	ng/g	GCMSMS	207-08-9	1117
Hydrocarbures AP	Chrysène	1	ng/g	GCMSMS	218-01-9	1476
Hydrocarbures AP	Fluoranthène	1	ng/g	GCMSMS	206-44-0	1191
Hydrocarbures AP	Fluorène	1	ng/g	GCMSMS	86-73-7	1623
Hydrocarbures AP	Indeno (1,2,3-cd) Pyrène	1	ng/g	GCMSMS	193-39-5	1204
Hydrocarbures AP	Naphtalène	1	ng/g	GCMSMS	91-20-3	1517
Hydrocarbures AP	Perylène	1	ng/g	GCMSMS	198-55-0	1620
Hydrocarbures AP	Phénanthrène	1	ng/g	GCMSMS	85-01-8	1524
Hydrocarbures AP	Pyrène	1	ng/g	GCMSMS	129-00-0	1537
Organochlorés	Hexachlorobenzène	1	ng/g	GCMSMS	118-74-1	1199
Organochlorés	DDD 4,4'	1	ng/g	GCMSMS	72-54-8	1144
Organochlorés	DDE 2,4'	1	ng/g	GCMSMS	3424-82-6	1145
Organochlorés	DDE 4,4'	1	ng/g	GCMSMS	72-55-9	1146
Organochlorés	DDT 2,4'	1	ng/g	GCMSMS	789-02-6	1147
Organochlorés	DDT 4,4'	1	ng/g	GCMSMS	50-29-3	1148
Organochlorés	HCH Gamma (Lindane)	1	ng/g	GCMSMS	58-89-9	1203
Organochlorés	PCB 101	1	ng/g	GCMSMS	37680-73-2	1242
Organochlorés	PCB 118	1	ng/g	GCMSMS	31508-00-6	1243
Organochlorés	PCB 138	1	ng/g	GCMSMS	35065-28-2	1244
Organochlorés	PCB 153	1	ng/g	GCMSMS	35065-27-1	1245
Organochlorés	PCB 180	1	ng/g	GCMSMS	35065-29-3	1246
Organochlorés	PCB 28	1	ng/g	GCMSMS	7012-37-5	1239
Organochlorés	PCB 52	1	ng/g	GCMSMS	35693-99-3	1241

d. Alimentation

Un lot « témoin » de gammares issus des aquariums en stabulation est réalisé pour chaque étude afin de déterminer la taille moyenne des organismes sélectionnés pour les tests. Les gammares sont photographiés à l'aide d'une loupe binoculaire équipée d'un appareil photo numérique, puis mesurés dans un deuxième temps avec le logiciel d'analyse d'image SigmaScan R Pro v5.0. Le nombre de pixels correspondant à la longueur du gammare est mesuré et est converti en millimètres à partir d'une lame étalon. La moyenne des tailles est utilisée pour le calcul du test d'alimentation.

Les gammares mâles sont exposés *in situ* pendant sept jours. Un blanc d'alimentation, sans gammares et contenant uniquement des disques de feuille, est réalisé sur chaque site. Ce témoin permet de contrôler la consommation de feuilles qui n'est pas liée à l'activité des gammares : activité microbienne ou macro-invertébrés autochtones. Un enregistreur de température est placé avec les gammares durant leur exposition *in situ*.

Après exposition, les résidus de disques sont échantillonnés, placés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à leur analyse et les gammares survivants sont comptabilisés afin de calculer le taux de survie par cage. Les résidus de disques sont photocopiés, scannés et mesurés avec un logiciel d'analyse d'image (SigmaScan ® Pro v5.0) et convertis en mm².

Le taux d'alimentation (FR – feeding rate) est calculé à partir de la surface totale de disques consommée en mm², du témoin d'alimentation, du taux de survie, de la température moyenne d'exposition et de la taille moyenne des gammares (témoin taille). Le taux d'alimentation est exprimé en mm² consommés par jour et par gammare (mm²/j/ind).

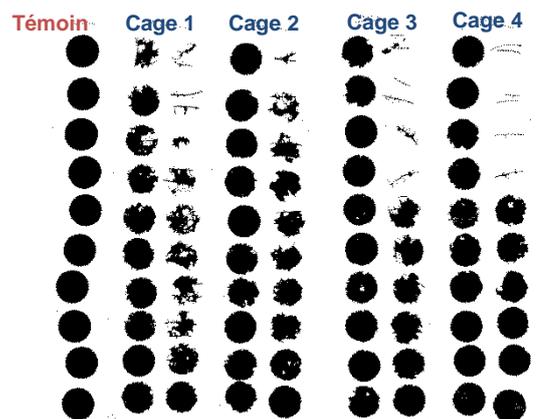


Figure 15 : Exemple de disques photocopiés

e. Neurotoxicité

Des gammarès mâles « contrôles » sont exposées *in situ* pendant 7 jours.

Les gammarès sont poolés, répartis et pesés par lots de cinq dans des cryotubes, puis congelés dans l'azote liquide et stockés dans un congélateur à -80°C pendant 6 mois maximum jusqu'à leur analyse.

Les échantillons de gammarès entiers sont broyés dans du tampon d'extraction. Les homogénats obtenus sont centrifugés à 9 000 x g durant 15 min, à 4 °C. Le surnageant est récupéré (*i.e.*, fraction S9) et est conservé dans de la glace pour la mesure de l'activité enzymatique de chaque échantillon.

Le dosage de l'activité AChE a été réalisé selon une méthode colorimétrique. Cette méthode utilise la réaction entre la thiocholine, formée au cours de l'hydrolyse des esters de thiocholine (*i.e.*, substrat de synthèse) par les AChE, et un substrat secondaire, l'acide dithio-bis-nitrobenzoïque (DTNB). Les esters de thiocholine sont des analogues structuraux aux substrats naturels des AChE. Ils sont hydrolysés pratiquement avec la même efficacité mais leur hydrolyse libère un groupement thiol (-SH) qui réagit avec le DTNB. Un des produits finaux de cette cascade de réactions, le 2-nitro-5-thionobenzoate (TNB), colore progressivement le milieu réactionnel en jaune.

L'apparition du TNB est suivie par des lectures de densité optique (DO) d'absorbance à 405 nm, effectuées à intervalles de temps réguliers au moyen d'un spectrophotomètre. Le rapport stœchiométrique de ces réactions étant égale à 1, le nombre de moles de TNB formées est équivalent au nombre de moles d'ester de thiocholine hydrolysées. Ainsi, la cinétique d'absorption est convertie en nanomoles de substrat hydrolysées par minute d'après le coefficient d'absorption molaire du TNB ($\epsilon = 1.36 \times 10^{-2} \text{ ml.nmol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

Les mesures d'activité sont réalisées en microplaques de 96 puits.

Des triplicats de mesures ont été effectués pour chaque échantillon testé. Lorsque le coefficient de variation entre triplicats était > 20 %, l'échantillon a été analysé une nouvelle fois. Pour la calibration de cette méthode, l'hydrolyse spontanée des substrats a été estimée par la réalisation d'un blanc sans S9. La présence, dans la fraction S9, de composés possédant des groupements thiols a également été évaluée au moyen de blancs sans ester de thiocholine. L'activité enregistrée dans les blancs est toujours inférieure à la limite de détection. La limite de détection des activités AChE chez *Gammarus*, selon la méthode décrite, a donc été estimée à 0.1 nmol.min⁻¹.

L'absorption du TNB formé au cours de la réaction a été enregistrée toutes les 60 s durant 10 min à 25°C à l'aide d'un spectrophotomètre *Safire*® (TECAM).

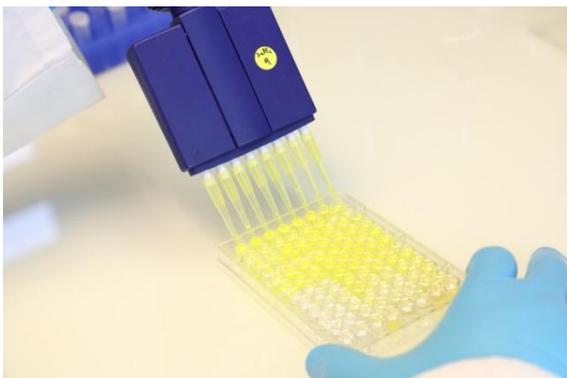


Figure 16 : Préparation d'une microplaque pour la mesure de l'activité enzymatique de l'AChE



Figure 17 : Mesure des cinétiques d'absorption par spectrophotométrie

f. Reproduction

Des gammares femelles « contrôles » sont exposées *in situ* pendant 14 à 21 jours, en fonction de la température d'exposition. Un enregistreur de température est placé avec les cages durant leur exposition *in situ*. Ces chroniques de température sont déchargées à J+7 et sont entrées dans un modèle mathématique qui permet de prédire le stade d'avancement des femelles dans le cycle de reproduction en fonction de la température d'exposition. La date d'arrêt du test de reproduction est ainsi définie, de manière à obtenir un maximum de femelles au stade d'avancement souhaité pour la lecture du test. Cette étape permet de choisir la date d'arrêt du test de reproduction.

