



HAL
open science

**Dispersion des métaux de la mine au lagon : rôle du compartiment atmosphérique et dispersion au sein du compartiment biotique dulçaquicole et estuarien.
Rapport scientifique final**

Magalie Baudrimont, Yannick Dominique, Agnès Feurtet-Mazel, Patrice Gonzalez, Pierre-Yves Gourvès, Peggy Gunkel-Grillon, Christine Laporte-Magoni, Estelle Lefrançois, Yves Letourneur, Julien Marquié, et al.

► **To cite this version:**

Magalie Baudrimont, Yannick Dominique, Agnès Feurtet-Mazel, Patrice Gonzalez, Pierre-Yves Gourvès, et al.. Dispersion des métaux de la mine au lagon : rôle du compartiment atmosphérique et dispersion au sein du compartiment biotique dulçaquicole et estuarien. Rapport scientifique final. [Rapport de recherche] Programme DMML [Métaux, vol. 1]. Tome Nickel et Santé, CNRT Nickel et son environnement. 2019, 192 p. hal-03379384

HAL Id: hal-03379384

<https://hal.science/hal-03379384>

Submitted on 24 Nov 2021

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Rapport scientifique

Edition 2019

D M M L

Dispersion des métaux
de la mine au lagon
[volume 1]

Rôle du compartiment atmosphérique et dispersion au
sein du compartiment biotique dulçaquicole et estuarien



Rapport Scientifique 2019

DISPERSION DES MÉTAUX DE LA MINE AU LAGON

Rôle du compartiment atmosphérique et dispersion au sein du compartiment biotique dulçaquicole et estuarien



*Etude réalisée dans le cadre des programmes de recherche financés par
le CNRT « Nickel & son environnement »*

CNRT
NICKEL
& son environnement

Juillet 2019

université
de **BORDEAUX**

EPOC
UMR 5175
Département de Paléontologie
Océanique et Continentale

UNC
UNIVERSITÉ
de la
NOUVELLE-CALÉDONIE

bioeko
CONSULTANTS

**UNIVERSITÉ
DE REIMS
CHAMPAGNE-ARDENNE**

GSMA

UMR 6298
ARTEHIS
ARCHÉOLOGIE
TERRE
HISTOIRE
SOCIÉTÉS

ASCONIT
Ingénierie et Ecologie
ZAC de Gisors
4 rue de Saint-Louis
57100 SAINT-JULIEN-LÈS-METZ
www.groupe-lhp.fr

« DISPERSION DES METAUX DE LA MINE AU LAGON »

Rapport scientifique final

Juillet 2019

Ouvrage collectif coordonné par Agnès FEURTET-MAZEL (Université de Bordeaux-EPOC CNRS 5805) et Peggy GUNKEL-GRILLON (Université de Nouvelle-Calédonie-ISEA EA 7484)

Pour le consortium : Université de Bordeaux-EPOC - Université de Nouvelle-Calédonie-ISEA EA 7484 - bioeko Consultants - ASCONIT - Université de Bourgogne-ARTeHIS 6298 - Université de Reims-CNRS GSMA 7331

AUTEURS (ORDRE ALPHABÉTIQUE) :

Magalie BAUDRIMONT (UB-EPOC)	Yves LETOURNEUR (UNC-ISEA)
Yannick DOMINIQUE (Bioeko consultants)	Régine MAURY-BRACHET (UB-EPOC)
Agnès FEURTET-MAZEL (UB-EPOC)	Julien MARQUIÉ (Asconit/Consultant indépendant)
Patrice GONZALEZ (CNRS-EPOC)	Fabrice MONNA (uB-ARTeHIS)
Pierre-Yves GOURVÈS (UB-EPOC)	Camille PASQUET (UNC-ISEA)
Peggy GUNKEL-GRILLON (UNC-ISEA)	Emmanuel RIVIERE (URCA-GSMA)
Christine LAPORTE-LAGONI (UNC-ISEA)	Estelle ROTH (URCA-GSMA)
Estelle LEFRANÇOIS (Asconit/Eco in'Eau)	

CONTRIBUTEURS

Julie BELLEC (stagiaire M2, UB-EPOC)

Emmeline BOULAI (stagiaire M2, UB-EPOC)

Jérémie BURGALAT (URCA-GSMA)

Yaya DEMBELE (stagiaire M2, URCA-GSMA,)

Margaret NGASSA (stagiaire M1, URCA-GSMA)

Anne-Sophie OSWALD (stagiaire M2, UNC-ISEA)

Kévin SCHNEIDER (stagiaire M1, UNC-ISEA)

Mariam ZAITER (stagiaire M2, URCA-GSMA)

RÉVISION DU DOCUMENT

Réf.	CSF n° <u>5PS2013-CNRT.UNIV.BORDEAUX/DMML du 15/04/2015</u>			
Version	Date	Rédacteur(s)	Qualité du rédacteur(s)	Révision pour CNRT
V1	01/07/2019	Agnès Feurtet-Mazel (UB-EPOC) Peggy Gunkel-Grillon (UNC-ISEA)	Coordinatrices du programme	F. Bailly CNRT

CITATION DU DOCUMENT

Mots clés : bioindication lichénique, modélisation atmosphérique, PM₁₀, Eléments traces métalliques, hydrosystèmes tropicaux, maillons trophiques aquatiques, bioaccumulation, impacts

En bibliographie, ce rapport sera cité de la façon suivante :

Baudrimont M., Dominique, Y., Feurtet-Mazel A., Gonzalez, P., Gourvès P-Y., Gunkel-Grillon, P., Laporte-Magoni C. Lefrançois, E., Letourneur, Y., Marquié, J., Maury-Brachet R , Monna F., Pasquet C., Rivière, E., Roth, E., (2019) – *Rapport scientifique final*. Programme « *Dispersion des métaux de la mine au lagon.* ». CNRT « Nickel & son environnement. 192 pages.

PREAMBULE

Le thème de la dispersion et de la toxicité potentielle des métaux dans l'environnement jusqu'à la biosphère et *in fine* la population, est abordé par le CNRT au travers du programme intégré : « **Dispersion et exposition humaine aux métaux en Nouvelle-Calédonie** » composé de trois projets complémentaires qui se sont déroulés de 2015 à 2019 et qui ont donné lieu à l'édition de 4 volumes :

Volume 1 : DMML – Dispersion des métaux de la mine au lagon : rôle du compartiment atmosphérique et dispersion au sein du compartiment biotique dulçaquicole et estuarien (2019)

Volume 2 : DYNAMINE – Dynamique des métaux de la mine au lagon dans l'hydrosphère (2019)

Volume 3 : METEXPO – Niveaux d'imprégnation et déterminants de l'exposition humaine aux métaux en Nouvelle-Calédonie (2017)

Un ouvrage séparé regroupe les synthèses de chacun des trois projets et propose une conclusion commune ouvrant sur les perspectives en termes de recherche :

Volume 4 : SYNTHÈSE – Dispersion et exposition humaine aux métaux en Nouvelle-Calédonie (2019)

Ce programme intégré ouvre la voie à d'autres sujets de recherche qui sont encore à mener pour compléter les connaissances sur les causes, les mécanismes, les conséquences et les risques associés à la présence de ces métaux dans l'environnement.

1. CONTEXTE ET OBJECTIFS	14
2. REACTIVITÉ DES PARTICULES ÉMISES PAR LES ACTIVITÉS MINIÈRES	15
2.1. INTRODUCTION	15
2.2. MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	16
2.2.1. <i>Echantillonnage et propriétés physico-chimiques des sols.....</i>	16
2.2.2. <i>Séparation des PM10</i>	20
2.2.3. <i>pH leaching tests sur la fraction inhalable (<100µm).....</i>	21
2.2.4. <i>extractions cinétiques à l'edta sur la fraction inhalable (<100µm) et sur PM10.....</i>	22
2.3. RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	22
2.3.1. <i>PH leaching tests sur la fraction inhalable (<100µm).....</i>	22
2.3.2. <i>Extraction cinétique.....</i>	25
2.4. CONCLUSION.....	32
3. DÉVELOPPEMENT DE L'OUTIL LICHEN, BIOINDICATEUR DE DISPERSION ATMOSPHÉRIQUE D'ÉLÉMENTS MÉTALLIQUES	33
3.1. INTRODUCTION	33
3.2. MATÉRIEL.....	34
3.2.1. <i>Collecte et analyse des lichens</i>	34
3.2.2. <i>Mesure de PM10</i>	37
3.3. MÉTHODES.....	37
3.3.1. <i>Traitement des données en analyse compositionnelle.....</i>	37
3.3.2. <i>Modélisation des trajectoires de masses d'air</i>	39
3.4. RESULTATS ET DISCUSSION.....	42
3.4.1. <i>Teneurs en métaux dans les lichens</i>	42
3.4.2. <i>Analyse des données compositionnelles.....</i>	45
3.4.3. <i>Niveaux d'exposition et dispersion géographique.....</i>	46
3.4.4. <i>COUPLAGE MODELISATION ATMOSPHERIQUE – BIOINDICATION LICHENIQUE.....</i>	48
3.5. CONCLUSION	56
4. DISPERSION DES ETM AU SEIN DES COMPARTIMENTS BIOLOGIQUES DULÇAQUICOLES ET ESTUARIENS ET ÉVALUATION DE LEURS EFFETS TOXIQUES	58
4.1. INTRODUCTION.....	58
4.2. APPROCHE EXPLORATOIRE DE LA CONTAMINATION MÉTALLIQUE DE DIFFÉRENTS MAILLONS TROPHIQUES LE LONG DU CONTINUUM BASSIN VERSANT – LAGON.....	60
4.2.1. <i>Méthodologie de collecte des organismes sur le terrain et critères d'analyse étudiés .</i>	62
4.2.2. <i>Resultats.....</i>	71
4.3. ÉTUDES EXPÉRIMENTALES DU TRANSFERT TROPHIQUE DU NI ENTRE DU BIOFILM PÉRIPHYTIQUE ET UN POISSON MODÈLE BROUTEUR.....	107
4.3.1. <i>Objectifs</i>	107
4.3.2. <i>Méthodes</i>	108
4.3.3. <i>Résultats.....</i>	112
4.4. DÉVELOPPEMENT D'UN OUTIL DIATOMÉES EN TANT QUE BIOINDICATEUR D'EXPOSITION ET D'EFFETS DES ETM AU SEIN DES HYDROSYSTÈMES ULTRAMAFIQUES.....	133
4.4.1. <i>Objectifs</i>	133
4.4.2. <i>Expression de gènes des diatomées des biofilms</i>	134
4.4.3. <i>Résultats.....</i>	135
4.5. DISCUSSION ET CONCLUSION.....	142
4.5.1. <i>Une contamination métallique des organismes vivants de la rivière taléa-coco depuis la zone d'exploitation minière jusqu'à l'aval.....</i>	143

4.5.2. Un transfert trophique et des impacts du Nickel en laboratoire en lien avec une contamination provenant de l'activité minière.....	145
5. VALORISATION DU PROGRAMME DMML.....	149
6. PERSPECTIVES ET OPPORTUNITÉS.....	151
7. BIBLIOGRAPHIE.....	153

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Sites d'échantillonnage des sols.....	17
Figure 2 : Tube de séparation des PM10 à partir de sol tamisé à 100µm.....	20
Figure 3 : Distribution granulométrique d'un sol minier échantillonné à Poro, tamisé à 2mm (pointillés), à 100µm (tirés) et après séparation dans le tube (ronds bleus).....	21
Figure 4 : Évolution de la concentration en éléments métalliques solubilisés à l'eau en fonction du temps pour la fraction inhalable (<100µm) du sol P-M6 (pH = 8.0).....	23
Figure 5 : Évolution de la concentration en éléments métalliques solubilisés en fonction du pH pour la fraction inhalable (<100µm) des sols P-M4 (courbe en rouge) et K-M10 (courbe en bleu). 23	
Figure 6 : Courbe d'extraction cinétique à l'EDTA du Co extrait en mg/kg pour la fraction inhalable (<100µm) du sol P-F1. Les cercles et les croix représentent les duplicats. Q ₁ +Q ₂ est la quantité totale extraite à l'EDTA.....	26
Figure 7 : Quantités en mg/kg de Ni, Co et Mn extraites à l'EDTA « rapidement » (Q ₁) ou « lentement » (Q ₂) dans la fraction inhalable (<100µm) de sols ultrabasiques.	27
Figure 8 : λ ₁ par rapport à λ ₂ pour Ni (a), Co (b) et Mn (c), dans les échantillons miniers (noir) et forestiers (gris).....	30
Figure 9 : Pourcentage de métal inerte (non extrait à l'EDTA) dans la fraction inhalable des sols miniers et forestiers.....	31
Figure 10 : Sites d'échantillonnage de lichens à Nouméa (a), Poro (b) et dans la Province Nord (c) 35	
Figure 11 : Étapes de prélèvement et d'analyse pour la bioindication lichénique.....	36
Figure 12 : Biplot projeté sur les deux premières composantes principales des données compositionnelles pour les lichens (n=34 thalles, les duplicats n'ont pas été représentés car confondus) 39	
Figure 13 : Position et dénomination des mines et des analyseurs de PM ₁₀	41
Figure 14 : Diagrammes à barres des poids de l'analyse de données compositionnelle en composants principales.....	45
Figure 15 : Indicateur synthétique des échantillons de lichens du transect Bourail-Poro et a) à Poro et b) à Nouméa.....	47
Figure 16 : Densités de trajectoires arrière initiées à Voh exprimées pour 16 sites miniers ou villes pour les semestres S1 en 2014 au semestre S2 en 2016 (a).	49
Figure 17 : Densités de trajectoires arrière initiées aux sites de mesure de PM ₁₀ à Gatope (panneau haut), Voh, panneau du milieu, et Ounjo (panneau bas) pour les années complètes 2014-2015.	50
Figure 18 : Densités de trajectoires (%) ayant survolé des mines et parvenant à Tiéta, Télama, Ouahat et Boyen (a) et à Voh, Gatope, Oundjo et Ouaco (b).....	51
Figure 19 : Densités de trajectoires (%) ayant survolé des mines et parvenant à Kaala Gomen, Gamai et Koumac (1) et à Tendo, Hienghène, Ouégoa et Pouébo (2).....	52
Figure 20 : Rapport Zn/Ti dans les lichens en fonction de la densité des trajectoires ayant survolé une mine entre le 1 ^{er} janvier 2014 et le 31 juillet 2016.....	53

Figure 21 :	Rapport Ni/Ti dans les lichens en fonction de la densité des trajectoires ayant survolé une mine entre le 1er janvier 2014 et le 31 juillet 2016.....	54
Figure 22 :	Rapport Cr/Ti et Co/Ti dans les lichens en fonction de la densité des trajectoires ayant survolé une mine entre le 1er janvier 2014 et le 31 juillet 2016.....	55
Figure 23 :	Densité de trajectoires partant des mines entre le 01/01/2014 et le 31/06/2016 ...	56
Figure 24 :	Localisation des bassins versants échantillonnés pour la composante biotique lors des deux missions de mai et novembre 2016 : Taléa-Coco et Tivoli.	61
Figure 25 :	Localisation des différents sites d'échantillonnage sur les deux bassins versants considérés en fonction de la composante biologique prélevée lors des deux missions en 2016	61
Figure 26 :	Substrats artificiels sur sites pendant 3 semaines.....	63
Figure 27 :	Moulage des substrats naturels (galets) échantillonnés et photos des surfaces moulées avant mesure par le logiciel Mesurim.....	63
Figure 28 :	Collecte par grattage des biofilms sur les substrats	64
Figure 29 :	Balayage de la lame par transect horizontal (extrait de la Norme NF T 90-354 de décembre 2007).....	67
Figure 30 :	Représentation schématique de la cellule de Nageotte	68
Figure 31 :	Cellule vivante à gauche avec chloroplaste visible et cellule morte à droite sans chloroplaste	68
Figure 32 :	Récupération des poissons et crustacés par pêche électrique sur les cours d'eau de la Taléa-Coco.	69
Figure 33 :	Répartition en pourcentages des fractions organique et minérale des biofilms collectés sur substrats artificiels (lames de verre) et sur galets naturels dans les 5 sites échantillonnés aux deux saisons (mai et novembre). (moyenne \pm écart-type, n=3). Les lettres différentes indiquent les différences significatives entre les sites ($\alpha = 0,05$).	71
Figure 34 :	Quantités de MSSC (part organique) et de part minérale des biofilms collectés en μg par cm^2 de lames de verre dans les 5 sites échantillonnés aux deux saisons (mai et novembre).....	73
Figure 35 :	Concentrations en métaux des biofilms collectés aux deux saisons (mai et novembre) sur substrats artificiels (lames de verre) et sur galets naturels dans les 5 sites échantillonnés.....	74
Figure 36 :	Pourcentage des éléments majeurs métalliques Ni, Mn, Cr, Co (Fe exclus) dans les biofilms collectés aux deux saisons (mai et novembre) sur galets naturels et sur substrats artificiels (lames de verre) dans les 5 sites échantillonnés (moyenne \pm SEM, n = 3).....	76
Figure 37 :	Chlorophylle a en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de biofilm prélevé sur lames de verre et galets (moyenne \pm SEM, n = 3).....	77
Figure 38 :	Les étapes de la formation du biofilm (in Lefrançois, 2008, d'après Wimpenny et Colasanti 1997).....	78
Figure 39 :	Station Tivoli a : amont ; b : aval	79
Figure 40 :	Densité cellulaire de la communauté de diatomées benthiques (moyenne \pm SEM, n = 3).	79
Figure 41 :	Pourcentages de cellule vivantes et mortes de la communauté de diatomées benthiques (moyenne \pm SEM, n = 3).....	80
Figure 42 :	Richesse spécifique et diversité du peuplement diatomique des échantillons prélevés sur lames de verre et galets (moyenne \pm SEM, n = 3).....	82
Figure 43 :	Equitabilité du peuplement diatomique des échantillons prélevés sur lames de verre et galets (1, 2 et 3 représentent les réplicats)	83
Figure 44 :	Éboulis des valeurs propres de l'Analyse Factorielle des Correspondances. (AFC) réalisée à partir des inventaires diatomiques	85
Figure 45 :	Représentation graphique des résultats de l'AFC selon les axes 1 et 2 ; le dégradé de couleur (du rouge au bleu) indique la dégradation de la qualité de la représentation graphique.....	86

Figure 46 :	Représentation graphique des résultats de l'AFC selon les axes 1 et 3	88
Figure 47 :	Indice de Fulton et longueur totale des <i>Macrobrachium amelum</i> en fonction des sites de prélèvements.....	89
Figure 48 :	Indice de Fulton et longueur totale des <i>Macrobrachium caledonicum</i> en fonction des sites de prélèvements (moyenne \pm écart-type).....	90
Figure 49 :	Bioaccumulation de Ni, Cr, Co, Fe et Mn dans les organes de <i>Macrobrachium amelum</i> prélevé sur les différents sites (moyenne \pm SEM).	91
Figure 50 :	Bioaccumulation de Ni, Cr, Co, Fe et Mn dans les organes de <i>Macrobrachium caledonicum</i> prélevé sur les sites Taléa droite et Taléa aval (moyenne \pm SEM).	93
Figure 51 :	Accumulation de Ni, Cr, Co, Fe, Mn dans les hépatopancréas des différentes espèces de crevettes prélevées sur les sites de Taléa et Tivoli (moyenne \pm SEM).....	94
Figure 52 :	Longueur totale et indice de Fulton pour l'anguille du Pacifique en fonction des 4 sites dulçaquicoles (moyenne \pm écart-type, n=5)	95
Figure 53 :	Longueur totale et indice de Fulton pour le lochon blanc en fonction des sites Taléa droite, aval et Tivoli (moyenne \pm écart-type, n = 5 pour Tivoli, n = 1 pour Taléa droite et aval)	96
Figure 54 :	Longueur totale et indice de Fulton pour la carpe en fonction des sites Taléa gauche et droite (moyenne \pm écart-type, n = 5).....	96
Figure 55 :	Longueur totale et indice de Fulton pour le lochon noir en fonction des sites Taléa gauche et Tivoli (moyenne \pm écart-type, n = 5).	97
Figure 56 :	Bioaccumulation de Ni, Cr, Co, Fe et Mn dans les organes d' <i>Anguilla marmorata</i> prélevée sur les différents sites (moyenne \pm SEM, n=5)	98
Figure 57 :	Bioaccumulation de Ni, Cr, Co, Fe et Mn dans les organes d' <i>Awaous guamensis</i> prélevés sur les sites Taléa aval et Tivoli (moyenne \pm SEM)	99
Figure 58 :	Bioaccumulation de Ni, Cr, Co, Fe et Mn dans les organes de <i>Khulia rupestris</i> prélevés sur les sites Taléa gauche et droite (moyenne \pm SEM, n = 5)	100
Figure 59 :	Bioaccumulation de Ni, Cr, Co, Fe et Mn dans les organes de <i>Sicyopterus lagocephalus</i> prélevé sur les sites Taléa gauche et Tivoli (moyenne \pm SEM, n = 5)	101
Figure 60 :	Bioaccumulation du Ni dans le foie des différentes espèces de poissons prélevées	102
Figure 61 :	Bioaccumulation du Ni dans les branchies des différentes espèces de poissons prélevées	102
Figure 62 :	Positionnements trophiques des échantillons étudiés dans 4 secteurs (Taléa aval, Taléa gauche, Taléa droite et Tivoli aval),.....	104
Figure 63 :	Cages perforées contenant 54 lames de microscope vierges pour colonisation du biofilm en milieu naturel, puis après 3 semaines de colonisation sur le terrain	108
Figure 64 :	Sites de collecte des <i>Awaous guamensis</i> par pêche électrique.....	109
Figure 65 :	Rotagit, système permettant l'homogénéisation de la contamination du biofilm développé sur lames de verre (rotation lente à raison de 5 tours par minute)	109
Figure 66 :	Disposition des poissons dans les unités expérimentales.....	110
Figure 67 :	Protocole expérimental de contamination trophique d'un poisson brouteur, le lochon, après exposition du biofilm naturel au Ni	110
Figure 68 :	Aquariums contenant les galets de la rivière Carénage C0 (droite) et de la rivière Taléa C1 (gauche).....	111
Figure 69 :	Concentrations de nickel (en $\mu\text{g/L}$) dans l'eau des unités expérimentales selon la condition (T = 10 $\mu\text{g/L}$, C1 = 50 $\mu\text{g/L}$ et C2 = 250 $\mu\text{g/L}$) au cours du temps (en jours)	113
Figure 70 :	Concentrations de nickel (en mg/kg, PS) dans les biofilms selon la condition (T = 10 $\mu\text{g/L}$, C1 = 50 $\mu\text{g/L}$ et C2 = 250 $\mu\text{g/L}$) au cours du temps (en jours)	114
Figure 71 :	Poids (en mg) des biofilms avant/après broutage selon les conditions (T = 10 $\mu\text{g/L}$, C1 = 50 $\mu\text{g/L}$ et C2 = 250 $\mu\text{g/L}$) au cours du temps (en jours) (moyennes \pm écart-types, n = 5)	115

Figure 72 :	Concentrations de nickel (en mg/kg, PS) dans les <i>Awaous guamensis</i> selon la condition (T = 10 µg/L, C1 = 50 µg/L et C2 = 250 µg/L) au cours du temps (T0, t7, t21)....	116
Figure 73 :	Illustration de l'effort de comptage des cellules au sein de la cellule de Nageotte et mise en évidence de l'indépendance du nombre de champs pris en compte et du nombre de diatomées comptées par la droite de régression (tirets rouges).....	117
Figure 74 :	Évolution de la densité cellulaire du biofilm et du contenu digestif des poissons au cours du temps, avant et après broutage et selon 3 concentrations de contaminant (moyennes ± SEM, n = 3 à 5).....	118
Figure 75 :	Évolution du pourcentage de cellules vivantes au cours du temps au sein du biofilm, avant et après broutage et selon 3 concentrations de contaminant (moyennes ± SEM, n = 3 à 5).....	120
Figure 76 :	Pourcentage de matériel organique et inorganique dans les biofilms de chaque conditions C0 et C1 et à chaque temps de prélèvement.	122
Figure 77 :	Bioaccumulation totale en Ni (mg/kg, PS) dans les biofilms des conditions C0 et C1 au cours du temps (moyenne ± SEM, n=3).	123
Figure 78 :	Concentration en Ni (mg/kg, PS) en fonction de la concentration en Fer (mg/kg, PS) dans les biofilms	124
Figure 79 :	Bioaccumulation totale et intracellulaire en Ni (mg/kg, PS) dans les biofilms	124
Figure 80 :	Illustration de quelques taxons remarquables rencontrés lors de cette étude, barre d'échelle : 10 µm.	125
Figure 81 :	Concentration en Ni total en µg/L dans l'eau des aquariums au cours du temps (A) et répartition du métal entre les fractions dissoute et particulaire (B).....	127
Figure 82 :	Répartition de l'indice de Fulton des poissons des conditions C0 et C1 à chaque temps (moyenne ± SEM, n=5, à T21C1 : n=4).	128
Figure 83 :	Bioaccumulation en Ni (mg/kg) dans les branchies des poissons des conditions C0 et C1 au cours du temps (moyenne ± SEM). Les lettres différentes indiquent une différence significative (pvalue < 5%)	129
Figure 84 :	Bioaccumulation en Ni (mg/kg) dans le foie des poissons des conditions C0 et C1 au cours du temps (moyenne ± SEM). Les lettres différentes indiquent une différence significative (pvalue < 5%).....	130
Figure 85 :	Bioaccumulation en Ni (mg/kg) dans les intestins des poissons des conditions C0 et C1 au cours du temps (moyenne ± SEM).....	131
Figure 86 :	Corrélation entre les concentrations de Ni (mg/kg, PS) et de Fer (mg/kg, PS) dans l'intestin des poissons.....	132
Figure 87 :	Bioaccumulation en Ni (mg/kg) dans les muscles des poissons des conditions C0 et C1 au cours du temps (moyenne ± SEM).....	133

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	: Type, nom, emplacement, couleur et contexte des sols étudiés; la latitude et la longitude sont fournies dans le système WGS84.....	18
Tableau 2	: Principales caractéristiques physicochimiques des fractions de sol <100 µm. -: non calculé; <pour en dessous de la limite de détection.....	19
Tableau 3	: Quantités (en mg/kg) totales et maximales solubilisées entre pHgastrique = 2.5 et pHpulmonaire = 7.4 et pourcentage maximal de métal solubilisé pour la fraction inhalable des sols P-M4 et K-M10.....	25
Tableau 4	: Paramètres issus de la modélisation des extractions cinétiques à l'EDTA. Q ₁ , Q ₂ : quantités extraites de métal (en mg.kg ⁻¹) et λ ₁ , λ ₂ : constantes cinétiques associées (en min ⁻¹), écarts types respectifs (sd), Q ₃ : Quantité non extraite de métal et Q _{tot} : quantité totale de métal .	28
Tableau 5	: Contrôle de la qualité des analyses. La limite de détection est fournie en tenant compte du facteur de dilution, de sorte que la limite de détection puisse être comparée aux	

	concentrations brutes de l'échantillon; -: pas de données disponibles; a: fourni mais non certifié; b: valeur de Monna et al., 2012.....	36
Tableau 6	: Teneurs en métaux des lichens (en $\mu\text{g.g}^{-1}$ sauf pour le fer en % w/w). La moyenne géométrique est calculée pour chaque groupe. Bis pour répliquat à Nouméa et Poro.....	43
Tableau 7	: Différents types d'échantillons prélevés.....	64
Tableau 8	: Nombre d'individus pêchés par espèce et par site de prélèvement.....	70
Tableau 9	: Richesse spécifique, diversité et équitabilité.....	81
Tableau 10	Résumé des tests de comparaisons des moyennes des signatures isotopiques en C et N pour les espèces ou sources présentes dans au moins deux sites. TA= Taléa aval, TD= Taléa droite, TG= Taléa gauche et TI= Tivoli aval. Ns= non significatif, *= $p < 0.05$, **= $p < 0.01$ et ***= $p < 0.001$	106
Tableau 11	: Expression différentielle par rapport aux conditions témoin des gènes observés après 48 h et 30 jours d'exposition au Ni à 50 $\mu\text{g/L}$ (C1) et 250 $\mu\text{g/L}$ (C2). Les données sont exprimées en facteurs d'induction (≥ 2), et facteurs de répression ($\leq 0,5$), / = niveaux d'expressions identiques à ceux des témoins.....	136
Tableau 12	: Valeur moyenne de l'expression différentielle des gènes étudiés au niveau du site amont de la rivière Tivoli au mois de mai et novembre 2016. Les chiffres donnés indiquent le niveau d'expression par rapport au gène de référence de la β actine à la même période de prélèvement.....	138
Tableau 13	: Moyenne de l'expression différentielle des gènes étudiés au niveau des 3 sites étudiés de la rivière Taléa-Coco au mois de mai et novembre 2016. Les chiffres donnés indiquent le niveau d'expression par rapport au gène de référence de la β actine à la même période de prélèvement.....	138
Tableau 14	: Niveau d'expression différentielle des gènes d'intérêts observés sur les biofilms des 3 sites de la Taléa-Coco par rapport à ceux déterminés sur la Tivoli amont en mai et novembre 2016. Les résultats sont exprimés sous forme de facteurs de répression en bleu et facteurs d'induction en rouge. / : Expression identique à la Tivoli. Seul les facteurs montrant des différences significatives ($p\text{-value} < 0,05$) sont indiqués dans ce tableau.....	139
Tableau 15	: Niveau d'expression différentielle des gènes d'intérêts observés sur les biofilms des sites Pont, Aval et Bras Gauche de la Taléa-Coco par rapport à ceux déterminés sur le site du Bras droit en mai et novembre 2016. Les résultats sont exprimés sous forme de facteurs de répression en bleu et facteurs d'induction en rouge. / : Expression identique au bras droit. Seul les facteurs montrant des différences significatives ($p\text{-value} < 0,05$) sont indiqués dans ce tableau.....	141

LISTE DES SIGLES & ABREVIATIONS

ANOVA / AFC / ACP	Analyse de Variance / Analyse en composante principale / Analyse Factorielle des correspondances
ARTeHIS	Archéologie, Terre, Histoire, Sociétés
CNRS	Centre National de la Recherche Scientifique
CNRT	Centre National de Recherche Technologique
ECMWF	Centre européen pour la prévision du temps à moyen terme
EDTA	Acide éthylène diamine tétra-acétique
EPOC	Environnements et Paléo-environnements Océaniques et Continentaux
ETM	Élément trace métallique
GSMA	Groupe de Spectrométrie Moléculaire Atmosphérique
ICP.AES ICP.OES	Spectrométrie d'émission atomique ICP-AES (ICP atomic emission spectrometry ICP-OES (ICP optical emission spectrometry).
IDNC	Indice diatomique de Nouvelle-Calédonie
ISEA	Institut des Sciences Exactes et Appliquées
KNS SAS	Société métallurgique Koniambo Nickel
MSSC	Matière sèche sans cendre
PCR /qPCR	Polymérase Chain Réaction / quantitative Polymérase Chain Réaction <i>Techniques de biologie moléculaire d'amplification des séquences ARN et ADN</i>
PM₁₀	Particules de diamètre aérodynamique inférieur à 10µm
UB	Université de Bordeaux
uB	Université de Bourgogne
UNC	Université de la Nouvelle-Calédonie
URCA	Université de Reims Champagne Ardennes

1. CONTEXTE ET OBJECTIFS

En Nouvelle-Calédonie, les deux tiers de la Grande Terre sont composés de roches ultrabasiques altérées, principalement des péridotites, formant des horizons latéritiques et saprolitiques. Ces horizons sont enrichis en métaux de transition, tels que le nickel (Ni), le chrome (Cr), le cobalt (Co), le fer (Fe) et le manganèse (Mn). Le nickel est exploité par excavation et toutes les activités minières (excavation, stockage, transport, séchage, traitement du minerai) sont susceptibles d'être source de fines particules facilement mobilisables par le vent ou l'eau. La dispersion de ces particules riches en nickel, chrome, cobalt, fer et manganèse peut présenter un risque pour l'environnement et pour la population.

Ce projet « DMML : Dispersion des métaux de la Mine au Lagon » est lié à deux autres projets traitant de la dispersion des métaux et du risque d'exposition de la population néo-calédonienne. Ces deux projets complémentaires sont le projet « DYNAMINE : Dynamique des Métaux de la Mine au Lagon » et le projet « METEXPO : Niveaux d'imprégnation et déterminants de l'exposition humaine aux métaux en Nouvelle-Calédonie ».

Les objectifs du programme « Dispersion des Métaux de la Mine au lagon » sont d'apporter des connaissances sur la dispersion des métaux en contexte minier en étudiant le rôle du compartiment atmosphérique dans la dispersion du nickel, chrome, cobalt, fer et manganèse (le rôle de l'hydrosphère dans la dispersion de ces éléments est traité dans le programme DYNAMINE). La dispersion de ces éléments métalliques au sein des compartiments biologiques dulçaquicoles et estuariens est également étudiée, et une première évaluation des effets toxiques de ces éléments est documentée.

Le site d'étude choisi est principalement le massif du Mont-Koniambo, même si des sites complémentaires (par exemple Poro, Nouméa, le Parc de la rivière Bleue...) ont été échantillonnés pour des besoins spécifiques aux différentes tâches du projet.

Ce projet traite spécifiquement les points suivants :

Dispersion et réactivité des poussières

- Potentiel de libération de métaux par les poussières
- Développement d'un bioindicateur lichen pour la dispersion des poussières émises par les activités minières
- Modélisation du transport atmosphérique des particules susceptibles d'être émises par les activités minières et lien avec la bio-indication lichénique

Dispersion des éléments métalliques au sein des compartiments biologiques dulçaquicoles et estuariens et évaluation de leurs effets toxiques

- Approche exploratoire de la contamination métallique de différents maillons trophiques le long du continuum bassin versant – lagon
- Etudes expérimentales du transfert trophique du nickel entre du biofilm périphytique et un poisson modèle brouteur

Développement d'un outil diatomées en tant que bioindicateur d'exposition et d'effets des éléments métalliques au sein des hydrosystèmes ultramafiques.

2. REACTIVITÉ DES PARTICULES ÉMISES PAR LES ACTIVITÉS MINIÈRES

2.1. INTRODUCTION

Tous les stades de l'exploitation minière (de l'extraction du minerai à son transport vers l'usine de traitement métallurgique), sont émetteurs de particules riches en métaux. Elles sont disséminées dans l'environnement par le vent ou le ruissellement de l'eau impactant le compartiment atmosphérique, le sol et l'eau. Les sols miniers retravaillés et donc dénudés sont beaucoup plus sujets à l'érosion éolienne et à l'érosion mécanique par ruissellement que les sols forestiers non travaillés, naturellement protégés par la végétation. L'étude des poussières collectées *in situ* sur filtre a été rapidement abandonnée car les quantités de matière recueillies sont faibles et difficilement compatibles avec une caractérisation physico-chimique complète des poussières.

Pour caractériser les poussières émises par l'exploitation minière, des échantillons de sols miniers ont donc été prélevés et deux fractions granulométriques ont été étudiées, les PM₁₀₀ (taille de particules inférieures à 100 µm qui représente la fraction inhalable) et les PM₁₀ (taille de particules inférieures à 10 µm qui représente la fraction thoracique). Dans un but comparatif, des sols ultrabasiques ont été collectés sous forêts, soit à proximité de zones minières, soit loin de toute activité minière connue.

L'analyse des concentrations totales en métaux contenus dans les particules dispersées par le vent ou par ruissellement est une première étape dans l'évaluation des risques environnementaux associés à l'activité minière. Mais la teneur totale n'est pas révélatrice de la mobilité des métaux c'est-à-dire de leur capacité à quitter les particules. Pour être assimilés dans un organisme vivant (animale, végétal ou l'homme), une étape de solubilisation est indispensable pour que le métal puisse franchir les membranes cellulaires. Pour évaluer les risques de transfert des métaux présents dans une phase solide (particule de sol, de sédiment, matière en suspension dans l'eau ou l'air) vers les eaux ou un organisme, il est utile d'étudier son comportement à la lixiviation (extraction solide/liquide) dans le but d'isoler une fraction mobilisable, simuler et quantifier le risque de transfert vers la phase aqueuse dans des conditions données. L'extraction chimique peut être sélective (isole une unique fraction par action d'un seul réactif) ou séquentielle (isole plusieurs fractions par action successive de plusieurs réactifs).

L'eau, solvant universel, est considérée comme un réactif simulant bien les conditions naturelles de lessivage des particules de sols. Il apparaît donc logique de s'intéresser aux quantités de métaux solubilisés à l'eau. Des premiers travaux préliminaires sur la toxicité des particules de sols latéritiques ont montré que les métaux qu'elles contiennent sont peu solubles à l'eau (Delmelle P., 2011). Mais ces tests de solubilisation ont été réalisés sans imposer le pH de la solution donc très certainement au pH imposé par le sol étudié. Les particules de sols dans un environnement donné ne sont pas nécessairement suffisamment abondantes pour imposer le pH. Pour mimer divers scénarii et principalement le scénario de l'ingestion ou de l'inhalation, ces particules ont été extraites à l'eau pour divers pH en incluant des pH acides (pH_{gastrique} ≈ 2.5) et des pH proches de la neutralité (pH_{pulmonaire} ≈ 7.4).

L'EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique) est communément utilisé pour évaluer le réservoir de métaux biodisponibles (Rocha et al., 2011 ; Gupta et al, 2007 ; Xu et al. 2013). L'EDTA met en solution les éléments échangeables, complexés principalement par la matière organique et ceux fixés sur les hydroxydes de fer, de manganèse et d'aluminium, eux-mêmes susceptibles d'être solubilisés par le réactif. Récemment, une approche par

extraction cinétique, consistant à examiner le comportement cinétique des métaux contenus dans les sols/sédiments a été développée. Les réactions dans l'environnement étant rarement à l'équilibre, des méthodes d'extractions cinétiques ont été développées pour estimer les cinétiques des réactions de solubilisation, le plus souvent en présence d'EDTA (Bermond et al. 2005, Camizuli et al. 2014; Labanowski et al. 2008). De plus, l'EDTA est communément utilisé dans les extractions cinétiques pour évaluer le pool de métal totalement extractible (facilitant ainsi les comparaisons des comportements des métaux dans divers contextes environnementaux. L'EDTA est en effet un chélatant fort qui solubilise les métaux par chélation et cible les métaux libres, adsorbés, liés à la matière organique, associés aux oxydes de Fe, Al, et Mn (Sahuquillo et al. 2003).

Les extractions cinétiques peuvent être modélisées par la somme de plusieurs réactions du premier ordre, mais deux sont généralement suffisantes (Gutzman et Langford, 1993). Cette modélisation permet de définir empiriquement deux pools: un pool de métaux « rapidement » solubilisables car extraits rapidement et un pool de métaux « lentement » solubilisables car extraits plus lentement (Fangueiro et al. 2005; Bermond et al. 2005). Les extractions cinétiques permettent alors de discriminer des pools de métaux par leur vitesse d'extraction (c'est-à-dire leur vitesse de mobilisation de la phase solide vers la phase liquide). Cette approche ne permet pas de déterminer les classes porteuses des métaux même si les cinétiques sont en dépendantes étroitement. Un troisième pool de métaux est défini comme étant le pool non solubilisé par déduction des pools extraits avec les concentrations totales.