Après exposition, un ensemble de mesures biométriques est effectué sur chaque femelle :

- 1- la taille, mesurée à partir d'une photographie traitée par un logiciel d'analyse d'image (SigmaScan ® Pro v5.0). La taille est exprimée en millimètres (mm).
- 2- les embryons sont retirés manuellement de la poche ventrale (marsupium) à l'aide de pinces, puis placés sur une lame de verre afin d'être comptés sous loupe binoculaire (x 30).
- 3- Le stade de mue^o est déterminé *in vivo*, par observation directe de la morphogénèse tégumentaire des paires de pattes (périopodes) des femelles, montées entre lame et lamelle et observées au microscope optique (x200). Le cycle de mue se découpe en six stades de post-, inter- et pré-mue.



Figure 18 : Postes d'analyses biométriques



Figure 19 : Microdissection d'un gammare femelle sous une loupe binoculaire

g. Perturbation endocrinienne

A partir des femelles utilisées pour le test de reproduction (voir plus haut – « Test de reproduction »), des mesures complémentaires ont été réalisées afin d'identifier l'exposition à des perturbateurs endocriniens. L'étude d'impact des perturbateurs endocriniens consiste en une comparaison fine du stade de mue et de la surface ovocytaire moyenne de chaque femelle ; ceci afin d'identifier des désynchronisations spécifiques du cycle de mue ou du cycle de croissance ovocytaire.

Chez *Gammarus fossarum*, les cycles de mue et de croissance ovocytaire sont parfaitement synchronisés : à chaque stade de mue correspond une surface ovocytaire précise. Ces deux processus physiologiques sont sous le contrôle de deux voies hormonales bien distinctes : la mue étant contrôlée par des hormones « ecdystéroïdes » tandis que la croissance ovocytaire par des hormones « terpénoïdes ». S'il y a toxicité générale, on observe un retard simultané de la mue et de croissance ovocytaire. En revanche, une désynchronisation de l'un de ces deux processus (retard de l'un par rapport à l'autre) s'interprète comme un effet spécifique sur la voie hormonale, et par conséquent par la présence de composés de type « perturbateurs endocriniens ».

Les surfaces ovocytaires sont mesurées par observation microscopique *in toto*. Les femelles sont placées latéralement entre deux lames de verre, dans une goutte d'eau, les ovocytes sont photographiés au grossissement x50. La surface de chaque ovocyte est ensuite déterminée avec le logiciel d'analyse Sigma Scan Pro 5®. On calcule la surface moyenne des ovocytes avec *a minima* cinq ovocytes. La vitellogenèse[®] (ou ovogénèse[®]) a été caractérisée en mesurant l'évolution de la surface ovocytaire moyenne au cours du cycle de reproduction.



Figure 20 : Observation tégmentaire au microscope optique (x200) pour la détermination du stade de mue

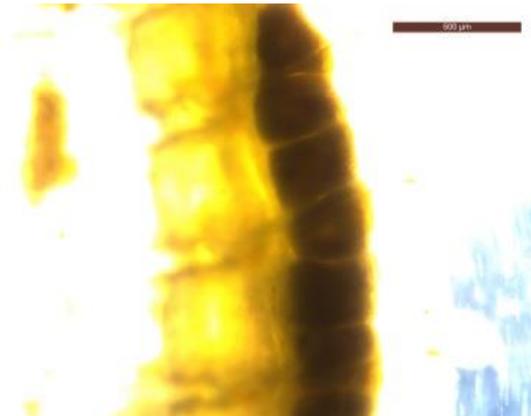


Figure 21 : Photographie des ovocytes au microscope optique (x50) pour la mesure de la surface ovocytaire moyenne

h. Traitement des données et analyse statistique

❖ Biodisponibilité des contaminants métalliques et organiques

Les résultats des analyses chimiques sont présentés respectivement en microgramme et en nanogramme par gramme de matière sèche pour les métaux et les composés organiques. Le code couleur ci-dessous permet d'évaluer la conformité de chaque substance en comparant la concentration mesurée à une valeur seuil définie par Irstea :

- en vert lorsque la teneur de l'élément est inférieure à la valeur seuil
- en rouge lorsque la teneur de l'élément est supérieure à la valeur seuil

Une concentration supérieure au seuil traduit une contamination significativement anormale (avec un risque de première espèce de 5%) par rapport à un niveau moyen bas déterminé sur plus de 250 sites par Irstea.

❖ Impact toxique à partir de biomarqueurs

- **Le taux d'alimentation** est calculé à partir de 4 réplicats. Ensuite, la valeur moyenne est comparée à la valeur de référence, qui correspond à la consommation de feuilles attendue en milieu non contaminé et pour les conditions d'exposition observées (température). Cette différence est exprimée en pourcentage d'inhibition. Pour une interprétation fiable du test d'alimentation, le taux de mortalité ne doit pas dépasser 25% de l'effectif total. Entre 25 et 50% de mortalité, les résultats sont présentés à titre indicatif. Au-delà de 50% de mortalité, les résultats ne sont pas présentés. Le taux d'alimentation peut-être mesuré a minima à partir de 3 réplicats, sinon les résultats ne sont pas présentés.
- **L'activité AChE** est mesurée à partir de cinq réplicats et est exprimée en nmol/min ; puis la moyenne des 5 valeurs obtenues est calculée. Cette valeur moyenne est ensuite comparée à la valeur de référence, qui correspond à l'activité attendue en milieu non contaminé. Cette différence est exprimée en pourcentage d'inhibition. Pour l'interprétation fiable du test de neurotoxicité, l'activité AChE peut-être mesurée a minima à partir de 3 réplicats, sinon les résultats ne sont pas présentés.
- **L'indice de fertilité** qui correspond à la moyenne du nombre d'embryons normalisé par la taille des femelles, est comparé à la valeur de référence. **La distribution des stades de mue** observés pour les femelles est comparée à la distribution de référence attendue pour les conditions d'exposition observées (température). Enfin, **la désynchronisation des cycles de mue et de croissance ovocytaire** (perturbation endocrinienne) est mesurée en comparant le stade de mue et la surface ovocytaire observés par rapport à la valeur de référence. La surface moyenne des ovocytes est calculée à partir d'au moins 5 ovocytes par femelle. Pour une interprétation fiable des tests de reprotoxicité et de perturbation endocrinienne, le nombre de mesures individuelles doit être égal ou supérieur à 10. Dans le cas contraire, les résultats ne sont pas présentés.

Pour ces biomarqueurs, des tests statistiques ont été réalisés pour vérifier la conformité des résultats obtenus pour chaque biomarqueur par rapport aux valeurs attendues hors toxicité (référentiel). Le code couleur ci-dessous permet d'évaluer la **conformité** de chaque biomarqueur en comparant le résultat obtenu au référentiel développé par Irstea. La couleur est « verte » si la mesure est conforme au référentiel. En cas de non-conformité, la couleur est « orange » ou « rouge » respectivement en cas d'effet suspecté (p -value de 5%) ou d'effet avéré (p -value de 1%).

- en vert lorsque la réponse obtenue est conforme au référentiel
- en orange lorsque la réponse obtenue est non-conforme avec un effet suspecté (p -value <5%)
- en rouge lorsque la réponse obtenue est non-conforme avec un effet avéré (p -value <1%)

4. RESULTATS ET INTERPRETATIONS

a. Rapport d'échantillonnage

Les systèmes d'immersion ont été exposés dans les conditions respectant notre protocole précédemment cité (cf. II. Matériels et méthodes > b. Procédure d'encagement > REGLES D'INSTALLATION ET DE SUIVI DES SYSTEMES D'IMMERSION).

Une **annexe** présente pour chaque station de mesure l'ensemble des informations suivantes : description géographique du site d'étude avec coordonnées GPS, carte IGN, photos des zones d'encagement au niveau de la station de mesure, type de système d'exposition utilisé et paramètres physico-chimiques pour les trois interventions réalisées à chacune des deux campagnes.

b. Paramètres physico-chimiques

Le tableau ci-dessous présente les paramètres physico-chimiques mesurés sur les stations au cours de la campagne 1 (Juin 2015) et de la campagne 2 (Septembre 2015).

Concernant la température, il s'agit de la valeur médiane enregistrée au cours de la chronique durant toute la durée de l'expérimentation dans le milieu. Pour les trois autres paramètres (conductivité, pH et oxygène dissous), il s'agit des valeurs minimum et maximum mesurées ponctuellement à chaque intervention sur les sites d'étude : J0, J7 et JN.

- ❖ Température : Les températures médianes sont comprises entre 13,4 et 22,3°C sur l'ensemble du programme et sont dans la gamme d'application pour laquelle les outils développés par Irstea ont été validés.
- ❖ Conductivité : Les conductivités sont comprises entre 72 et 2530 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ et sont dans la gamme d'application des outils.
- ❖ pH : Les pH sont compris entre 6,3 et 8,5 et sont dans la gamme d'application des outils.
- ❖ Oxygène dissous : Les taux d'oxygène dissous sont compris entre 5,0 et 10,9 mg/L et sont dans la gamme d'application pour laquelle les outils ont été développés. Seules les stations 8 et 9 sont ponctuellement en dessous de 4 mg/L au cours de la seconde campagne : respectivement 3,2 et 3,1 mg/L.

En conclusion, les paramètres physico-chimiques d'exposition mesurés sur l'ensemble de stations de mesure de cette étude sont dans la gamme d'application définie par Irstea.

Tableau 4 : Paramètres physico-chimiques

	La Leyre à Belin Bellet	Le Reijon à Tartas	La Midouze à Campagne	Le Midour à Lannemaignan	La Gélise en amont du Rimbez	La Grande Baise à Bapaume	Le Trec à Longueville	La Jalle de Blanquefort à Bordeaux	La Seugne à St-Germain de Lusignan	Le Tourtrat au niveau de Reparsac	La Lizonne en aval de Bioussac	Les Eaux-Clares à Puymerle	La Dronne à Coutras	La Sausse à Toulouse	L'Agout à Ambrès	La Boralde Flaujaguèse en amont d'Espalion	Le Riou Mort en aval de Viviez	Le Rieu Tort à Labastide St Pierre	L'Hers mort au niveau de St-Sauveur	L'Aussonnelle à Seilh	Le Luzoue à Monein	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
Température médiane (°C)	Campagne 1	16,8	19,3	17,2	18,9	17,5	21,9	19,3	20,4	18,3	17	15,9	13,7	21,4	18,8	21,6	17,5	19,1	18,1	22,3	21,3	15,7
	Campagne 2	13,9	18,6	14	14,9	13,7	17,4	15,1	16,9	15,1	13,9	13,9	12,8	17	16	16,9	10,8	15,4	14,4	17,2	16,2	14,3
Conductivité (µS/cm)	Campagne 1	141 143	815 1204	257 282	498 514	544 565	318 352	830 893	417 463	918 1463	767 930	542 567	653 659	465 536	680 739	173 203	72 74	840 1687	810 937	471 728	187 688	300 359
	Campagne 2	144 145	1310 1489	291 296	487 532	523 572	288 298	806 918	443 656	2100 2530	1002 1113	572 575	648 651	470 473	621 705	131 184	68 75	864 1129	1001 1050	515 527	552 621	369 400
pH (unité pH)	Campagne 1	6,3 7,5	6,9 7,3	7,3 7,8	7,9 8,0	8,0 8,2	7,9 8,5	7,5 8,0	7,5 8,0	7,6 7,8	8,1 8,2	8,0 8,3	7,5	8,1 8,5	8,0 8,2	7,9 8,1	7,7 7,9	7,9 8,0	7,9 8,3	8,0 8,4	7,5 8,1	7,9 8,2
	Campagne 2	7,2 7,3	6,6 6,9	7,5 7,7	7,9 8,0	7,8 8,0	7,8 8,0	7,9 8,1	7,2 7,5	7,4 7,6	7,8 7,9	7,9 8,0	7,5 7,6	7,9 8,0	7,8 8,0	8,0 8,3	7,7 8,2	7,7 7,8	7,9 8,1	7,9 8,2	8,0 8,3	7,9 8,2
Oxygène dissous (mg/L)	Campagne 1	9,1 9,2	7,2 8,1	7,9 8,7	7,2 8,6	7,8 8,6	8,7 9,2	5,6 8,3	5,8 6,6	6,1 7,4	8,3 11,5	10,3 10,9	9,3 10,2	8,3 9,1	7,7 8,8	8,6 8,8	9,5 10,2	8,4 8,9	7,7 9,3	7,8 8,8	7,8 9,3	9,0 10,0
	Campagne 2	9,3 10,1	4,7 6,2	8,5 9,1	8,9 9,4	8,4 9,5	9,4 9,6	5,0 6,6	3,2 7,3	3,1 7,6	6,5 8,0	9,9 10,6	8,9 9,5	7,7 8,7	7,2 8,1	9,3 9,7	10,4 11,1	8,7 9,2	7,8 8,6	8,2 9,0	8,6 9,8	8,0 9,6

c. Bioaccumulation « métaux »

Le tableau ci-dessous présente les résultats d'analyse obtenus au cours des deux campagnes pour onze métaux. Les concentrations métalliques sont exprimées en microgramme par gramme ($\mu\text{g/g}$) de matière sèche. Les colonnes « T0 » correspondent aux lots « témoin » de gammars non exposés sur le terrain. Pour la campagne 1, le « T01 » est rattaché aux stations n°1 à 13 et le « T02 » aux stations n°14 à 21. Pour la campagne 2, il n'y a qu'un seul « T0 » pour les 21 stations. La colonne « Max » présente la valeur maximale de notre base de données. Selon la conformité ou pas, un code couleur est attribué à chaque substance (cf. Partie Matériels et Méthodes → [Traitement des données et analyse statistique](#)). Les cases vertes indiquent les substances pour lesquelles la concentration mesurée est inférieure au seuil de contamination. A l'inverse, les cases rouges indiquent les substances pour lesquelles la concentration mesurée est supérieure au seuil de contamination. L'interprétation des T0 montre que l'ensemble des métaux mesurés présente une teneur inférieure au seuil, excepté pour le nickel (T02) au cours de la première campagne, ne permettant pas d'interpréter les données obtenues pour cette substance sur les stations n° 14 à 21.

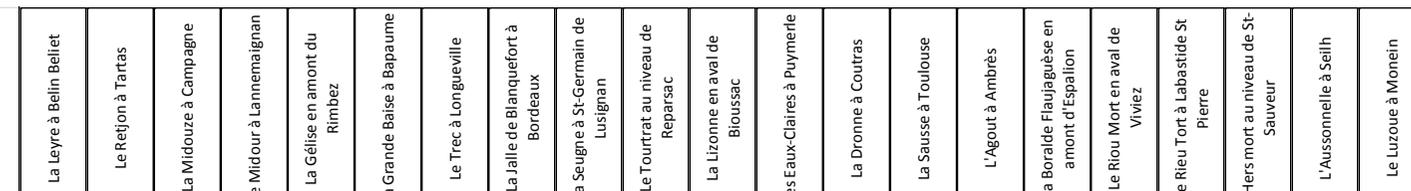
Les résultats montrent qu'il n'y a pas de problématique de contamination pour le **mercure**, le **sélénium**. Hormis deux sites (n°8 et 18), il n'y a pas de problématique de contamination pour l'**argent** et le **cuivre**. Pour le **cadmium**, le seuil est dépassé sur le site n°17. Les teneurs en **arsenic**, en **nickel** et en **zinc** dépassent la valeur seuil pour 4, 5, 6 stations respectivement. Les teneurs en **chrome**, en **plomb** et en **cobalt** dépassent la valeur seuil pour 8, 8 et 11 stations respectivement.

- Les **stations n°2, 10, 11, 12** ne présentent aucune contamination métallique anormale pour les 11 éléments recherchés.
- Les **stations n°1, 9, 13, 15, 18, 19 et 21** présentent une contamination pour un seul élément métallique.
- Les **stations n°3, 4, 5, 6, 7, 14, 16 et 20** présentent une contamination pour deux à quatre éléments métalliques en fonction de la station.
- Les **stations n° 8, et 17** sont marquées par une forte contamination en métaux.

La **station n°14** présente une contamination très élevée en **chrome** ($66 \mu\text{g/g}$) qui dépasse la valeur maximale de notre base de données ($3,1 \mu\text{g/g}$). Toutefois, cette forte contamination n'est plus observable lors de la campagne 2, ce qui interroge sur le phénomène observé. La **station n°17** montre des valeurs élevées pour les deux campagnes avec le **cadmium** (22 et $35 \mu\text{g/g}$) et le **zinc** (618 et $385 \mu\text{g/g}$) qui dépassent la valeur maximale de notre base de données, respectivement $2,3 \mu\text{g/g}$ et $318 \mu\text{g/g}$. Cette station présente également les plus fortes contaminations observées dans cette étude pour le chrome, le nickel et plomb.