2.2. MATERIELS ET MÉTHODES

2.2.1. ECHANTILLONNAGE ET PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DES SOLS

Les feuilles et la litière, si présentes, ont été enlevées avant prélèvement des sols. Chaque sol correspond à un échantillon composite obtenu à partir de neuf sous-échantillons, prélevés sur les dix premiers centimètres de sol à l'aide d'une pelle, sur environ 200 m² de surface. Cinq sols ont été échantillonnés sur des surfaces dénudées de deux sites miniers de Poro (P-M1 à P-M5) et de KNS (K-M1 à K-M5). Ils sont représentatifs de différents postes de travail miniers : zones d'exploration, fronts actifs, zones abandonnées, pistes d'exploitation minière et plates-formes de stockage (tableau1). Des échantillons supplémentaires ont été collectés dans des zones forestières, à moins de 1 km des sites miniers de Poro et de KNS : deux à Poro (P-F1 et P-F2) et un à KNS (K-F1). Enfin, deux échantillons ont été recueillis dans une zone forestière éloignée de toute activité minière, à proximité du Parc Provincial de la Rivière Bleue (BR-F1 et BR-F2). Les sols miniers ont été classés comme technosols ferriques tronqués, selon le WRB (groupe de travail IUSS WRB 2014), et correspondent aux anciens horizons B des profils d'altération humide. Tous les sols forestiers ont été classés comme des ferralsols ferriques. Ils correspondent à l'horizon A actuel des profils d'altération humide. Au laboratoire, les échantillons de sol composites ont été séchés à 35°C jusqu'à masse constante, tamisés à 2 mm, puis à 100 µm.

Au total, 15 sols géo-référencés ont été prélevés sur les trois sites d'étude (voir Figure 1 et tableau 1)

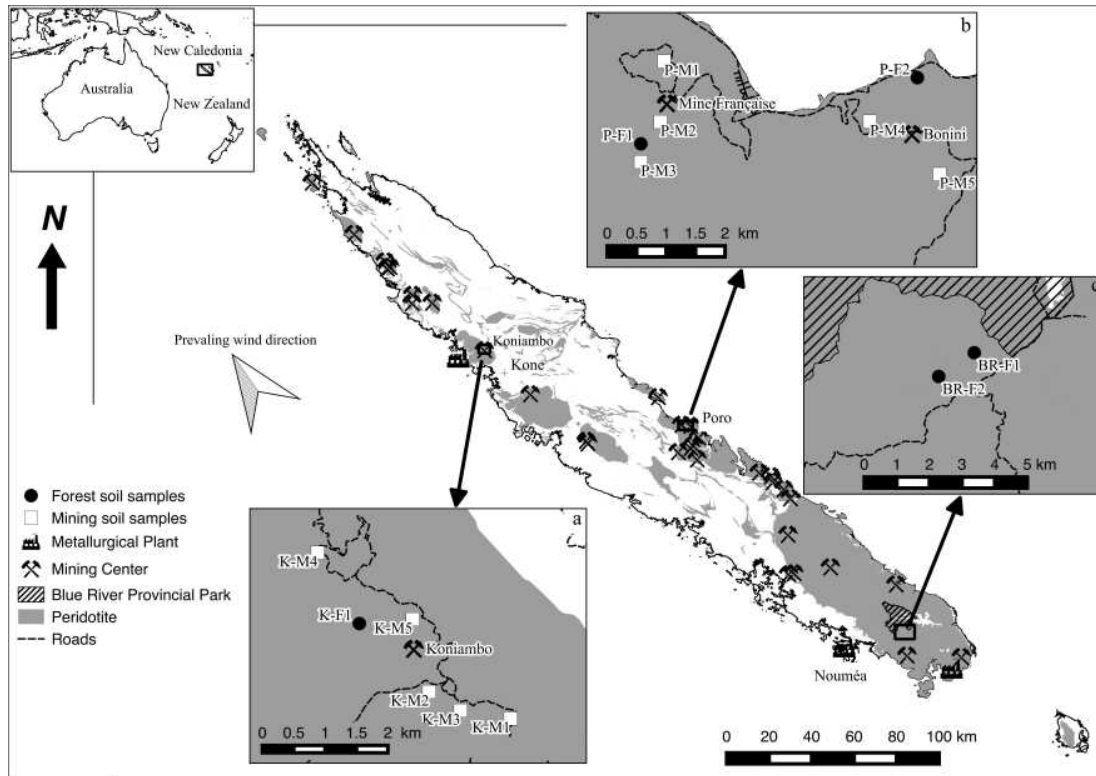


Figure 1 : Sites d'échantillonnage des sols

Tableau 1 : Type, nom, emplacement, couleur et contexte des sols étudiés; la latitude et la longitude sont fournies dans le système WGS84.

	Sols miniers/Technosols ferriques										Sols sous couvert forestier/Ferralsols ferriques				
Site	KNS					Poro					Parc de la rivière bleue		Poro		KNS
Nom	K-M1	K-M2	K-M3	K-M4	K-M5	P-M1	P-M2	P-M3	P-M4	P-M5	BR-F1	BR-F2	P-F1	P-F2	K-F1
Lon / Lat	164.819/ -20.991	164.807 / 20.988	164.811 / 20.99	164.790/ 20.967	164.804/ 20.977	165.696/ 21.296	165.696/ 21.305	165.692 / 21.311	165.73 / 21.305	165.741 / 21.313	166.721 / 22.178	166.710/ 22.185	165.690/ 21.310	165.739/ 21.298	164.796/ 20.977
Couleur	Reddish brown	Brownish yellow	Yellowish brown	Reddish yellow	Reddish yellow	Strong brown	Yellowish red	Strong brown	Dark yellowish brown	Dark reddish brown	Strong brown	Strong brown	Brown	Dark brown	Dark yellowish brown
	5YR 4/4	10YR 6/6	10YR 5/6	7.5YR 6/6	7.5YR 6/6	7.5YR 4/6	5YR 4/6	7.5YR 4/6	10YR 4/4	5YR 3/4	7.5YR 4/6	7.5YR 5/6	7.5YR 4/3	7.5YR 3/3	10YR 3/6
Contexte	Zone de prospection	Route minière	Front de mine	Route minière	Plateforme de stockage	Plateforme de stockage	Plateforme de stockage	Fronts de mine abandonnés							

Tableau 2 : Principales caractéristiques physicochimiques des fractions de sol <100 µm. na pour non analysé; < pour en dessous de la limite de détection.

Site	Échantillons collectés sur sites miniers										Échantillons sous couvert forestier				
	KNS					Poro					Parc de la rivière Bleue		Poro		KNS
Nom	K-M1	K-M2	K-M3	K-M4	K-M5	P-M1	P-M2	P-M3	P-M4	P-M5	BR-F1	BR-F2	P-F1	P-F2	K-F1
pH	6.15	7.3	6.85	6.3	6.85	6.49	6.24	7.36	7.8	6.95	4.72	4.75	6.29	6.35	6.48
C/N	32.4	na	26.7	34.7	36.1	45.1	na	32.8	26.5	19.5	23.5	20.8	19.9	22.8	19.8
OM (g.kg ⁻¹)	11.1	1.51	5.65	6.45	2.42	2.41	1.63	2.83	1.73	4.21	56.7	39.3	52.9	22	42.3
CEC (cmol.kg ⁻¹)	1.02	10.8	4.49	2.19	1.58	1.89	1.62	5.75	9.61	4.35	2.15	1.21	5.63	4.46	7.53
Ca échangeable	0.13	0.40	0.18	0.19	0.08	0.11	0.56	0.21	0.63	0.17	0.42	0.13	1.58	1.94	1.23
Mg échangeable	1.11	10.8	4.61	4.14	2.00	3.97	6.31	5.83	8.78	3.94	0.39	0.28	2.82	2.43	5.74
Na échangeable	0.06	0.21	0.08	0.62	0.03	0.21	0.19	0.136	0.188	0.161	0.09	0.09	0.13	0.13	0.07
K échangeable	<0.02	<0.02	<0.02	0.04	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	0.02	<0.02	0.06	0.04	0.08	0.09	0.11
Fe échangeable	0.17	0.04	0.10	0.16	0.191	0.09	0.10	0.07	0.02	0.08	0.07	0.06	0.07	0.08	0.06
Mn échangeable	0.082	<0.005	<0.005	0.005	0.011	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.218	0.019	0.217	0.027	0.08
Al échangeable	0.02	<0.02	<0.02	0.03	0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	0.12	0.55	<0.02	<0.02	<0.02
Ni total (mg.kg ⁻¹)	9690	19400	22300	14200	14400	15200	15800	23600	17900	19300	4390	1190	10400	11800	9010
Co total (mg.kg ⁻¹)	583	582	661	1200	1390	539	838	1160	898	2540	357	59.3	1190	1560	884
Mn total (mg.kg ⁻¹)	8590	2440	3780	6510	5270	4330	6910	3530	2280	5330	1540	503	7570	11400	7420
Fe total (en % w/w)	55.9	13.1	29.2	44.3	37.6	54.4	55.5	21.2	10.3	34.4	36.4	18.8	42.3	50.4	37.2
Mg total (en % w/w)	0.588	16	10.9	3.77	1.8	2.57	1.5	13.6	18.7	5.25	0.64	0.162	1.72	2.09	2.98
Al total (en % w/w)	2.2	0.37	1.15	2.62	1.2	1.49	1.47	0.53	0.24	0.83	5.25	8.78	1.36	1.86	2.53
Ca total (en % w/w)	<0.02	0.12	0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	0.06	0.09	0.03	<0.02	<0.02	0.03	<0.02	0.03

2.2.2. SÉPARATION DES PM10

Pour la séparation des PM₁₀, un tube de séparation a spécifiquement été mis au point au laboratoire pour ce projet. Le tamisage de fines particules nécessite en effet un tamisage humide pour ne pas colmater les tamis. Mais cette stratégie a été écartée pour ne pas perdre, dans l'eau, des éléments métalliques mobiles lors de l'étape de tamisage.

Des modélisations de mécanique de fluides ont été développées et ont permis de mettre en équation le déplacement de fines particules de sols placées à l'entrée d'un tube horizontale de diamètre D et de longueur L. Les particules sont mises en suspension et poussées à l'aide d'un flux d'azote et les plus fines particules sont susceptibles de parcourir une distance suffisante pour sortir du tube, tandis que les plus grosses sédimentent dans le tube (Figure 6). En sortie de tube, les particules les plus fines sont collectées grâce à un siphon.

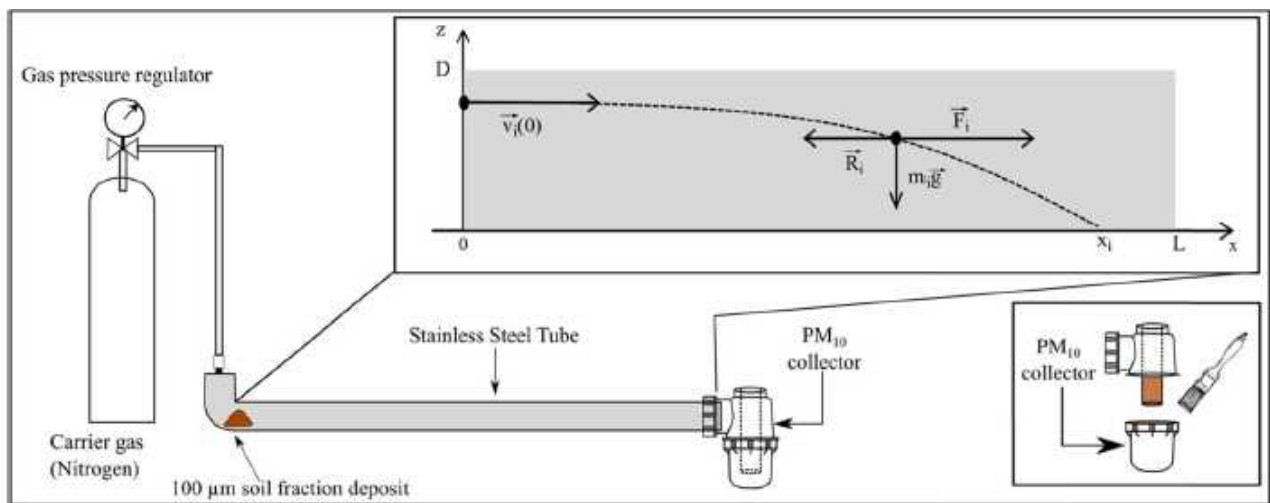


Figure 2 : Tube de séparation des PM₁₀ à partir de sol tamisé à 100µm

La probabilité pour une particule i de taille ϕ_i de sortir du tube est donnée par la fonction $S(i)$, définie par :

$$S(\phi_i) = \frac{D - z_{0,i}}{D} = 1 - \frac{2}{3} \frac{g}{\Delta P} \cdot \frac{L}{D} \phi_i$$

Avec D , le diamètre du tube ; L la longueur, g la gravité, $z_{0,i}$, la position verticale de la particule à l'entrée du tube et ΔP la différence de pression (Pasquet et al., 2016).

Pour $D=0.04\text{m}$ et $L=6\text{m}$, la distribution de taille des particules en sortie de tube devrait être centrée sur $10\mu\text{m}$.

La distribution de taille des particules est déterminée par granulométrie laser pour s'assurer de la qualité de la séparation. Les résultats expérimentaux ont confirmé les calculs théoriques et la qualité de la séparation avec une distribution de taille de particules centrée sur $10\mu\text{m}$ avec un $DV_{0.5} \approx 10\mu\text{m}$ (Figure 3). On remarque que pour les particules de taille inférieure à $7\mu\text{m}$, il y a une différence entre les prédictions théoriques et les résultats expérimentaux de distribution de taille des particules obtenues en sorties de tube (encart à droite Figure 3). Cette différence est probablement due soit aux approximations faites pour la modélisation soit parce que les très petites particules ne sont pas retenues pas le système de siphon en sortie de tube.

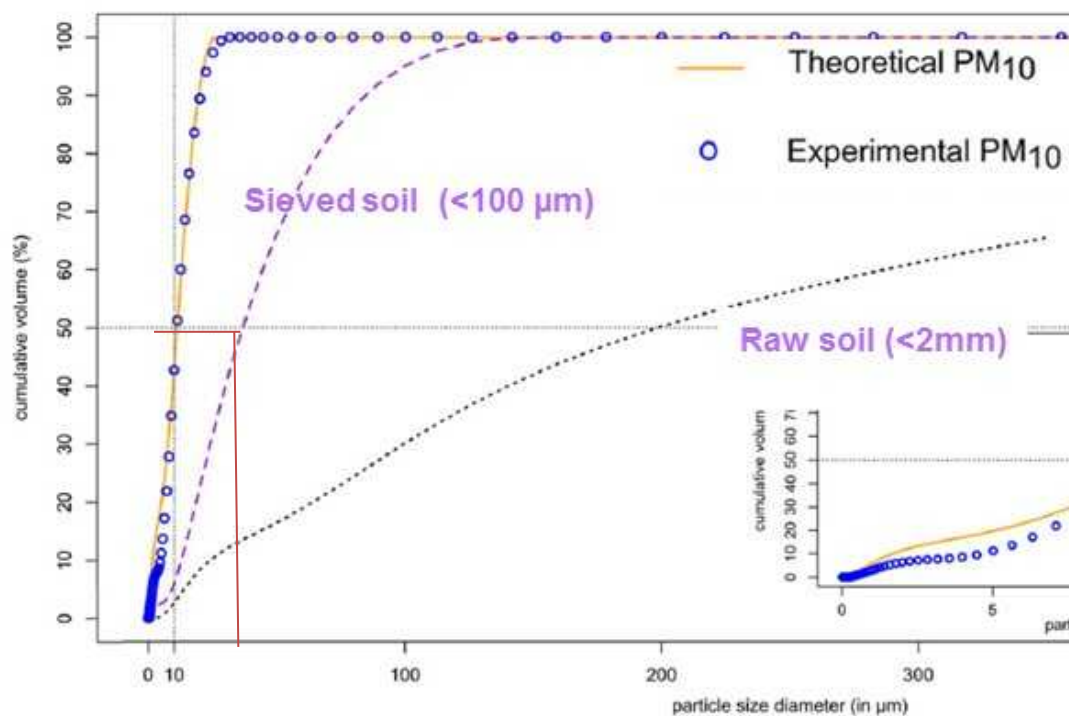


Figure 3 : **Distribution granulométrique d'un sol minier échantillonné à Poro, tamisé à 2mm (pointillés), à 100µm (tirés) et après séparation dans le tube (ronds bleus).**

La ligne orange décrit les prédictions théoriques de distribution de taille grâce au tube.

Pour 2.5 g de sol tamisé à 100µm et positionné à l'entrée du tube, 3 à 5 mg de PM₁₀ sont obtenues en sortie de tube pour 60 s de circulation du gaz à une pression de 1 bar. Plusieurs processus successifs de séparation sont possibles si une plus grande quantité de matière est nécessaire.

2.2.3. PH LEACHING TESTS SUR LA FRACTION INHALABLE (<100µM)

L'évolution de la quantité d'éléments métalliques solubilisés à l'eau en fonction de la valeur du pH est une information essentielle pour cerner la voie privilégiée d'imprégnation pour l'homme.

Un échantillon de sol, P-M6, a été utilisé pour évaluer la cinétique de solubilisation à l'eau. 50g de sol a été mélangé avec 250mL d'eau ultra pure dans un erlenmeyer de 1L sans ajustement du pH et après stabilisation, le pH du mélange sol/eau a été mesuré (pH=8.0). Après agitation, 25mL de surnageant a été prélevé à t = 0, 15, 30, 60, 240 et 1440 minutes à l'aide d'une seringue puis filtré à 0.2µm des filtres à membrane d'acétate de cellulose de porosité 0.2 µm.

Deux échantillons de sols P-M4 et K-M10 ont été choisis pour les pH leaching test et au regard du résultat du 1^{er} test sur le sol P-M6, la durée de l'extraction a été fixée à 480 minutes soit 8 heures. Les expériences ont été réalisées dans des tubes de centrifugation de 50mL en polypropylène/polyéthylène. Pour chaque valeur de pH, 5g de sol a été mélangé avec 25mL d'eau ultrapure puis le pH a été ajusté par ajout d'HNO₃ ou de LiOH. Une assez large gamme de valeur de pH a été utilisée. Pour compenser le fort pouvoir tampon du sol, les extractions réalisées à des pH entre 6 et 9, les solutions d'extraction ont été tamponnées

avec des tampons Good, reconnus pour n'avoir aucune propriété de complexation des métaux de manière à ne pas influencer la solubilisation par une réaction de complexation (MES, MOPS ou HEPES 0.2M) Les tubes ont été agités pendant 8h puis centrifugés à 4200 rpm pendant 10 minutes. Le surnageant a ensuite été filtré à travers des filtres à membrane d'acétate de cellulose de porosité 0.2 µm.

Les filtrats ont été conservés au réfrigérateur dans des flacons en polypropylène/polyéthylène avant analyse. La teneur en chrome, fer, nickel, cobalt, cuivre et manganèse a été déterminées par ICP-OES (Varian – 730-ES).

2.2.4. EXTRACTIONS CINÉTIQUES À L'EDTA SUR LA FRACTION INHALABLE (<100 µM) ET SUR PM10

Des extractions cinétiques de Ni, Co et Mn ont été effectuées en mode batch. Plusieurs flacons contenant chacun 3,0 g de sol tamisé à 100 µm ou séparé à 10µm et 30 mL d'une solution d'extraction, 0,05 mol.L⁻¹ Na₂H₂-EDTA à pH = 6,5, ont été agitées avec un agitateur mécanique (table ping-pong) 3D Polymax 1040 Heidolph. A des temps croissants $t \in [5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 200, 250, 300, 500, 1440]$ min, des aliquots de solution ont été recueillis, centrifugés à 6000 tr/min et filtrés grâce à une seringue équipée d'un filtre à membrane de 0,45 µm de diamètre en acétate de cellulose. Toute la procédure a été dupliquée pour chaque échantillon de sol. Les solutions filtrées ont été congelées avant analyse à l'aide d'un appareil ICP-AES, Spectro Arcos, installé dans une salle blanche du laboratoire LISA (Université Paris Diderot). La reproductibilité entre les répliqués était $\pm 15\%$. Afin de contrôler la stabilité et la précision des mesures ICP-AES tout au long de la session d'analyse, des mesures répétées d'un matériau de référence certifié, i.e. de l'eau de rivière SLR-5, ont été effectuées.

2.3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

2.3.1. PH LEACHING TESTS SUR LA FRACTION INHALABLE (<100µM)

Les résultats des cinétiques montrent que l'équilibre (plateau) est atteint après 4 heures de temps de contact entre les particules et l'eau tamponnée (Figure 4). Les réactions de solubilisation à l'eau des métaux, donc en l'absence de complexant est rapide. Les pH leaching test seront donc réalisés sur une durée de 8h de manière à être à l'équilibre.

Les expériences de lixiviation en fonction du pH mettent en évidence, pour les deux sols P-M4 et K-M10, que les quantités solubilisées dépendent considérablement du pH (Figure 5).

Durée d'extraction utilisée pour les pH leaching tests

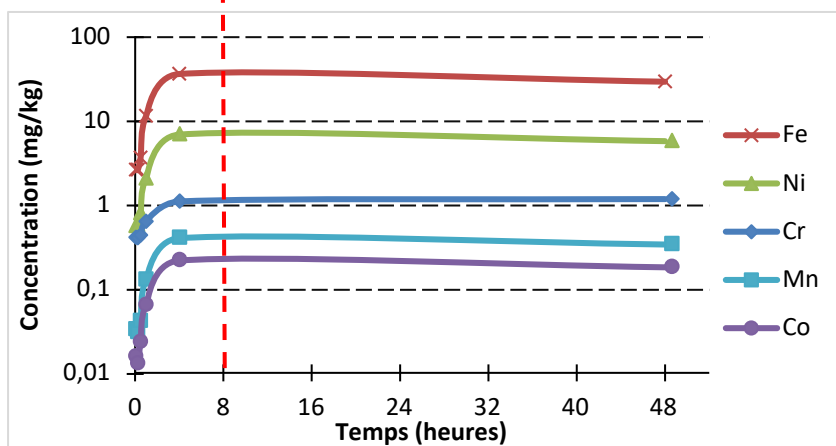


Figure 4 : Évolution de la concentration en éléments métalliques solubilisés à l'eau en fonction du temps pour la fraction inhalable (<100µm) du sol P-M6 (pH = 8.0)

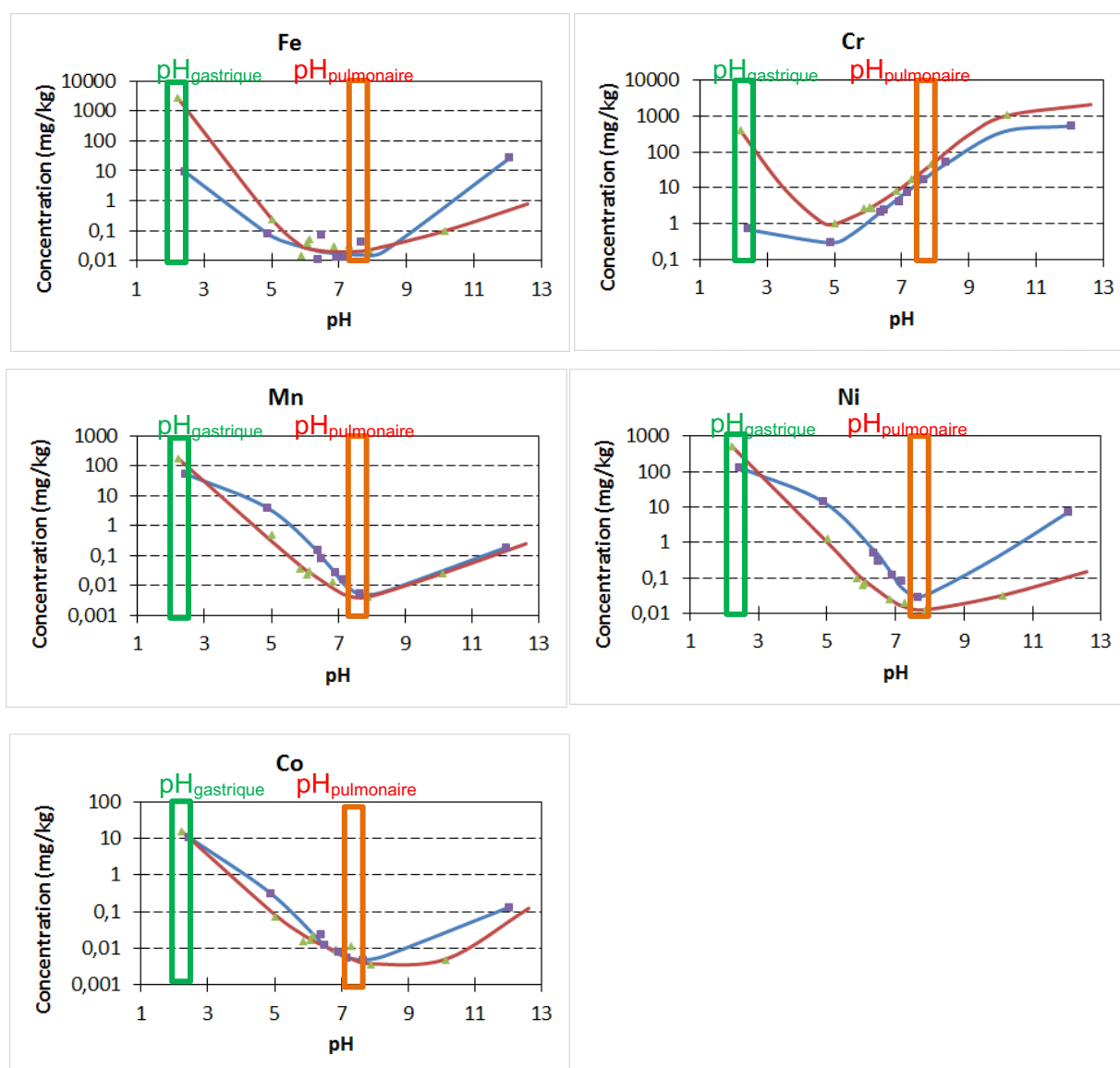


Figure 5 : Évolution de la concentration en éléments métalliques solubilisés en fonction du pH pour la fraction inhalable (<100µm) des sols P-M4 (courbe en rouge) et K-M10 (courbe en bleu).

Les concentrations en métaux solubilisés varient de plusieurs ordres de grandeur. La plus faible solubilité est notée pour les pH proches de la neutralité, sauf pour le chrome dont la plus faible solubilité est notée pour un pH voisin de 5.

En cas de dispersion de la fraction inhalable, il convient de s'intéresser spécifiquement à plusieurs pH. Les poussières peuvent en effet être inhalées et le pH des fluides pulmonaires extracellulaires est $\text{pH}_{\text{poumons}} \approx 7,4$. Elles peuvent également être ingérées soit directement soit après remontée par les cils vibratiles et passage dans les voies digestives dont le pH est très acide, $\text{pH}_{\text{gastrique}} \approx 2,5$.

Cela montre que le chrome est très mobile au pH des eaux superficielles comme cela avait été montré dans une précédente étude avec des gammes de concentrations solubles à l'eau identiques. Cette étude avait également montré que le Cr solubilisé est sous sa forme hexavalente.

Pour Fe, Mn, Ni et Co, les résultats montrent que les quantités solubilisées sont très élevées pour le $\text{pH}_{\text{gastrique}}$ avec Fe : 10-2790 mg/kg, Mn :54-182 mg/kg, Ni :127-520 mg/kg et Co :10-15 mg/kg tandis que pour le $\text{pH}_{\text{pulmonaire}}$ ces quantités sont toutes inférieures à 0,1 mg/kg. Pour Cr, les 2 échantillons présentent des résultats différents pour le $\text{pH}_{\text{gastrique}}$ avec 400mg/kg de Cr solubilisé pour l'échantillon P-M4 mais 0.7 mg/kg pour l'échantillon K-M10. Et contrairement aux autres métaux étudiés, les quantités solubilisées au $\text{pH}_{\text{pulmonaire}}$ sont bien supérieures à 0.1mg/kg et comprises entre 7 et 18 mg/kg, donc non négligeables. Ces résultats démontrent que pour Fe, Mn, Ni et Co, le principal risque d'imprégnation en métaux via la dispersion de ces fines particules est la voie digestive tandis que pour Cr, les voies digestives et pulmonaires peuvent représenter des risques comparables.

En comparant ces quantités aux quantités totales, on remarque que la proportion solubilisée à l'eau reste très faible avec moins de 1.9% pour Co, moins de 3% pour Mn, moins de 5.5% pour Fe et moins de 6.6% pour Ni et Cr (tableau 7). Ces particules sont donc très riches en éléments métalliques et même s'ils sont endogènes, une quantité importante est susceptible de passer relativement rapidement en solution dans l'eau et ce pour des pH acides pour Fe, Mn, Ni et Co. La voie par ingestion est donc une source potentielle importante d'imprégnation de la population pour Fe, Mn, Ni et Co. Concernant le pH pulmonaire, seul Cr est susceptible d'être solubilisé en quantités importantes, donc la voie par inhalation est une source potentielle importante d'imprégnation de la population par cet élément métallique. De plus, une précédente étude menée sur des sols de Poro avait montré des quantités de Cr lessivés à l'eau du même ordre de grandeur pour ce pH (Gunkel-Grillon et al, 2014). Mais surtout, le Cr solubilisé était sous sa forme hexavalente hautement toxique. Le risque sanitaire liée à l'inhalation de poussières d'origine ultrabasiques riches en Cr est donc réel.

Tableau 3 : Quantités (en mg/kg) totales et maximales solubilisées entre $pH_{\text{gastrique}} = 2.5$ et $pH_{\text{pulmonaire}} = 7.4$ et pourcentage maximal de métal solubilisé pour la fraction inhalable des sols miniers P-M4 et K-M10

		[Cr]	[Fe]	[Ni]	[Co]	[Mn]
P-M4	Quantité totale (mg/kg)	6023	46911	7975	861	5803
	Quantité solubilisée maximale	1092	2790	525	16	182
	% solubilisé maximal	6.6	5.9	6.6	1.9	3.1
K-M10	Quantité totale (mg/kg)	3557	48252	7365	706	3094
	Quantité solubilisée maximale	539	10	127	11	54
	% solubilisé maximal	1.5	0.02	1.7	1.6	1.7

Cette fraction inhalable peut également être très largement dispersée par les eaux de ruissellement et atteindre après dispersion ou déposition atmosphérique les rivières ou la mer. Le pH des rivières des bassins versants du Mont-Koniombo ont un pH variable $pH_{\text{rivière}} \approx 7,0-8,5$ tandis que le pH de l'eau de mer est plutôt tamponné $pH_{\text{eau de mer}} \approx 8,2$. Si on considère l'intervalle de pH des eaux superficielles douces sur substrat ultrabasique ou salées, donc l'intervalle 7.0 à 8.5, on peut également dire que les concentrations solubilisées à l'eau en Fe, Mn, Ni et Co sont inférieures ou égales à 0,1mg/kg donc très faibles. Par contre elles sont supérieures ou égales à 10 mg/kg pour Cr (au moins 100 fois plus élevées). Cela montre que le chrome est très mobile au pH des eaux superficielles comme cela avait été montré dans une précédente étude avec des gammes de concentrations solubles à l'eau identiques (Gunkel-Grillon et al, 2014).

2.3.2. EXTRACTIONS CINÉTIQUES A L'EDTA

- **Modélisation des cinétiques**

La quantité de métal extraite des échantillons de sols (<100 μm ou PM_{10}) augmente rapidement avec le temps (forte pente) puis la pente diminue jusqu'à obtention d'un palier (Figure 6).

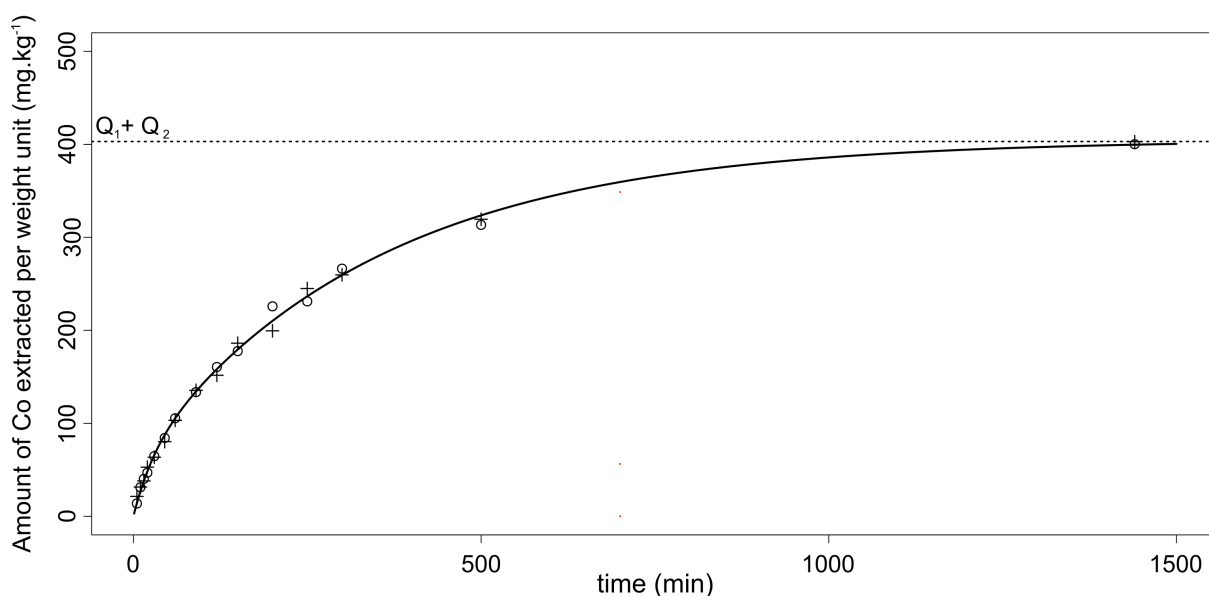


Figure 6 : **Courbe d'extraction cinétique à l'EDTA du Co extrait en mg/kg pour la fraction inhalable (<100µm) du sol P-F1. Les cercles et les croix représentent les duplicats. Q_1+Q_2 est la quantité totale extraite à l'EDTA**

Cette courbe peut être modélisée par la somme de deux réactions d'extraction de premier ordre :

$$Q_i(t) = Q_{1,i}(1 - e^{-\lambda_1 t}) + Q_{2,i}(1 - e^{-\lambda_2 t}) + \varepsilon_i$$

où $Q_i(t)$ correspond à la quantité de métal extraite par masse de sol (en mg.kg^{-1}) à un instant t (en min), $Q_{1,i}$ correspond au pool libéré « rapidement » et $Q_{2,i}$ au pool libéré « lentement » (en mg.kg^{-1}). Les teneurs Q_1 et Q_2 sont toutes deux associées à des constantes cinétiques, respectivement λ_1 et λ_2 (exprimées en min^{-1}); ε_i fait référence au terme d'erreur et i aux sessions dupliquées ($i = 1$ ou 2). Les paramètres Q_1 , Q_2 , λ_1 et λ_2 ont été estimés par régression mixte non linéaire (Pinheiro et al. 2018). Des résultats très satisfaisants avec des valeurs de $R^2 > 0,97$ et $> 0,99$ pour Ni, Co et Mn ont été obtenues mais pas pour Fe et encore moins pour Cr. Il est probable que les conditions expérimentales étaient peu adaptées aux concentrations particulièrement élevées de Fe et pour Cr, l'EDTA n'est pas nécessairement l'extractant adéquat car Cr est présent principalement sous forme hexavalente anionique.

La quantité de métal non extrait par l'EDTA, Q_3 (en mg.kg^{-1}), a été obtenue par soustraction de la somme ($Q_1 + Q_2$) de la concentration totale en métal, Q_{tot} , mesurée après dissolution totale à l'acide. Pour le chrome les résultats n'ont pas pu être modélisés mais le choix de l'EDTA n'est pas nécessairement adapté pour le chrome qui peut être sous forme hexavalente donc anionique (l'EDTA est un chélatant des cations métalliques).

- **Résultats pour la fraction inhalable <100 µm**

Les résultats des extractions cinétiques sont regroupés dans le tableau 4. Le pool de métaux non extrait, Q_3 , représente la majorité des métaux puisque 73.6 à 99.6% de la quantité totale n'est pas solubilisé. Ces résultats mettent clairement en évidence la capacité faible de Ni, Co et Mn à passer de la phase solide à la phase liquide puisque même en présence d'un chélatant fort, tel que l'EDTA, les quantités extraites (Q_1+Q_2) représentent moins de 5% du Ni total et entre 3 à 35% du Co ou Mn total. Ces métaux endogènes sont donc peu mobiles. Ces sols se sont développés dans des conditions subtropicales humides et aient été profondément altérés pendant une très longue période, les métaux sont encore principalement inclus dans les structures minérales.

Les quantités extraites à l'EDTA sont relativement élevées puisque les sommes Q_1+Q_2 peuvent représenter plusieurs centaines de mg/kg (Figure 7). Cela signifie que les quantités susceptibles de passer en solution, donc d'être solubilisés dans les eaux naturelles ou assimilés par un organisme vivant sont très élevées pour ces métaux endogènes contenus dans les poussières produites par les sols ultrabasiques miniers ou forestiers.

Les résultats montrent également que les quantités Q_2 sont toujours supérieures aux quantités Q_1 . On peut calculer le rapport Q_2/Q_1 pour Ni, Co et Mn, il est respectivement de 1.0 à 5.7, 1.1 à 40 et 1.6 à 80. La plus grande quantité de métaux est donc « lentement » extraite, donc le pool le plus important mettrait du temps à se solubiliser, ce qui requiert un temps de séjour plutôt long des poussières dans un environnement donné.

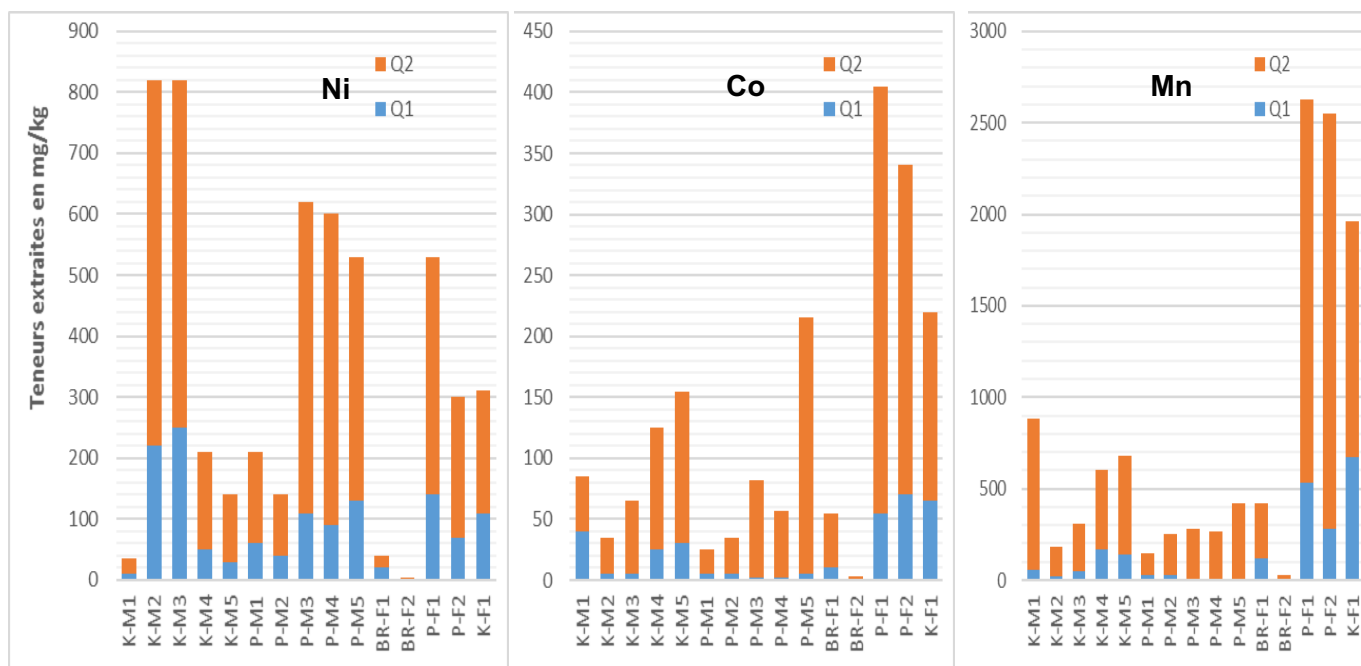


Figure 7 : Quantités en mg/kg de Ni, Co et Mn extraites à l'EDTA « rapidement » (Q_1) ou « lentement » (Q_2) dans la fraction inhalable (<100 μ m) de sols ultrabasiques.