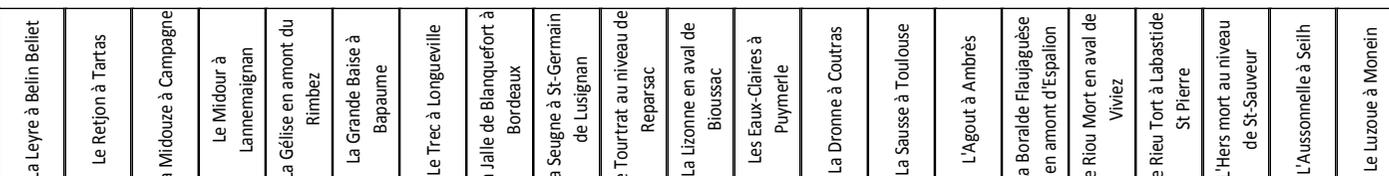
Les résultats de la campagne 2 montrent une imprégnation métallique globalement moins forte que celle observée lors de la campagne 1. Les dépassements observés lors de la campagne 2 ont en règle générale été observés lors de la campagne 1.

Tableau 5: Micropolluants métalliques

																									Max		
				Paramètre	Campagne	T0 1	T0 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17		18	19
Argent	1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,5
	2	0,1		0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
Arsenic	1	1,4	1,5	1,8	1,3	1,6	2,2	2,2	1,7	1,9	2,1	1,6	1,4	1,5	1,1	1,3	1,6	1,3	1,8	6,1	1,5	1,9	2,0	1,2	1,2	9,2	
	2	1,4		1,4	0,9	1,6	2,0	1,4	1,1	1,6	1,6	2,2	1,2	1,5	1,4	1,4	1,5	1,6	1,4	2,9	1,6	1,3	1,4	1,2	1,2		
Cadmium	1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,3	0,2	0,3	35	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	35	
	2	0,1		0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	22	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		
Chrome	1	0,6	0,3	0,7	0,5	1,1	2,0	2,1	1,6	1,7	2,5	0,8	0,5	0,8	0,5	0,6	66	0,6	0,7	2,9	0,7	1,5	1,4	0,4	0,4	66	
	2	0,2		0,3	0,9	0,8	2,4	0,6	0,5	0,7	2,3	0,7	0,5	0,9	0,6	0,4	0,7	0,6	1,3	1,1	0,6	0,5	0,6	0,5	0,5		
Cobalt	1	0,1	0,1	2,0	0,5	1,3	0,9	0,7	0,5	0,7	0,9	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	1,1	0,3	0,4	0,7	0,2	0,2	4,8	
	2	0,1		0,7	0,2	0,7	0,7	0,2	0,2	0,3	0,5	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2		
Cuivre	1	67	74	64	72	71	68	59	73	70	85	63	67	63	57	75	66	62	67	55	71	62	79	68	68	93	
	2	77		67	67	67	52	59	61	59	53	56	66	67	71	71	79	77	71	46	77	74	73	76	76		
Mercure	1	0,11	0,07	0,1	0,11	0,07	0,07	0,08	0,06	0,06	0,11	0,07	0,06	0,07	0,06	0,06	0,06	0,05	0,04	0,06	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03	0,2	
	2	<0,05		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,05	0,05	<0,05	<0,05	<0,05		
Nickel	1	0,4	NI	0,7	0,7	0,9	1,2	1,2	1,3	1,1	1,7	0,8	0,8	0,4	0,3	8,0	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	14	
	2	0,2		0,4	0,7	0,9	1,2	0,4	0,4	0,4	1,2	0,4	0,3	0,5	0,3	0,3	0,6	0,6	1,6	1,6	0,5	0,5	0,5	0,3	0,3		
Plomb	1	0,3	0,3	0,6	0,5	0,7	0,9	0,9	0,9	0,8	1,6	0,7	0,4	0,4	0,3	0,6	0,9	0,5	0,6	19	0,4	0,8	0,9	0,2	0,2	33	
	2	0,4		0,2	0,4	0,4	1,0	0,2	0,2	0,3	1,2	0,8	0,4	0,7	0,4	0,6	0,4	0,4	0,9	11	0,5	0,3	0,6	0,4	0,4		
Sélénium	1	2,1	2,4	1,9	2,0	2,2	2,2	2,2	2,3	2,2	2,0	2,1	2,1	2,1	1,6	1,7	1,8	1,7	2,1	1,9	2,4	2,3	2,3	1,9	1,9	3,3	
	2	2		1,5	1,3	1,9	1,8	1,6	1,3	1,5	1,6	1,6	2,0	2,1	1,7	2,0	1,8	1,7	1,5	1,6	1,7	1,5	1,8	1,5	1,5		
Zinc	1	62	63	66	69	62	64	64	65	62	77	62	58	63	58	61	69	63	68	619	66	68	80	63	63	619	
	2	72		61	67	64	66	63	60	62	69	67	69	70	73	70	83	77	73	387	75	67	74	80	80		

Le tableau ci-dessous présente les résultats d'analyse obtenus au cours des deux campagnes pour 14 métaux supplémentaires. Les concentrations métalliques sont exprimées en **microgramme par gramme (µg/g)** de matière sèche. Les colonnes « T0 » correspondent aux lots « témoin » de gammars non exposés sur le terrain. Pour la campagne 1, le « T01 » est rattaché aux stations n°1 à 13 et le « T02 » aux stations n°14 à 21. Pour la campagne 2, il n'y a qu'un seul « T0 » pour les 21 stations. La colonne « Max » présente la valeur la plus élevée de notre base de données. Il n'y a pas de seuils de contamination disponibles pour ces métaux

Tableau 6: Micropolluants métalliques supplémentaires

																								Max	
			Campagne	T0 1	T0 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18		19
Aluminium	1	77	91	488	63	807	1769	1896	1360	1456	2001	495	264	318	155	293	809	458	334	2311	522	1432	1173	188	2816
	2	148		160	145	576	2157	450	368	560	2097	660	275	672	286	214	561	364	875	851	464	327	481	225	
Antimoine	1	0,02	0,03	0,03	0,05	0,03	0,04	0,05	0,05	0,05	0,07	0,04	0,03	0,03	<0,02	0,03	0,05	0,03	0,03	0,57	0,04	0,05	0,08	<0,02	0,6
	2	<0,05		<0,05	<0,05	<0,05	0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,06	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,1	0,4	0,1	<0,05	0,07	<0,05	
Baryum	1	46	49	206	79	79	67	66	70	70	72	49	53	49	43	50	67	74	101	173	89	72	92	47	206
	2	50		131	66	74	68	56	56	59	55	46	67	56	44	46	56	70	78	124	103	74	85	49	
Béryllium	1	<0,05	<0,05	0,06	<0,05	0,06	0,06	0,07	0,05	0,06	0,11	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,06	0,13	<0,05	0,07	0,05	<0,05	0,13
	2	<0,1		<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	
Bore	1	5	5	4	12	4	4	5	4	6	6	5	6	4	3	3	4	2	3	9	4	5	5	3	12
	2	3,2		2	6	3	3	3	3	3	5	10	4	4	3	3	6	3	3	7	4	4	5	3	
Étain	1	0,08	0,08	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,3	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,6	0,2	0,2	0,2	0,1	0,6
	2	<0,1		<0,1	<0,1	<0,1	0,2	<0,1	<0,1	<0,1	0,2	0,1	<0,1	0,1	<0,1	<0,1	0,2	0,2	0,2	0,3	<0,1	<0,1	0,1	<0,1	
Fer	1	83	78	575	96	623	1007	1086	730	801	1207	294	163	191	102	263	464	302	265	1774	300	740	680	141	3422
	2	88		242	125	473	1275	270	208	299	1094	312	175	333	180	183	326	238	549	539	258	195	273	196	
Lithium	1	0,5	0,4	0,6	0,3	0,9	1,9	2,2	1,5	1,7	2,5	1,3	0,9	0,4	0,3	0,4	1,1	0,6	0,5	4,6	0,7	1,6	1,4	0,4	4,6
	2	0,28		0,2	0,3	0,6	1,9	0,5	0,4	0,6	2,0	2,0	0,5	0,6	0,3	0,3	0,7	0,4	0,6	2,9	0,5	0,4	0,6	0,3	
Manganèse	1	39	48	70	60	137	281	215	111	159	131	46	51	39	28	89	140	65	51	325	130	65	149	42	483
	2	27		28	69	76	165	64	35	80	41	39	31	33	19	96	66	49	36	157	90	34	50	39	
Molybdène	1	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,4	0,3	0,6
	2	0,4		0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5	
Tellure	1	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,1
	2	<0,1		<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	
Thallium	1	<0,02	<0,02	0,08	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	<0,02	0,06	0,03	0,05	<0,02	<0,02	0,03	0,19	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	0,9
	2	<0,1		<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,14	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	
Titane	1	3,5	2,2	6	1	12	20	23	18	26	32	11	5	7	4	7	17	7	19	37	12	26	21	4	122
	2	4		3	4	10	49	10	7	15	44	17	8	21	10	7	16	11	63	18	13	9	14	7	
Uranium	1	0,06	0,06	0,05	0,06	0,06	0,11	0,1	0,08	0,1	0,16	0,07	0,05	0,05	0,04	0,06	0,21	0,08	0,06	0,15	0,16	0,13	0,27	0,02	0,6
	2	0,0		0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1	0,3	0,0	

d. Bioaccumulation « organiques »

Les deux tableaux ci-dessous présentent les résultats d'analyse obtenus au cours des deux campagnes : le premier pour les hydrocarbures (HAP) et le second pour les composés organochlorés (insecticides et PCB). Les concentrations organiques sont exprimées en nanogramme par gramme (ng/g) de matière sèche. Les colonnes « T0 » correspondent aux lots « *témoïn* » de gammars non exposés sur le terrain. Pour la campagne 1, le « T01 » est rattaché aux stations n°1 à 13 et le « T02 » aux stations n°14 à 21. Pour la campagne 2, il n'y a qu'un seul « T0 » pour les 21 stations. La colonne « Max » présente la valeur maximale de notre base de données. Selon la conformité ou pas, un code couleur est attribué à chaque substance (cf. Partie Matériels et Méthodes → [Traitement des données et analyse statistique](#)). Les cases vertes indiquent les substances pour lesquelles la concentration mesurée est inférieure au seuil de contamination. A l'inverse, les cases rouges indiquent les substances pour lesquelles la concentration mesurée est supérieure au seuil de contamination.

L'interprétation des T0 montre que l'ensemble des contaminants organiques mesurés présente une teneur inférieure au seuil. Certains hydrocarbures ne sont pas interprétés pour la campagne n°1 en raison d'une contamination des échantillons lors de la lyophilisation : acénaphène, anthracène, fluoranthène, fluorène, naphthalène, phénanthrène et pyrène.

Les résultats montrent qu'il n'y a pas de problématiques de contamination pour l'**acénaphène**, le **naphthalène**, le DDE 2,4', le DDT 2,4', le lindane et les PCB 101, 118, 138, 153 et 180.

Les teneurs en **acénaphylène**, **fluoranthène**, **pérylène**, **pyrène** et **DDE 4,4'** dépassent la valeur seuil pour 3 à 4 stations.

- Les **stations n°1, 5, 7, 10, 12, 13, 14, 16, 18, 19 et 21** ne présentent aucune contamination organique anormale pour les 31 éléments recherchés.
- Les **stations n°4, 11 et 15** présentent une contamination pour un seul élément organique.
- Les **stations n°3, 8, 9 et 20** présentent une contamination pour au moins deux éléments organiques en fonction de la station.
- Les **stations n° 2, 6 et 17** sont marquées par les plus fortes contaminations organiques de cette étude.

La station n°2 se caractérise par une contamination multiple avec des dépassements de seuil pour 6 hydrocarbures HAP et l'hexachlorobenzène. La station n°6, la plus contaminée, se caractérise par une contamination spécifique aux hydrocarbures avec 12 dépassements de seuil ; en revanche il n'y a pas de contamination lors de la première campagne. La station n°17 se caractérise par une contamination multiple avec des dépassements de seuil pour un métabolite du DDT (DDD 4,4') et 4 hydrocarbures. Seule la station n°20 présente une contamination anormale pour les PCB.

Sur l'ensemble de l'étude, les stations sont assez peu impactées par les contaminants organiques recherchés et leurs concentrations sont loin des maxima de notre base de données.

Tableau 7: Micropolluants organiques – Hydrocarbures HAP

Paramètre	Campagne	T01	T02	La Leyre à Beilme Bellet	Le Retjon à Tartas	La Midouze à Campagne	Le Midour à Lannemaigan	La Gélise en amont du Rimbez	La Grande Baise à Bapaume	Le Trec à Longueville	La Jalle de Blanquefort à Bordeaux	La Seugne à St-Germain de Lusignan	Le Tourtrat au niveau de Reparsac	La Lizonne en aval de Bioussac	Les Eaux-Claïres à Puymerle	La Drome à Coutras	La Sausse à Toulouse	L'Agout à Ambrès	La Boralde Flaujaguère en amont d'Espalion	Le Riou Mort en aval de Vivriéz	Le Rieu Tort à Labastide St Pierre	L'Hers mort au niveau de St-Sauveur	L'Aussonnelle à Séilh	Le Luzoué à Monein	Max
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
Acenaphthene	1	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	191
	2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Acenaphthylene	1	11	12	10	23	12	8,4	11	10	10	21	20	14	21	13	11	16	14	12	23	10	14	11	11	52
	2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	26	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
Anthracene	1	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	576
	2	<1	<1	4,2	41	<1	<1	3,1	15	<1	5,5	10	3,5	4,3	2,0	2,4	<1	2,9	<1	7,0	2,3	<1	<1	<1	
Benzo (a) Anthracene	1	2,4	3,3	2,4	12	4,4	1,8	3,0	4,3	2,4	6,9	4,1	3,3	3,1	2,4	4,6	3,1	2,7	<1	11	2,7	3,4	4,2	2,5	578
	2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	29	<1	<1	6,1	<1	7,4	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
Benzo (a) pyrene	1	<1	1,1	<1	3,8	1,2	<1	1,0	1,9	1,8	2,3	1,3	1,3	<1	<1	2,1	1,1	1,3	1,6	3,3	<1	1,1	1,2	<1	112
	2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	46	<1	<1	8,0	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
Benzo (b+) Fluoranthene	1	<1	<1	<1	5,0	2,4	<1	<1	2,9	2,3	4,9	2,1	2,1	<1	<1	3,5	<1	<1	2,9	6,1	<1	<1	<1	<1	262
	2	3,6	<1	<1	<1	3,3	<1	3,3	62	<1	2,5	14	1,8	10	<1	1,6	<1	1,4	1,2	8,4	<1	<1	2,0	1,7	
Benzo (e) Pyrene	1	<1	<1	<1	4,3	1,0	<1	<1	1,4	1,2	2,4	1,1	1,1	<1	<1	1,9	<1	<1	<1	3,0	<1	<1	<1	<1	150
	2	<1	<1	<1	3,8	1,6	<1	<1	29	<1	<1	7,9	<1	4,0	<1	<1	1,2	<1	<1	4,3	<1	<1	<1	<1	
Benzo (g,h,i) Perylene	1	1,2	1,8	1,3	4,0	1,4	<1	1,8	2,0	2,6	3,2	1,9	2,0	1,6	<1	5,1	2,1	2,1	5,3	3,3	1,4	1,6	1,5	1,4	70
	2	2,5	<1	1,3	2,7	1,7	<1	1,9	46	<1	1,8	13	1,6	2,4	<1	<1	1,4	<1	<1	3,8	1,4	1,2	1,2	1,1	
Benzo (k) Fluoranthene	1	<1	<1	<1	<1	1,1	<1	<1	1,1	<1	1,6	<1	<1	<1	<1	1,6	<1	<1	<1	2,4	<1	<1	<1	<1	92
	2	1,1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	21	<1	<1	4,7	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	3,0	<1	<1	<1	<1	
Chrysene	1	<1	<1	1,0	<1	1,6	<1	1,1	1,5	<1	2,6	1,9	1,4	1,3	<1	1,6	<1	1,4	<1	3,9	<1	1,7	1,7	<1	671
	2	<1	<1	<1	<1	1,2	<1	<1	23	<1	<1	3,4	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	5,9	<1	<1	<1	<1	
Fluoranthene	1	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	2430
	2	17,5	<1	12	30	11	7,8	12	24	<1	10	13	11	8,6	11	13	15	11	12	54	13	14	14	12	
Fluorene	1	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	50
	2	23	<1	16	35	17	13	16	20	<1	13	14	12	13	14	18	16	<1	<1	<1	15	14	15	13	
Indeno (1,2,3-cd) Pyrene	1	<1	1,0	<1	<2	<1	<1	<1	<1	<1	1,7	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	53
	2	1,8	<1	<1	<1	<1	<1	<1	35	<1	<1	9,2	<1	2,2	<1	<1	<1	<1	<1	3,0	<1	<1	1,0	<1	
Naphthalene	1	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	142
	2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
Perylene	1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	48
	2	<1	<1	1,3	1,2	1,1	<1	1,0	13	<1	3,1	2,6	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	1,6	<1	
Phenanthrene	1	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	4510
	2	58	<1	44	104	42	32	44	48	<1	39	41	37	33	36	42	46	36	36	85	44	41	45	40	
Pyrene	1	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	526
	2	13	<1	10	39	9,2	6,5	10	23	<1	8,6	11	8,6	6,9	8,6	11	13	8,4	9,0	48	9,4	13	11	10	