Tableau 4 : Paramètres issus de la modélisation des extractions cinétiques à l'EDTA.

Q_1 , Q_2 : quantités de métal extraites rapidement ou lentement (en $mg.kg^{-1}$) et λ_1 , λ_2 : constantes cinétiques associées (en min^{-1}), écarts types respectifs (sd), Q_3 : Quantité non extraite de métal et Q_{tot} : quantité totale de métal

		R^2	λ_1	sd	λ_2	sd	Q_1	sd	Q_2	sd	Q_3	Q_{tot}	
Ni	Sols miniers	K-M1	0.992	0.047	0.005	0.0015	0.0002	10	0.7	25	1.1	9655	9690
		K-M2	0.993	0.074	0.009	0.0021	0.0002	220	11	600	16	18580	19400
		K-M3	0.992	0.156	0.020	0.0021	0.0002	250	8.4	570	16	21480	22300
		K-M4	0.984	0.076	0.015	0.0018	0.0002	50	4.8	160	8.8	13990	14200
		K-M5	0.989	0.232	0.050	0.0016	0.0001	30	1.4	110	4.0	14260	14400
		P-M1	0.985	0.062	0.009	0.0017	0.0002	60	4.1	150	8.0	14990	15200
		P-M2	0.991	0.169	0.023	0.0018	0.0001	40	1.5	100	3.1	15660	15800
		P-M3	0.994	0.073	0.009	0.0017	0.0001	110	8.0	510	11	22980	23600
		P-M4	0.994	0.091	0.014	0.0017	0.0001	90	6.2	510	11	17300	17900
		P-M5	0.992	0.111	0.011	0.0016	0.0001	130	6.5	400	14	18770	19300
	Sols forestiers	BR-F1	0.975	0.196	0.027	0.0046	0.0005	20	0.8	20	1.0	4350	4390
		BR-F2	0.986	0.407	0.059	0.0041	0.0004	1	0.1	1	0.1	1188	1190
		P-F1	0.992	0.182	0.028	0.0031	0.0001	140	5.8	390	9.3	9870	10400
		P-F2	0.993	0.144	0.022	0.0033	0.0002	70	3.7	230	4.5	11500	11800
		K-F1	0.986	0.134	0.022	0.0044	0.0004	110	6.0	200	7.0	8700	9010
Co	Sols miniers	K-M1	0.995	0.026	0.003	0.0029	0.0004	40	3.7	45	3.6	495	580
		K-M2	0.995	0.041	0.009	0.0015	0.0001	5	0.4	30	1.0	545	580
		K-M3	0.996	0.037	0.009	0.0020	0.0001	5	1.0	60	1.3	595	660
		K-M4	0.997	0.014	0.004	0.0021	0.0003	25	7.8	100	6.5	1075	1200
		K-M5	0.999	0.015	0.002	0.0016	0.0001	30	3.4	125	2.1	1235	1390
		P-M1	0.996	0.020	0.004	0.0014	0.0002	5	0.7	20	0.7	515	540
		P-M2	0.996	0.040	0.008	0.0017	0.0001	5	0.6	30	0.7	805	840
		P-M3	0.996	0.046	0.015	0.0011	0.0001	2	0.8	80	1.5	1078	1160
		P-M4	0.997	0.184	0.054	0.0009	0.0001	2	0.3	55	1.4	843	900
		P-M5	0.999	0.190	0.086	0.0008	0.0001	5	0.5	210	6.1	2325	2540

Sols forestiers	BR-F1	0.996	0.068	0.013	0.0077	0.0005	10	1.9	45	1.6	305	360	
	BR-F2	0.997	0.026	0.003	0.0031	0.0002	1	0.10	2	0.1	57	60	
	P-F1	0.997	0.034	0.006	0.0029	0.0001	55	7.8	350	7.0	785	1190	
	P-F2	0.996	0.029	0.005	0.0036	0.0002	70	11	270	9.6	1220	1560	
	K-F1	0.996	0.037	0.005	0.0038	0.0003	65	6.6	155	6.2	665	885	
Mn	Sols miniers	K-M1	0.994	0.027	0.003	0.0019	0.0003	55	42	830	38	7705	8590
		K-M2	0.994	0.034	0.009	0.0014	0.0001	20	3.0	160	7.3	2260	2440
		K-M3	0.993	0.025	0.006	0.0025	0.0002	50	9.7	255	15	3475	3780
		K-M4	0.994	0.016	0.004	0.0018	0.0004	170	46	435	32	5905	6510
		K-M5	0.998	0.021	0.003	0.0013	0.0001	140	13	540	14	4590	5270
		P-M1	0.997	0.013	0.003	0.0011	0.0002	25	5.5	120	5.4	4185	4330
		P-M2	0.996	0.041	0.008	0.0012	0.0001	25	3.0	230	7.0	6655	6910
		P-M3	0.996	0.033	0.010	0.0014	0.0001	10	3.4	270	3.7	3250	3530
		P-M4	0.997	0.130	0.070	0.0007	0.0001	3	1.1	265	9.4	2012	2280
		P-M5	0.999	0.058	0.019	0.0012	0.0001	10	3.3	410	9.1	4910	5330
Sols forestiers	BR-F1	0.994	0.119	0.020	0.0091	0.0006	120	11	300	9.9	1120	1540	
	BR-F2	0.992	0.141	0.031	0.0050	0.0003	5	0.4	20	0.4	475	500	
	P-F1	0.996	0.054	0.010	0.0047	0.0003	535	63	2090	58	4945	7570	
	P-F2	0.996	0.114	0.034	0.0067	0.0003	280	49	2270	39	8850	11400	
	K-F1	0.993	0.058	0.008	0.0057	0.0005	670	67	1290	61	5460	7420	

Les extractions cinétiques, à travers la détermination des valeurs de constantes cinétiques, permettent d'aborder le caractère temporel de la biodisponibilité. Il s'avère que quel que soit le métal étudié, les valeurs λ_1 et λ_2 ont des plages de variation similaires : 0,013 à 0,4 min⁻¹ pour λ_1 et 7.10⁻⁴–9.10⁻³ min⁻¹ pour λ_2 . Des comparaisons multiples des valeurs λ_1 et λ_2 entre les sols miniers et forestiers ont été entrepris. Les sols forestiers sont statistiquement toujours discriminés des sols miniers par leurs valeurs de λ_2 . Les valeurs de λ_2 sont toujours plus élevées pour le sol forestier (Figure 8). Pour Mn, λ_1 et λ_2 sont plus élevées pour les sols forestiers. Ces résultats indiquent que, dans les sols forestiers, les métaux du pool « extraits lentement », le sont plus rapidement que dans les sols miniers.

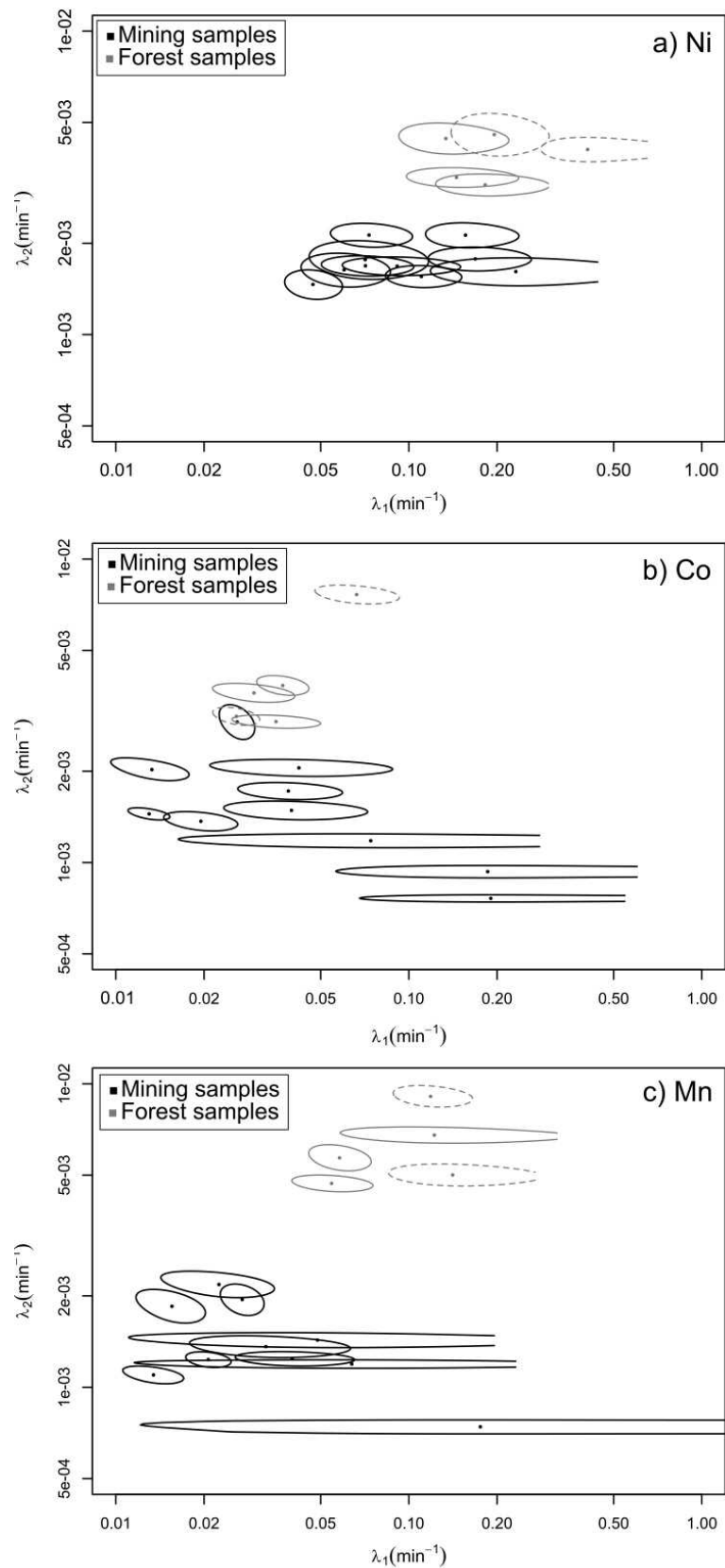


Figure 8 : λ_1 par rapport à λ_2 pour Ni (a), Co (b) et Mn (c), dans les échantillons miniers (noir) et forestiers (gris).

La région de confiance à 95% est également fournie pour chaque paire (λ_1 , λ_2); les échantillons de référence du parc de la Rivière Bleue sont tracés en pointillés

Les sols miniers sont principalement constitués de matériaux d'horizon B tronqués d'anciens Ferralsols. Ce matériau a parfois été partiellement retravaillé et sa présence à la surface, c'est-à-dire soumise aux agents atmosphériques, est récente. Bien que les sols se soient développés dans des conditions subtropicales humides et aient été profondément altérés pendant une très longue période, les métaux sont encore principalement inclus dans les structures minérales donc très peu mobiles. C'est la raison pour laquelle la fraction inerte non extraite est proche de 100 % (Figure 9). En revanche, les échantillons de surface prélevés dans les forêts correspondant aux horizons A des Ferralsols Ferriques contiennent des quantités notables de matière organique (Tableau 2).

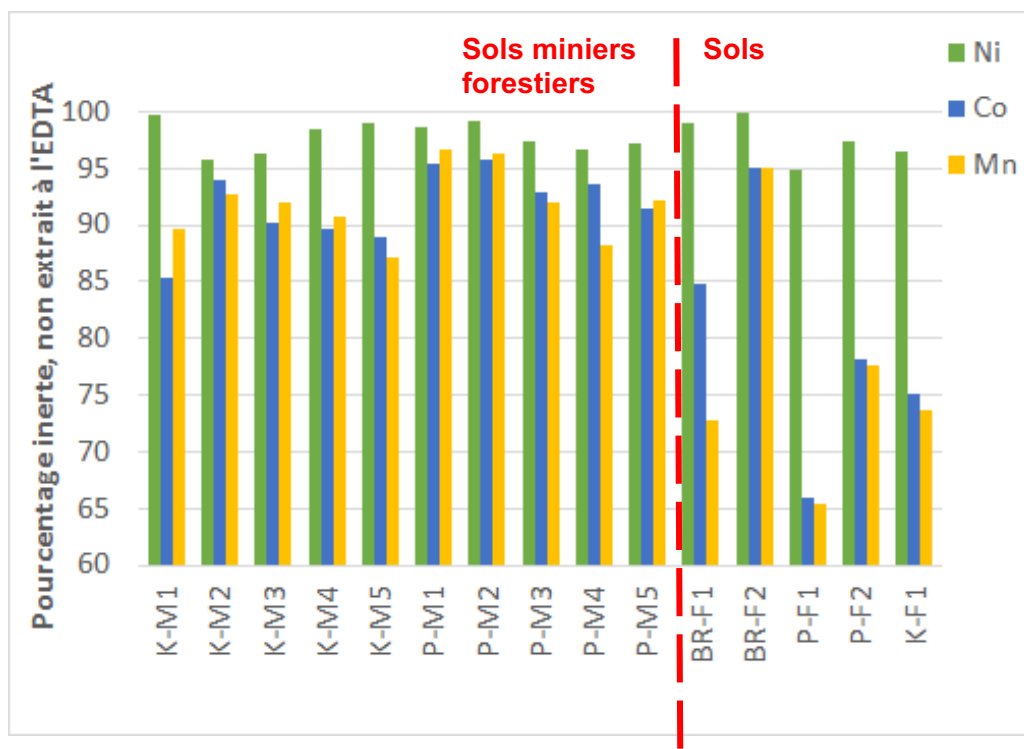


Figure 9 : **Pourcentage de métal inerte (non extrait à l'EDTA) dans la fraction inhalable des sols miniers et forestiers**

La teneur plus élevée en matière organique dans les sols forestiers peut avoir entraîné une activité microbienne accrue et une réduction des oxydes de manganèse donc une mobilité accrue du Co et du Mn (Co est souvent associé aux oxydes de manganèse dans les sols ultrabasiques). Ainsi la proportion de Co et Mn inerte dans les sols forestiers est plus faible que dans les sols miniers. Les différences observées pour les vitesses d'extractibilité à l'EDTA des échantillons forestiers peuvent également être liées à cette activité microbienne favorisée par la forte présence de matière organique.

Des valeurs plus élevées de λ_2 (et parfois de λ_1) dans les sols forestiers n'impliquent pas nécessairement plus de risques potentiellement nocifs pour l'environnement. En effet, sous couvert végétal, le risque de dispersion dû à l'érosion des sols est bien moins élevé que pour les sols miniers dénudés.

2.4. CONCLUSION

Pour caractériser les poussières émises par l'exploitation minière, 10 échantillons de sols miniers et 5 sols forestiers ont été prélevés et deux fractions granulométriques ont été étudiées, les PM₁₀₀ (taille de particules inférieures à 100 µm et qui représente la fraction inhalable) et les PM₁₀ (taille de particules inférieures à 10 µm et qui représente la fraction thoracique).

Pour mimer divers scénarii et principalement le scénario de l'ingestion ou de l'inhalation, 2 échantillons ont été extraits à l'eau avec un pH imposé proche du pH gastrique (pH_{gastrique} ≈ 2.5) et proche du pH pulmonaire (pH_{pulmonaire} ≈ 7.4).

Pour Fe, Mn, Ni et Co, les résultats de lixiviation à l'eau montrent que les quantités solubilisées sont très élevées pour le pH_{gastrique} acide avec [Fe]=10 à 2790 mg/kg, [Mn]= 54 à 182 mg/kg, [Ni]=127 à 520 mg/kg et [Co]=10 à 15 mg/kg. Pour le pH_{pulmonaire}, proche de la neutralité, ces quantités sont toutes inférieures à 0,1 mg/kg. Ces résultats démontrent que pour Fe, Mn, Ni et Co, le principal risque d'imprégnation en métaux via la dispersion de ces fines particules est la voie digestive. Pour Cr au pH_{gastrique}, les 2 échantillons présentent des résultats différents avec 400mg/kg pour l'un et 0.7 mg/kg pour l'autre. Et contrairement aux autres métaux étudiés, les quantités solubilisées au pH_{pulmonaire} sont bien supérieures à 0.1mg/kg et comprises entre 7 et 18 mg/kg, donc non négligeables. Pour Cr, les voies digestives et pulmonaires peuvent alors représenter des risques d'imprégnation comparables. Une précédente étude menée sur des sols de Poro avait montré des quantités de Cr lessivés à l'eau du même ordre de grandeur pour un pH proche du pH pulmonaire mais surtout que le Cr solubilisé était sous sa forme hexavalente hautement toxique. Le risque sanitaire liée à l'inhalation de poussières d'origine ultrabasiques riches en Cr est donc réel.

Des extractions cinétiques à l'Éthylènediaminetétraacétique (EDTA) ont été utilisées pour cerner les quantités de métaux solubilisables à plus ou moins long terme. Ces extractions peuvent être modélisées par la somme de deux réactions du premier ordre pour évaluer le pool de métaux « rapidement » (Q₁) et « lentement » extractibles (Q₂). Les extractions cinétiques permettent alors de discriminer des pools de métaux par leur vitesse d'extraction (c'est-à-dire leur vitesse de mobilisation de la phase solide vers la phase liquide). Un troisième pool de métaux est défini comme étant le pool non solubilisé (Q₃) par déduction des pools extraits avec les concentrations totales. Cette approche ne permet pas de déterminer les classes porteuses des métaux même si les cinétiques en dépendent étroitement.

En termes de pourcentage par rapport à la totalité du réservoir, la fraction non extraite donc non biodisponible (Q₃) reste toujours majoritaire, plus de 95% dans le cas de Ni et entre 65% et 97% pour Co et Mn. Cela s'explique par le fait que les métaux étudiés sont des métaux endogènes (ces sols n'ont pas été enrichis par des activités anthropiques) et que les sols à l'origine de ces poussières sont issus de formations géologiques fortement altérées, c'est-à-dire que les éléments les plus solubles ont été dissous, et que les métaux encore présents sont sans doute toujours principalement inclus dans les structures minérales.

Mais le réservoir étant particulièrement élevé, les quantités extraites à l'EDTA sont cependant relativement élevées avec des sommes Q₁+Q₂ pouvant représenter plusieurs centaines de mg/kg. Cela signifie que les quantités susceptibles de passer à plus ou moins long terme en solution, donc d'être solubilisés dans les eaux naturelles ou dans les liquides biologiques sont très élevées pour ces métaux endogènes contenus dans les poussières produites par les sols ultrabasiques miniers ou forestiers. Les résultats montrent également que les quantités Q₂ sont toujours supérieures aux quantités Q₁. La plus grande quantité de métaux est donc « lentement » extraite, le pool le plus important mettrait du temps à se solubiliser, ce qui requiert un temps de séjour plutôt long des poussières dans un environnement donné. À noter pour Co et Mn que les quantités extraites Q₁+Q₂ sont globalement plus élevées pour les sols forestiers. La teneur plus élevée en matière organique des sols forestiers peut avoir entraîné une activité microbienne accrue et une réduction des oxydes de manganèse donc une mobilité accrue du Co et du Mn (Co est souvent associé aux oxydes de manganèse dans les sols ultrabasiques).

3. DÉVELOPPEMENT DE L'OUTIL LICHEN, BIOINDICATEUR DE DISPERSION ATMOSPHÉRIQUE D'ÉLÉMENTS MÉTALLIQUES

3.1. INTRODUCTION

Les deux tiers de la Grande Terre sont composés de roches ultramafiques altérées, principalement des péridotites, formant des horizons latéritiques et saprolitiques. Ces horizons sont enrichis en métaux de transition, tels que le nickel, le chrome, le cobalt et le manganèse. Ces sols enrichis en nickel étant situés près de la surface, l'exploitation à ciel ouvert a été privilégiée. Pour une telle approche, la végétation et le sol de surface sont d'abord enlevés, puis le minerai est extrait et transporté par camions sur des routes non pavées, ou par convoyeurs à bande vers des zones de chargement ou des usines de traitement de minerai. Toutes ces opérations sont fortement émettrices de particules potentiellement concentrées en métaux (Chakraborty et al., 2002 ; Huertas et al., 2012) qui présentent donc un risque important pour l'homme en affectant la santé humaine par des dysfonctionnements respiratoires, des maladies cardiovasculaires et des maladies respiratoires voire des cancer (Andersen et al., 1996 ; Harrison et Yin, 2000 ; Menvielle et al., 2003) et l'environnement. En effet, l'exploitation du nickel et le traitement des minerais ont des effets néfastes sur la qualité de l'environnement néo-calédonien en dégradant les écosystèmes naturels (Bramwell, 2011 ; Kettle et al., 2007; Losfeld et al., 2015), les forêts (Jaffré et al., 1977) et le lagon (Gunkel-Grillon et al., 2014; Hédouin et al., 2007).

Les particules peuvent être mesurées en termes de concentrations massiques à l'aide d'analyseurs de particules fixes mais cette méthode de référence reste coûteuse. La caractérisation des particules échantillonnées par ces dispositifs est elle-même longue et coûteuse. Certaines alternatives qui sont basées sur les capacités de biosurveillance de certains organismes ou de matières organiques, tels que des cernes d'arbres, des dépôts de tourbe, des mousses ou des lichens épiphytes existent (Aslan et al., 2012; Balabanova et al., 2013a; Boamponsem et al., 2010; Monna et al., 2012). Les lichens épiphytes sont des organismes symbiotiques, composés de champignons et d'algues. Ils ont la capacité d'absorber et d'accumuler les métaux, par dépôts humide et sec, sans symptôme, du moins jusqu'à un certain niveau. De par l'absence de cuticule, ils ne peuvent réguler leur accumulation de métaux et l'absence de système racinaire impose une dépendance au dépôt atmosphérique pour se nourrir. Leur apport de nutriments repose donc exclusivement sur des composants de l'air. Il a été démontré que les lichens sont de bons biomoniteurs d'éléments traces, car leurs concentrations dans leurs thalles sont corrélées à celles du milieu environnant (Loppi et Pirintsos, 2003). L'échantillonnage de ces organismes est peu coûteux et facile (lorsque les thalles sont abondants) et en tout cas exempt de logistique lourde. Ils sont donc largement utilisés comme bio-indicateur de pollution. Cependant, la composition en éléments traces métalliques (ETM) des lichens est liée à leur capacité de capture des éléments, à l'âge et à l'espèce du lichen (Conti et Cecchetti, 2001 ; Ayrault et al., 2007). Il est donc difficile de tirer des conclusions sur le degré de contamination d'un lichen en comparant les teneurs en ETM. Il existe des méthodes pour s'affranchir des variations liées à la durée d'exposition et à la nature du lichen. L'une d'entre elle consiste à normaliser les concentrations en ETM par celle d'un élément d'origine non anthropique comme le titane Ti (Dongarrà et al., 1995 ; Doucet et Carignan, 2001 ; Monna et al., 2012). C'est cette approche qui sera mise en œuvre pour l'exploitation les résultats de cette étude.

Dans la présente étude, les concentrations élémentaires en Co, Cr, Ni, Fe, Cu, Zn et Ti ont été analysées dans des lichens épiphytes collectés en Nouvelle-Calédonie, à différentes distances des activités minières modernes à Poro, autour du Mont Koniambo, autour d'une usine de traitement de minerai à Nouméa, dans la ville et dans des zones dépourvues de

toute exploitation minière historique connue. Le Cu et le Zn ont potentiellement une origine industrielle/domestique, tandis que Ni, Co, Cr et, dans une moindre mesure, le Fe sont particulièrement visés, car ils sont censés être émis par les activités minières (exploitations et usines). L'objectif de cette étude est donc d'évaluer le potentiel des lichens en tant que biomoniteurs de la qualité de l'air dans le contexte de l'extraction du nickel et du traitement du minerai. La bioindication lichénique a été exploitée de deux manières. Dans la première, des analyses de données compositionnelles ont été utilisées pour calculer un indice synthétique résumant le degré de contamination local lié aux activités minières et métallurgiques. Dans la seconde, la bioindication de la pollution atmosphérique par les lichens est couplée avec un travail de modélisation de trajectoires de masses d'air pour évaluer l'exposition de la population aux poussières émises par les activités minières. Le lien entre teneur en éléments traces métalliques des lichens et densités de trajectoires survolant les mines établit l'influence de l'exploitation minière dans la dispersion atmosphérique d'éléments trace métallique. Enfin une carte des zones les plus potentiellement exposées aux poussières de mines est proposée.

3.2. MATERIELS ET METHODES

3.2.1. COLLECTE ET ANALYSE DES LICHENS

Trois sites directement liés à l'extraction et à la transformation du nickel ont été ciblés pour le développement de l'indice d'exposition lichénique. Le premier est la mine de Poro, située sur la côte est, l'un des plus anciens sites d'extraction encore actif (Figure 10-b). Le second est l'usine métallurgique de Doniambo, située à Nouméa (Figure 10-a) et le troisième autour du Mont Koniambo (Figure 10-c). Pour la définition de l'indice d'exposition lichénique, trente-quatre thalles de lichen épiphytes appartenant à la famille des Parmeliaceae ont été recueillis en Nouvelle-Calédonie en mars 2012 autour de la mine de Poro (PORO, n = 8) et de la péninsule de Nouméa (NOU, n = 15). Plusieurs lichens supplémentaires ont également été collectés entre ces deux sites (COUN, n = 11), loin de tout site minier historique connu ou d'activités humaines potentiellement polluantes (Figure 10).

Pour le couplage bioindication et modélisation atmosphérique autour du Mont Koniambo, des lichens incrustants ou foliacés ont été collectés en Nouvelle-Calédonie en 15 localités en août 2016 particulièrement aux environs du site industriel de Vavouto et du site minier du Mont-Koniambo. Deux à quatre lichens ont été prélevés en chaque localité. Les lichens portent le nom de la localité dans laquelle ils ont été prélevés (Figure 10-c). La dispersion des PM₁₀ par voie atmosphérique se faisant à l'échelle de centaines de kilomètres, des lichens ont également été prélevés sur les côtes est et ouest et sur le transept « côté ouest – côte est » entre Voh et Hienghène pour étudier l'influence à longue distance des activités minières du Mont-Koniambo et des autres sites miniers. Les lichens sont nommés par le nom du village dans lequel ou proche duquel ils ont été prélevés. Les lichens ont été collectés exclusivement sur des troncs d'arbres, toujours à au moins 1,5 m du sol, au moyen de couteaux en plastique préalablement nettoyés et rincés à l'eau milli-Q. Les lichens étaient humidifiés avec de l'eau Milli-Q pour faciliter leur prélèvement des troncs. Tous les fragments d'écorce d'arbre recueillis avec les thalles ont été systématiquement éliminés. Les échantillons ont été immédiatement stockés dans des sacs en plastique hermétiquement fermés (Figure 11).

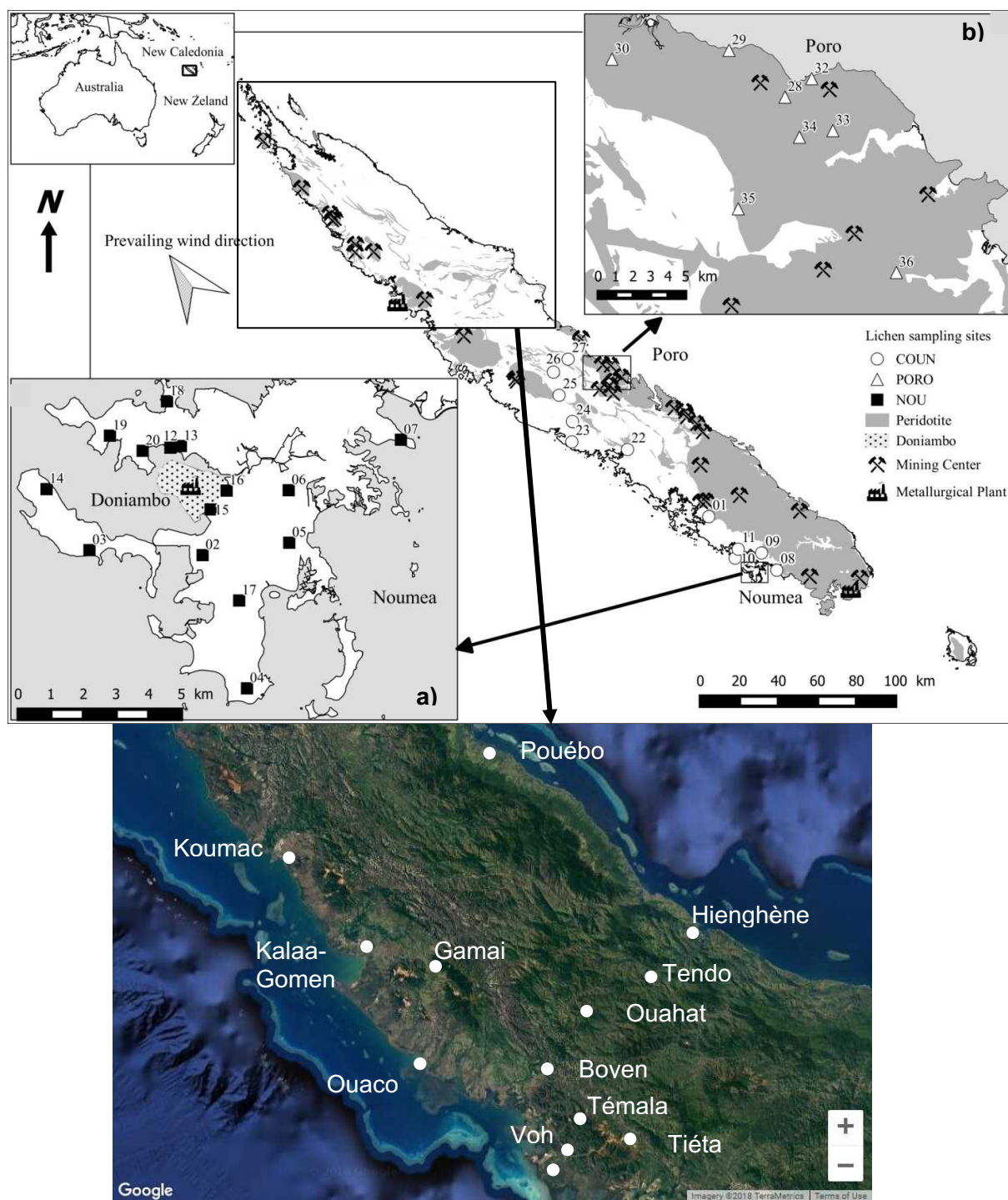


Figure 10 : Sites d'échantillonnage de lichens à Nouméa (a), Poro (b) et dans la Province Nord (c)

Au laboratoire, les lichens ont été séchés et broyés dans un mortier d'agate préalablement nettoyé afin d'obtenir une poudre fine et homogène. Environ 100 mg de lichen en poudre (pesé avec précision) ont été placés dans un bûcher en PTFE (Savilex) avec 2 ml de HCl, HNO₃ et HF de qualité suprapure chauffés à 105 °C jusqu'à complète digestion. Les solutions, convenablement diluées dans de l'eau Milli-Q, ont été analysées pour déterminer leur teneur en Co, Cr, Ni, Fe, Cu, Zn et Ti, à l'aide d'un spectromètre d'émission optique-plasma à couplage inductif (ICP-OES), installé dans une salle blanche à l'Université Paris Diderot, système ISO-5.



Figure 11 : Étapes de prélèvement et d'analyse pour la bioindication lichénique

Des blancs et des matériaux de référence certifiés : feuilles de pêche (NIST-1547, fournies par l'Institut national de la normalisation et de la technologie) et lichens (BCR-482, fournis par l'Institut des matériaux et mesures de référence) ont été traités avec chaque lot d'échantillons inconnus. Les limites de détection (LOD) ont été évaluées en utilisant trois fois l'écart type de cinq blancs analytiques. Les mesures pour la plupart des éléments ne diffèrent pas de plus de 15% des valeurs certifiées (Tableau 5).

Tableau 5 : Contrôle de la qualité des analyses. La limite de détection est fournie en tenant compte du facteur de dilution, de sorte que la limite de détection puisse être comparée aux concentrations brutes de l'échantillon; na : non analysé; a: fourni mais non certifié; b: valeur de Monna et al., 2012.

Echantillons certifiés	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Co	Cr	Cu	Fe	Ni	Zn	Ti
BCR 482	Measured	0.5	3.3	6.2	701	2.3	87	78
	Certified	0.32 ^a	4.12	7.0	804 ^a	2.5	100	na
NIST 1547	Measured	<LOD	1.0	2.6	185	0.8	17.4	23
	Certified	0.07 ^a	1.0 ^a	3.7	218	0.69	17.9	23 ^b
	LOD	0.2	0.2	0.2	2	0.2	0.1	0.6

La reproductibilité des mesures de concentration dans les lichens a été testée sur cinq échantillons scindés en 2 prises d'échantillon et traités comme deux échantillons différents (échantillon 11 et 11bis, 16 et 16 bis, 19 et 19 bis, 23 et 23 bis, 32 et 32 bis) (Tableau 5). Les variations entre les répliqués peuvent être importantes même si les échantillons ont été finement broyés (différence relative allant de 2 à 66% selon les répliqués et éléments considérés). Cependant, ces écarts restent relativement faibles au regard des gammes de concentration mesurées dans les divers échantillons de l'ensemble de l'étude allant (en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) de 0.31 à 323 pour Co, 0.47 à 111 pour Cu, 4.8 à 1046 pour Cr, 12 à 5210 pour Ni, 3 à 934 pour Zn, 3 à 3974 pour Ti et en % de 0.04 à 6.48 pour Fe. Les différences entre les valeurs maximales et minimales pour un élément varient alors de 23'517% à 1'619'900%, ce qui représente des différences relatives de concentrations mesurées extrêmement importantes entre les échantillons. La variabilité des mesures entre deux prises d'échantillons est alors à relativiser au regard des différences inter échantillons.

3.2.2. MESURE DE PM10

Les PM₁₀ sont les particules de diamètre aérodynamique inférieur à 10 μm . Des échantillonneurs de PM₁₀ commercialisés par Environnement SA (MP101M) sont en place à Voh, Gatope et Oundjo (Figure 13). Ils permettent la mesure de la concentration massique des PM₁₀ exprimés en $\mu\text{g}/\text{m}^3$ tous les quarts d'heure. Ces mesures ont été fournies par Koniambo Nickel SAS pour 2014 et 2015.

3.3. APPROCHES METHODOLOGIQUES

3.3.1. TRAITEMENT DES TENEURS EN METAUX DES LICHENS EN ANALYSE COMPOSITIONNELLE

Il peut être problématique de comparer les concentrations mesurés dans des individus différents, même au sein d'une même espèce, car les biomoniteurs peuvent être affectés par plusieurs facteurs internes, tels que la morphologie de l'individu, l'âge et l'exposition (Carignan et al., 2002; Kinalioglu et al., 2010; Senhou et al., 2002). C'est la raison pour laquelle, au lieu d'examiner les concentrations absolues, certains auteurs ont proposé de normaliser les concentrations d'éléments potentiellement anthropiques au moyen d'un seul élément de référence choisi, exclusivement d'origine crustale, tel que le titane, l'aluminium ou un lanthanide (c'est-à-dire que toutes les concentrations de métaux sont divisées, par exemple par le Ti). Le titane est l'élément crustal choisi pour cette étude Goix et al., 2013; Monna et al., 2012). Bien que pratique et le plus souvent efficace (Bergamaschi et al., 2002; Nyarko et al., 2006), la normalisation des concentrations d'éléments potentiellement anthropiques par un seul élément de référence choisi (par exemple, métaux/Ti ou Métaux/Al), ou éventuellement par la somme des éléments de référence (par exemple, Métaux/(Ti + Al)), présente un inconvénient inévitable: l'utilisation de nouvelles variables basées sur des ratios ayant le même élément que le dénominateur est mathématiquement inadéquate pour toutes les statistiques basées sur des corrélations (Pearson, 1896; Kim, 1999, pour une analyse complète, et Monna et al., 2006, pour une utilisation discutable des statistiques multivariées sur de telles données de ratios). En effet, Pearson (1896) montre que si l'on prend 3 variables non corrélées entre elles (A, B et C) ; si elles sont exprimées comme des rapports (A/C et B/C), ces variables seront corrélées, induisant des biais dans l'analyse des résultats. L'utilisation des rapports [métal/Ti] ou [métal/(Ti+Al)] reste mathématiquement correcte lorsque les corrélations ne sont pas calculées (seuls les sites sont comparés), mais que les signaux géochimiques véhiculés par tous les autres rapports par paires (par exemple Ni/Cr) , Co/Zn, etc.) ne sont pas vraiment pris en compte, bien qu'ils puissent contenir des informations subtiles sur l'origine des métaux.

Fondamentalement, la composition élémentaire d'un échantillon est définie par un vecteur (brut), composé de parties D, correspondant au sous-ensemble des concentrations D mesurées : $\mathbf{x} = [x_1, x_2, \dots, x_D]$ ($D = 7$ dans cette étude car les métaux choisis sont au nombre de 7 : Ni, Cr, Co, Fe, Zn, Cu et Ti ; voir annexe 1). En statistique, un tel jeu de données est dit compositionnel, (Aitchison, 1986) et les données compositionnelles sont définies comme des vecteurs de D composantes positives et dont la somme des composants est soumise à une contrainte κ constante, avec $\kappa = 1$ (proportion) ou 100 % (pourcentage), 10^6 (partie par million ou $\mu\text{g/g}$). La structure de covariance d'un tel ensemble de données est nécessairement biaisée (Filzmoser et al., 2009), de sorte que la plupart des techniques multivariées deviennent douteuses sans une transformation appropriée. Des progrès indéniables ont toutefois été accomplis depuis les années 1980 pour ouvrir l'ensemble de données et résoudre les problèmes liés aux corrélations parasites entre éléments (Aitchison, 1982; Van der Weijden, 2002). Les données sont, avec ces nouvelles techniques, traitées dans leur ensemble, ce qui permet d'examiner chaque rapport inter-élémentaire (Van den Boogaart et Tolosana-Delgado, 2013).

Une transformation logarithmique centrée, $\text{clr}(\cdot)$, a été appliquée à ces concentrations brutes pour contourner les problèmes liés au caractère fermé de ces données (Aitchison, 1982, 1986):

$$\text{clr}(x) = \left[\ln \frac{x_1}{g_m(x)}, \quad \ln \frac{x_2}{g_m(x)}, \dots, \quad \ln \frac{x_D}{g_m(x)} \right]$$

où $g_m(x)$ correspond à la moyenne géométrique des parties du vecteur de composition, $g_m(x) = (x_1 x_2 \dots x_D)^{1/D}$. Une telle transformation est connue pour supprimer la contrainte de fermeture, ce qui la rend utilisable dans l'analyse en composantes principales (ACP). Lorsque les données sont décrites par plusieurs variables, se pose la question de la représentation graphique. L'ACP permet de représenter l'espace multidimensionnel (de D éléments) de manière visible et compréhensible en réduisant le nombre de dimension. À partir du nouvel ensemble de coordonnées clr , un biplot a été construit. Ce dernier permet la représentation sur un même graphique en 2 dimensions des échantillons et des variables (ici les éléments métalliques). Parmi les différentes constructions possibles, la préférence a été donnée à la structure de covariance des variables plutôt qu'à la position des individus (voir Biplot projeté sur les deux premières composantes principales des données compositionnelles pour les lichens ($n=34$ thalles, les duplicats n'ont pas été représentés car confondus), et Aitchison et Greenacre, 2002 pour plus de détails). Il convient de noter que les compositions sont maintenant reconnues comme fournissant des informations uniquement sur la magnitude relative de leurs composants. Cela signifie que les interprétations faites à partir du biplot de données compositionnelles sont, par nature, tirées de rapports entre tous les composants, et non de composants individuels pris séparément, comme avec le biplot classique. Calculer une analyse de variance multivariée (MANOVA) sur des données transformées par clr n'est pas possible, car la matrice de covariance est singulière.