Tableau 8: Micropolluants organiques – Organochlorés

Paramètre		Campagne		Lieu																					Max
		T01	T02	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
DDD 4,4'	1	1,6	2,9	2,1	<1	4,7	2,6	2,7	3,4	2,3	3,5	2,6	2,4	2,0	1,9	3,6	2,8	6,3	1,7	3,2	2,1	2,6	2,6	1,9	
	2	<1		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	2,3	<1	1,2	<1	<1	<1	
DDE 2,4'	1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
	2	<1		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
DDE 4,4'	1	6,8	6,7	7,1	6,9	11	12	9,6	8,1	6,4	7,2	7,4	7,2	6,6	6,4	8,3	7,0	9,2	6,4	8,5	7,1	7,4	10	5,4	
	2	1,8		3,0	1,2	3,0	3,0	2,9	2,9	<1	2,4	2,3	1,7	1,6	1,9	2,1	2,0	4,5	1,8	3,5	2,3	2,7	1,8	2,1	
DDT 2,4'	1	1,0	<1	<1	<1	1,4	<1	1,0	1,1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	1,1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
	2	<1		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
DDT 4,4'	1	4,8	7,1	4,7	8,1	6,3	5,2	5,5	6,5	6,7	6,2	6,9	5,1	4,9	6,0	9,9	8,8	8,6	<1	14,8	6,2	8,7	8,1	6,8	
	2	<1		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
HCH Gamma (Lindane)	1	<1	<1	<1	<1	<1	1,2	<1	<1	<1	1,2	<1	<1	<1	<1	<1	1,4	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
	2	<1		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
Hexachlorobenzene	1	2,3	1,9	2,2	9,2	1,8	1,7	1,9	1,8	1,9	2,1	1,5	1,9	1,5	1,5	2,2	2,1	2,1	3,0	2,3	1,7	1,8	1,8	1,2	
	2	<1		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
PCB 101	1	19	17	18	16	14	13	13	14	11	15	15	13	11	14	14	14	16	16	15	20	13	20	11	
	2	8,0		6,6	6,5	4,5	2,1	4,9	5,4	<1	4,5	4,3	3,2	3,5	3,4	2,6	5,8	6,4	5,3	8,8	4,9	4,2	4,5	3,4	
PCB 118	1	23	21	21	19	20	17	17	16	13	20	21	17	14	19	17	21	22	18	20	25	15	26	14	
	2	7,0		5,2	5,9	3,4	1,7	4,1	4,7	<1	3,6	3,6	2,1	2,5	2,3	2,4	5,2	4,4	3,8	7,1	3,8	2,9	3,6	2,6	
PCB 138	1	29	25	23	21	23	19	20	19	16	23	21	19	18	21	18	22	20	22	22	22	18	24	16	
	2	5,9		5,2	4,6	2,9	1,7	4,2	5,2	<1	4,0	3,4	2,2	<1	2,3	2,8	4,5	4,5	2,9	7,6	3,3	3,6	3,3	2,8	
PCB 153	1	37	30	29	27	28	25	27	26	21	28	28	26	23	26	24	28	28	26	28	29	23	31	22	
	2	6,9		7,2	6,4	3,4	2,6	5,2	7,2	<1	6,0	4,6	3,3	3,3	3,1	3,3	6,3	7,3	4,9	8,9	4,9	4,3	6,0	3,7	
PCB 180	1	10	7,7	6,1	6,7	6,8	5,4	8,4	6,5	4,7	6,5	6,2	6,1	5,4	6,2	5,5	6,0	5,7	4,7	6,8	5,1	5,5	7,7	4,9	
	2	<1		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	1,5	0,5	<1	<1	<1	<1	<1	1,8	<1	1,9	<1	<1	<1	<1	
PCB 28	1	5,0	4,5	4,3	5,1	3,5	4,1	3,1	4,4	3,5	5,1	4,1	5,3	3,4	3,6	4,1	3,6	4,9	4,0	5,0	6,1	4,8	16	3,5	
	2	2,9		1,9	1,9	1,1	1,0	1,7	2,1	<1	2,1	2,4	2,2	1,5	1,8	3,2	3,0	2,7	1,8	3,3	2,4	2,8	2,8	2,1	
PCB 52	1	7,2	5,8	6,5	6,5	4,4	5,0	4,1	5,5	3,4	6,3	4,8	5,6	4,0	4,1	4,9	4,8	6,3	5,6	6,8	6,5	5,0	20	4,4	
	2	1,1		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	1,7	<1	<1	2,4	<1	

e. Mesure des effets toxiques

Le tableau ci-dessous présente les résultats d'analyse obtenus au cours des deux campagnes pour les marqueurs de toxicité : alimentation, neurotoxicité, reprotoxicité (fécondité et mue) et perturbation endocrinienne. Selon la conformité ou pas, un code couleur est attribué à chaque marqueur (cf. Partie Matériels et Méthodes → [Traitement des données et analyse statistique](#)). Les cases vertes indiquent que les réponses observées sont dans la gamme de référence. En cas de non-conformité, la couleur est « orange » ou « rouge » respectivement en cas d'effet suspecté (p -value de 5%) ou d'effet avéré (p -value de 1%). *N.B. : les seuils de toxicité sont dépendants de l'effectif total analysé (cf. nombre de réplicats ou nombre de mesures individuelles).*

Tableau 9 : Effets toxiques

 AGENCE DE L'EAU ADOUR-GARONNE		La Leyre à Belin Bellet Le Retjon à Tartas La Midouze à Campagne Le Midour à Lannemaignan La Gélise en amont du Rimbez La Grande Baise à Bapaume Le Trec à Longueville La Jalle de Blanquefort à Bordeaux La Seugne à St-Germain de Lusignan Le Tourtrat au niveau de Reparsac La Lizonne en aval de Bioussac Les Eaux-Claires à Puymferlé La Dronne à Coutras La Sausse à Toulouse L'Agout à Ambrès La Borale Flaujaguère en amont d'Espalion Le Riou Mort en aval de Viviez Le Rieu Tort à Labastide St Pierre L'Hers mort au niveau de St-Sauveur L'Aussonnelle à Seilh Le Luzoué à Monein																				
		Campagne	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Réponse mesurée	1	28	67	6	13	14	19	14	32	15	9	14	13	16	12	12	24	76	14	9	33	11
	2	30	86	19	13	13	16	55	28	13	17	20	17	22	28	25	20	92	16	13	16	6
Mortalité	1	22	nc	26	17	-30	5	61	43	-6	24	4	19	-5	26	-40	20	nc	35	-12	59	2
	2	-8	nc	-41	-36	-24	-22	nc	-28	-2	12	-7	-1	-11	-1	-44	18	nc	65	-51	-47	6
Inhibition alimentaire (%)	1	2	-8	-1	-4	0	0	1	-13	5	-10	2	-6	6	9	2	4	10	11	13	1	12
	2	-2	3	7	-2	-4	-1	5	5	6	8	6	6	5	3	4	1	2	11	13	13	19
Inhibition AChE (%)	1	2	-8	-1	-4	0	0	1	-13	5	-10	2	-6	6	9	2	4	10	11	13	1	12
	2	-2	3	7	-2	-4	-1	5	5	6	8	6	6	5	3	4	1	2	11	13	13	19
Indice de fécondité	1	nc	nc	3,0	2,9	2,6	1,1	nc	nc	2,8	2,5	2,4	3,2	2,3	2,2	nc	1,8	nc	nc	nc	nc	2,0
	2	2,3	nc	2,4	2,5	2,4	3,0	nc	2,3	1,7	nc	2,2	2,2	2,2	nc	2,7	2,3	nc	2,1	2,3	nc	2,2
Cycle de mue	1	nc	nc					nc	nc						nc			nc	nc	nc	nc	
	2		nc					nc			nc				nc			nc			nc	
Perturbation endocrinienne	1	nc	nc					nc	nc						nc			nc	nc	nc	nc	
	2		nc					nc			nc				nc			nc			nc	

- Les **stations n°4, 5** ne présentent pas d'impact toxique et les **stations n° 1, 3 et 11** présentent un impact toxique avéré mais peu marqué sur une lecture générale des réponses.
- Les **stations n°6, 9, 13, 15, 19 et 21** n'ont pas d'impact toxique sur l'alimentation et l'activité AChE (neurotoxicité) mais ont des effets marqués sur la reproduction (mue, fertilité et /ou perturbation endocrinienne). La **station n°10** a un impact peu marqué sur l'alimentation.
- Les **stations n°8, 12, 14, 16** ont un impact toxique marqué sur l'alimentation et la reproduction
- Enfin, les **stations 2, 7, 17, 18 et 20** présentent un impact toxique très marqué ; en particulier sur les **stations n°2, 7 et 17** qui montrent des effets létaux très marqués au moins égales à 55% de mortalité.

- BIOMARQUEURS D'EFFET GLOBAL

Alimentation : **8 stations** n'ont pas d'impact, **2 stations** ont un effet suspecté, **5 stations** ont un effet avéré et peu marqué et **4 stations** ont un effet avéré et marqué (>35% d'inhibition alimentaire). Enfin, les résultats de l'alimentation ne sont pas présentés pour 2 stations (pour lesquelles la mortalité est supérieure à 50% mortalité).

Mue et reproduction : **4 stations** n'ont pas d'impact, **4 stations** ont un effet suspecté, **9 stations** ont un impact avéré. Enfin, les résultats de reproduction ne sont pas présentés pour 4 stations pour lesquelles moins de 10 femelles ont été analysées.

- BIOMARQUEURS D'EFFET SPECIFIQUE

- **Insecticides** : **2 stations** ont un effet suspecté et **1 station** a un effet avéré et marqué sur l'activité enzymatique de l'AChE (neurotoxicité); ce qui indique la présence d'insecticides anti-cholinéstorasiques (carbamates et organophosphorés) sur les **stations n°19, 20 et 21**.
- **Perturbateurs endocriniens** : **3 stations** sont exposées à des composés de type « perturbateurs endocriniens. Il s'agit des **stations n°9, 12 et 18**.

f. Bilan des analyses par station de mesure

- **1 – La Leyre à Belin Beliet (05191900 – RRP – M13)**
 - Un dépassement de seuil pour le cobalt (campagnes 1 et 2)
 - Le baryum est présent à une concentration la plus forte observée dans notre base de données.
 - Un effet avéré mais peu marqué sur l'alimentation (campagne 1)
 - Une forte mortalité des femelles lors de la première campagne (>60%).
 - Impact suspecté sur la fécondité (campagne 2)

- **2 – Le Retjon à Tartas (05224100 – RCO – P13)**
 - Le bore est présent à la concentration la plus forte observée dans notre base de données.
 - Un dépassement seuil pour un hydrocarbure (acénaphthylène) et l'hexachlorobenzène (campagne 1).
 - 5 dépassements de seuils pour des hydrocarbures (campagne 2).
 - Une mortalité forte est observée à 7 et 14 jours d'exposition (campagnes 1 et 2) : > 60%.

- **3 – La Midouze à Campagne (05226000 – RCS – P14)**
 - Un dépassement de seuil pour le cobalt (campagnes 1 et 2) et pour le chrome (campagne 1).
 - Une contamination par deux métabolites de l'insecticide DDT (campagne 1).
 - Un effet avéré et peu marqué sur l'alimentation (campagne 1).

- **4 – Le Midour à Lannemaignan (05229100 – RCO – P14)**
 - 4 dépassements de seuil pour le chrome, le cobalt et le plomb (campagnes 1 et 2) et pour l'arsenic (campagne 1).
 - Un dépassement de seuil pour DDE 4,4', métabolite de l'insecticide DDT (campagne 1)
 - Un effet sur l'alimentation est suspecté (campagne 1)

- **5 – La Gélise en amont du Rimbez (05106850 – RCS – GM14)**
 - 4 dépassements de seuil pour l'arsenic, le chrome, le cobalt et le plomb (campagne 1).
 - Impact suspecté sur la fécondité (campagne 2).

- **6 – La Grande Baïse à Bapaume (05107000 – RCS – GM14)**
 - 3 dépassements de seuil pour le chrome, le nickel et le plomb (campagne 1).
 - 12 dépassements de seuil pour des hydrocarbures HAP (campagne 2).
 - Impact avéré sur la fécondité (campagne 1).

- **7 – Le Trec à Longueville (05083300 – RCA – P14)**
 - 2 dépassements de seuil pour le chrome et le cobalt (campagne 1).
 - Une forte mortalité à 7 et 14 jours d'exposition : > 55%
 - Un impact très fortement marqué sur le taux d'alimentation (campagne 1)

- **8 – La Jalle de Blanquefort à Bordeaux (05073800 – RCO – P14)**
 - 6 dépassements de seuils pour le chrome et le plomb (campagnes 1 et 2) et le cobalt, le cuivre, le nickel et le zinc (campagne 1).
 - 2 dépassements de seuil pour des hydrocarbures HAP : acénaphthylène (campagne 1) et perylène (campagne 2).
 - Un effet avéré et marqué sur l'alimentation (campagne 1)
 - Une forte mortalité des femelles (campagne 1)
 - Un impact suspecté sur la fécondité (campagne 2).
 - *N.B. : Pas d'impact du taux d'oxygène dissous mesuré lors de la seconde campagne*

- **9 – La Seugne à Saint Germain de Lusignan (05008000 – RCS – M9)**
 - Un dépassement de seuil pour l'arsenic (campagne 1).

- 3 dépassements de seuil pour des hydrocarbures (campagne 2).
- Retards de mue spécifiques d'une perturbation endocrinienne (campagnes 1 et 2)
- Impact avéré sur la fécondité (campagnes 1 et 2)
- *N.B. : Pas d'impact du taux d'oxygène dissous mesuré lors de la seconde campagne*

- **10 – Le Tourtrat au niveau de Reparsac (05013153 – RCO – TP9)**
 - Un effet avéré, mais peu marqué sur l'alimentation (campagne 1)
 - Une forte mortalité des femelles (campagne 2)

- **11 – La Lizonne en aval de Bouissac (05023100 – RRP – TP9)**
 - Un dépassement de seuil pour un hydrocarbure HAP, l'acénaphthylène (campagne 2)
 - Impact avérée sur la fécondité (campagne 2)

- **12 – Les Eaux-Clares à Puymérol (05015320 – RCS – TP11)**
 - Effet sur l'alimentation suspecté (campagne 1)
 - Impact sur la fécondité (campagne 2)
 - Retard de mue spécifique d'une perturbation endocrinienne (campagne 2)

- **13 – La Dronne à Coutras (0503000 – RCO – M14)**
 - Un dépassement de seuil pour le nickel (campagne 1).
 - Retard avéré du cycle de mue → toxicité générale / pas liée à de la perturbation endocrinienne (campagne 1)
 - Impact sur la fécondité (campagnes 1 et 2)

- **14 – La Sausse à Toulouse (05157100 – RCO – P14)**
 - 3 dépassements de seuil pour le chrome et le plomb (campagne 1) et le zinc (campagne 2).
 - Effet avéré mais peu marqué sur l'alimentation (campagne 1)
 - Une forte mortalité des femelles (campagne 2)
 - Impact avéré sur la fécondité (campagne 1).

- **15 – L'Agout à Ambrès (05134000 – RCS – M14/3-8)**
 - Un dépassement de seuil pour le zinc (campagne 2)
 - Un dépassement de seuil pour un métabolite de l'insecticide DDT, le DDD 4,4' (campagne 1).
 - Forte mortalité des femelles (campagne 1)

- **16 – La Boralde Flaujaguèze en amont d'Espalion (05099170 – RRP – P3)**
 - 3 dépassements de seuil pour le chrome, le nickel et le plomb (campagne 2)
 - Effet suspecté et peu marqué sur l'alimentation (respectivement campagne 1 et 2)
 - Impact sur la fécondité (campagnes 1 et 2).

- **17 – Le Riou Mort en aval de Viviez (05093550 – RCO – P3)**
 - Des dépassements de seuil pour l'arsenic, le cadmium, le chrome, le zinc et le plomb (campagnes 1 et 2) et pour le cobalt et le nickel (campagne 1).
 - Les concentrations en cadmium et en zinc sont exceptionnellement élevées, dépassant à chaque campagne le maximum observé dans notre base de données pour le cadmium.
 - Cette station est la plus contaminée par les métaux sur l'ensemble de cette étude.
 - 2 dépassements de seuils pour un hydrocarbure et un métabolite du DDT : acénaphthylène et DDT 4,4' (campagne 1) et 3 dépassements de seuil pour des hydrocarbures (campagne 2).
 - Une très forte mortalité à 7 et 14 jours d'exposition (campagnes 1 et 2) : > 76%

- **18 – Le Rieu Tort à Labastide Saint Pierre (05129150 – RCD – TP14)**
 - Un dépassement de seuil pour l'argent (campagne 1)
 - Effet avéré et marqué sur l'alimentation (campagnes 1 et 2)

- Forte mortalité des femelles (campagne 1)
- Retard de mue spécifique d'une perturbation hormonale (campagne 2)
- Impact avéré sur la fécondité (campagne 2)

- **19 – L'Hers Mort au niveau de Saint Sauveur (05156950 – RCS – GM14)**
 - Un dépassement de seuil pour le chrome au cours de la campagne n°1,
 - Effets neurotoxiques suspectés au cours des deux campagnes indiquant la présence d'insecticides.
 - Forte mortalité des femelles (campagne 1)
 - Effet suspecté sur la fécondité (campagne 2)

- **20 – L'Aussonnelle à Seilh (05158700 – RCS – P14)**
 - 4 dépassements de seuil pour le chrome, le cobalt, le plomb et le zinc (campagne 1)
 - 3 dépassements de seuil pour le PCB 28 et le PCB 52 et le métabolite DDE 4,4' (campagne 1).
 - Effet avéré et marqué sur l'alimentation (campagne 1)
 - Effet neurotoxique suspecté (campagne 2) indiquant la présence d'insecticides.
 - Forte mortalité des femelles au cours des deux campagnes.