Une alternative consiste à utiliser des données transformées isométriques log-ratio comme matrice d'entrée, comme proposé par Egozcue et al. (2003) :

$$ilr(x) = z = [z_1 z_2 \dots z_{D-1}] \in \mathbb{R}^{D-1}; z_i = \sqrt{\frac{i}{i+1}} \ln \sqrt{\frac{\prod_{j=1}^i x_j}{x_{i+1}}} \text{ pour } i = 1, \dots, D-1$$

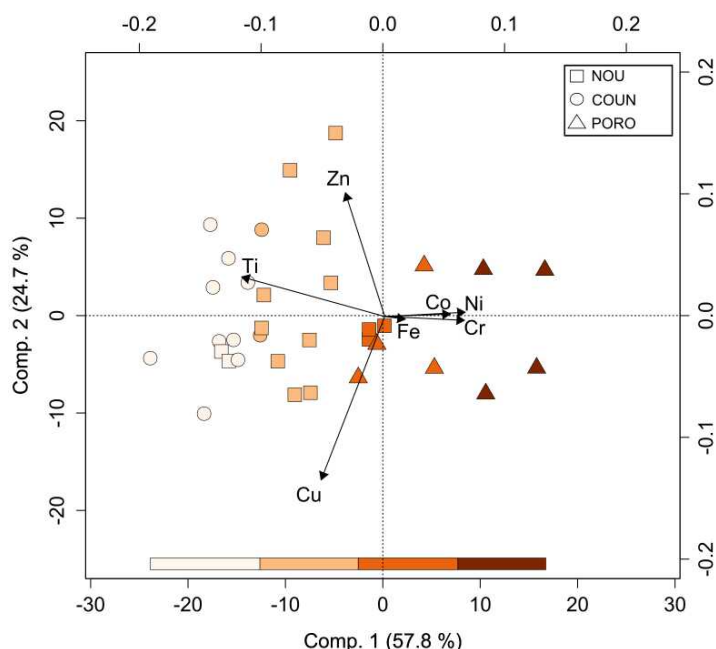


Figure 12 : **Biplot projeté sur les deux premières composantes principales des données compositionnelles pour les lichens (n=34 thalles, les duplicats n'ont pas été représentés car confondus)**

Une fois qu'il a été démontré qu'il existe une différence entre au moins une paire de moyennes de population de groupe, plusieurs comparaisons à l'aide des tests de Hotelling T^2 , ainsi que des corrections de Bonferroni ont été effectuées.

3.3.2. MODÉLISATION DES TRAJECTOIRES DE MASSES D'AIR

- **FLEXTRA - ECMWF**

Dans le cadre de cette étude, nous utilisons le modèle lagrangien FLEXTRA. Il s'agit d'un modèle développé par Andreas Stohl (Stohl et al., 1995) et distribué par le Norwegian Institute for Air Research (NILU). Connaissant les conditions météorologiques (le vent, la température, mais également la topographie et certains champs de surface comme l'albédo) à différentes échéances de temps sur une grille spatiale tridimensionnelle incluant la zone d'étude, la position d'une masse d'air entre deux temps est calculée en appliquant les équations de la mécanique des fluides. Le modèle est donc nourri par des données météorologiques que l'on appelle analyses opérationnelles, issues du Centre Européen pour la Prévision du Temps à Moyen-Terme (acronyme anglais ECMWF). Ces analyses sont des données météorologiques issues d'un modèle atmosphérique tridimensionnel assimilant des observations régulières de températures, de vent et d'humidité et les exprimant sur une grille 3D. La résolution horizontale des données d'entrée est de $0,25^\circ$ par $0,25^\circ$. Elles sont fournies toutes les six heures pour les heures dites synoptiques (00UT ; 06UT ; 12UT ; 18UT) mais également toutes les 3h intermédiaires (03UT, 09UT, 15UT et 21UT). Ces dernières échéances sont obtenues par prévision météorologiques à très court terme (3h de prévision) à partir des heures synoptiques et ne sont pas au sens strict, des analyses opérationnelles.

Ces données sont considérées comme réalistes puisqu'elles tiennent compte des observations météorologiques effectuées par Météo-France en Nouvelle Calédonie, ces dernières étant assimilées dans le modèle d'ECMWF.

Le Modèle FLEXTRA est donc nourri toutes les trois heures par les données ECMWF qui sont extraites sur une zone géographique incluant la Nouvelle-Calédonie et l'Océan Pacifique environnant. Différentes options de calcul de trajectoire ont lieu dans FLEXTRA. Les trajectoires peuvent être calculées pour différents types de coordonnées verticales : entre autres des trajectoires isobares (à pression constante), et des trajectoires isentropes (à température potentielle constante, sans échange de chaleur avec l'extérieur). Près de la surface, les masses d'air n'obéissent ni à l'une ni à l'autre des types de trajectoires : nous utilisons donc des calculs de trajectoires tridimensionnelles avec prise en compte de la vitesse verticale. De plus, il est également possible de travailler en plusieurs mode de calcul de trajectoires : a) trajectoire unique ou b) groupe (cluster) de trajectoires. Dans le cas des clusters, pour une date et heure précise, on calcule un ensemble de trajectoires se répartissant dans un rectangle centré sur un point choisi par l'utilisateur. Autour de ce point central, d'autres trajectoires sont initiées à distance égale du point central. Ce mode permet en général d'estimer la dispersion horizontale des masses d'air issue de lieux très proche les uns des autres. Une trop grande dispersion entraînerait une trop grande incertitude sur l'origine des masses d'air. Le mode de calcul de trajectoire que nous utiliserons dans cette étude est le mode dit « Normal » de FLEXTRA, à savoir un calcul d'une trajectoire unique partant d'un point précis repéré par sa latitude, sa longitude et son altitude au-dessus du niveau du sol. Néanmoins nous avons vérifié avant l'utilisation de ce mode normal que les masses d'air n'étaient pas soumises à une grande dispersion, autrement dit que les trajectoires issues d'un cluster étaient toutes parallèles les unes aux autres à l'échelle de la Nouvelle Calédonie.

- **Modélisation des trajectoires des masses d'air et identification des sources potentielles**

Les trajectoires de masse d'air peuvent-être calculées en mode avant ou en mode arrière :

- ✓ En **mode arrière**, on calcule successivement les positions antérieures toutes les 10 minutes d'une masse d'air avant son arrivée à un point défini en longitude et latitude choisi par l'utilisateur. Autrement dit on retrace l'origine d'une masse d'air.

Ce mode est utilisé pour la recherche de sources potentielles d'émission de particules d'origine minière survolées par les masses d'air source de PM₁₀ parvenant à Gatope, Voh et Oundjo et source de contamination des lichens. Les trajectoires arrières sont modélisées à partir de ces points toutes les heures.

Les trajectoires arrière ont été simulées à partir des points d'échantillonnage des PM₁₀ du 1^{er} janvier 2014 au 31 décembre 2015 et à partir des coordonnées d'échantillonnage des lichens du 1^{er} janvier 2014 au 31 juillet 2016. Les calculs sont réalisés de manière identique pour les trois stations et les lichens. Une interface graphique, développée au GSMA au laboratoire GSMA pour les besoins du projet, compte le nombre de trajectoires passant par chaque pixel de 0,01° de côté (environ 1 km x 1 km). Ce nombre est ensuite normalisé par le nombre total de trajectoires et exprimé sous forme de pourcentage. On parlera de densité de trajectoires. Les résultats sont exprimés sous formes de cartes où un code couleur exprime le pourcentage de trajectoire passant sur ce pixel, ou bien sous forme d'histogramme pour des zones bien déterminées.

- ✓ En **mode avant** on calcule une série de positions de masse d'air partant d'un point précis et on calcule où cette masse d'air se dirige. Autrement dit, on suit où la masse d'air, potentiellement issue d'une source minière, va se déplacer et ce toutes les 10 minutes.

Cette démarche sera utilisée pour déterminer les zones les plus affectées potentiellement par les particules minières en Nouvelle Calédonie. Les trajectoires avant seront calculées toutes les heures à partir de chaque surface dénudée de mine du 1^{er} janvier 2014 à 0h au 31 juillet 2016 à 24h.

Un repérage cartographique des surfaces minières dénudées de la Nouvelle-Calédonie est réalisé à partir des images satellites disponibles sur Google Earth. Les exploitations à ciel ouvert sont facilement repérables par la présence d'une large surface dénudée de leur couleur ocre. La taille caractéristique de ces surfaces dénudées a été déterminée comme étant un carré de 0.02° soit environ 2 km d'arrête. Chaque surface dénudée appartenant à une exploitation minière est repérée (Figure 13). Des groupes de surfaces dénudées qui font sens du point de vue géographique sont rassemblés sous le nom de la ville la plus proche même s'ils ne sont pas exploités par la même société. Les densités de trajectoires des masses d'air survolant ces surfaces dénudées appartenant à un même groupe sont additionnées avant exploitation et analyse.

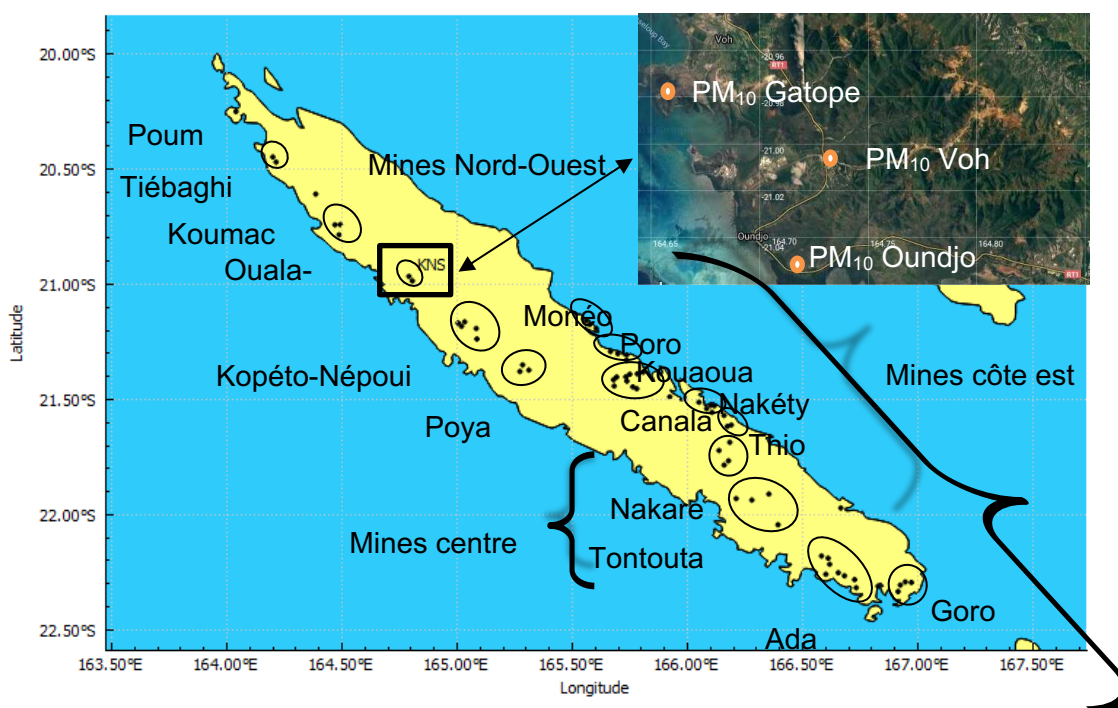


Figure 13 : Position et dénomination des mines et des analyseurs de PM₁₀

3.4. RESULTATS ET DISCUSSION

3.4.1. TENEURS EN METAUX DANS LES LICHENS

Les concentrations en métaux dans les lichens, ainsi que les moyennes géométriques des trois groupes (NOU, PORO et COUN), sont rapportées dans le tableau 6.

Elles sont très variables et couvrent 2 ou 3 ordres de grandeur. Une telle variabilité est plutôt inhabituelle dans les études environnementales portant sur les lichens, où des différences d'un ou deux ordres de grandeur sont plus fréquentes (Goix et al., 2013; Zvěřina et al., 2014).

Les résultats montrent que les concentrations en Ni, Cr et Co sont globalement plus élevées lorsque les lichens ont été prélevés aux alentours du site de traitement du minerai de nickel de Doniambo à Nouméa (NOU) ou aux alentours du site minier de Poro (PORO) avec respectivement des moyennes géométriques de 400, 72, 13 et 418, 272, 21 contre 52, 30 et 3,5 $\mu\text{g. g}^{-1}$ dans les zones éloignées des sites miniers ou industriels (COUN). À titre de comparaison, les concentrations de Ni, Cr et Co rapportées pour les lichens collectés à proximité d'une mine d'olivine à ciel ouvert au Groenland (Søndergaard, 2013) étaient inférieures d'un ou deux ordres de grandeur à celles observées à Poro, mais comparables à celles des échantillons collectés loin des sites miniers ou industriels (COUN).

Cependant, bien qu'une nette tendance puisse être dégagée après examen des concentrations en Ni, Cr et Co une partie non négligeable des variations de concentrations pour ces 3 éléments pourrait être due à la morphologie et à l'âge des individus, comme le suggèrent les énormes variations de la teneur en Ti, élément supposé d'origine crustale.

Tableau 6 : Teneurs en métaux des lichens (en $\mu\text{g.g}^{-1}$ sauf pour le fer en % w/w). La moyenne géométrique est calculée pour chaque groupe. Bis pour répliquat à Nouméa et Poro.

Groupe	N° échantillon	Zn	Cu	Fe	Ni	Cr	Co	Ti
COUN (countryside)	1	75	8.2	0.19	43	26	2.1	128
	8	59	2.2	0.24	26	18	2.0	181
	9	30	3.5	0.17	83	19	2.0	100
	10	92	19	2.12	443	120	21	2045
	11	52	21	3.29	75	61	11	3974
	11bis	45	16	3.23	65	58	10	3669
	22	76	0.82	0.53	32	20	3.4	471
	23	77	2.9	0.19	28	23	2.1	163
	23bis	68	8.5	0.15	23	21	1.4	137
	24	20	21.4	0.75	60	30	6.6	478
	25	89	0.63	0.23	54	29	3.2	172
	26	23	6.4	0.37	51	58	5.0	347
	27	20	0.63	0.10	20	13	0.85	73
		<i>Moyenne géométrique</i>	<i>47</i>	<i>3.9</i>	<i>0.39</i>	<i>52</i>	<i>30</i>	<i>3.5</i>
NOU (Noumea)	2	87	38	0.75	822	133	26	299
	3	28	5.6	0.22	64	14	2.8	195
	4	33	0.63	0.04	24	4.8	0.84	32
	5	103	3.8	0.17	130	24	3.9	123
	6	29	4.8	0.08	64	13	1.8	33
	7	67	0.63	0.11	66	18	2.4	60
	12	77	21	0.80	238	51	15	761
	13	934	9.2	2.02	1981	346	53	939
	14	69	2.4	0.45	429	60	12	188

	15	153	15	2.15	4140	319	100	506
	16	259	37	4.67	4536	1046	130	1138
	16bis	243	23	4.35	4246	966	124	1033
	17	110	13	0.92	427	86	15	711
	18	63	8.4	0.49	432	76	12	226
	19	238	111	2.16	1645	400	50	908
	19bis	230	91	1.85	1462	318	42	696
	20	99	9.2	0.94	1344	157	33	201
	<i>Moyenne géométrique</i>	<i>95</i>	<i>7.7</i>	<i>0.52</i>	<i>400</i>	<i>72</i>	<i>13</i>	<i>247</i>
	28	147	2.4	6.68	3536	1612	176	64
	29	33	0.47	0.53	204	111	14	10
	30	36	5	1.37	391	254	24	164
	32	76	15	6.15	5216	1503	323	69
PORO	32bis	67	14	6.48	4725	1262	294	61
(Poro)	33	30	6	1.84	325	666	11	43
	34	3	0.70	0.04	12	12	0.31	3
	35	49	0.76	0.48	191	118	11	28
	36	44	13	2.02	949	565	64	28
	<i>Moyenne géométrique</i>	<i>35</i>	<i>3.7</i>	<i>1.12</i>	<i>418</i>	<i>272</i>	<i>21</i>	<i>30</i>

3.4.2. ANALYSE DES DONNÉES COMPOSITIONNELLES

Après une transformation clr du jeu de données (voir valeurs des données transformées en annexe1), les deux premiers axes du biplot de covariance calculés, expliquent 82,5% de la variabilité totale des données (respectivement 57,8% et 24,7%), valeurs raisonnablement élevées pour D = 7 parties.

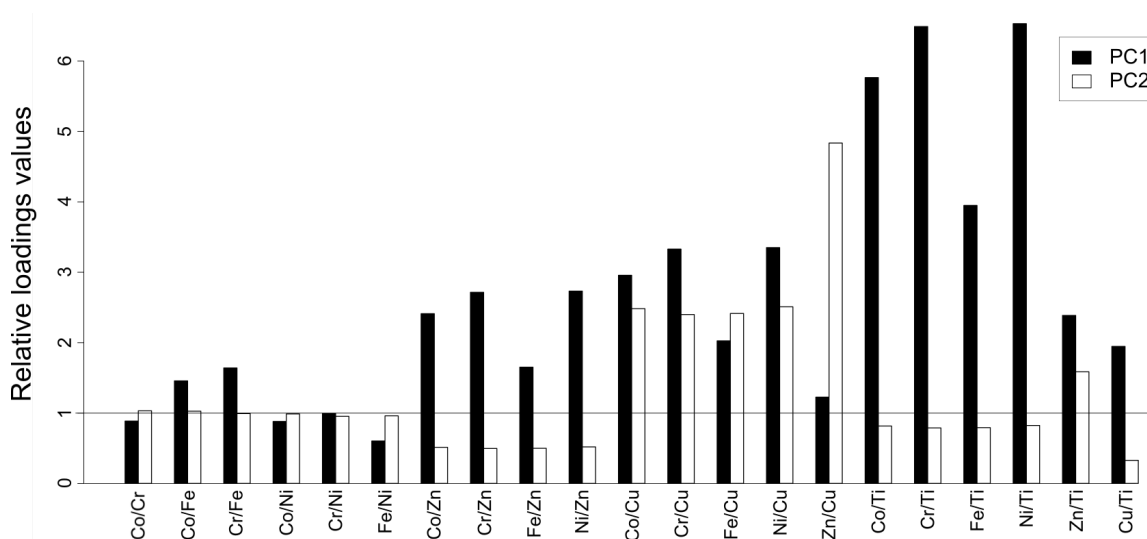


Figure 14 : **Diagrammes à barres des poids de l'analyse de données compositionnelle en composants principales**

Cette représentation doit être interprétée différemment du biplot traditionnel proposé par Gabriel (1971), car tous les composants sont en quelque sorte mélangés au cours de la transformation clr. La clé de lecture d'un biplot compositionnel est le trait entre deux pointes de flèche de deux variables, qui se rapprochent de l'écart type de leurs log-ratios correspondants (Aitchinson et Greenacre 2002, Van den Boogaart et Tolosana-Delgado 2013). Les éléments d'origine minière (Ni, Cr et Co) et, dans une moindre mesure, Fe, sont relativement proches les uns des autres (c'est-à-dire que leurs traits sont courts). Ils présentent donc des log-ratios relativement constants, tandis que les traits les plus importants observés entre [Ni, Cr, Co] et Ti, d'une part, et entre Zn et Cu, d'autre part, indiquent les variations relatives les plus importantes entre les lichens. Fait intéressant, l'orthogonalité entre ces traits souligne l'absence de corrélation entre leurs log-ratios correspondants (par exemple, Zn/Cu n'est pas corrélé avec Ni/Ti).

L'influence des composants principaux (PC) sur chaque ratio par paire peut de plus être démontré par un graphique en barres, où les barres représentent les poids des ratios sur les PC (Daunis-i-Estadella et al., 2011). Les hauteurs de barre au-dessus ou au-dessous de la ligne horizontale $y = 1$ dénotent une influence multiplicative respectivement positive ou négative sur les PC concernés (Figure 14).

Ainsi, un poids égal à 1 dans l'espace transformé par clr agit de manière assez similaire à un poids nul pour une ACP commune. Dans l'exemple traité ici, la PC1 apporte la plus grande contribution multiplicative (positive) à Co/Ti, Cr/Ti, Ni/Ti et, dans une certaine mesure, Fe/Ti, tandis que la PC2 agit principalement sur Zn/Cu.

Les trois groupes de lichens définis précédemment peuvent être distingués principalement par la PC1 (Figure 12). Les échantillons PORO sont placés à droite du diagramme (côté positif de PC1), tandis que les échantillons COUN sont placés à gauche (côté négatif de PC1). Les échantillons de NOU ont une position intermédiaire. Il convient de préciser qu'une analyse de variance multivariée (MANOVA) peut également être appliquée. Le test de MANOVA indique qu'au moins un groupe semble être significativement différent des autres ($p < 10^{-6}$). Des tests de Hotelling T^2 indiquent que chaque groupe est significativement différent des autres ($p < 10^{-4}$), même après correction de Bonferroni (Holm, 1979).

3.4.3. NIVEAUX D'EXPOSITION ET DISPERSION GÉOGRAPHIQUE

Plusieurs indices multi-éléments existent pour évaluer la qualité globale d'un environnement donné par rapport aux teneurs en métaux (Chen et al., 2005; Holy et al., 2009). Ces méthodes utilisent souvent des niveaux seuils et des seuils d'effets probables (TEL et PEL), qui représentent les concentrations au-dessus desquelles des effets biologiques indésirables sont attendus, que ce soit rarement ou fréquemment. D'autres méthodes utilisent des concentrations moyennes d'éléments accumulées dans les lichens (Boamponsem et al., 2010; Nimis et al., 2000) ou des rangs basés sur des centiles (Fliedner et al., 2014; Holy et al., 2009; Schröder et Pesch, 2010). Elles peuvent être enrichies d'informations sur l'environnement, conduisant à la création d'écorégions spécifiques (Schröder et Pesch, 2007). Des facteurs tels que l'altitude, la texture du sol, les précipitations ou le rayonnement global rendent plus difficile la comparaison de territoires très différents de ceux situés en géographie.

Une autre pratique courante consiste à traiter des compositions chimiques dans leur ensemble. Tout d'abord, une analyse factorielle ou une analyse en composantes principales est calculée sur des variables normalisées, puis une rotation varimax peut être effectuée, produisant des varifactors (Varol, 2011; Zhuang et Gao, 2014). Cette dernière étape cherche à produire de fortes corrélations entre les nouveaux poids factoriels et certaines variables d'intérêt, ainsi que de faibles corrélations avec les autres, permettant ainsi une interprétation plus claire des facteurs résultants (Reimann et al., 2002). L'objectif final est, si possible, d'isoler un facteur coïncidant avec les principaux polluants, afin que le score ou la coordonnée d'un échantillon sur cet axe puisse être utilisé comme indice intégré du niveau de contamination (Balabanova et al., 2013b; Cicchella et al., 2014). Le problème avec une telle procédure est que, à l'exception de certaines études (par exemple Filzmoser et al., 2009b), l'analyse multivariée n'est presque jamais calculée à l'aide de transformations appropriées, spécifiquement conçues pour les données compositionnelles. Meyer et al. (2015) ont récemment proposé une méthode basée sur les scores du biplot compositionnelles, calculée après une transformation clr des variables d'origine. Dans l'exemple traité ici, la PC1 a une forte contribution multiplicative positive sur les log-ratios des métaux provenant d'activités minières (Ni, Cr, Co)/Ti. En conséquence, la rotation varimax est inutile. L'examen de la PC1 est assez similaire à l'approche traditionnelle, qui consiste à examiner séparément les rapports métal/Ti (plutôt que les concentrations brutes) afin de réduire les confusions dues à l'exposition du lichen, à l'âge ou à l'espèce (Dongarrà et al., 1995; Monna et al., 2006). La différence majeure est que, dans notre cas, tous les métaux d'intérêt sont traités ensemble et intégrés dans les scores de la PC1. Ces valeurs peuvent ensuite être directement utilisées comme indice d'exposition synthétique, au moins pour un

groupe d'éléments : Cr, Ni et Co, c'est-à-dire les éléments d'intérêt, émis dans l'atmosphère par les activités minières et métallurgiques.

La Figure 15 représente les scores individuels et souligne une structure spatiale claire. L'atmosphère autour de la mine de Poro (scores compris entre 0.6 et 4.1) et de la ville de Nouméa (scores compris entre -1.1 et 2.3) est enrichie sans ambiguïté en Ni, Cr et Co par rapport aux zones éloignées des mines (dont le score est inférieur à -1.1). Cet enrichissement est plus important à Poro qu'à Nouméa. Bien que le réseau d'échantillonnage ne soit ni dense ni régulier, il semble raisonnable d'estimer qu'une distance d'au moins 5 km des sources de pollution soit nécessaire pour réduire l'influence du site industriel de Doniambo sur Nouméa.

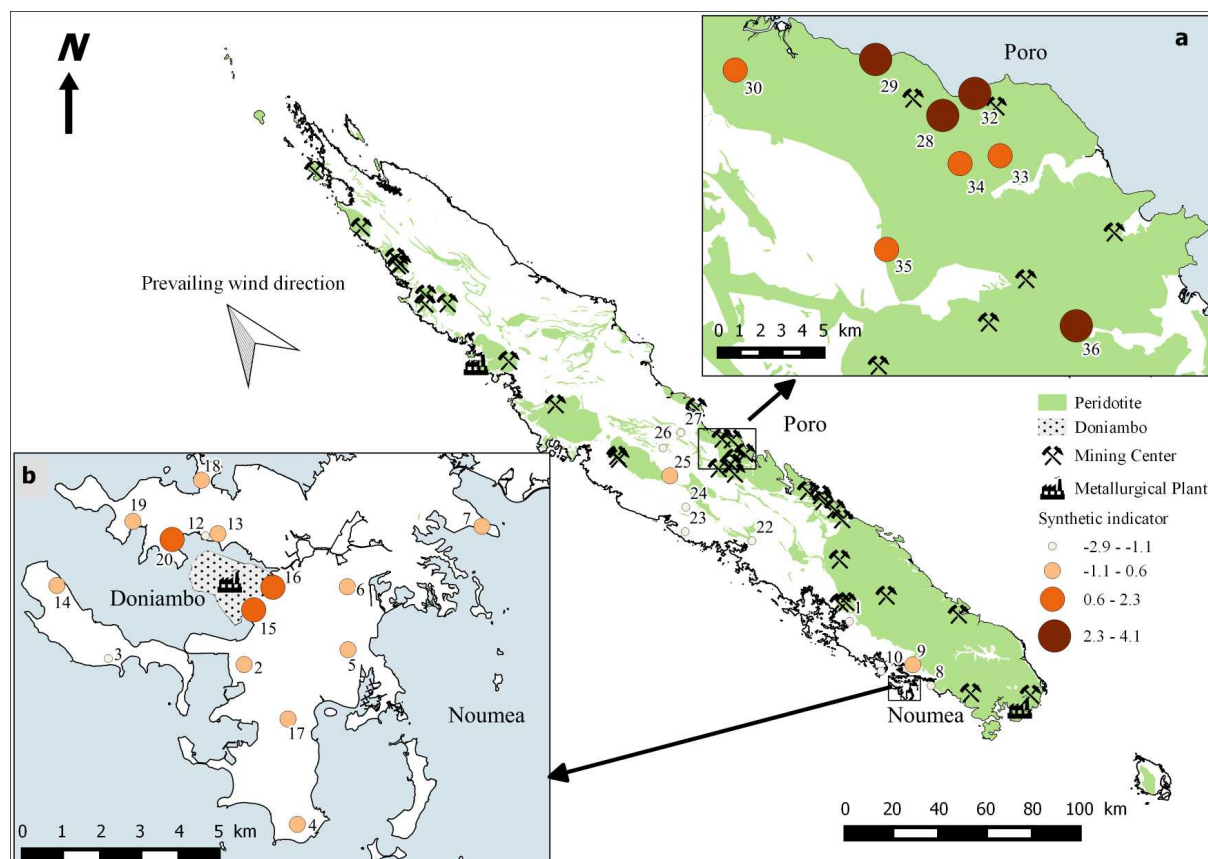


Figure 15 : Indicateur synthétique des échantillons de lichens du transect Bourail-Poro et a) à Poro et b) à Nouméa

Cette estimation d'une distance de 5 km est similaire à celles rapportées dans deux études basées sur les lichens pour la ville de Metz en France (Cloquet et al. (2006)) ou pour un contexte minier au Groenland (Søndergaard (2013)). L'influence des vents dominants a été constatée pour une étude réalisée à Agadir, où des vents marins forts et persistants dispersent les polluants jusqu'à environ 25 km vers l'est (Monna et al., 2012). Mais en Nouvelle-Calédonie, les sites miniers tout comme les surfaces de sols ultrabasiques dénudés sont nombreux.

L'indicateur synthétique a été conçu pour faciliter la compréhension d'un processus complexe, ici l'impact de l'extraction minière et de la métallurgie du nickel sur l'atmosphère. Il met en évidence les zones les plus exposées aux sources de poussières mais il n'est pas en mesure de prendre en compte les légères différences de composition chimique pouvant

exister entre les sources principales. De même cet indice est basé sur une démarche comparative et ne permet de quantifier l'exposition.

Pour la PC2, les scores des échantillons, représentant principalement le log ratio du Zn/Cu, sont peu informatifs. En effet, les trois groupes d'échantillons (NOU, COUN et PORO) ne présentent pas de différence significative concernant cette variable, ni en termes de moyenne, ni en termes de variance (Figure 14).

Il faut garder en mémoire que la méthode traite les données comme un ensemble donc l'ajout ou la suppression d'éléments ou d'échantillons peut considérablement modifier les résultats de l'analyse multivariée. Il faut donc toujours garder à l'esprit la question environnementale pour ne traiter que les éléments supposés présenter un intérêt. Les signaux recherchés pourraient sinon être obscurcis. Les transformations requises pour traiter correctement les données compositionnelles signifient que les concentrations d'origine ne sont plus directement accessibles. Cette perte d'information en termes de concentrations peut être un problème pour des études écotoxicologiques pour lesquelles la connaissance des niveaux de concentration est primordiale. Le biplot compositionnel véhicule des informations relatives en raison de la structure des données compositionnelles, de sorte que les données ne peuvent pas être interprétées séparément, mais uniquement sous forme de paires ou de groupes de variables. Un tel regroupement peut rendre l'image globale moins facile à comprendre. Il est donc fortement recommandé d'utiliser des analyses de données compositionnelles en complément de l'approche traditionnelle (qui consiste à examiner de près les niveaux de concentrations brutes dans les lichens, éventuellement en utilisant également la normalisation de la concentration), lors de la cartographie d'un indice de contamination synthétique ou d'études approfondies des associations entre variables, ou entre individus. Les principaux inconvénients de la méthode sont donc que ces indices d'exposition permettent de comparer des zones géographiques en termes d'exposition mais que l'exposition est non quantifiable et que cette approche ne permet pas un suivi temporelle (ou alors sur une échelle de temps très large). Mais les principaux avantages sont que la méthodologie est simple à mettre en œuvre, le coût est faible et l'approche comparative permettrait de réaliser des cartographies d'exposition. Une cartographie des zones habitées serait intéressante à mettre en relation avec les résultats de programme METEXPO.

3.4.4. COUPLAGE MODELISATION ATMOSPHERIQUE – BIOINDICATION LICHENIQUE

3.4.4.1. Sources potentielles et PM10 ASSOCIEES

Pour repérer les sources potentielles d'origine minière qui pourraient expliquer les concentrations en PM₁₀ mesurées à Gatope, Voh et Oundjo, les trajectoires arrière des masses d'air sont simulées. Les densités de trajectoires de masses d'air survolant les sources minières potentielles sont analysées et présentées sous forme d'histogramme (Figure 16). Les sources potentielles les plus proches des sites de mesure ont les densités de trajectoires les plus importantes. Les sources un peu plus lointaines et située sur la côte est sont néanmoins potentiellement contributrices avec des densités de trajectoires de l'ordre de 8% pour Kouaoua en 2014 (semestre 1 et semestre 2). Deux groupes de sources contributrices aux masses d'air échantillonnées à Gatope, Voh et Oundjo se dégagent. Le premier groupe entouré en bleu sur la Figure 17 correspond à des sources relativement proches au sud-est des sites de mesures que sont KNS, Kopéto-Népoui et Poya. Le deuxième groupe entouré de rouge sur la Figure 17 correspond à des sources plus lointaines et localisée sur la côte est et qu'il ne s'agit pas de négliger. Enfin les trois derniers éléments entourés d'orange sur la Figure 17 correspondent à des villes potentiellement émettrices de particules. Les villes de Nouméa et de Koné sont clairement sur le passage des masses d'air sud-est nord-ouest et donc potentiellement contributrices de PM₁₀ aux

stations de mesures. La contribution de Nouméa est moindre car plus éloignée des sites de mesure.

Les densités sont également exprimées en fonction de la concentration en PM_{10} sur le site de mesure (Figure 17) 4 catégories de concentrations de PM_{10} ont été étudiées : $<10 \mu\text{g}/\text{m}^3$, $10\text{-}20 \mu\text{g}/\text{m}^3$, $20\text{-}30 \mu\text{g}/\text{m}^3$ et $>30 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Seules les sources les plus proches contribuent à des masses d'air riches en PM_{10} (en particulier la mine de Kopéto-Népoui et l'usine KNS). Mais même pour ces sources proches, les densités de trajectoires arrière sur ces sources correspondant à des concentrations de $PM_{10} > 30 \mu\text{g}/\text{m}^3$ est inférieur au pourcentage.

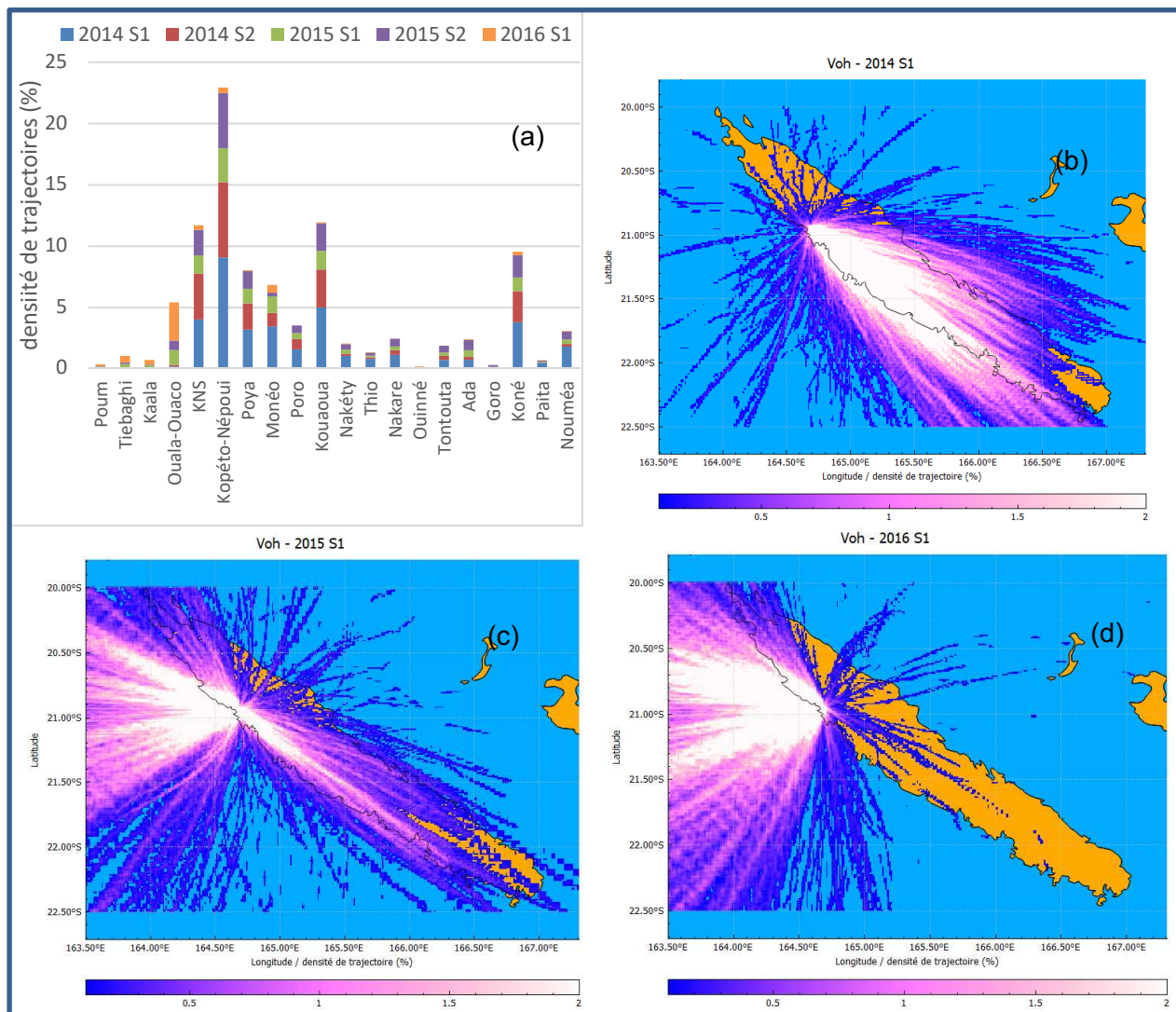


Figure 16 : Densités de trajectoires arrière initiées à Voh exprimées pour 16 sites miniers ou villes pour les semestres S1 en 2014 au semestre S2 en 2016 (a).

Cartes de densité de trajectoires pour les semestres 1 des années 2014 (b), 2015 (c) et 2016 (d).

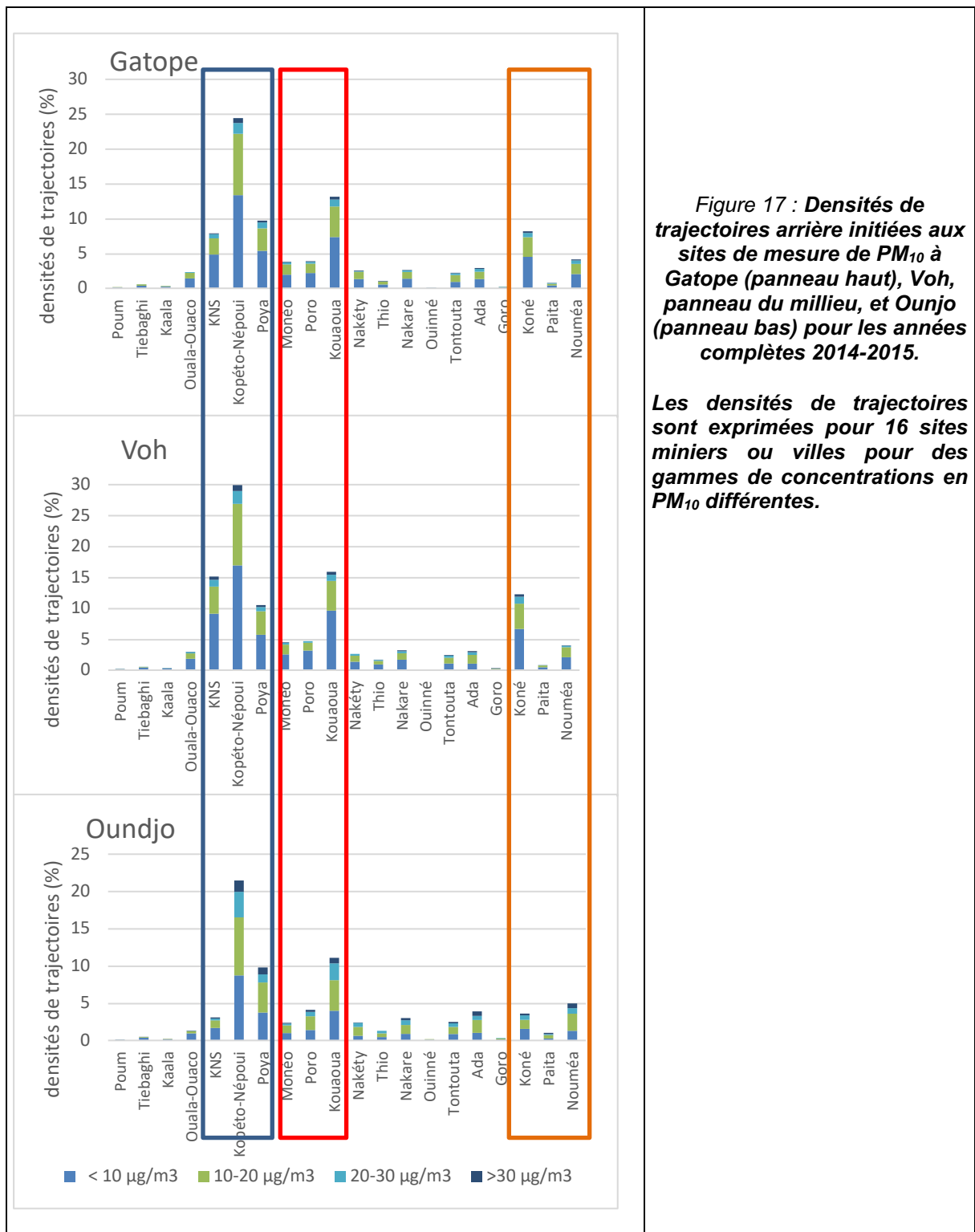


Figure 17 : **Densités de trajectoires arrière initiées aux sites de mesure de PM₁₀ à Gatope (panneau haut), Voh, panneau du milieu, et Ounjo (panneau bas) pour les années complètes 2014-2015.**

Les densités de trajectoires sont exprimées pour 16 sites miniers ou villes pour des gammes de concentrations en PM₁₀ différentes.

3.4.4.2. Variabilité des trajectoires des masses d'air en fonction du temps

La figure 16 (a), exprimée par semestre sur les années 2014 et 2015 et le premier semestre de 2016, apporte un autre éclairage sur ces résultats en particulier pour Voh. A la place d'indiquer les contributions des différentes gammes de concentration de PM₁₀ sur la densité de trajectoire, la contribution est étudiée en fonction des semestres. Notons que nous avons baptisée S1 2016 la période du premier janvier 2016 au 31 juillet 2016, bien qu'elle soit à proprement parlé plus longue qu'un semestre pour couvrir la période 2016 jusqu'au plus proche des prélèvements de lichen. En effet, ceux-ci ont été effectués à partir d'août 2016.

Les Figures 16 (b), (c) et (d) correspondent aux cartes de densité de trajectoire arrière parvenant à Voh sur les semestres 1 des années 2014, 2015 et 2016 respectivement. Elles montrent en effet que l'année 2014 est essentiellement dominée par les alizées (vent du sud-est vers les nord-ouest). Cela se traduit par une forte contribution pendant les semestres 1 et 2 de 2014 à la densité totale des trajectoires ayant survolé les mines de Kopéto-Népoui et KNS (Figure 16 (a)). Les semestres suivants sont à la fois marqués par les alizées (semestre 1 de 2015) mais également des vents d'autres directions comme des vents d'ouest, avec un large éventail de nord-ouest jusqu'à de sud-ouest – semestre 1 de 2016). Ainsi, les zones survolées par les masses d'air arrivant à Voh pendant ces périodes de vents non-alizéens sont différentes du semestre 1 de 2014. Les masses d'air ont en effet parfois une origine purement océanique, ou alors, ont survolé des secteurs d'exploitation minière au Nord-ouest de Voh, comme Kouamac et Kaala Gomen. Cela se traduit sur Figure 16 (a) par une contribution d'environ 3% à la densité de trajectoire ayant survolé les mines de Ouaco-Ouala pendant 2016.

3.4.4.3. Sources potentielles d'exposition des lichens

Les trajectoires arrière ont été simulées à partir des lichens collectés du 1^{er} janvier 2014 au 31 juillet 2016 et les densités des trajectoires exprimées en pourcentage de trajectoires ayant survolé les mines sont calculées sur toute cette durée. Ce pourcentage peut être supérieur à 100 car une même trajectoire peut survoler plusieurs mines différentes. Les mines sont regroupées par zone géographique comme indiqué sur la figure 13 pour mieux mettre en évidence les zones contributrices.

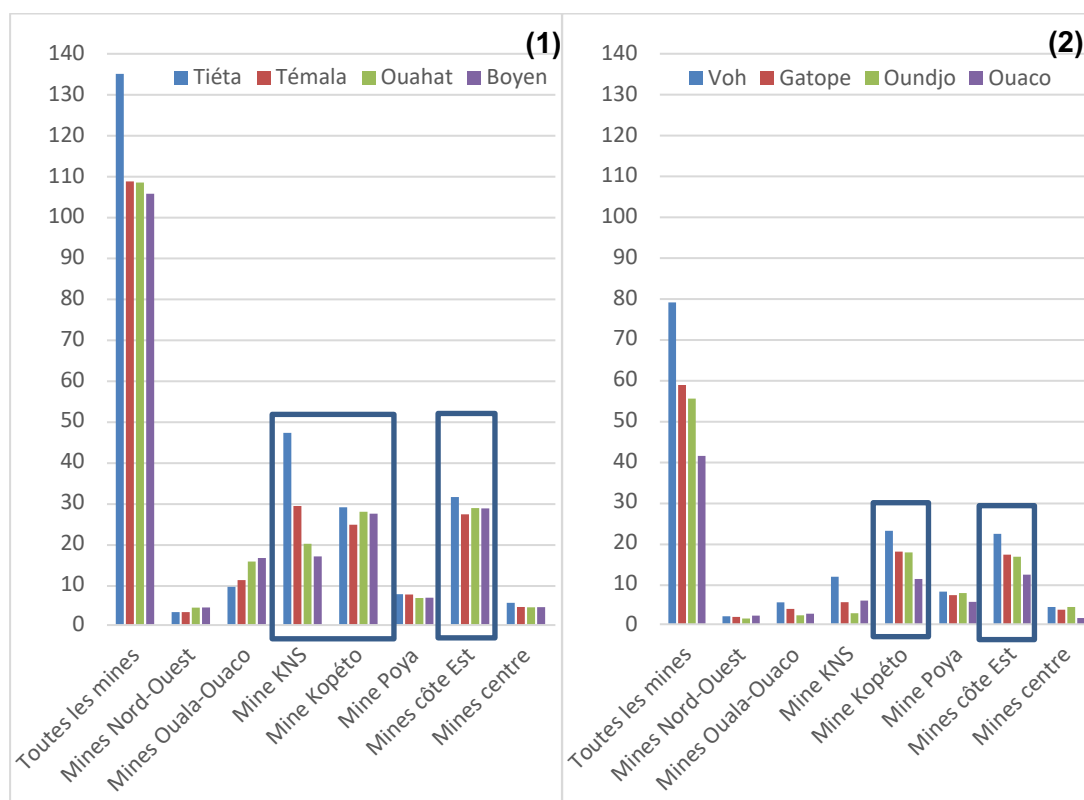


Figure 18 : Densités de trajectoires (%) ayant survolé des mines et parvenant à Tiéta, Télama, Ouahat et Boyen (a) et à Voh, Gatope, Oundjo et Ouaco (b)

Les sites échantillonnés sont regroupés en fonction des contributions majoritaires des sources potentielles (Figure 18 (1) et (2) et Figure 19 (1) et (2)).

Toutes les trajectoires arrivant à Tiéta, Témala, Ouahat et Boyen ont survolé au moins une mine (les densités de trajectoires étant supérieures à 100 %) et principalement KNS, Kopéto à plus de 20% pour chacune d'entre elles (Figure 18 (1), encadré en bleu). Pour ces localités, la contribution des mines de la côte est n'est pas à négliger puisqu'elles contribuent à presque 30% des masses d'air arrivant à Tiéta, Témala, Ouahat et Boyen (encadré en bleu). Tiéta situé au nord-ouest de la mine de KNS SAS est la localité la plus impactée par la mine du Mont-Koniambo (Figure 18 (1)). Le deuxième groupe de lichens (Figure 18 (2)) correspond à ceux échantillonnés dans des localités situées plus à l'ouest de KNS. Entre 40 et 80% des masses parvenant à ces localités ont survolé une mine. Les contributions majoritaires pour ces localités correspondent à la mine de Kopéto-Népoui et à celles sur la côte est (encadrement en bleu). L'influence de KNS est amoindrie par rapport aux localités de Tiéta, Témala, Ouahat et Boyen plus dans les terres (Figure 18 (2)).

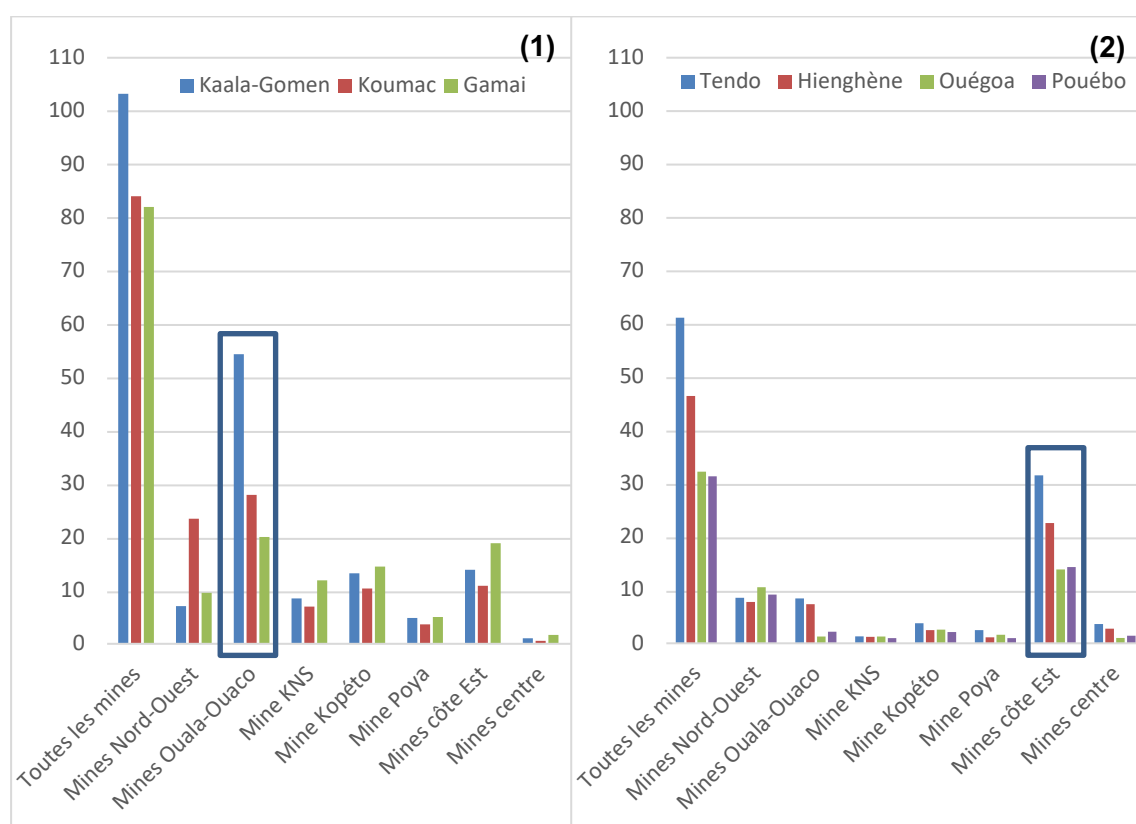


Figure 19 : Densités de trajectoires (%) ayant survolé des mines et parvenant à Kaala Gomen, Gamai et Koumac (1) et à Tendo, Hienghène, Ouégoa et Pouébo (2)

Les localités côtières de Koumac, Kaala Gomen et Ouaco situées au nord de la baie d'Unda accueillent des masses d'air ayant survolé les mines de Ouala-Ouaco (Figure 19 (1)). Enfin les lichens prélevés au centre est (Tendo) et sur la côte sont plutôt affectés par des masses d'air ayant survolé les mines de la côte est plutôt que celles de Kopéto-Népoui, KNS et Poya situées sur la côte ouest (Figure 19 (2)). Le village de Tendo, dans les terres côté est, se trouve sur le trajet des masses d'air ayant survolé les mines de la côte est mais également celles du Nord-Ouest et de Ouala-Ouaco sur la rive opposée.

De manière général, les localités côtières présentent des densités de trajectoires de masses d'air ayant survolé les mines moins importantes que celles situées même légèrement dans les terres.

3.4.4.4. Relation teneur en éléments métalliques des lichens et densité de trajectoire des masses d'air ayant survolé des mines à ciel ouvert

L'un des objectifs de ce travail est de relier les résultats de la modélisation de trajectoire des masses d'air de trajectoires de masse d'air et les résultats de la bio-indication lichénique.

Les concentrations en éléments métalliques des lichens (Ni, Cr, Co, Cu, Zn et Ti) sont déterminées pour chaque lichen. Le Ni, le Cr et le Co sont analysés car ce sont des éléments caractéristiques des sols latéritiques tandis que le Cu et le Zn sont des éléments faiblement concentrés. Ces derniers sont des traceurs de pollution anthropique liés à la combustion de ressources fossiles ou de la biomasse. Les concentrations sont normalisées par rapport à celles en Titane pour minimiser les variabilités liées à l'âge et à l'espèce de lichen. Les lichens sont des organismes intégrateurs des dépôts atmosphériques sur toute leur durée d'exposition. Nous avons choisi de calculer ces densités de trajectoire des masses d'air entre le 1^{er} janvier 2014 et le 31 juillet 2016, les lichens ayant été prélevés en août 2016. Les valeurs normalisées en Ni, Cr, Co, Cu et Zn sont représentées en fonction de la densité de trajectoires ayant survolé l'ensemble des mines définies sur la Figure 13.

Les rapports Zn/Ti dans les lichens sont majoritairement situés autour de 0.5 mais peuvent grimper jusqu'à 3 voire 7 dans les localités de Gamai, Tendo, Ouahat et Boyen (Figure 20). Ces rapports ne montrent pas de tendance croissante avec l'augmentation de la densité de trajectoires ayant survolé des mines.

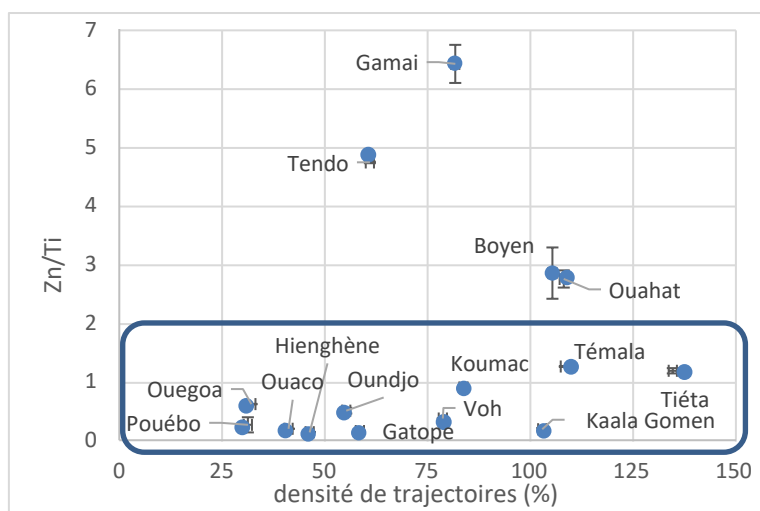


Figure 20 : Rapport Zn/Ti dans les lichens en fonction de la densité des trajectoires ayant survolé une mine entre le 1^{er} janvier 2014 et le 31 juillet 2016

Il en est de même pour les rapports Cu/Ti. Le zinc et le cuivre sont en concentrations très faibles dans les sols miniers (Pasquet, 2016). Le rapport Zn/Ni varie de 1 à 8 et atteint plus de 50 pour Tendo. Dans les sols miniers, ce rapport est 100 fois plus faible. Cela conforte l'origine extra minière du Zn contenu dans les lichens qui ne peut pas refléter un enrichissement lié aux poussières de sol minier. Le Zn et le Cu sont surtout des marqueurs d'activités anthropiques comme la combustion fossile (dont le transport) ou de la biomasse

comme le bois par exemple. Leur enrichissement particulièrement élevé dans les lichens collectés à Gamai, Tendo, Ouahat et Boyen est alors très certainement liée à une exposition aux poussières émises par la combustion.

Le rapport Ni/Ti augmente avec la densité de trajectoires ayant survolé les mines pendant la période étudiée (Figure 21). Deux groupes de lichens peuvent alors être définis :

1. Ceux dont le rapport Ni/Ti est inférieur à 0.2 avec une densité de trajectoires ayant survolé au moins une mine inférieure à 60%. Ces lichens sont prélevés très près des côtes et soumis à des vents venant de la mer diminuant la contribution de ceux ayant parcouru la terre ferme. Parmi ces lichens se trouvent ceux prélevés sur la côte ouest à Gatope, Oundjo et Ouaco qui subissent essentiellement l'influence de KNS et de Kopéto-Népoui et des mines de la côte est (Figure 18 (2)) et ceux de la côte ouest (Ouegoa, Hienghène) ou en pleine terre (Tendo) (Figure 19 (2)).
2. Le deuxième groupe de lichen présente des rapports Ni/Ti supérieurs à 0.2 pour des densités de trajectoires supérieures à 80%. Il correspond aux lichens qui sont situés au nord-ouest de KNS (Tiéta, Boyen, Ouahat, Témala, Voh) particulièrement affectés par KNS, Kopéto-Népoui et Poya ainsi que ceux impactés par Ouala-Ouaco (Gamai et Koumac).

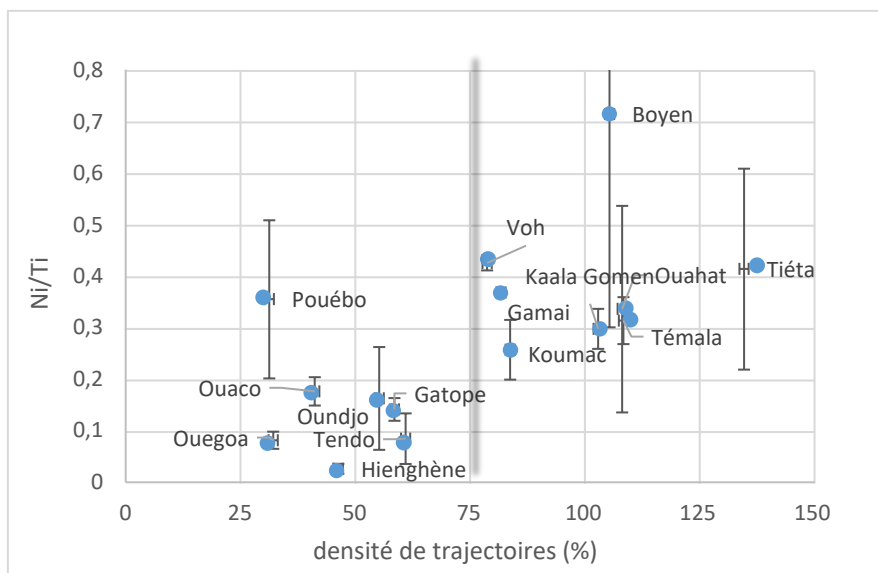


Figure 21 : **Rapport Ni/Ti dans les lichens en fonction de la densité des trajectoires ayant survolé une mine entre le 1er janvier 2014 et le 31 juillet 2016**

Pouébo, pourtant exposé de la même manière que Ouégoa, se détache du premier groupe par des valeurs en Ni/Ti nettement supérieures à 0.2 pour une densité de trajectoires de masses d'air ayant survolé des mines, relativement faible.

Les tendances pour les rapports Cr/Ti et Co/Ti sont similaires à celle du rapport Ni/Ti bien qu'un peu moins marquées (Figure 22). Les deux groupes de lichens sont identifiables de la même manière mais se distinguent moins nettement en termes d'écart entre les rapports métal/Ti surtout pour le cobalt dont les rapports sont dix fois plus faibles. Les rapports Ni/Ti sont 10 à 50 fois supérieurs aux rapports Co/Ti et entre une à deux fois supérieurs par rapport aux rapports Cr/Ti, ce qui reste représentatif des différences de teneurs dans les sols. En effet, dans les sols miniers de Poro et Koniambo, se trouvent des teneurs moyennes décroissantes de nickel (1,5 %), de chrome (1,10 %) de cobalt (0,1 %), de zinc (0.04%) et de cuivre (0.0012%). Le Ni est donc un traceur avéré des sources d'origine minière, ce qui

n'exclue pas qu'il puisse également provenir de sols latéritiques érodés et pas nécessairement exploités.

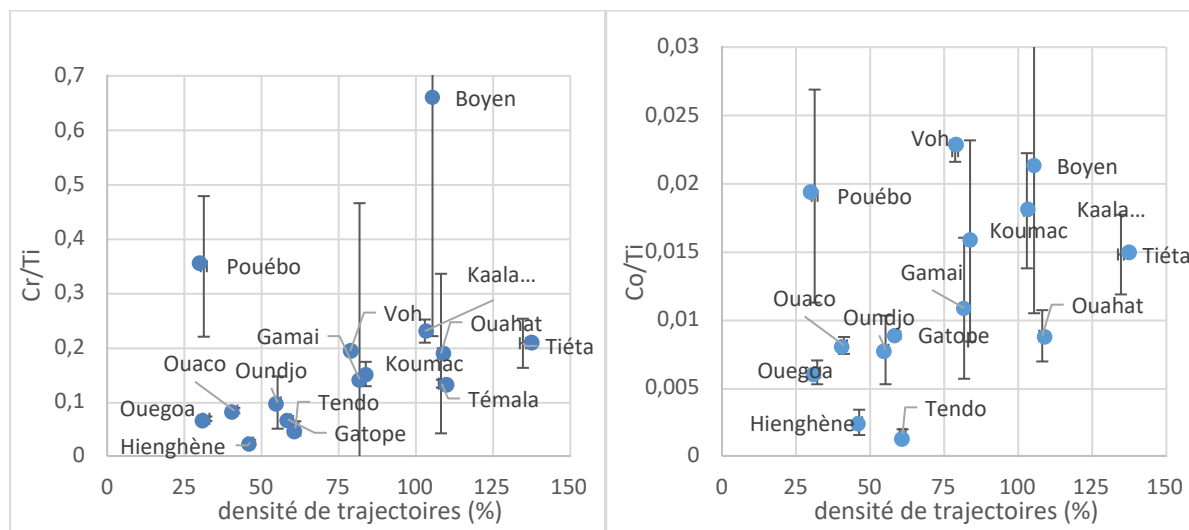


Figure 22 : Rapport Cr/Ti et Co/Ti dans les lichens en fonction de la densité des trajectoires ayant survolé une mine entre le 1er janvier 2014 et le 31 juillet 2016

3.4.4.5. Carte des densités de trajectoire des masses d'air partant des principaux sites miniers

La carte des densités de trajectoires issues des mines considérées ponctuelles entre le 01/01/2014 et le 31/06/2016 montre les trois directions préférentielles des vents matérialisées par des flèches noires (sud-est vers nord-ouest dans la longueur de la Nouvelle Calédonie, transversale ouest-est et du sud-est vers (Figure 23). Elle met en lumière les zones plus largement exposées au nord-ouest et à l'est des mines. Il en résulte une grande zone balayée par des masses d'air susceptibles de contenir des poussières de sols miniers sur le massif ultramafique de Kouaoua et Poro. La côte ouest semble légèrement moins exposée aux masses d'air issues ayant survolé des mines en raison des vents océaniques.

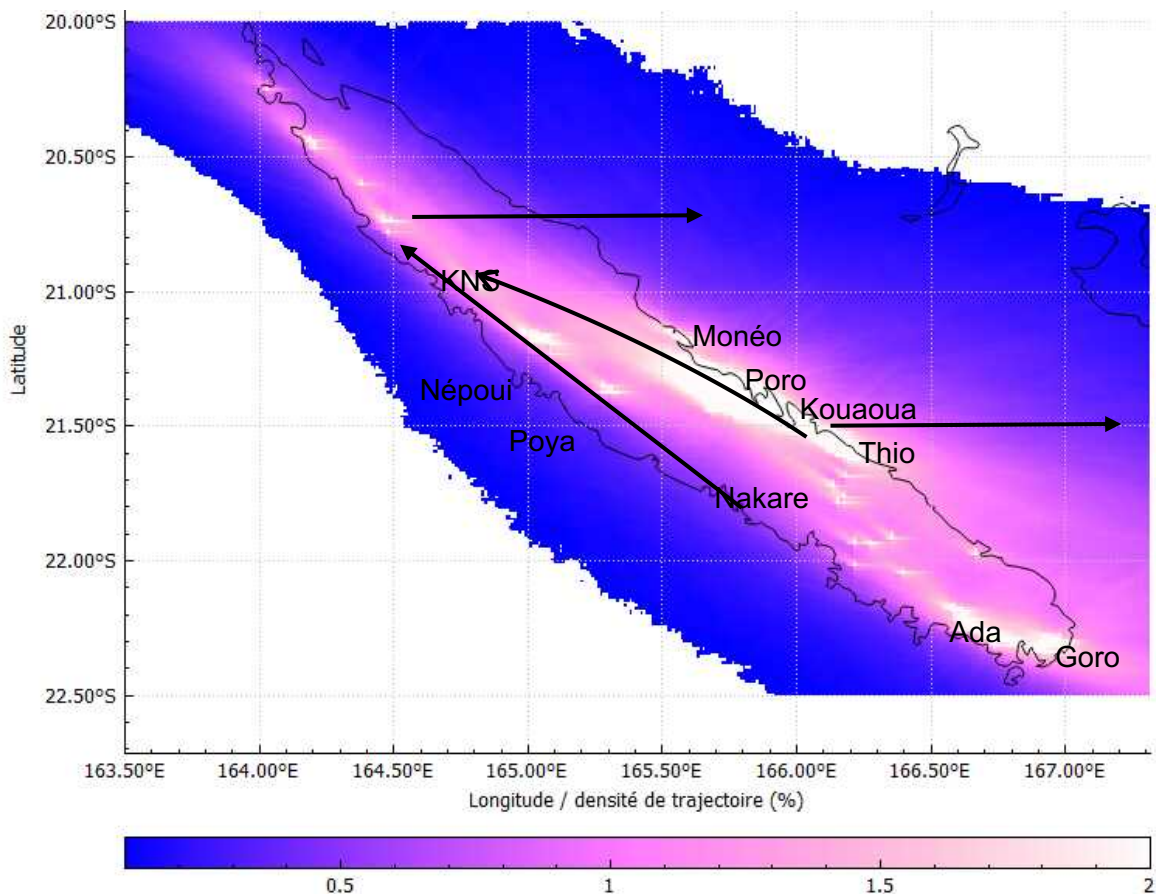


Figure 23 : *Densité de trajectoires partant des mines entre le 01/01/2014 et le 31/06/2016*

3.5. CONCLUSION

Ces résultats démontrent que les lichens épiphytes, du moins ceux appartenant à la famille des Parmeliaceae, peuvent être utilisés comme biomoniteurs pour l'évaluation de la qualité de l'air en contexte minier. Les concentrations brutes de Ni, Cr et Co dans les lichens sont élevées, voire extrêmement élevées, à proximité de la mine et de l'usine de traitement du minerai. Les scores de l'échantillon pour la première composante principale, calculés après une transformation appropriée, peuvent être utilisés comme indicateur environnemental global. La PC1 comprend tous les principaux éléments émis dans l'atmosphère lors de l'extraction et du traitement du nickel.

Cette approche peut fournir des informations précieuses pour la gestion et la protection des écosystèmes, en mettant en évidence les zones les plus exposées aux poussières émises par l'activité minière et sites à prioriser pour l'installation d'unités de filtration coûteuses, permettant une surveillance continue de la qualité de l'air. Toutefois, comme l'indice synthétique tiré de la PC1 simplifie considérablement le problème en fournissant une image large, il peut également empêcher la différenciation des sources lorsque leurs différences de composition sont subtiles.

Il est donc recommandé d'analyser les données compositionnelles en combinaison avec un examen minutieux des données brutes provenant des lichens, car le contact avec leurs valeurs absolues est perdu lors de l'analyse statistique. Bien que les résultats de cette étude indiquent que les lichens peuvent être utilisés pour évaluer la dispersion atmosphérique aux alentours d'activités minières et métallurgiques, il serait utile de procéder à d'autres études dans une zone où les données sur la qualité de l'air ou les dépôts atmosphériques sont

également disponibles. Ces informations seraient utiles pour évaluer avec précision les performances de l'approche décrite ici.

La bioindication lichénique a été croisée à la modélisation atmosphérique dans le contexte de l'étude de l'impact de la dispersion des particules minières autour du Mont Koniambo. Le calcul de trajectoires arrière des masses d'air à partir des positions de prélèvement de lichen a permis d'étudier l'origine des masses d'air et leur histoire avant de parvenir au lichen. Les densités de trajectoires des masses d'air ayant survolé des mines avant de parvenir au lichen ont été déterminées. Les résultats montrent que les mines les plus impactantes sur une localité sont celles qui sont les plus proches à condition d'être sous les vents et qu'il ne faut pas négliger les mines sur la côte opposée. Trois directions préférentielles des vents ont été mises en évidence entre 2014 et 2016 :

- les alizés suivant la côte ouest de la Nouvelle Calédonie (sud-est vers nord-ouest dans la longueur de la Nouvelle Calédonie), souvent dominants, qui exposent les localités au nord-ouest des mines. De ce point de vue KNS est particulièrement impactant sur Voh, Témala, Tiéta et Ouahat ;
- les vents transversaux ouest-est (océaniques) qui limitent les impacts sur les localités côtières ouest ;
- Les vents du sud-est vers l'ouest correspondant à des alizés infléchis par l'île qui entraînent une contribution non négligeable des mines de la côte est sur les localités autour de KNS.

Les lichens prélevés autour de KNS et dans le nord de la Nouvelle Calédonie ont été analysés en Ni, Co, Cr, Cu et Zn. Le rôle des mines dans la pollution atmosphérique au Nickel est mis en évidence : en effet, le couplage bio-indication et modélisation atmosphérique montre que les rapports de métaux normalisés par le titane augmentent avec la densité de trajectoire ayant survolé des mines pour Ni, Co, Cr qui sont des marqueurs des sols ultramaïques. Ils ne montrent aucune corrélation pour Cu et Zn qui sont des marqueurs d'activité de combustion de ressources fossiles ou de biomasse (bois).

L'étude croisée bio-indication – densité de trajectoire montre qu'il serait judicieux de faire des mesures et des caractérisations de PM₁₀ dans les localités de Témala, Tiéta, Boyen et Ouahat pour mesurer l'exposition de la population aux poussières de nickel. Les teneurs en Zn, traceur de la combustion, étant également élevée en ces deux dernières localités, l'étude pourrait inclure la recherche de traceurs organiques de combustion de la biomasse comme le levoglucosan et le mannose (Mashayekhy Rad et al., 2018). Le modèle de simulation des masses d'air utilisé (FLEXTRA) ne modélise pas les dépôts secs et humides. Il s'est montré suffisant pour établir le lien entre contamination de la biosphère (les lichens) et l'origine minière des masses d'air mais inclure ces processus de déposition de particule dans le modèle atmosphérique permettrait d'affiner la recherche des zones les plus impactées par les dépôts humides.

Une carte des densités de trajectoires issues des mines sur toute la Nouvelle Calédonie permet de localiser les zones où un suivi de la qualité de l'air serait judicieux pour évaluer l'exposition de la population aux poussières de Nickel. Les villes de la côte est (Poros, Kouaoua, Thio) sont potentiellement particulièrement exposées et un suivi de la qualité de l'air mériterait d'être réalisé dans ces localités entre autres.

4. DISPERSION DES ETM AU SEIN DES COMPARTIMENTS BIOLOGIQUES DULÇAQUICOLES ET ESTUARIENS ET ÉVALUATION DE LEURS EFFETS TOXIQUES

En hébergeant au sein de son sous-sol 10% des ressources mondiales, la Nouvelle-Calédonie constitue aujourd'hui la 3^{ème} réserve mondiale de Nickel. Ces réserves se concentrent au sein des formations ultramafiques qui recouvrent près d'un tiers de l'archipel.

Ces roches ultramafiques, riches en divers métaux traces, dont le Nickel (Ni), le Cobalt (Co), le Chrome (Cr) et le Manganèse (Mn), sont soumises à une intense érosion chimique et mécanique naturelle particulièrement en climat subtropical. Cette sensibilité naturelle à l'érosion permet donc une remobilisation des Eléments Traces Métalliques (ETM), qui une fois libérés de leur matrice peuvent migrer dans l'environnement de ces massifs au gré des différents vecteurs de dispersion.

Le lessivage et l'érosion naturels des sols ultramafiques calédoniens sont à l'origine d'importants transferts de particules chargées en ETM vers les réseaux hydrographiques. Ces réseaux sont un des principaux couloirs de dispersion des ETM des sommets jusqu'au lagon.

Depuis plus d'un siècle, l'action de l'homme, notamment l'activité minière, a fortement accentué les processus de lessivage et d'érosion des massifs ultramafiques. En mobilisant de grandes quantités de roches pour l'extraction des métaux d'intérêt économique, des apports d'ETM d'origine anthropique se surajoutent à la dispersion sédimentaire naturelle et exposent les différents compartiments biologiques des eaux courantes depuis les zones d'extraction situées en amont jusqu'au lagon. La présence de flux naturels et/ou anthropique d'ETM potentiellement importants au droit des environnements ultramafiques calédoniens soulève donc la question de la toxicité de ces éléments pour les différents maillons biologiques tout au long des hydrosystèmes soumis à l'influence de l'activité minière.

4.1. INTRODUCTION

En Nouvelle-Calédonie les mécanismes de dispersion des ETM naturellement présents dans les sols ultramafiques ont fait l'objet de très peu d'études au sein des différents compartiments biologiques. Seuls les organismes lagonnaires et marins ont été explorés (Breau, 2003 ; Hédouin, 2006). Pour les milieux aquatiques dulçaquicoles, la dispersion des ETM au sein des maillons biologiques est encore plus rare avec seulement quelques suivis des concentrations en ETM au sein de deux modèles biologiques dulçaquicoles (poissons Gobiidae et crustacés du genre *Macrobrachium*) (Biotop, 2010).

L'exploitation minière des ressources participe à la remobilisation, au transport et à la dispersion de ces ETM au sein des hydrosystèmes, et plusieurs travaux à travers le monde ont mis en évidence le rôle de cette industrie sur la modification des processus de dispersion des ETM au sein des compartiments biologiques aquatiques (Ashraf et al., 2011 ; Boudou et al., 2006). Il y est généralement observé une augmentation des processus de bioaccumulation et bioconcentration des ETM par les organismes aquatiques conduisant à des concentrations en ETM élevées au sein des différents tissus. Les métaux accumulés peuvent alors se retrouver transférés le long des réseaux trophiques par le jeu des transferts alimentaires.

Dans le cadre du programme DMML, afin de documenter et de caractériser la contamination métallique et son effet éventuel sur la composante biotique des hydrosystèmes néo-calédoniens, des analyses des métaux Ni, Cr, Co, Mn et Fe sur différentes matrices biologiques ont permis de quantifier les ETM le long des réseaux trophiques dulçaquicoles et estuariens. Une première évaluation de leur écotoxicité sur les maillons biologiques a également été réalisée.

Les modèles biologiques, sur lesquels le travail a été concentré, occupent différentes positions dans le réseau trophique d'eau douce. Ce sont des biofilms périphtiques en tant que représentant des premiers maillons trophiques des cours d'eau, et des poissons, des crustacés, des mollusques bivalves, des gastéropodes pour les maillons supérieurs.

La démarche méthodologique du programme DMML a consisté à documenter la dispersion des éléments traces métalliques (ETM) dans les milieux aquatiques dulçaquicoles de la Nouvelle-Calédonie en comparant des bassins versants impactés ou non par des activités d'extraction minière. Les hydrosystèmes concernés dans cette étude sont la rivière Taléa-Coco, considérée comme collecteur d'un bassin versant impacté par les activités minières, et la rivière Tivoli, en tant que cours d'eau appartenant à un bassin ultramafique sans activité minière.

Les compartiments abiotiques et biotiques de ces hydrosystèmes ont fait l'objet d'études par les différents partenaires du programme DMML. L'étude de la composante abiotique a ciblé leurs potentiels de dispersion des métaux (Tâche 1 du programme DMML). En ce qui concerne le compartiment biotique, l'étude s'est concentrée sur les aspects écotoxicologiques de la contamination métallique de la composante biotique des hydrosystèmes en lien avec l'exploitation minière et fait l'objet de la tâche 2 du programme. Pour cette étude écotoxicologique, les partenaires impliqués sont l'université de Bordeaux-Laboratoire CNRS EPOC avec l'équipe d'Ecotoxicologie Aquatique, le cabinet d'études Asconit Ingénierie écologique (agence de Perpignan) de Montpellier, le cabinet d'études BioeKo Consultants à Nouméa et l'Université de la Nouvelle-Calédonie avec l'équipe de l'ISEA.

Dans le présent document, les missions effectuées, les études menées et les résultats obtenus dans la tâche 2 du programme DMML sont détaillés et discutés. La dispersion des ETM au sein des compartiments biologiques dulçaquicoles et estuariens et leurs effets toxiques le long d'un gradient de contamination métallique sont évalués depuis la zone amont où les exploitations minières sont installées sur les bassins versants jusqu'aux zones plus en aval plus densément peuplées : cours inférieur des cours d'eau, zone estuarienne et littorale.

Il se décline en trois sous-tâches :

- Approche exploratoire de la contamination métallique de différents maillons trophiques le long du continuum bassin versant – lagon ;
- Études expérimentales du transfert trophique du Ni entre du biofilm périphtique et un poisson modèle brouteur ;
- Développement d'un outil Diatomées en tant que bioindicateur d'exposition et d'effets des ETM au sein des hydrosystèmes ultramafiques.

4.2. APPROCHE EXPLORATOIRE DE LA CONTAMINATION MÉTALLIQUE DE DIFFÉRENTS MAILLONS TROPHIQUES LE LONG DU CONTINUUM BASSIN VERSANT – LAGON

L'objectif de cette approche exploratoire a été de caractériser l'intégration et la dispersion des ETM cibles (Ni, Co, Cr et Mn) au sein des compartiments biologiques des hydrosystèmes ultramafiques calédoniens et d'appréhender les effets de l'exploitation minière sur ces processus. Elle a porté plus précisément sur les bassins versants depuis la zone amont où les exploitations sont installées jusqu'aux zones plus en aval plus densément peuplées : cours inférieur des cours d'eau, zone estuarienne et littorale.

Cette tâche a donc visé à estimer les niveaux d'exposition des principaux maillons biologiques présents au sein des hydrosystèmes dulçaquicoles et estuariens calédoniens, afin de caractériser les processus de bioaccumulation, bioconcentration et dispersion des ETM le long des réseaux trophiques (simple transfert, biodilution ou biamplification).

Dans ce but, l'étude a ciblé plusieurs modèles biologiques occupant différents maillons trophiques le long du continuum des eaux courantes étudiées. Elle a ainsi permis d'intégrer l'ensemble des hydrosystèmes étudiés avec une attention particulière portée sur : (i) les biofilms périphytiques dans la zone d'eau douce (cours supérieur, intermédiaire et inférieur), (ii) les poissons depuis le cours inférieur des cours d'eau jusqu'au lagon, (iii) les crustacés et bivalves présents en zone saumâtre et lagon préférentiellement.