- **21 – Le Luzoue à Monein (05211550 – RRP – P14)**
 - Un dépassement de seuil pour le zinc (campagne 2)
 - Effet neurotoxique le plus marqué de l'étude indiquant la présence d'insecticides (campagnes 1 et 2).
 - Impact avéré sur la fécondité (campagnes 1 et 2).

5. CONCLUSION

Les principaux objectifs de cette étude étaient :

[1] d'évaluer les conditions opérationnelles de déploiement à large échelle d'un outil écotoxicologique (basé sur des biotests et réalisé à partir du crustacé d'eau douce *Gammarus fossarum*).

100% des systèmes d'exposition ont été récupérés lors de la phase d'expérimentation de terrain. Les outils ont été déployés sur les 21 stations de mesure sur un intervalle de 8 jours lors de la première campagne en juin 2015 et sur un intervalle de 3 jours lors de la seconde campagne en septembre 2015.

[2] de comparer la biodisponibilité de micropolluants métalliques et organiques entre plusieurs sites et à deux périodes différentes.

Les résultats de cette étude permettent d'identifier deux stations qui présentent une contamination métallique marquée: la Jalle de Blanquefort à Bordeaux (n°8 / 05073800 / RCO) et le Riou Mort en aval de Viviez (n°17 / 05093550 / RCO). Cette dernière est la plus contaminée de cette étude et présente une contamination exceptionnelle, en particulier pour le cadmium et le zinc. Il est intéressant de souligner que l'on retrouve sur ces deux stations de mesure, les concentrations métalliques les plus élevées pour les 14 métaux supplémentaires.

A l'inverse, il n'y a aucune problématique de contamination métallique sur quatre stations de mesure pour lesquels aucun dépassement de seuil n'a été observé au cours des deux campagnes : le Retjon à Tartas (n°2 / 05224100 / RCO), le Tourtrat au niveau de Reparsac (n°10 / 05013153 / RCO), la Lizonne en aval de Bioussac (n°11 / 05023100 / RRP) et les Eaux-Clares à Puymerle (n°12 / 05015320 / RCS).

En ce qui concerne la contamination organique, on observe une biodisponibilité anormale pour les hydrocarbures HAP sur 3 stations de mesure, avec de 3 à 12 dépassements de seuils : le Retjon à Tartas, le Grande Baise à Bapaume (n°6 / 05107000 / RCS) et le Riou Mort en aval de Viviez. La Grande Baise est la plus contaminée en hydrocarbures avec 12 dépassements de seuil. A l'inverse, 11 des 21 stations ne présentent aucune problématique de contamination organique pour les substances recherchées puisqu'aucun dépassement de seuil n'a été observé au cours des deux campagnes.

Les outils mis en place permettent d'identifier une contamination et sa typologie : par exemple, le Retjon à Tartas présente une contamination organique alors qu'il n'y en a pas pour les métaux. Pour le Riou Mort en aval de Viviez, il y a une contamination forte et multiple : métallique et organique. Enfin, que ce soit pour les métaux ou les organiques, les outils permettent de qualifier les stations pas, peu et fortement contaminées des autres stations où il n'y a pas de spécificité de contamination.

[3] de comparer les effets toxiques mesurés sur plusieurs sites et à deux périodes différentes.

En regardant de manière globale les résultats pour l'ensemble des biomarqueurs, on peut distinguer 2 à 6 stations qui sont fortement impactées :

- le Retjon à Tartas et le Riou Mort en aval de Viviez qui présentent une très forte mortalité à 7 et 14 jours (comprises x entre 67 et 100%). Mis en regard des analyses chimiques, ces deux stations présentent respectivement une contamination organique et une contamination multiple (métallique et organique).
- le Trec à Longueville, la Jalle de Blanquefort à Bordeaux, le Rieu Tort à Labastide Saint Pierre (n°18 / 05129150 / RCD) et l'Aussonnelle à Seilh (n°20 / 05158700 / RCS) des effets marqués sur le taux d'alimentation (entre 35 et 61% d'inhibition). La Jalle de Blanquefort présente une forte contamination métallique et quelques dépassements de seuils pour des contaminants organiques. A l'inverse, le Trec à Longueville et le Rieu Tort à Labastide Saint Pierre ne sont quasiment pas contaminés par les substances métalliques et organiques ciblées.

On peut également distinguer dans cette étude plusieurs stations de mesure montrant pas ou peu d'impact toxique: le Midour à Lannemaignan (n°4 / 05229100 / RCO) et la Gélise en amont du Rimbez (n°5 / 05106850 / RCS) et, dans une

moindre mesure, la Leyre à Belin Beliet (n°1 / 05191900 / RRP), la Midouze à Campagne (n°3 / 05226000 / RCS) et la Lizonne en aval de Bioussac (n°11 / 05023100 / RRP). Aucune contamination organique pour les stations, 1, 3, 4 et 5 n'a été observée avec une faible contamination métallique. En revanche, hormis un dépassement de seuil pour un hydrocarbure sur la Lizonne en aval de Bioussac, il n'y a pas de problématique de contamination métallique ou organique sur cette station pour les substances ciblées.

Les résultats de cette étude permettent de caractériser trois stations de mesure impactées par la présence de composés de type « perturbateurs endocriniens ». Des désynchronisations spécifiques entre le cycle de mue et la surface des ovocytes ont été observées sur les stations des Eaux-Claire à Puymerville (n°12 / 05015320 / RCS), du Rieu Tort à Labastide Saint Pierre (n°18 / 05129150 / RCD) et la Seugne à Saint Germain de Lusignan (n°9 / 05008000 / RCS), où les effets les plus forts ont été observés pour ce marqueur. Aucun autre type d'effet toxique n'a été mesuré sur les Eaux-Claire et la Seugne ; ce qui montre que ces deux stations sont caractérisées par une toxicité spécifique en lien avec la présence de perturbateurs endocriniens. A l'inverse, le Rieu Tort est caractérisée par une toxicité générale (effet sur l'alimentation) et une perturbation endocrinienne. Enfin, tandis qu'il y a une contamination organique sur la Seugne (n°9), il n'y a pas de problématique de contamination métallique ou organique sur ces stations de mesure : les Eaux-Claire et le Rieu Tort.

Les résultats de cette étude permettent aussi d'identifier une contamination spécifique aux insecticides anticholinésterasiques sur trois stations de mesure : l'Hers Mort au niveau de Saint Sauveur (n°19 / 05156950 / RCS), l'Aussonnelle à Seilh (n°20 / 05158700 / RCS) et le Luzoue à Monein (n°21 / 05211550 / RRP) où les effets les plus forts ont été observés pour ce marqueur. Tandis qu'une contamination organique est observée sur la station n°20, pas de problématique de contamination pour ces stations de mesure n'a été observée (n°19 et n°21).

Les effets toxiques sont globalement plus marqués au cours de la campagne 1 (juin 2015) que pour la campagne 2 (septembre 2015), cela est notamment marqué pour l'alimentation pour laquelle on décline respectivement 11 stations à la première campagne contre 2 stations à la seconde campagne.

En conclusion, l'utilisation de biomarqueurs a permis d'identifier différents types de pression toxique (générale et/ou spécifique) sur certaines stations, et notamment des pressions toxiques n'ayant pas pu être détectées par une approche de mesure ciblée des substances chimiques. Comme discuté précédemment, plusieurs stations ne montrent pas de problématique de contamination métallique ou organique pour les substances ciblées alors qu'une pression toxique du milieu a été identifiée à l'aide de biomarqueurs. Ainsi, l'utilisation de biomarqueurs d'effet montre que cela permet d'identifier de manière générale la toxicité du milieu ; là où des mesures chimiques ne sont pas exhaustives et peuvent « passer à côté » de contaminants problématiques. En effet, l'utilisation de réponses biologiques intégratrices permet d'évaluer la toxicité du milieu où les contaminants sont sous forme de mélange complexe.



Contacts

Guillaume JUBEAUX

*Responsable Scientifique et
Technique*

guillaume.jubeaux@biomae.fr

04.37.43.13.79

06.78.76.93.54

Laurent VIVIANI

*Responsable Administratif et
Commercial*

laurent.viviani@biomae.fr

04.37.43.13.79

06.89.73.41.14