Cette étude a été menée sur deux bassins versants : un bassin versant ultramafique sans activité minière en tant que système de référence et un bassin versant ultramafique dont la partie amont est exploitée par une mine, afin de pouvoir comparer les niveaux de contamination métallique des modèles biologiques sur le parcours longitudinal des deux hydrosystèmes.

L'exploration s'est déroulée lors de deux missions (mai et novembre 2016) caractérisant les deux saisons contrastées sur deux bassins versants situés sur la côte Ouest de la Grande Terre au niveau du Mont Koniambo : un bassin versant ultramafique de référence sans activité minière (bassin versant de la Rivière Tivoli) et un bassin versant ultramafique exploitée dans sa partie amont par une mine (bassin versant de la Rivière Taléa-Coco (Figure 24).

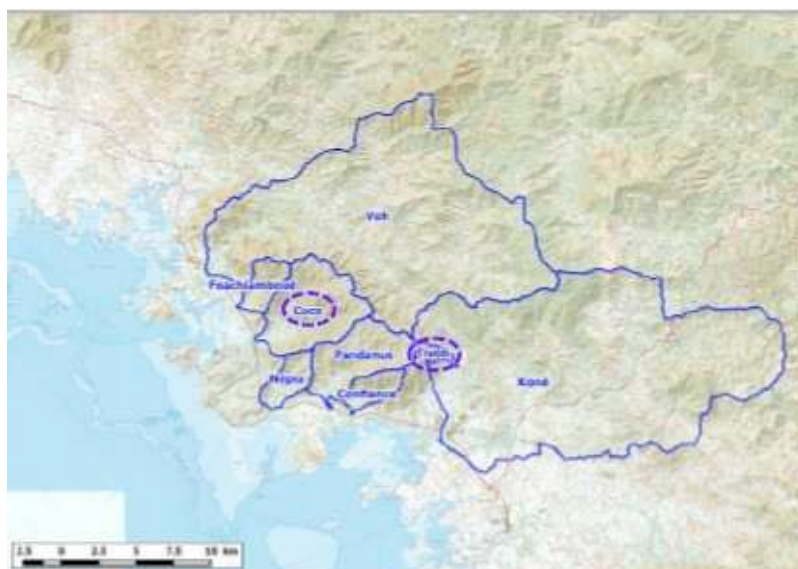


Figure 24 : Localisation des bassins versants échantillonnés pour la composante biotique lors des deux missions de mai et novembre 2016 : Taléa-Coco et Tivoli

Six sites ont été échantillonnés au total : 4 sur la Rivière Taléa-Coco (bassin versant impacté) et 2 sur la Rivière Tivoli (bassin versant de référence). Un site amont a été exploré sur chacun des bras de Taléa-Coco avec un bras gauche directement sous l'influence des activités minières et un bras droit moins impacté mais situé dans le futur bassin minier avec deux sites ; un quatrième site aval a été prospecté. Sur la Tivoli, un site amont et un site aval ont été échantillonnés et ont constitué les sites de référence (Figure 25).

Les échantillonnages ont concerné les trois groupes biologiques aquatiques représentés le long de ce gradient : les biofilms périphytiques dans la zone d'eau douce avec 5 sites échantillonnés, trois sur Taléa-Coco : bras gauche, bras droit, bras droit-pont et deux sur la Tivoli : Tivoli amont et Tivoli aval ; les poissons et les crustacés des cours d'eau au niveau de 3 sites sur Taléa-Coco (Taléa gauche, Taléa droite et Taléa aval) et un seul site sur la Tivoli (Tivoli aval). Les biofilms ont été collectés lors de la mission de mai et de novembre 2016 alors que les poissons et crustacés seulement en mai comme prévu initialement dans le projet. Le travail de collecte sur le terrain s'est organisé en deux ateliers: un atelier biofilm, un atelier pêche électrique et une collecte des crustacés dans le lagon.

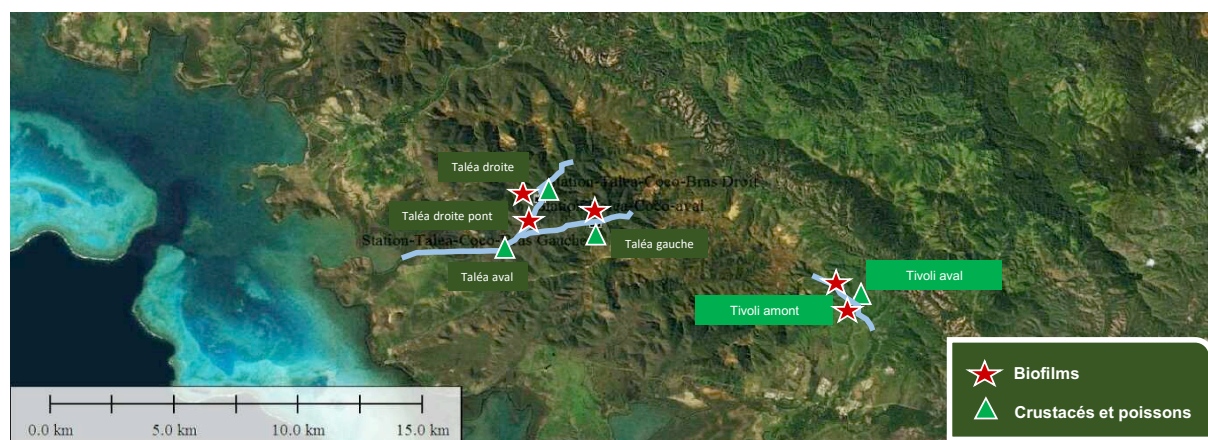


Figure 25 : Localisation des différents sites d'échantillonnage sur les deux bassins versants considérés en fonction de la composante biologique prélevée lors des deux missions en 2016

4.2.1. METHODOLOGIE DE COLLECTE DES ORGANISMES SUR LE TERRAIN ET CRITERES D'ANALYSE ETUDIES

4.2.1.1. Les biofilms

Les biofilms se développent sur tout type de substrat immergé, vivant ou inerte des cours d'eau. Ils montrent une forte capacité à concentrer les métaux (Duong et al, 2009 ; Arini et al, 2011). Ils sont constitués majoritairement de micro-algues dont les diatomées qui sont présentes au sein du biofilm toute l'année, assurant ainsi le rôle de principal producteur primaire à la base des réseaux trophiques des écosystèmes lotiques. Parmi les micro-algues périphytiques, les diatomées sont abondantes et peuvent constituer la quasi-totalité des biofilms développés sur tout type de substrat immergé, vivant ou inerte des cours d'eau. Elles colonisent tous types de milieux (terrestre, aquatique, marin et même aérien) grâce à leur grande amplitude écologique, supportant les milieux les plus défavorables à leur croissance (Wetzel, 1983). Elles sont connues depuis longtemps pour être les principaux producteurs primaires au sein de nombreux écosystèmes lotiques, où le courant limite le développement des algues phytoplanctoniques et des macrophytes (Werner, 1977).

La colonisation d'un substrat vierge par une communauté périphytique diatomique suit une succession écologique classique, qui conduit à maturité à un biofilm dont l'épaisseur est conditionnée par le pool d'espèces présentes dans le milieu, le type de substrat, mais aussi par les conditions environnementales durant les stades de la colonisation : lumière, température, nutriments, courant mais aussi exposition aux contaminants (Murdock and Dodds, 2007; Pan et al., 2004; Sekar et al., 2004).

Ainsi, par leur immersion permanente, leur sédentarité et leur position clé à la base des chaînes trophiques, les diatomées intègrent de façon très précoce les variations physicochimiques du milieu qui retentissent sur la composition de leurs communautés en développement selon les préférences écologiques des espèces. À ce titre les biofilms dans leur globalité et les diatomées plus particulièrement sont considérés depuis plusieurs années comme étant de bons outils d'évaluation révélateurs de contextes d'exposition à différents métaux dans les hydrosystèmes (Ivorra et al., 2000, 2001 ; Gold et al., 2002 ; Feurtet-Mazel et al., 2003 ; Guasch et al., 2003 ; Duong et al., 2007, 2008, 2009 ; De Jonge et al., 2008, Arini, 2011; Morin et al., 2012).

4.2.1.1.1. Prélèvements de biofilms et récapitulatif des analyses effectuées

Des prélèvements de biofilm sur substrats artificiels (lames de verre) et naturels (galets) ont été effectués en parallèle sur les 5 sites : Rivière Taléa-Coco bras Gauche amont (potentiellement directement impactée par l'activité minière), Rivière Taléa-Coco bras Droit (bassin versant minier mais moins impacté), Taléa-Coco aval et les 2 sites (amont et aval) de la Rivière Tivoli, bassin versant de référence préservé.

Pour chaque site, des lames de verre ont été positionnées dans des cages immergées dans le cours d'eau et laissées à coloniser pendant 3 semaines (Figure 26). À l'issue de ces 3 semaines, le biofilm présent sur 15 à 30 lames, soit une surface colonisée allant de 2880 cm² à 7200 cm² en fonction des sites, a été prélevé. Après homogénéisation, chaque échantillon a ensuite été séparé en 3 répliquats. En effet dans certains sites, les lames de verre étaient trop chargées en latérite ou partiellement exondées, restreignant d'autant la surface échantillonnable. Celle-ci a cependant toujours été suffisante pour obtenir assez de matériel et réaliser les 3 répliquats.



Figure 26 : Substrats artificiels sur sites pendant 3 semaines

Parallèlement aux prélèvements des substrats artificiels, du biofilm « naturel » a été prélevé sur des galets présents sur chaque station (~15 galets). Afin de pouvoir rapporter les paramètres étudiés à la surface échantillonnée, la surface des galets échantillonnés a été moulée avec du papier d'aluminium (Figure 27). La surface du papier d'aluminium a ensuite été mesurée à l'aide du logiciel Mesurim (Madre, 1998) donnant ainsi une valeur approchée de la surface de biofilm « naturel » échantillonnée.



Figure 27 : Moulage des substrats naturels (galets) échantillonnés et photos des surfaces moulées avant mesure par le logiciel Mesurim

Les biofilms collectés sur les deux types de supports ont été obtenus par grattage et remis en suspension (Figure 28) puis filtrés directement sur les sites de collecte (nature des filtres indiqué sur le Tableau 7). Chaque réplicat correspond donc à une même suspension de biofilm qui a été répartie de manière à procéder aux diverses analyses en fonction des métriques considérées. Pour chaque type d'échantillons, le tableau 7 récapitule les métriques visées concernant l'ensemble du biofilm ou seulement les communautés de diatomées.



Figure 28 : Collecte par grattage des biofilms sur les substrats

Tableau 7 : Différents types d'échantillons prélevés

Type d'échantillon	Métriques associées	Niveau d'analyse
Biofilm filtré	Poids sec	biofilm global (missions mai et juin 2016)
(filtre GF/C)	Matière sèche sans cendre MSSC	
(filtre GH/PP)	Bioaccumulation métallique	
(filtre GF/C)	Chlorophylle a et phaeopigments	Niveau fonctionnel de la composante micro-algale des biofilms (mission mai 2016)
Biofilm (fixation à l'éthanol ou au formaldéhyde)	Abondance relative des espèces de diatomées et formes tératogènes	Communautés diatomiques (mission mai 2016)
Biofilm fixé au Lugol	Densité cellulaire et pourcentage de cellules mortes/vivantes	
Biofilm (conservé dans du RNA later)	Analyse génétique	Expression de gènes des diatomées (missions mai et novembre 2016)

Au total sur les deux missions, les prélèvements ont été effectués conformément à ce qui était prévu soit 208 échantillons collectés pour les analyses de bioaccumulation, 102 échantillons pour les mesures de Matière Sèche Sans Cendre (MSSC), 36 échantillons pour les analyses de biologie moléculaire et 30 échantillons pour la détermination des peuplements, des densités cellulaires de diatomées et des concentrations de chlorophylle.

Quatre niveaux d'analyse ont été considérés (Tableau 7) :

- Le niveau global avec des critères d'analyse concernant le biofilm dans sa totalité : poids sec, Matière Sèche Sans Cendre (MSSC), bioaccumulation métallique
- Le niveau fonctionnel de la composante micro-algale des biofilms
- Le niveau des communautés périphytiques en s'intéressant plus particulièrement aux diatomées qui intègrent les variations de composition du milieu et adaptent leur composition spécifique au sein des communautés pendant leur développement, jouant ainsi un rôle reconnu de bioindicateur des milieux lotiques
- Le niveau génétique avec l'expression de gènes de voies métaboliques majeures des diatomées (métabolismes photosynthétique, mitochondrial et de la silice, réponse au stress oxydant) (voir paragraphe 4.4.2.).

Le traitement statistique des données a été réalisé selon le protocole suivant. Une transformation Box-Cox (Peltier et al, 1998) a d'abord été appliquée aux données en raison d'une variance non homogène. Après transformation, une analyse de variance (ANOVA) à un facteur suivie d'un test LSD de Fisher pour étudier la différence entre les moyennes ont été réalisés quand la normalité (approuvée par le test de Shapiro) et l'homogénéité des variances (approuvée par le test de LEVENE) ont été toutes les deux respectées. Dans le cas où les hypothèses de base n'ont pas été vérifiées, une analyse non paramétrique de Kruskal Wallis et un test-U de Mann et Whitney ont alors été privilégiés. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R Studio 6.1 (version 1.0.143) et le seuil de significativité a été fixé à 5% ($\alpha = 0.05$).

4.2.1.1.2. Traitement des échantillons de biofilms

Les échantillons de biofilms collectés sur galets et sur substrats lames de verre ont été concentrés sur filtres, maintenus en suspension ou prélevés directement sur support selon les analyses visées (Tableau 7). Les filtres ont été conservés au froid sur le terrain puis conservés à -20°C jusqu'à analyses ; les aliquots en suspension ont été fixés à l'éthanol, au formaldéhyde ou au lugol (5%, v:v) ; les prélèvements directs de biofilm ont été conservés dans du RNA later puis à -80°C jusqu'à analyses. En ce qui concerne les échantillons collectés en suspension, l'analyse de leurs communautés diatomiques nécessite un traitement préalable des échantillons et la confection de lames permanentes avant analyse.

L'identification des diatomées étant basée sur l'examen microscopique du frustule (squelette siliceux intracellulaire caractéristique des diatomées), les échantillons sont traités afin d'éliminer le protoplasme des cellules et toute la matière organique présente dans l'échantillon. La plupart des détails structuraux des frustules, sur lesquels repose la détermination des espèces, sont à la limite de la résolution de la lumière, c'est pourquoi les frustules nettoyés doivent être placés dans une résine réfringente. Le traitement comporte plusieurs étapes comme le décrit la Norme NF T 90-354 d'avril 2016.

- Une partie aliquote de l'échantillon est prélevée pour être traitée. L'aliquote est débarrassé du conservateur utilisé pour la fixation par des cycles de lavages/décantation à l'eau distillée dans des béchers. Les béchers sont couverts pour éviter toute contamination entre échantillons.
- L'échantillon est débarrassé de la matière organique par un traitement à chaud avec de l'eau oxygénée. La température, la durée du traitement et la concentration finale en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à 30 % (v/v) est variable en fonction de l'estimation de la quantité de matière organique de l'échantillon (de 2 à 6 volumes d' H_2O_2 sont conseillés).

- Avant le traitement au peroxyde d'hydrogène ou après refroidissement de l'échantillon, quelques millilitres d'acide chlorhydrique concentré sont ajoutés pour éliminer les carbonates de calcium.
- Quatre cycles de rinçage dans l'eau distillée ou déminéralisée/décantation sont ensuite effectués pour éliminer tous les résidus des produits chimiques utilisés. La décantation nécessite une dizaine d'heures minimum mais peut-être accélérée par centrifugation (1500 tours/min pendant 3 minutes).
- Le culot est ensuite mis en suspension dans un volume d'eau distillée de manière à obtenir une suspension légèrement trouble.
- Une goutte de la suspension est déposée sur une lamelle préalablement dégraissée (dans une solution aqueuse tensioactive obtenue par exemple avec quelques gouttes de liquide vaisselle) jusqu'à évaporation complète du liquide à température ambiante ou après passage de la lamelle dans une étuve à une température inférieure à 40°C pour accélérer l'évaporation.
- Une ou plusieurs gouttes de résine de montage (par exemple du Naphrax®) sont déposées sur les lames préalablement identifiées.
- A l'aide d'une pince, les lamelles face couverte de diatomées sont déposées sur la résine, la lame est posée sur une plaque chauffante afin de laisser évaporer tout le Toluène contenu dans la résine.
- Lorsque les bulles de Toluène se font plus rares, la lamelle est pressée uniformément et délicatement afin d'éliminer les dernières bulles et de répartir les diatomées en une couche fine et unique au sein de la résine.
- Après refroidissement, la lame est alors prête pour la détermination et l'inventaire.

Une vérification de la concentration en diatomées en conditions réelles de comptage (grossissement x1000) est réalisée, pour aboutir, après réglage (dilution ou concentration de l'échantillon traité), à une densité correcte de 10 à 20 unités diatomiques par champ.

4.2.1.1.3. Analyse des échantillons de biofilms

○ Mesures pondérales des biofilms

Les descripteurs globaux des biofilms sont les mesures pondérales de matière sèche par unité de surface, et de Matière Sèche Sans Cendre (MSSC) qui permet de déterminer la perte au feu et la fraction de biomasse organique des biofilms.

Les échantillons de biofilms recueillis sur filtres GF/C après tarage sont ainsi pesés après passage à l'étuve 24h à 50°C pour avoir le poids sec, puis ils sont placés à 500°C pendant 3h, et enfin pesés pour obtenir la perte au feu. La perte au feu correspond à la fraction minérale du biofilm. Le delta entre le poids sec et cette fraction minérale correspond donc à la fraction organique du biofilm détruite par le feu.

○ Analyse des métaux dans les biofilms

Les échantillons collectés sur le terrain lors des deux missions de mai et novembre 2016 ont été filtrés (filtre GF/Polypropylène) directement sur les sites de collecte puis ramenés au laboratoire EPOC-EA. Ils ont ensuite été digérés avec de l'acide nitrique ultra pur pendant 3 heures à 100°C sur une plaque chauffante et enfin dilués avec de l'eau ultra-pure (milli-Q) après refroidissement. Les contaminants métalliques (Ni, Cr, Co, Mn et Fe) ont été quantifiés simultanément avec un spectromètre d'émission optique (ICP-OES série 720, Agilent Technology). La validité de la méthode a été vérifiée avec des échantillons biologiques certifiés Tort-3 et Dolt-5 (respectivement de l'hépatopancréas de homard et du foie de

roussette du NRCC-CNRC, Ottawa, Canada) et un matériel de référence l'IAEA 413 (de l'algue fourni par l'IAEA). Les contaminations éventuelles de l'acide et des consommables ont quant à elles été suivies avec des blancs qui ont subi le même protocole que les échantillons.

- **Analyse des échantillons de chlorophylle a et de phaeopigments**

Les valeurs de Chlorophylle a et de phaeopigments ont été mesurées au laboratoire des moyens analytiques du centre IRD de Nouméa. La méthode employée est la fluorimétrie (après extraction au méthanol puis acidification de l'échantillon).

- **Détermination des abondances relatives des espèces de diatomées et mise en évidence des formes tératogènes (valves déformées)**

La méthode de comptage est comparable à celle décrite dans la Norme NF T 90-354 d'avril 2016. Après un balayage exhaustif de la lame afin d'identifier le plus d'espèces possibles, un comptage par champs (par exemple grâce à un balayage par transect, Figure 29) est effectué sur au moins 500 unités diatomiques afin de dresser un inventaire taxonomique. Il est recommandé d'éviter les champs situés en bordure verticale et horizontale de la lame afin de limiter un effet de bord (abondance relative des diatomées différente sur les bords). L'unité diatomique est la valve. Le frustule entier comporte donc deux valves soit deux unités diatomiques.

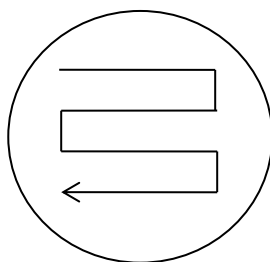


Figure 29 : **Balayage de la lame par transect horizontal (extrait de la Norme NF T 90-354 de décembre 2007)**

Une attention particulière est apportée pour ne pas compter plus d'une fois une unité diatomique.

Les diatomées cassées ne sont prises en compte que si au moins les $\frac{3}{4}$ sont visibles et identifiables, ce qui évite de compter deux fois la même unité. La même règle est utilisée si l'unité dépasse du champ d'observation. Les taxons observés sont régulièrement photographiés pour éviter toute dérive d'identification pour les taxons déjà connus, pour distinguer certains morphotypes dont l'identification est parfois plus aisée en comparant les photographies ou encore pour une recherche ultérieure lorsque l'identification s'avère délicate.

- **Détermination de la densité cellulaire totale et des pourcentages de cellules vivantes et mortes**

Le dénombrement des cellules diatomiques a été réalisé au moyen d'une cellule de Nageotte et d'un microscope droit (Leica DMLB équipé du contraste de phase et d'un micromètre oculaire). Le comptage au microscope droit avec ce type de cellule ne nécessite pas l'attente de la sédimentation des cellules contrairement à la méthode Utermöhl (Figure 30).

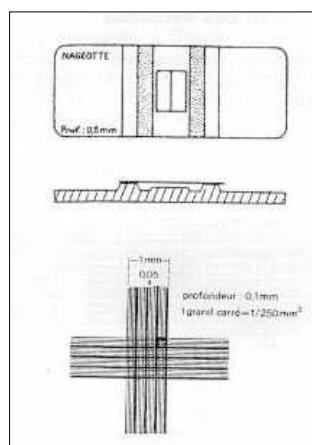


Figure 30 : **Représentation schématique de la cellule de Nageotte**

Le protocole suivant a été mis en œuvre :

1. Homogénéisation de l'échantillon,
2. Pipetage et dépôt d'une goutte de l'échantillon homogénéisé dans la cellule de Nageotte et sédimentation pendant environ 10 minutes,
3. Observation de l'ensemble de la cellule de Nageotte et dénombrement des cellules des diatomées en différenciant les cellules mortes sans chloroplaste des cellules vivantes abritant un ou des chloroplastes visibles (Figure 31).

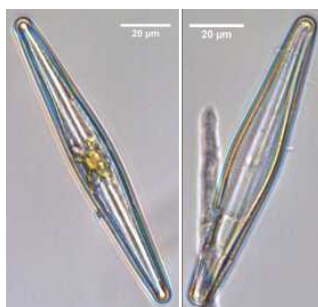


Figure 31 : **Cellule vivante à gauche avec chloroplaste visible et cellule morte à droite sans chloroplaste**

4. Calcul de la densité (la cellule de Nageotte est constituée de 40 bandes ou champs, chacune contenant $1,25 \text{ mm}^3$). Le nombre de bandes observées est noté pour le calcul final. Au minimum 3 bandes ont été analysées. Lorsque la densité cellulaire était élevée ou que la présence de débris gênait l'observation des diatomées, une dilution de l'échantillon a été réalisée.

La densité (D, cell./ml) est déterminée à l'aide de la formule :

$$D = n \times 1000 / (N \times 1,25)$$

Avec n = nombre de cellules contenu par bande.

N = nombre de bandes observées pour le comptage.

Le résultat obtenu est ensuite rapporté au volume total de l'échantillon et à la surface prélevée afin d'obtenir *in fine* une densité cellulaire par cm^2 de biofilm.

4.2.1.2. Les poissons et les crustacés

Les échantillonnages en eau douce des poissons et des crustacés ont eu lieu lors d'une seule saison, en mai 2016, sur les mêmes cours d'eau que ceux suivis pour les biofilms, et en estuaire lors d'échantillonnages menés en mai et novembre 2016.

Des prélèvements de tissus et organes ont été réalisés sur tous les organismes prélevés de manière à étudier la répartition interne des métaux (Co, Cr, Fe, Mn et Ni) pouvant témoigner de risques d'effets toxiques sur ces individus, et également dans le muscle de manière à évaluer le risque pour la consommation humaine par l'ingestion de poissons.

Parallèlement, une caractérisation des réseaux trophiques a été réalisée à l'aide d'isotopes stables du carbone et de l'azote, mesurés dans le muscle. Ces analyses constituent des outils puissants pour mettre en évidence l'origine, essentiellement terrestre ou aquatique, du carbone organique utilisé dans les réseaux trophiques ($\delta^{13}C$) et de définir le niveau trophique ($\delta^{15}N$) des organismes qui le compose.

4.2.1.2.1. Prélèvements des organismes animaux

Lors de la mission de mai 2016, 4 sites dulçaquicoles ont été échantillonnés par pêche électrique : Taléa gauche, Taléa aval, Taléa droite et Tivoli aval (Figure 32).



Figure 32 : **Récupération des poissons et crustacés par pêche électrique sur les cours d'eau de la Taléa-Coco.**

Les poissons et crustacés ont été récupérés vivants, anesthésiés *in situ* à l'aide d'essence de clou de girofle, mesurés, pesés puis disséqués sur place.

Sur ces 5 sites, 5 espèces de poissons au total ont été échantillonnées, la carpe *Khulia rupestris*, le lochon blanc *Awaous guamensis*, l'anguille marbrée *Anguilla marmorata*, le lochon noir *Sicyopterus lagocephalus* et le tilapia *Sarotherodon occidentalis*.

Concernant les crustacés, 3 espèces de crevettes d'eau douce ont été prélevées, *Macrobrachium amelum*, *Macrobrachium caledonicum* et *Macrobrachium lar*.

Un prélèvement supplémentaire de crabes de palétuviers *Scylla serata* a été réalisé à l'aval de l'estuaire de Talea-Coco. Les espèces pêchées avec le nombre respectif d'individus par site sont reportées dans le tableau ci-dessous (Tableau 8).

Tableau 8 : Nombre d'individus pêchés par espèce et par site de prélèvement

Espèce	Taléa gauche	Taléa droite	Taléa aval	Tivoli	Estuaire Taléa
<i>Anguilla marmorata</i> (anguille)	5	3	5	5	
<i>Awaous guamensis</i> (lochon blanc)		1	1	5	
<i>Sicyopterus lagocephalus</i> (lochon noir)	5			5	
<i>Khulia rupestris</i> (carpe)	5	5	1		
<i>Oreochromis mossambicus</i> (tilapia)			7		
<i>Macrobrachium amelum</i>	5	5	6	5	
<i>Macrobrachium caledonicum</i>		3	3		
<i>Macrobrachium lar</i>				5	
<i>Scylla serrata</i> (crabes de palétuvier)					5

Lors de la mission de novembre 2016, quelques espèces supplémentaires ont été pêchées dans l'estuaire de Taléa-Coco, du crocro *Leiognathus equulus* (5 individus) et du blanc blanc *Chanos chanos* (1 seul individu).

4.2.1.2.2. Traitement et analyse des échantillons

○ Mesures morphométriques

Pour chaque site de prélèvement, les individus ont été pesés entiers, puis des mesures morphométriques ont été réalisées.

Pour les poissons, la longueur totale a été prise, ainsi que la longueur standard et la longueur nageoire dorsale-anus pour les anguilles. Ces mesures nous permettent de calculer les indices d'embonpoint des différentes espèces de poissons en fonction des sites échantillonnés (Indice K de Fulton = Poids (g) / (Longueur totale (cm)³).

Pour les crustacés, les poids ont été mesurés au moment du prélèvement, puis les longueurs du céphalothorax avec rostre, sans rostre et la longueur totale. Pour les crabes de palétuviers, uniquement la largeur a été mesurée. De même que pour les poissons, les indices d'embonpoint sont calculés (rapport poids/longueur ou largeur).

○ Analyses de bioaccumulation métallique

Après collecte sur le terrain, les organismes prélevés ont été directement disséqués sur place de façon à récupérer le foie (ou hépatopancréas), les branchies et les muscles, ainsi que les reins lorsque cela a été possible sur les plus gros poissons. Ces prélèvements ont été congelés sur place pour les conserver jusqu'à analyse.

Les échantillons ont été séchés à l'étude pendant 48h à 55°C au laboratoire à EPOC-EA. Après pesée, ils ont été digérés après ajout d'acide nitrique et chauffage à 100°C pendant 3h. Après dilution à l'eau ultrapure, les échantillons ont été analysés par ICP-OES (Agilent Technologies 720) pour détermination des concentrations en Ni, Cr, Co, Mn et Fe.

Au cours de chaque série d'analyse, des blancs et des échantillons certifiés (Tort-2 et Dolt-4, hépato-pancréas de homard et foie de poisson, NRCC-CNRC, Ottawa, Canada) ont été analysés de manière à vérifier la validité de la méthode analytique utilisée.

4.2.2. RESULTATS

Les résultats issus des analyses des deux missions de mai et novembre 2016 sont présentés dans cette partie.

4.2.2.1. Analyse des biofilms

4.2.2.1.1. La composante globale des biofilms

○ Poids sec des biofilms et MSSC

Ces descripteurs globaux de la composante biofilm renseignent sur la quantité ou la proportion de matériel organique (témoin de la composante vivante du biofilm) et de matériel inorganique ou minéral (associée ou non aux organismes vivants du biofilm) constitutifs du biofilm.

Les résultats obtenus sont consignés dans l'annexe 2 à la fin du document, et les proportions respectives de la matière organique et minérale des biofilms recueillis sont représentées dans la figure 33, qui distingue les biofilms développés sur substrats artificiels (lames de verre) et sur galets prélevés *in situ* aux deux saisons échantillonnées.

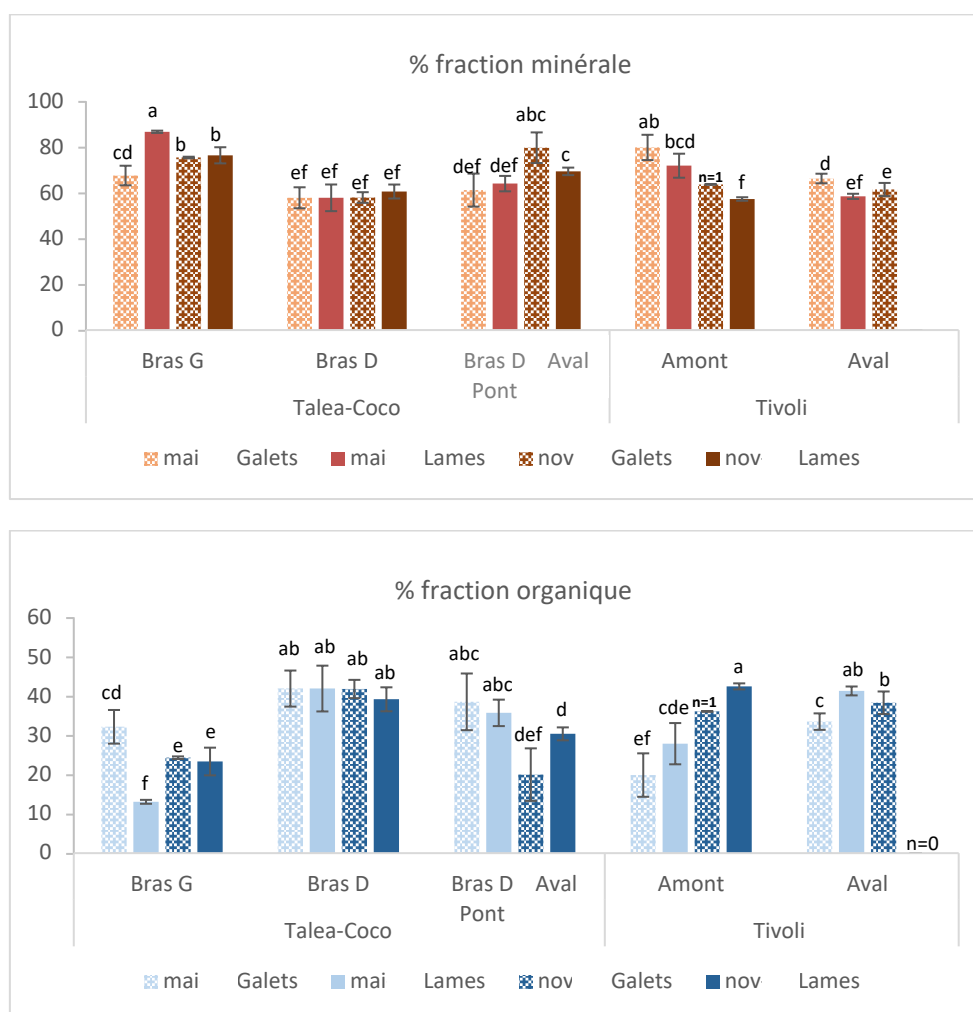


Figure 33 : Répartition en pourcentages des fractions organique et minérale des biofilms collectés sur substrats artificiels (lames de verre) et sur galets naturels dans les 5 sites

échantillonnés aux deux saisons (mai et novembre). (moyenne \pm écart-type, n=3). Les lettres différentes indiquent les différences significatives entre les sites ($\alpha = 0,05$).

Les premiers résultats montrent que les biomasses des biofilms se caractérisent par une proportion majoritaire de matière inorganique donc minérale avec une moyenne entre les deux supports de respectivement pour les deux saisons de 66,7% et 67,8% sur les galets et de 67,9% et 66,08% sur les lames de verre.

La comparaison des deux types de support ne met pas en évidence de différences majeures dans les proportions de matière organique et minérale dans les biofilms collectés, hormis sur deux sites : bras gauche de la Taléa et Aval de la Taléa en novembre. Sur le site Taléa-Coco bras gauche en mai, la fraction inorganique est plus importante sur lame que sur galet, probablement en raison d'un apport récent de matières en suspension au niveau de ce site soumis aux apports de la mine ; sur le site Taléa Aval en novembre, c'est l'inverse et évoque un apport de matières en suspension antérieur à l'installation des lames. Les deux types de support s'avèrent donc intéressants à suivre en parallèle puisque le support artificiel permet d'avoir une bonne représentation des phénomènes de colonisation et de développement des biofilms sur la majorité des sites, tout en maîtrisant la durée d'exposition dans le cours d'eau, ce qui n'est pas le cas des galets collectés en milieu naturel. *A contrario*, la comparaison des deux types de supports peut permettre d'interpréter un apport récent ou plus ancien de matières en suspension liées à l'activité minière.

La fraction organique représente environ un tiers de la biomasse des biofilms (entre 32 et 33,9%, sauf sur les deux sites mentionnés plus haut avec des % de matière minérale supérieure). Cette fraction correspond principalement à la composante vivante du biofilm avec ses communautés diversifiées (diatomées, bactéries, champignons et autres organismes unicellulaires) au sein desquelles une attention toute particulière est portée à la contribution de la composante microalgale et diatomique (voir section 4.2.2.1.2.) en tant que groupe majeur de ce premier maillon trophique de l'hydrosystème.

Par ailleurs si on rapporte la biomasse de biofilm développée sur les lames (qui standardisent les surfaces échantillonnées et les temps d'exposition pour toutes les lames) non pas à une simple proportion entre les masses minérale et organique, mais à la surface colonisée de lame, les pourcentages de biomasse organique (32% et 34% respectivement pour mai et novembre) et de masses minérales (68% et 66% respectivement en moyenne pour mai et novembre) montrent bien Figure 34 une prépondérance de matière minérale sur les deux saisons comme dans la Figure 33 précédente. Cependant en exprimant les quantités de matière minérale et organique par unité de surface, il apparaît clairement que la quantité de matière recouvrant les lames en mai est bien plus importante sur Taléa-Coco bras gauche et dans une moindre mesure sur Tivoli aval, alors qu'en novembre, les quantités sont élevées sur tous les sites Taléa-Coco et sur Tivoli amont (pas de données valides sur Tivoli aval en novembre). Un accroissement entre les deux saisons de quantité de matière exprimé par unité de surface révèle la constitution d'un biofilm plus en épaisseur. Le bras Gauche de Taléa-Coco sous influence de l'exploitation minière se distingue donc des autres sites de son hydrosystème en mai avec une épaisseur accrue du biofilm mais pas en novembre. Les échantillons de biofilms du mois de novembre présentent quant à eux des biofilms plus uniformes en termes d'épaisseur pour l'ensemble des sites en lien probablement avec des apports sédimentaires plus importants depuis l'amont dus aux pluies de cette saison.

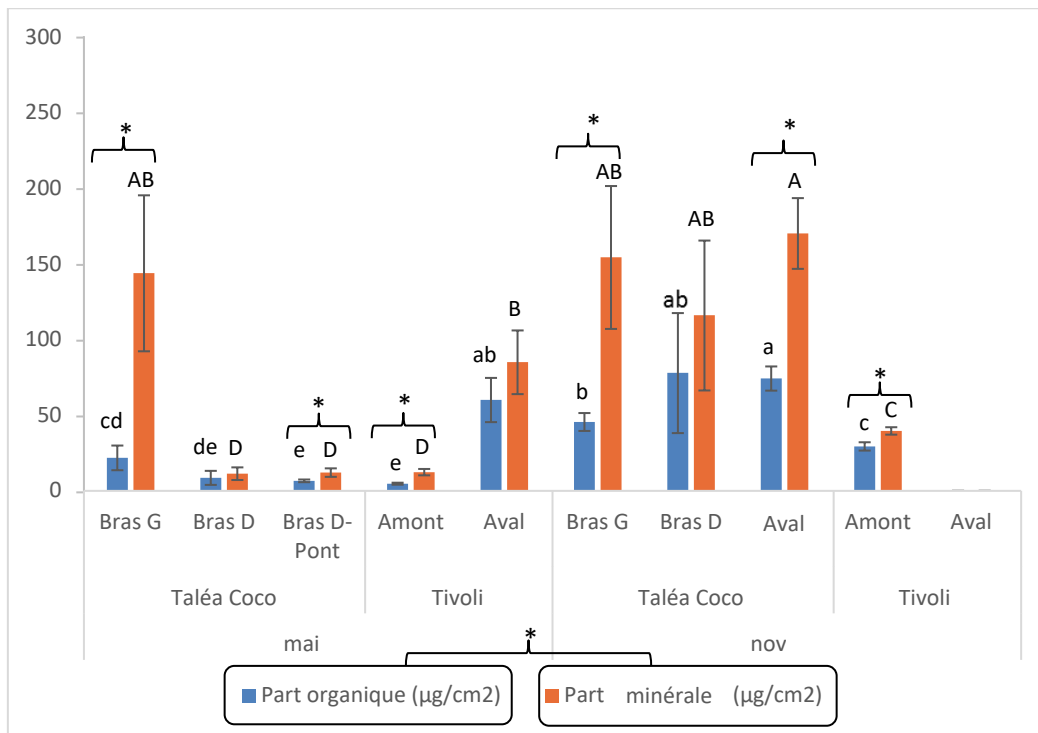


Figure 34 : Quantités de MSSC (part organique) et de part minérale des biofilms collectés en µg par cm² de lames de verre dans les 5 sites échantillonnés aux deux saisons (mai et novembre) (moyenne ± écart-type, n=3). Les lettres différentes indiquent les différences significatives entre les sites ($\alpha = 0,05$).

● Bioaccumulation métallique des biofilms

Les échantillons de biofilms des deux missions de mai et novembre 2016 collectés sur galets et développés sur lames de verre après 3 semaines de colonisation ont pu être analysés par Spectrométrie d'Emission Optique à Plasma ICP OES (Agilent Technologies 720) de retour au laboratoire EPOC-EA. La bioaccumulation métallique totale des biofilms a été quantifiée pour cinq métaux : Fe, Ni, Mn, Cr et Co. La bioaccumulation intracellulaire des biofilms n'a pas pu être analysée comme prévue initialement en suivant le développement méthodologique validé précédemment pour d'autres métaux (Cd, Zn, Au), car les échantillons ont dû être ramenés filtrés au laboratoire, et non en suspension. Une analyse intracellulaire des métaux est cependant décrite dans la partie expérimentale (4.3.3.2.1.).

Les résultats disponibles de bioaccumulation *in situ* indiquent annexe 3 que les biofilms constituent un compartiment extrêmement accumulateur de métaux pour les deux supports de colonisation avec une bioaccumulation paraissant globalement un peu plus élevée sur les lames de verre que sur les galets avec par exemple des différences significatives en mai sur le site Taléa-Coco bras Gauche (Fe, Ni), même si quelquefois des valeurs de bioaccumulation significativement plus fortes sont notées sur galets (exemple du Mn sur le Bras Droit de la Taléa-Coco en mai). La distribution de la bioaccumulation des 5 éléments majeurs sur les 5 sites échantillonnés est illustrée sur la figure 35.

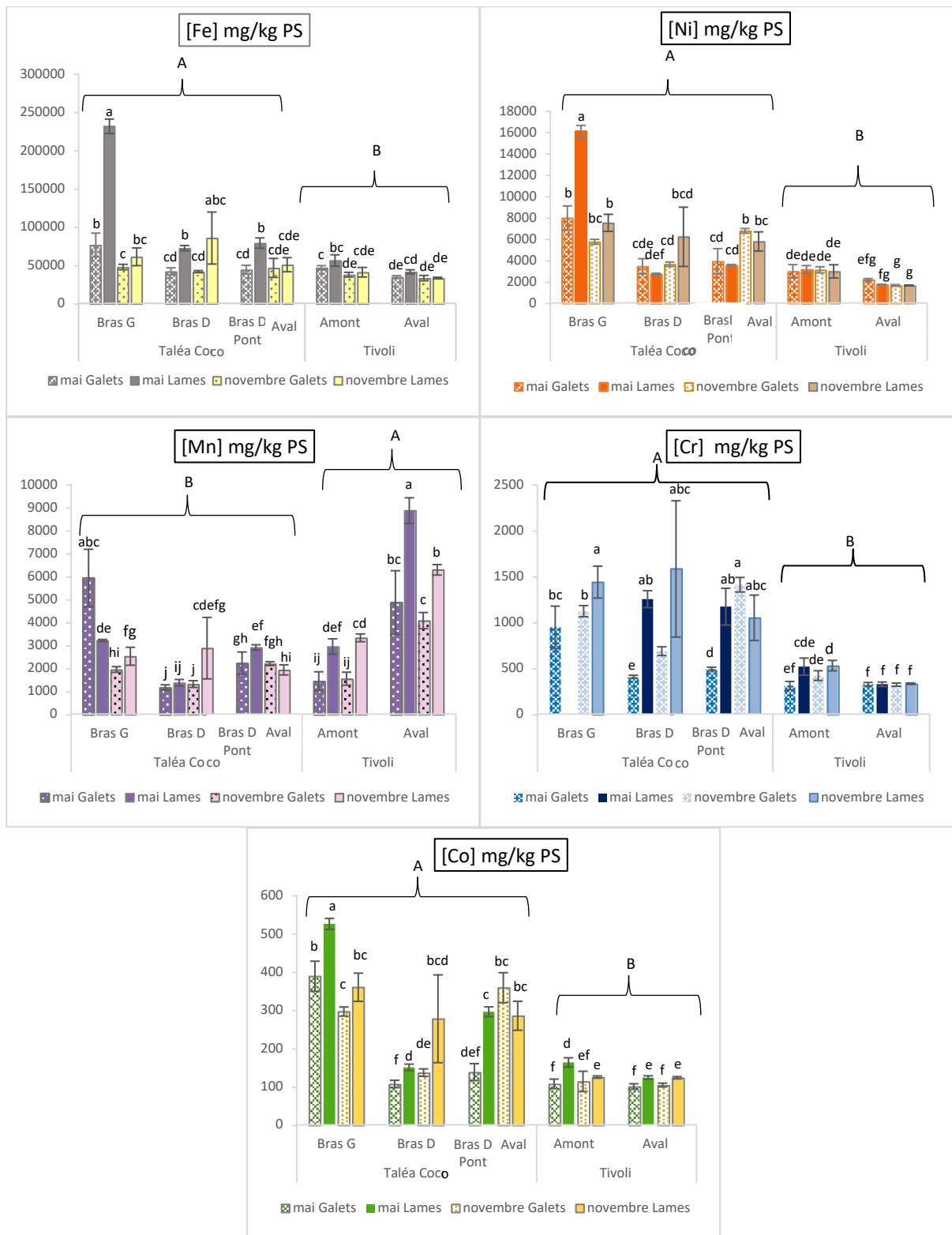


Figure 35 : Concentrations en métaux des biofilms collectés aux deux saisons (mai et novembre) sur substrats artificiels (lames de verre) et sur galets naturels dans les 5 sites échantillonnés

(moyenne ± SEM, n = 3). Les lettres différentes indiquent des différences significatives entre les sites ($\alpha = 0,05$).

Sur les galets, les concentrations métalliques pour les 5 éléments majeurs atteignent globalement les valeurs maximales sur la station Taléa-Coco Gauche (site sous l'influence directe de l'activité minière) en mai avec par ordre décroissant : Fe : 75 331 mg PS/kg > Ni : 8385 mg PS/kg > Mn : 6323 mg PS/kg > Cr : 919 mg PS/kg > Co : 405 mg PS/kg.

Sur les lames de verre, ces concentrations maximales sont également atteintes sur la station Taléa-Coco bras Gauche (sauf pour le Mn : valeur maximale de concentration sur la station Tivoli Aval, et le Cr : donnée manquante sur Taléa Coco Bras gauche) pour ces 5 mêmes éléments toujours en mai avec : Fe : 231 926 mg PS/kg > Ni : 16 106 mg PS/kg > Mn : 8885 mg PS/kg > Cr : 1200 mg PS/kg > Co : 526 mg PS/kg.

L'analyse de la figure 35 montre effectivement que les concentrations mesurées sur les lames de verre de la station Taléa-Coco Gauche sont plus élevées que celles mesurées sur les galets pour le Ni, le Cr, le Co et le Fe tout particulièrement en mai, et de manière plus marquée que pour les autres sites. Cependant cette prépondérance (pas toujours significative sur tous les sites et aux deux saisons) est très nettement atténuée en novembre voire inexistante (seules différences significatives pour le Mn aux Bras Gauche et Droit de Taléa-Coco et à Tivoli) ; et pour le Cr Bras Gauche).

Les lames de verre étant disposées dans des cages percées pour les protéger, elles ne subissent pas les mêmes contraintes de courant que les galets, et on peut penser qu'elles piègent plus de matériel terrigène apporté de l'amont du cours d'eau vers et dans les cages, contrairement aux galets soumis à l'abrasion dû au roulage, ce qui expliquerait cette différence d'accumulation entre les deux supports.

Par ailleurs, rappelons que les biofilms collectés sur les lames de verre de la station Taléa gauche ont des masses rapportées à la surface (Figure 34) beaucoup plus importantes que dans les autres sites au mois de mai, qui ont été mis en lien précédemment avec des apports venant de l'amont du fait de l'activité d'extraction minière. La fraction inorganique prépondérante de ces biofilms est essentiellement composée de latérites en suspension (très vraisemblablement de la goethite) qui est riche en ETM. Cette différence de composition pourrait expliquer cette différence de concentrations observée entre les biofilms de cette station (coloration rouge marquée des lames par rapport à celles des autres sites) pour les échantillons du mois de mai collectés après des épisodes de pluies. Cette observation ne se vérifie pas en novembre avec des lames chargées uniformément présentant un aspect macroscopique assez similaire pour tous les sites.

Sur la Taléa-Coco, peu de différences sont notées entre les stations bras droit et droit-Pont ou Aval, et leurs concentrations sont toujours inférieures à celles de Taléa-Coco gauche (sauf pour le Cr avec des concentrations identiques sur tous les sites de Taléa-Coco), ce qui confirme l'influence directe de la zone d'exploitation minière en amont du Bras gauche sur l'accumulation en métaux des biofilms. Cette influence peut cependant être variable, puisque selon la saison elle peut être moins marquée, comme le montrent les résultats de novembre indiquant des concentrations métalliques globalement moindres à Taléa-Coco Bras Gauche par rapport aux résultats de mai.

Le cours d'eau Tivoli, considéré comme une référence avec son bassin versant ultramafique mais non soumis à une activité minière sur son parcours, affiche pour les deux saisons des concentrations métalliques en Fe, Ni, Cr et Co toujours plus faibles que celles de Taléa-Coco gauche située en aval de l'exploitation minière. Seules les concentrations de Fe et de Ni sur Tivoli sont assez similaires à celles des sites Bras droit, Bras D-Pont, et Taléa-Coco Aval ; celles de Cr et le Co sont présentes sur Tivoli en très faibles concentrations par rapport à tous les autres sites aux deux saisons. Cependant il est à noter que les concentrations de Mn, que ce soit sur lames de verre ou sur galets, sont les plus élevées sur Tivoli par rapport à la Taléa -Coco.

La figure 36 récapitule la proportion de chacun des éléments majeurs Ni, Cr, Mn, Co (calculée à partir des masses des 5 métaux analysés) sur chaque station échantillonnée aux deux saisons, le fer étant exclu, du fait de sa forte prépondérance.

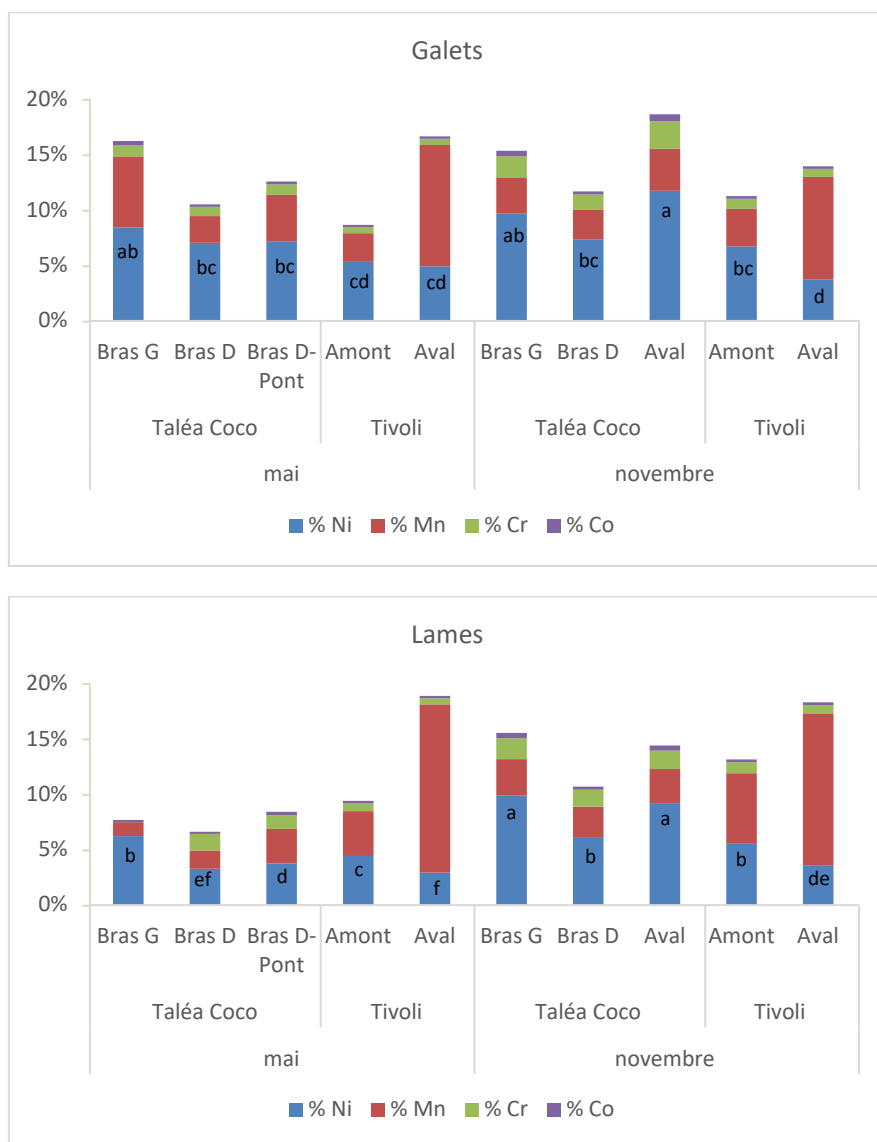


Figure 36 : Pourcentage des éléments majeurs métalliques Ni, Mn, Cr, Co (Fe exclus) dans les biofilms collectés aux deux saisons (mai et novembre) sur galets naturels et sur substrats artificiels (lames de verre) dans les 5 sites échantillonnés (moyenne \pm SEM, n = 3)

Les lettres différentes indiquent des différences significatives entre les sites ($\alpha = 0,05$).

Abstraction faite de la prépondérance du fer dans les biofilms (environ 80%), ce sont, par ordre décroissant : Mn, Ni, Cr et le Co qui sont bioaccumulés sur les deux types de supports, galets et lames de verre, dans le biofilm, la proportion de Ni étant toujours majoritaire sur la station Taléa-Coco Bras gauche en mai sur les deux types de supports contrairement à novembre.

Les valeurs de bioaccumulation des différents métaux reportées dans cette section sont indicatives des conditions de contamination auxquelles les biofilms ont été soumis en fin de saison humide-début de saison sèche (mission de mai 2016) et en fin de saison sèche-début de saison humide (mission de novembre 2016).

Si la figure 35 révèle des concentrations métalliques moins marquées en novembre pour le Fe, le Ni et le Mn par rapport à mai, il apparaît plus clairement sur la figure 36 que le Ni est en proportion plus importante dans les biofilms en novembre sur tous les sites de Taléa-Coco de manière uniforme. Cette différence entre les deux saisons met ainsi en évidence le rôle de l'hydrologie du cours d'eau qui contribue à déplacer plus ou moins en aval les flux de métaux selon les saisons et les événements hydrologiques.

4.2.2.1.2. La composante micro-algale des biofilms

Le périphyton est composé de divers micro et méso-organismes procaryotes et eucaryotes, autotrophes et hétérotrophes, enchevêtrés dans une matrice d'exo-polymères (Wetzel 2001). Il contient de façon transitoire des macro-organismes (oligochètes, larves d'insectes aquatiques). La part d'organismes autotrophes, constituée essentiellement de diatomées, d'algues vertes et de cyanobactéries, peut être appréciée par la mesure du principal pigment photosynthétique, la chlorophylle a et ses produits de dégradation, les phaeopigments.

La Chlorophylle a et les phaeopigments des biofilms collectés sur les lames de verre ont été analysés par fluorimétrie (après extraction au méthanol puis acidification de l'échantillon) au laboratoire des moyens analytiques du centre IRD de Nouméa. Les résultats bruts et rapportés au volume filtré et à la surface échantillonnée sont présentés en annexe 4. Les résultats pour la chlorophylle a sont exprimés en μg par cm^2 de surface sur la Figure 37 ci-dessous.

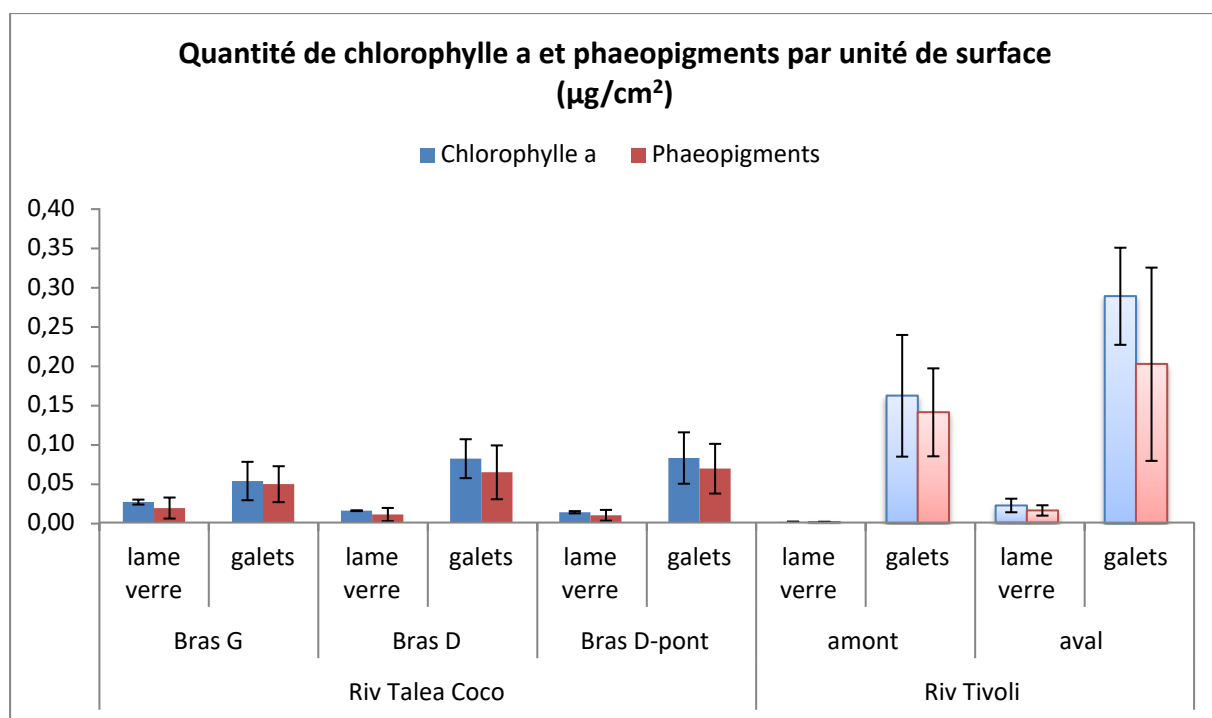


Figure 37 : **Chlorophylle a en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de biofilm prélevé sur lames de verre et galets (moyenne \pm SEM, n = 3)**

On observe des variations plus ou moins importantes d'un réplicat à l'autre surtout sur les prélèvements effectués sur galets. Une homogénéisation insuffisante des échantillons avant leur séparation en différents aliquotes ou des phénomènes d'agrégations de la chlorophylle a au cours du processus analytique pourraient expliquer ces variations.

Les valeurs moyennes de chlorophylle a mesurées sur substrats naturels (galets) restent plus faibles sur la Rivière Taléa-Coco, quelle que soit la station, que sur la rivière Tivoli.

La rivière Taléa-Coco offrirait donc de moins bonnes conditions pour le développement des organismes photosynthétiques. Les conditions d'ensoleillement étant favorables, il est possible que l'abondance des matières en suspension soit en cause. Les eaux de la rivière Taléa-Coco sont certainement très oligotrophes, ce qui peut également freiner le développement d'organismes photosynthétiques. Au contraire, un discret enrichissement minéral et organique, probable sur la station Tivoli aval, pourrait favoriser le développement des diatomées et/ou des algues vertes.

Les valeurs mesurées sur les échantillons prélevés sur lame de verre sont significativement ($p < 1\%$) plus faibles que celles mesurées sur les échantillons prélevés sur galets. Cela signifie que la proportion d'organismes chlorophylliens dans le biofilm des lames de verre est moins importante que dans celui des galets pour une même unité de surface. Ceci peut être dû à l'immaturité du biofilm présent sur les lames de verre. En effet, dès lors qu'un substrat dur est immergé, des macromolécules organiques provenant de matériaux vivants s'y adsorbent, attirées par des phénomènes électriques et probablement également par chimiotactisme. Après ce stade de conditionnement, des algues viennent se fixer. Il s'agit d'abord d'espèces pionnières capables de se fixer par toute la surface de leur valve (Stevenson et al. 1991). Viennent ensuite les espèces capables d'autres stratégies d'adhésion (filaments de mucilage synthétisés par le pôle apical). Les espèces planctoniques sont d'abord majoritaires, peu à peu remplacées par les espèces réellement benthiques (Acs et al. 2007). Le développement du biofilm suit une courbe d'allure sigmoïde : son développement est rapide jusqu'à un stade de stabilisation au cours duquel les facteurs de croissance (disponibilité en nutriments, oxygène...) s'équilibrent avec les forces d'érosion (Melo and Bott, 1997 ; Lyautey, 2005) (Figure 38).

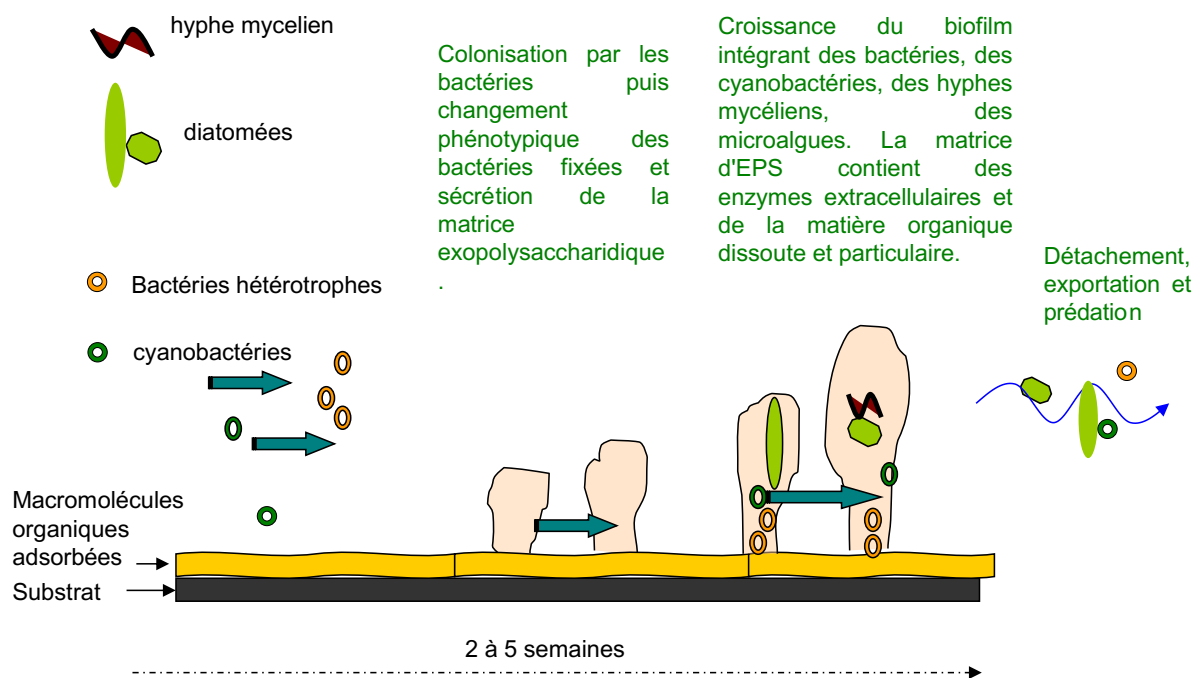


Figure 38 : Les étapes de la formation du biofilm (in Lefrançois, 2008, d'après Wimpenny et Colasanti 1997)

De plus, l'analyse de la proportion de matière inorganique et de la concentration métallique du biofilm a montré que les lames de verre piègent plus ou moins de matériel terrigène apporté de l'amont du cours d'eau que les galets exposés au courant selon les épisodes climatiques et donc les événements hydrologiques. Le biofilm présent sur les lames de verre présente donc une fraction organique non chlorophyllienne (bactéries, champignons, matrice exopolysaccharidique) plus importante que celle présente sur les galets du fait des conditions environnementales différentes ou du temps de colonisation.

La station amont de la rivière Tivoli apparaît très peu favorable au développement d'un biofilm photosynthétique sur lame de verre par rapport au site aval de la rivière Tivoli. Les eaux oligotrophes du cours d'eau en amont et surtout l'ombrage de cette station amont (Figure 39) peuvent expliquer ce résultat.



Figure 39 : Station Tivoli a : amont ; b : aval

Les phaeopigments étant des produits de dégradation de la chlorophylle, il est logique d'observer les mêmes tendances (Figure 37). Les valeurs mesurées sont globalement plus faibles sur lames de verre que sur galets, bien que ces résultats ne soient statistiquement valides qu'à un seuil inférieur à 10%.

4.2.2.1.3. Les communautés diatomiques des biofilms

○ Détermination de la densité cellulaire totale et des pourcentages de cellules vivantes et mortes diatomiques

Les résultats bruts sont consignés en annexe 5. La densité cellulaire des diatomées témoigne du nombre de cellules ayant colonisé la lame de verre, elle est exprimée en nombre de cellules par cm² (Figure 40).

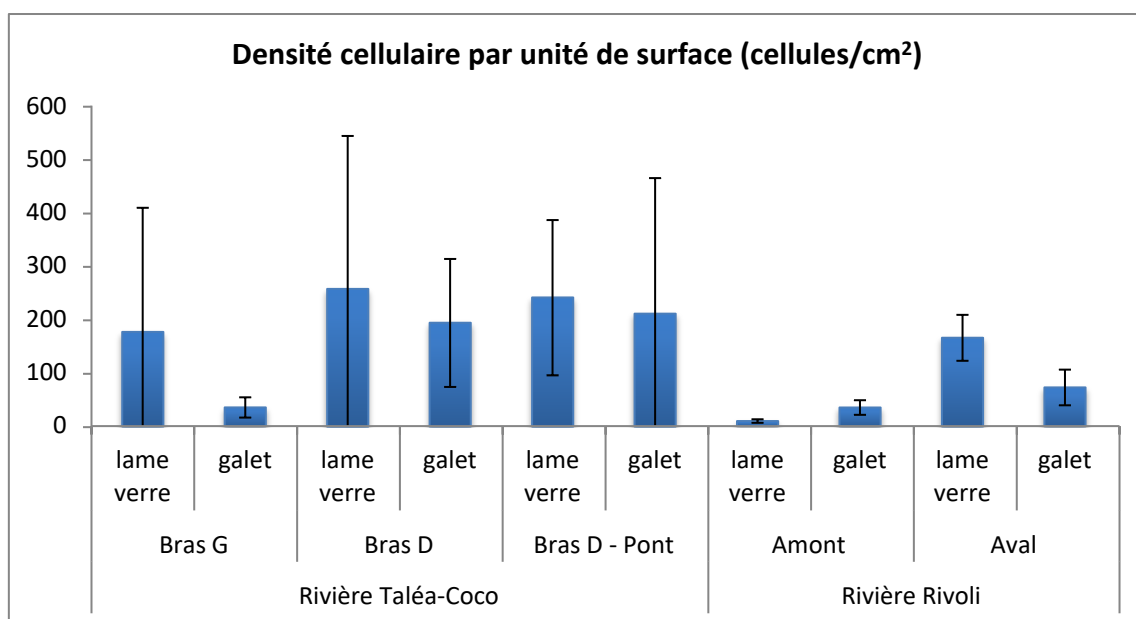


Figure 40 : Densité cellulaire de la communauté de diatomées benthiques (moyenne \pm SEM, n = 3).

Les résultats obtenus montrent une grande variabilité des valeurs entre réplicats pour la moitié des résultats de densité cellulaire. Celle-ci est vraisemblablement le reflet de la grande incertitude de la mesure de la densité cellulaire. En effet, certains échantillons se sont révélés difficile à compter du fait de la présence de débris cellulaires ou de matière organique et minérale. La dilution de certains d'entre eux a permis d'améliorer les conditions de l'analyse. Les résultats les moins dispersés et aussi les densités les plus faibles ont été obtenus sur la Rivière Tivoli et sur la Rivière Taléa-Coco Bras G (galet).

Les valeurs mesurées sur la Rivière Tivoli sont significativement plus faibles ($p < 1\%$) que celles mesurées sur la Rivière Taléa-Coco. De plus, la densité cellulaire est significativement ($p < 1\%$) un peu plus élevée à l'aval de la Rivière Tivoli qu'à l'amont, ce qui est cohérent avec les valeurs de chlorophylle *a* mesurées.

Les pourcentages de cellules vivantes et mortes sont illustrés par la figure 41.

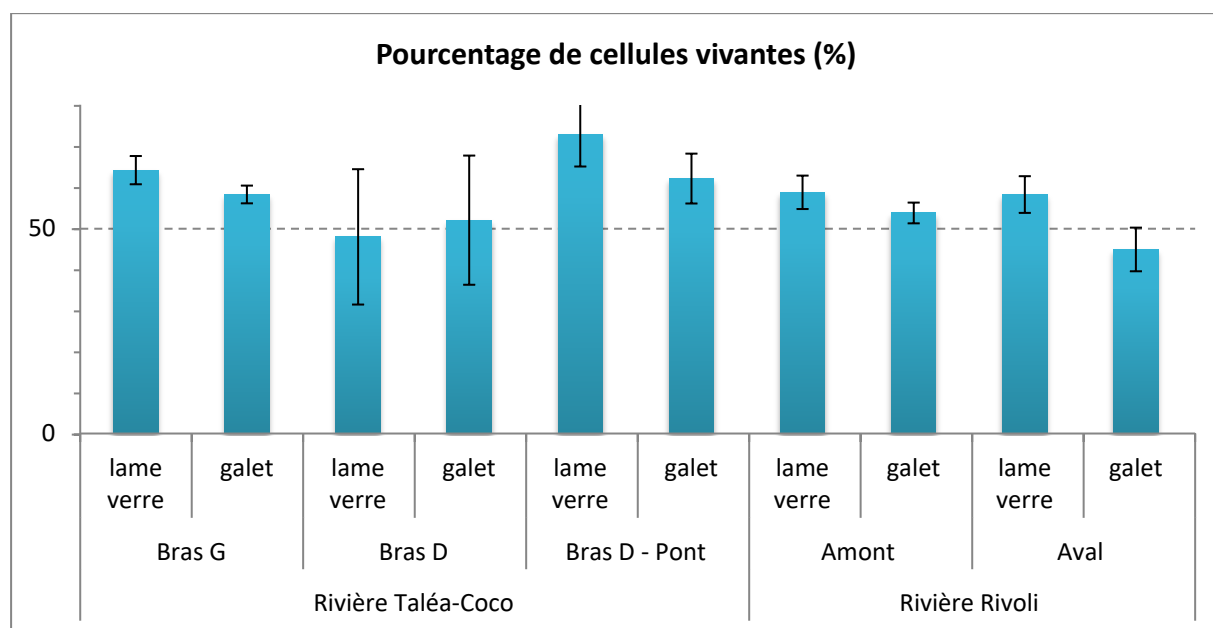


Figure 41 : **Pourcentages de cellule vivantes et mortes de la communauté de diatomées benthiques (moyenne \pm SEM, n = 3)**

Les résultats montrent peu de variabilité sauf pour les résultats du site Bras-D de Taléa-Coco. La principale incertitude tient au fait qu'il est difficile de distinguer un frustule entier (2 valves) d'une valve isolée sur du matériel frais, au grossissement x40. Le volume analysé est également très faible par rapport au volume global prélevé, ce qui majore d'autant les erreurs.

On observe néanmoins que :

- La proportion de cellules vivantes varie entre 55 et 68% sur le Bras G de la Rivière Taléa-Coco (tout substrat confondu) ;
- Qu'elle est très comparable sur la Rivière Tivoli amont (tout substrat confondu) et aval (lame de verre) : 53 à 64% ;
- Qu'elle est en moyenne plus faible sur le Bras D de la Rivière Taléa-Coco bien que les valeurs mesurées soient aussi plus variables (35 à 66% tout substrat confondu) ;
- Qu'elle semble un peu plus élevée sur la station Bras D-Pont de la Rivière Taléa-Coco (tout substrat confondu) : 58 à 80% ;
- Au contraire, qu'elle semble un peu plus faible sur les galets de la Rivière Tivoli aval 39 à 49%.

Les proportions de cellules vivantes ne révèlent pas de différences statistiquement significatives entre les stations, ni entre les substrats, ni entre ces 2 conditions associées. La proportion de diatomées vivantes légèrement plus faible sur la Rivière Tivoli aval (galet) peut être due à la présence de valves ou cellules mortes provenant du biofilm ou dérivant de l'amont du cours d'eau, trappées dans l'épaisseur du biofilm.

● La structure du peuplement diatomique

Tous les échantillons issus de la mission de mai 2016 ont été traités au laboratoire et ont donné lieu à la préparation de lames permanentes permettant l'analyse du peuplement de diatomées : l'identification des taxons au niveau spécifique dans la majorité des cas et la détermination de leur abondance relative (calculée pour 500 individus comptés et exprimée pour 1000).

Les inventaires, fournis en annexe 5, permettent de calculer la richesse spécifique, la diversité du peuplement diatomique (appréciée par l'indice de Shannon Weaver) (Figure 42) et l'équitabilité (Figures 43). Les valeurs minimum, maximum et les moyennes observées sont consignées dans le tableau 9 ci-dessous.

Tableau 9 : Richesse spécifique, diversité et équitabilité du peuplement diatomique

	Effectif	Richesse spécifique	Diversité spécifique (indice de Shannon –Weaver)	Équitabilité
minimum	500	11	2,14	0,49
maximum	526	45	4,51	0,86
moyenne	511	23	3,09	0,70

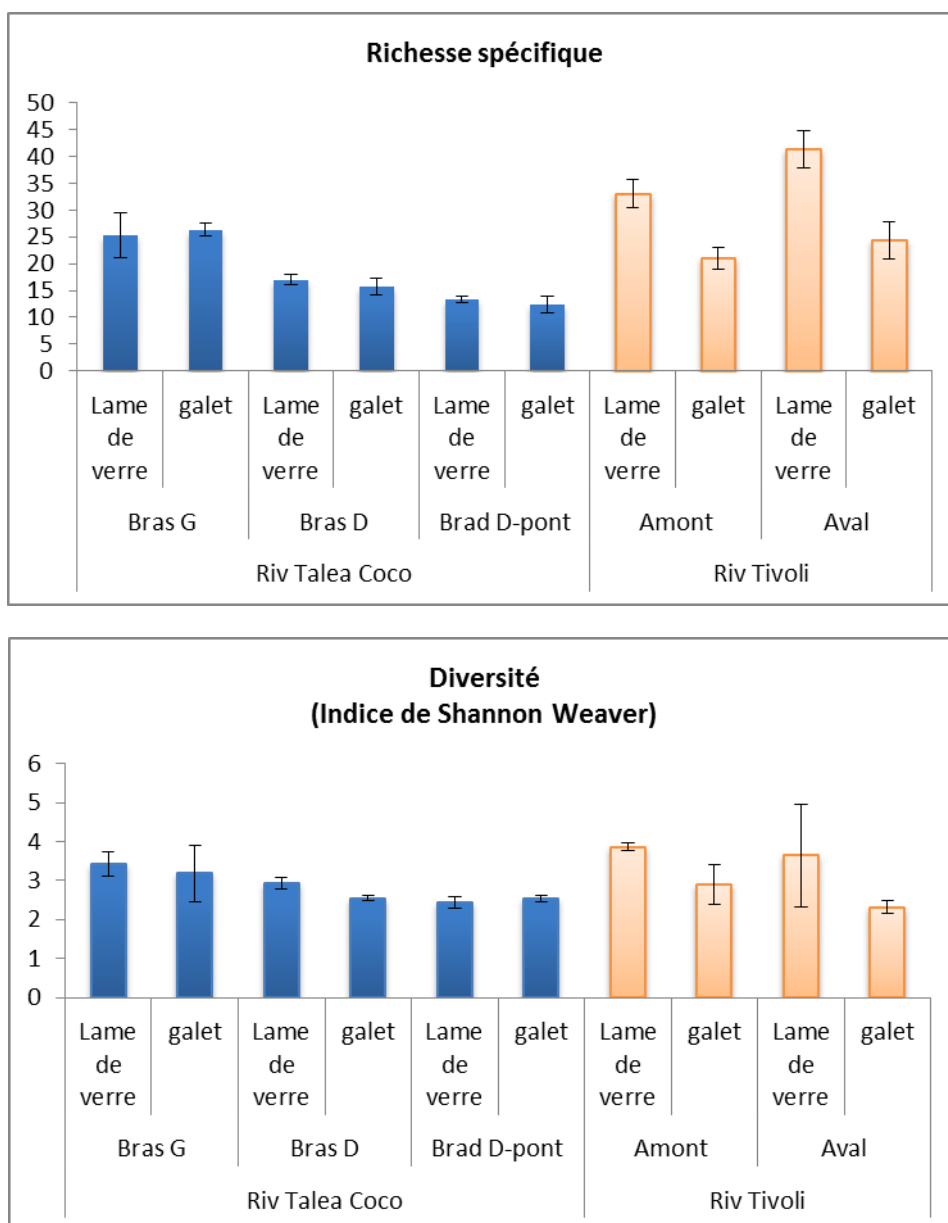


Figure 42 : **Richesse spécifique et diversité du peuplement diatomique des échantillons prélevés sur lames de verre et galets (moyenne ± SEM, n = 3)**

La richesse spécifique moyenne est égale à 23 et varie de 11 à 45 espèces inventoriées par échantillon. Ces valeurs sont relativement faibles mais cohérentes avec les valeurs couramment observées en Nouvelle-Calédonie.

Les valeurs les plus importantes de richesse spécifique et diversité sont observées sur les échantillons prélevés sur lames de verre de la Rivière Tivoli, tandis que les valeurs plus faibles sont globalement observées sur les échantillons prélevés plutôt sur galet du Bras droit et du Bras Droit-Pont de la Rivière Taléa-Coco (Figure 42). Ces résultats confirment que les conditions environnementales (disponibilité en nutriments, présence de toxiques, hydrodynamisme, éclaircissement...) sont plus favorables au développement d'un peuplement riche sur la Rivière Tivoli.

Les valeurs observées présentent globalement une assez faible variabilité sur les deux rivières pour les deux substrats considérés. En revanche, sur la rivière Tivoli, et plus particulièrement sur la station aval, les peuplements inventoriés semblent plus riches et

diversifiés sur lames de verre que sur galets bien que ces résultats ne soient pas significativement validés. Ils suggèrent néanmoins que les peuplements qui ont colonisé les lames de verre ne sont pas mûres au moment du prélèvement, la richesse spécifique et la diversité étant liées à l'abondance d'espèces pionnières. Au cours de l'évolution normale d'un biofilm, les espèces pionnières sont progressivement remplacées par des espèces adaptées aux conditions environnementales locales, ce qui induit souvent une diminution de la richesse et de la diversité spécifiques d'autant plus que les conditions environnementales sont exigeantes.

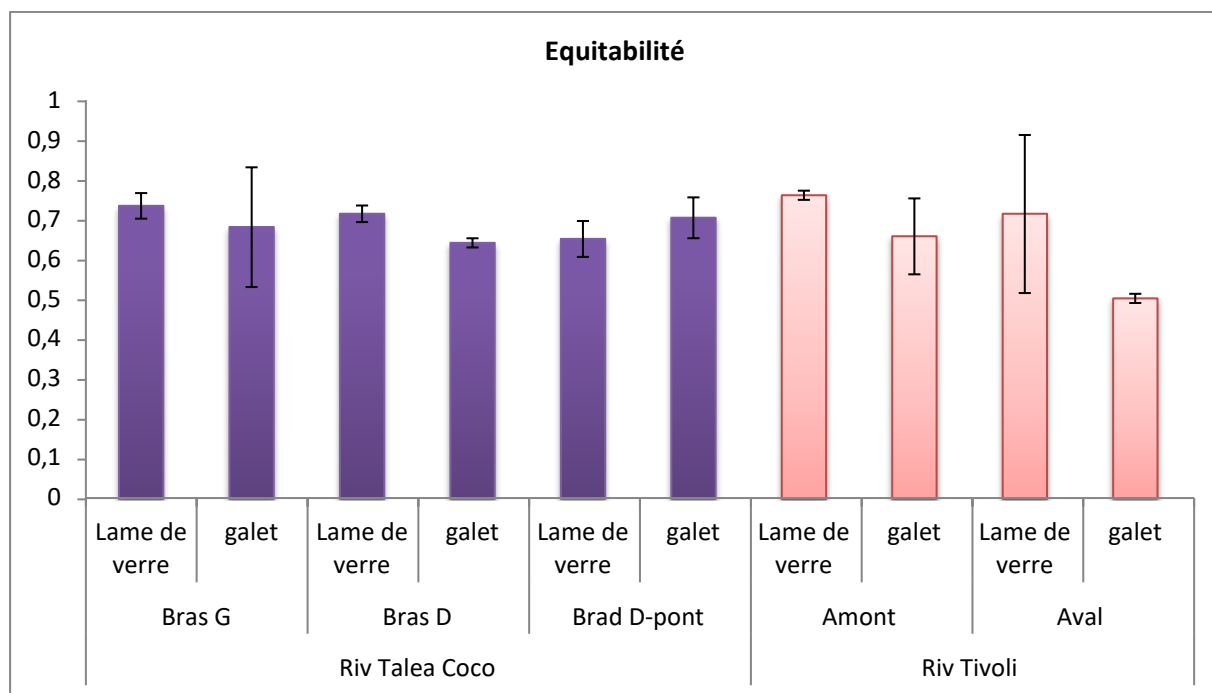


Figure 43 : **Equitabilité du peuplement diatomique des échantillons prélevés sur lames de verre et galets** (1, 2 et 3 représentent les répliquats)

L'équitabilité (Figure 43) renseigne également sur la diversité du peuplement en s'affranchissant du nombre de taxons présents. Elle montre les mêmes tendances que l'indice de Shannon-Weaver. L'équitabilité se révèle significativement influencée par la nature du substrat ($p < 1\%$). Les communautés présentes sur lame de verre ne présentent donc pas la même diversité que celles présentes sur les galets. A l'exception de la station Bras D-pont, l'équitabilité est toujours plus élevée sur lame de verre. Ce résultat montre que les communautés de diatomées sur les lames de verre sont plus équilibrées et n'hébergent pas d'espèces nettement dominantes, ce qui peut caractériser des peuplements immatures.

● L'évaluation de la qualité écologique des stations par l'Indice Diatomique Nouvelle-Calédonie (IDNC)

L'IDNC (Marquié et al. 2018) a été calculé à partir des inventaires diatomiques. Tous les échantillons prélevés sur la Taléa-Coco sont de Très Bon état écologique selon l'IDNC.

Tous les échantillons prélevés sur la Tivoli sont de Très Bon état Ecologique selon l'IDNC, à l'exception d'un des répliquats de la Tivoli Aval (lames de verre) qui est en Bon Etat écologique. Ce résultat est lié à l'abondance supérieure de 2 taxons d'alerte, qui sont présents sur l'ensemble des répliquats de la station. Ce résultat n'a donc rien d'aberrant, il est seulement le fruit des aléas de la fabrication des lames permanentes et de la lecture des lames.

L'IDNC ne révèle aucune altération minière que ce soit sur la rivière Taléa-Coco ou sur la rivière Tivoli. En revanche, quelques réplicats ne sont que de Bon Etat écologique (ou Etat moyen pour l'un d'entre eux) pour la métrique pollution organique sans que cela n'altère la note globale d'IDNC :

- 1 réplikat de la Taléa-Coco Bras G (lames de verre)
- Les 3 réplicats de la Taléa-Coco Bras D-Pont (lames de verre)
- 2 des 3 réplicats de la Taléa-Coco Bras D-Pont (galets)
- 2 des 3 réplicats de la Tivoli Amont (galets), le 3ème étant en Etat Moyen
- 2 des 3 réplicats de la Tivoli Aval (lames de verre)

Le fait que l'IDNC ne révèle pas d'impact minier ne signifie pas qu'il n'y en a pas. En effet, les métriques d'altération minière sont très variables y compris en contexte naturel. Cela fait que la sensibilité de détection de l'impact anthropique minier est moins performante que celle de détection des altérations trophiques (il y a du recouvrement entre la zone de variabilité d'origine naturelle en zone ultramafique et la zone d'altération anthropique faible à modérée, ce recouvrement empêchant d'interpréter les niveaux de réponse de la métrique comme un impact anthropique tant qu'elles n'atteignent pas des réponses moyennes à fortes).

● **Caractérisation des stations étudiées par les peuplements diatomiques**

Une Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) a été réalisée à partir des inventaires diatomiques afin de mettre en évidence les interrelations entre les différents échantillons. Cette analyse a été mise en œuvre au moyen du logiciel R (R Development Core Team 2005).

L'analyse des 30 échantillons a permis d'inventorier au total 130 taxons.

Le calcul des valeurs propres montre que les 5 premiers axes sont porteurs d'information (Figure 44). Les plans 1 et 2, d'une part et 1 et 3 d'autre part, porteront respectivement 47,5% et 43% de l'information contenue dans le jeu de données global.

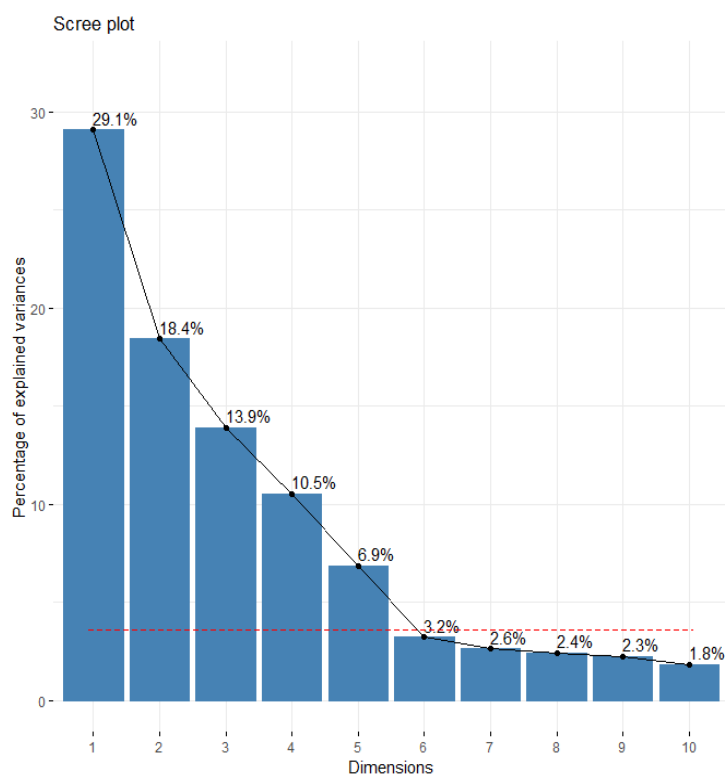


Figure 44 : Éboulis des valeurs propres de l'Analyse Factorielle des Correspondances. (AFC) réalisée à partir des inventaires diatomiques

La Figure 45 représente les échantillons projetés sur le plan de l'AFC selon les axes 1 et 2.

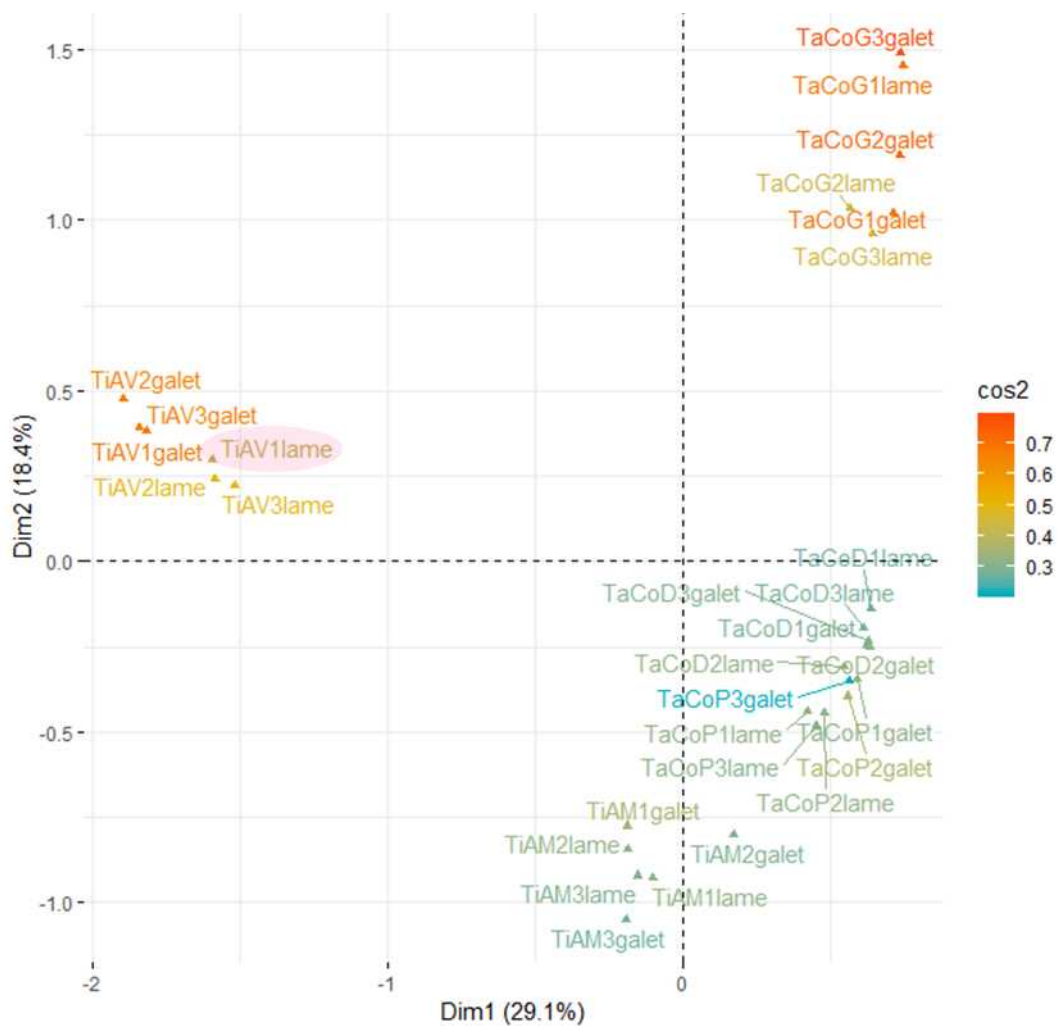


Figure 45 : Représentation graphique des résultats de l'AFC selon les axes 1 et 2 ; le dégradé de couleur (du rouge au bleu) indique la dégradation de la qualité de la représentation graphique.

Pour les besoins de cette analyse, les noms des stations ont été encodés comme suit :

	Réplicats prélevés sur galet	Réplicats prélevés sur lame de verre
Rivière Taléa-Coco – Bras G	TaCoG1galet TaCoG2galet TaCoG3galet	TaCoG1lame TaCoG2lame TaCoG3lame
Rivière Taléa-Coco – Bras D	TaCoD1galet TaCoD2galet TaCoD3galet	TaCoD1lame TaCoD2lame TaCoD3lame
Rivière Taléa-Coco – Bras D-Pont	TaCoP1galet TaCoP2galet TaCoP3galet	TaCoP1lame TaCoP2lame TaCoP3lame
Rivière Tivoli Amont	TiAM1galet TiAM2galet TiAM3galet	TiAM1lame TiAM2lame TiAM3lame
Rivière Tivoli Aval	TiAV1galet TiAV2galet TiAV3galet	TiAV1lame TiAV2lame TiAV3lame

On note une nette affinité des échantillons issus des mêmes stations qu'ils aient été prélevés sur lames ou galets.

Les échantillons issus de la Taléa-Coco Bras G se distinguent nettement des échantillons prélevés dans les stations Tivoli aval et amont et également des échantillons collectés sur Taléa-Coco Bras Droit et Bras Droit-Pont, qui présentent une grande similarité entre eux. Ceci est le reflet des différences de communautés diatomiques entre la Taléa-Coco Bras Gauche et la Tivoli Aval. Alors que la Taléa-Coco héberge une communauté typique des substrats ultramafiques, la station Tivoli aval, située sur une zone volcano-sédimentaire est caractérisée par une flore plus ubiquiste quant au fond géochimique.

Le réplikat en Bon Etat écologique selon l'IDNC (surligné en rose) ne se distingue pas particulièrement des autres réplikats prélevés sur le site Tivoli aval.

La Figure 46 représente les échantillons projetés sur le plan de l'AFC selon les axes 1 et 3.

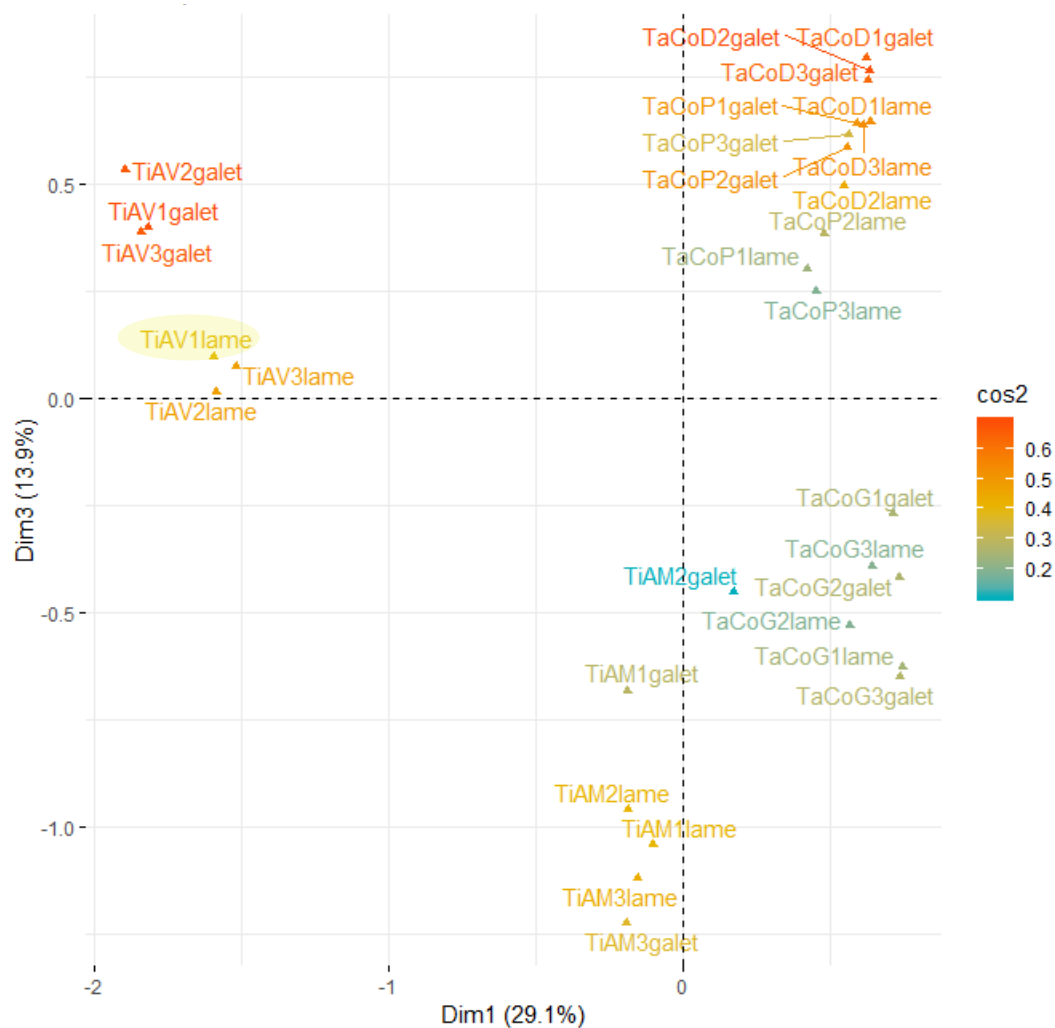


Figure 46 : Représentation graphique des résultats de l'AFC selon les axes 1 et 3

Le dégradé de couleur (du rouge au bleu) indique la dégradation de la qualité de la représentation graphique.

Sur le plan D1-D3 de l'AFC, un des 3 réplicats galets prélevés sur la Tivoli amont (TIAM2galet) est plus proche des échantillons Talea-Coco Bras G que des autres réplicats galets et lames de la Tivoli amont.

Cependant la qualité de la représentation de ce réplicat (TIAM2galet) est particulièrement mauvaise sur le plan D1/D3 (couleur bleue) et également sur le plan D1/D2. De plus la représentation des échantillons avec lesquels il est associé sur le plan D1/D3 est également de mauvaise qualité alors qu'elle est bonne sur le plan D1/D2 (couleur orange) (Figure 45 précédente) où les échantillons de la Talea-Coco Bras Gauche sont regroupés et bien distincts de TIAM2galet.

On peut donc conclure de la bonne homogénéité des réplicats pour chacun des sites, qu'ils aient été prélevés sur lames ou galets. Ces résultats montrent que les peuplements diatomiques des lames de verre, même s'ils sont constitués d'une plus grande proportion d'espèces pionnières, restent représentatifs de la station sur laquelle ils ont été échantillonnés.

4.2.2.2. Analyse des poissons et des crustacés

La collecte des poissons et des crustacés a eu pour objectif de caractériser les niveaux d'exposition de ces principaux maillons biologiques présents au sein des hydrosystèmes dulçaquicoles et estuariens calédoniens.

4.2.2.2.1. Résultats obtenus pour les crustacés (mai 2016)

○ Mesures morphométriques des crustacés

L'analyse des mesures morphométriques réalisées sur la crevette *Macrobrachium amelum* montre des tailles des crevettes significativement plus grandes sur le site de référence Tivoli comparativement à ceux de la Taléa (Figure 47). Il s'agit du site pour lequel l'indice de Fulton (rapport du poids sur la taille) est également le plus élevé, signifiant un meilleur état physiologique des individus prélevés sur ce site. Sur la rivière Taléa, seuls les sites Taléa droite et Taléa aval diffèrent significativement en termes d'indice de Fulton, avec le plus faible indice mesuré sur le bras droit de la rivière, correspondant à de plus faibles ressources nutritives pour ce maillon trophique sur ce site. Ces résultats sont en accord avec les analyses de qualité du biofilm présentées précédemment.

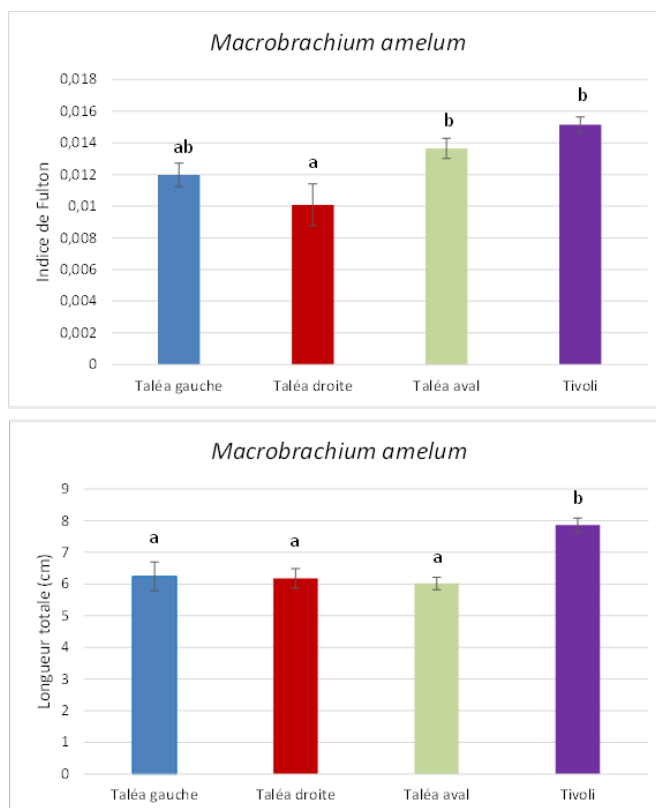


Figure 47 : **Indice de Fulton et longueur totale des *Macrobrachium amelum* en fonction des sites de prélèvements**

(moyenne \pm écart-type, $n=5$). Les lettres différentes indiquent des différences significatives entre les sites ($\alpha = 0,05$)

Les mêmes mesures morphométriques réalisées sur la crevette *Macrobrachium caledonicum* qui n'a été prélevée que sur les deux sites Taléa droite et Taléa aval montrent une taille des crevettes plus grande sur le site de Taléa aval comparativement à Taléa droite comme précédemment observé pour *M. amelum* (Figure 48). Il s'agit du site pour lequel l'indice de Fulton est également le plus élevé, signifiant un meilleur état physiologique des individus prélevés sur ce site.

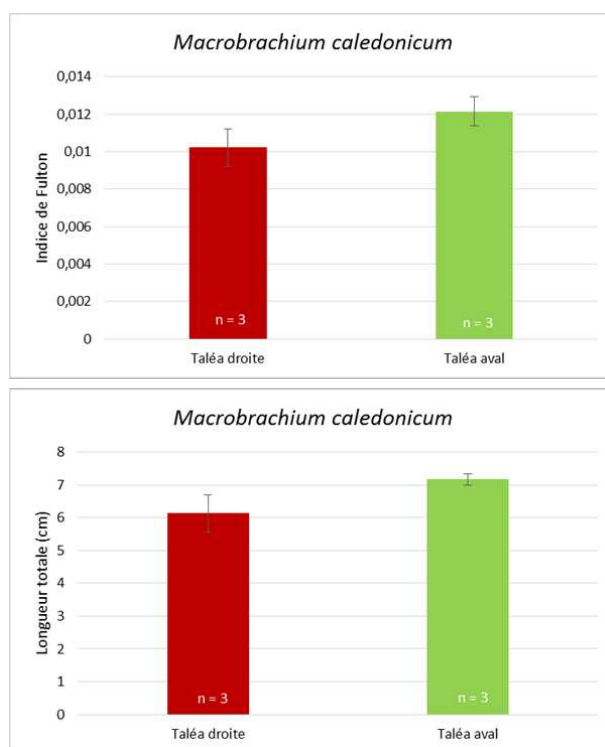


Figure 48 : **Indice de Fulton et longueur totale des *Macrobrachium caledonicum* en fonction des sites de prélèvements (moyenne ± écart-type)**

Les autres espèces de crustacés n'ayant été prélevées que sur un seul site, aucune comparaison inter-sites ne peut être faite.

○ Analyse de la bioaccumulation métallique dans les tissus ou organes

La bioaccumulation des métaux a dans un premier temps été analysée dans les hépatopancréas des crustacés, correspondant à l'organe généralement le plus accumulateur de métaux en raison de son rôle dans la métabolisation et l'excrétion des contaminants chimiques. Les autres organes, telles que les branchies en contact direct avec les métaux dissous dans l'eau et les muscles ont également été analysés par la suite.

Les résultats obtenus pour le Ni, le Cr, le Co et le Fe dans les hépatopancréas montrent tout d'abord une accumulation significativement supérieure dans les hépatopancréas de crevettes provenant du site Taléa gauche, directement impacté par l'activité minière (Figure 49), ce qui est cohérent avec les observations de bioaccumulation métallique faites précédemment sur le biofilm. Les concentrations en Ni atteignent des valeurs dans l'ordre décroissant suivant : 214 ± 152 mg/kg (PS) pour Taléa gauche > $47,9 \pm 35,6$ mg/kg pour Taléa droite > $18,2 \pm 14,2$ mg/kg pour Tivoli > $10 \pm 2,5$ mg/kg pour Taléa aval.

Ces valeurs présentent une très forte variabilité comme en témoignent les erreurs standard à la moyenne calculées, mais sont largement inférieures à celles de Ni mesurées dans les biofilms (pour rappel 8385 mg/kg PS mesurés sur le site Taléa gauche). Les crevettes se situant dans le réseau trophique à un niveau supérieur à celui du biofilm, nous pouvons attester d'une absence de bioamplification du Ni entre ces deux maillons trophiques. Les mêmes remarques peuvent être formulées pour le Cr, le Co et le Fe. En revanche, concernant le Mn, les concentrations mesurées dans les hépatopancréas de crevettes ne présentent pas de différences significatives entre les sites, ce qui est en grande partie expliqué par les fortes variabilités dans les données.

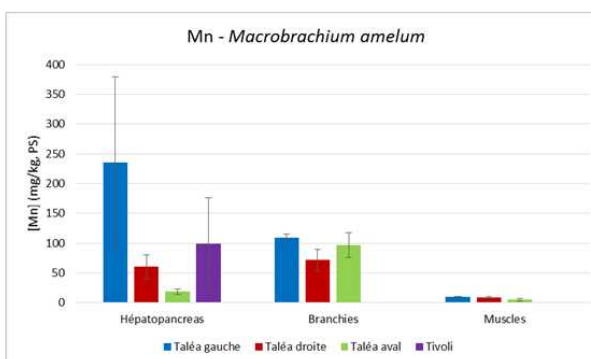
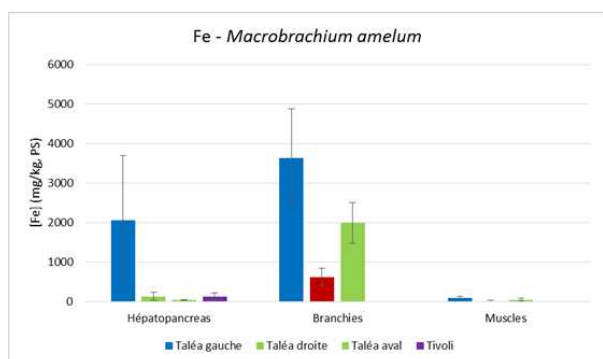
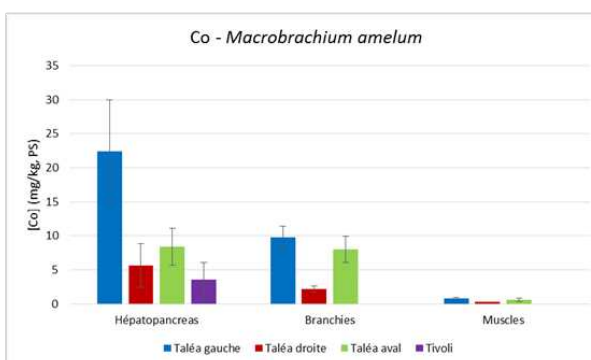
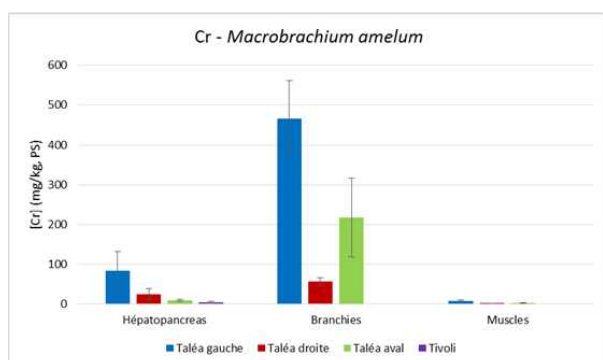
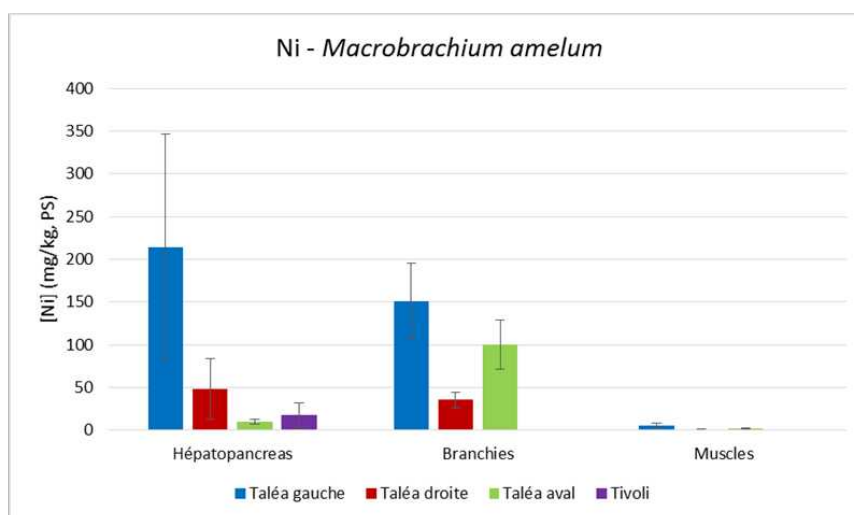


Figure 49 : Bioaccumulation de Ni, Cr, Co, Fe et Mn dans les organes de *Macrobrachium amelum* prélevé sur les différents sites (moyenne \pm SEM).

Les concentrations de métaux mesurées dans les branchies présentent quant à elles des évolutions quelques peu différentes de celles mesurées dans les hépatopancreas en fonction des différents sites de prélèvements. Même si le site le plus contaminé reste celui de la Taléa gauche, le site le moins impacté semble être celui de Taléa droite comparativement à Taléa aval. Il est à noter que les valeurs de concentrations mesurées à Tivoli dans les branchies sont inférieures aux limites de détection et ne sont donc pas représentées sur le graphe.

Ces résultats d'accumulation dans les branchies montrent un rôle non négligeable de la phase dissoute des métaux, notamment le long du linéaire Taléa gauche/Taléa aval, avec certaines valeurs qui dépassent celles mesurées dans l'hépatopancreas. Par exemple le Ni mesuré dans les branchies sur Taléa aval est plus élevé que dans l'hépatopancreas. De même, le Cr et le Fe pour les 3 sites de la Taléa sont plus élevés dans les branchies. La même tendance est observée pour le Mn sur les sites Taléa droite et Taléa aval.

Une analyse fine de la spéciation des métaux en solution sur ces différents sites permettra de vérifier la proportion de métaux biodisponibles en phase dissoute de manière à expliquer ces résultats.

Concernant les muscles, les accumulations restent très faibles comparativement aux autres organes, avec des valeurs généralement plus élevées sur le site le plus impacté (Taléa gauche).

Concernant les autres espèces de crustacés, celles-ci étant beaucoup moins présentes sur les sites échantillonnés, il est difficile de pouvoir comparer les données de façon spatiale. Nous avons néanmoins représenté les accumulations mesurées dans les différents organes de *M. caledonicum* prélevé sur les sites Taléa droite et Taléa aval (Figure 50).

De manière générale, peu de différences apparaissent en termes d'accumulations métalliques entre les deux sites échantillonnés, seulement, cette absence de différence peut être expliquée par le faible nombre d'échantillons ($n = 2$ à 3) conduisant à une forte variabilité dans les données. Concernant les différences d'accumulation entre organes, de la même façon, celles-ci sont beaucoup moins visibles en raison de la forte variabilité dans les données. Nous pouvons simplement noter de plus fortes accumulations mesurées généralement dans l'hépatopancréas, hormis pour le Cr et le Fe qui sont plus accumulés dans les branchies. Concernant les muscles, comme précédemment pour *M. amelum*, les accumulations restent très faibles comparativement à l'hépatopancréas ou aux branchies, pour l'ensemble des métaux.

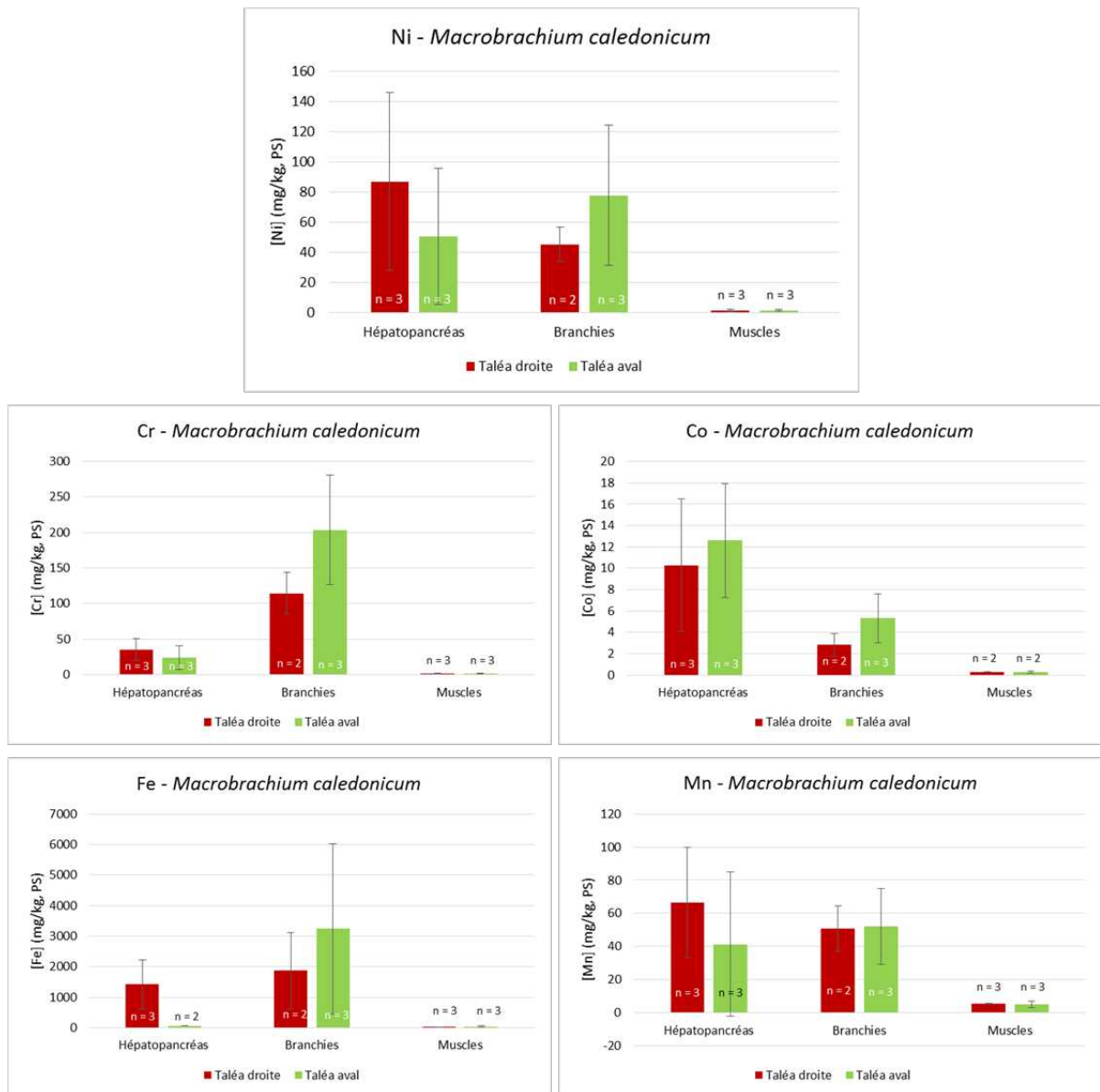


Figure 50 : Bioaccumulation de Ni, Cr, Co, Fe et Mn dans les organes de *Macrobrachium caledonicum* prélevé sur les sites Taléa droite et Taléa aval (moyenne \pm SEM).

Si nous prenons en compte l'ensemble des espèces prélevées et mesurées, nous pouvons comparer les niveaux d'accumulation dans l'hépatopancréas, organe pour lequel nous avons des données pour toutes les espèces (Figure 51). Dans l'ensemble, les différences d'accumulation entre espèces restent faibles, notamment entre *M. amelum* et *M. caledonicum*. Par contre, des accumulations plus faibles dans les *M. lar* prélevés sur Tivoli par rapport à *M. amelum* sont observées, mais celles-ci peuvent être expliquées par un effet de dilution pondérale chez cette espèce, puisque les individus étaient de taille beaucoup plus grosse que ceux de *M. amelum* (12,3 cm et 7,9 cm respectivement). Enfin, les accumulations mesurées dans les crabes de palétuviers sur l'estuaire de la Taléa sont relativement élevées comparées à celles des *Macrobrachium* provenant de la Taléa aval. Ceci peut être expliqué par un changement de spéciation des métaux en présence de salinité qui conduirait à une augmentation de la biodisponibilité de ces éléments de l'estuaire vers le lagon.

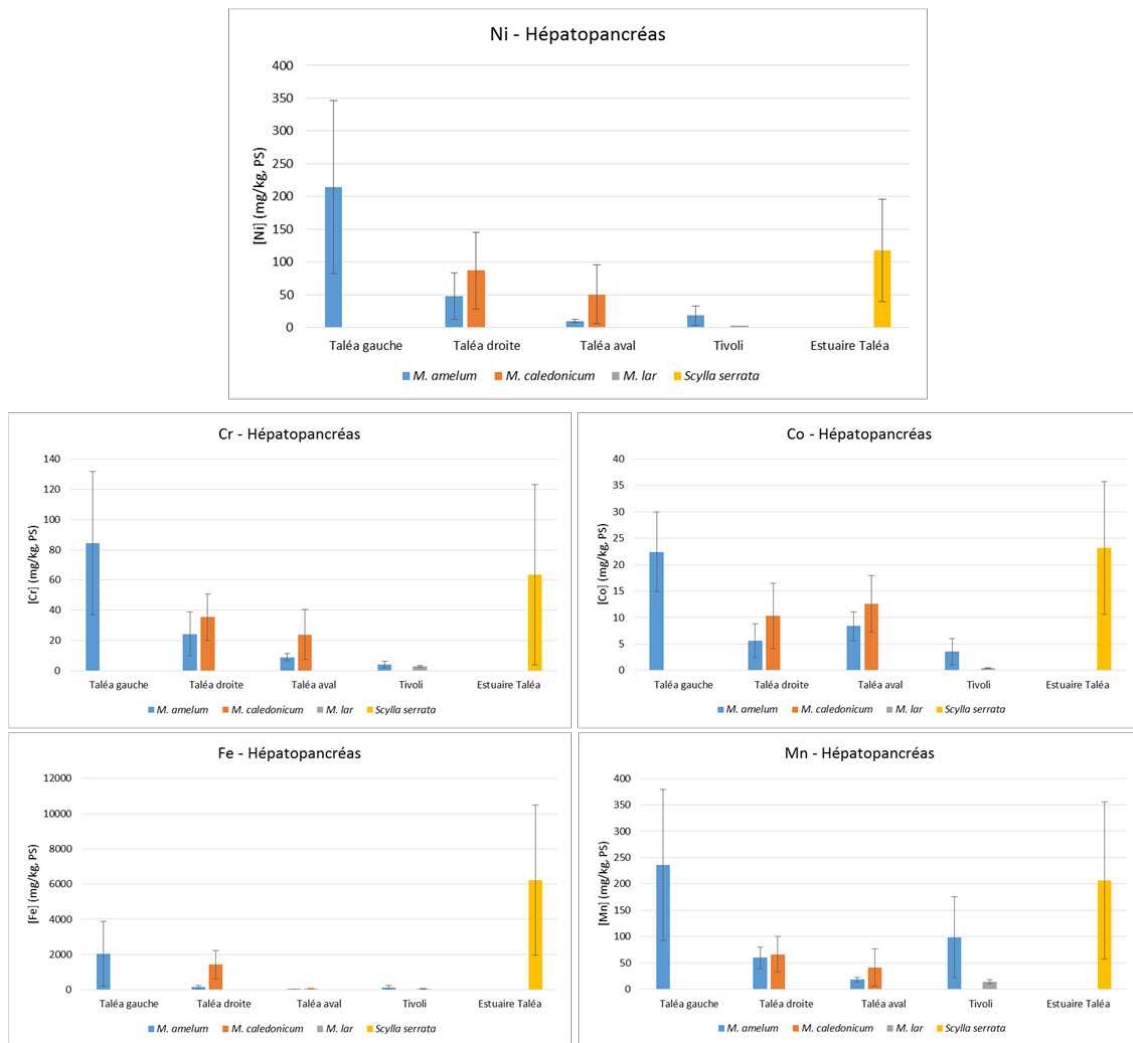


Figure 51 : Accumulation de Ni, Cr, Co, Fe, Mn dans les hépatopancreas des différentes espèces de crevettes prélevées sur les sites de Taléa et Tivoli (moyenne \pm SEM).

Les résultats présentés sont inclus dans l'annexe 7.

4.2.2.2. Résultats obtenus pour les poissons

○ Mesures morphométriques des poissons

Une première analyse des longueurs totales des poissons met en évidence des différences marquées dans la taille des individus prélevés sur chaque site. Par exemple, pour l'anguille du Pacifique (*Anguilla marmorata*) qui a pu être pêchée sur l'ensemble des sites (Figure 52), les individus récoltés sont plus petits sur le site de Taléa droite comparativement à Taléa gauche et Taléa aval. Au contraire, le site de référence, Tivoli, montre les anguilles les plus grandes. L'indice de Fulton semble directement corrélé à la taille des individus, de même que l'indice hépato-somatique (résultats non montrés), ce qui ne permet pas de discriminer d'états physiologiques différents entre les sites à partir de ces paramètres.

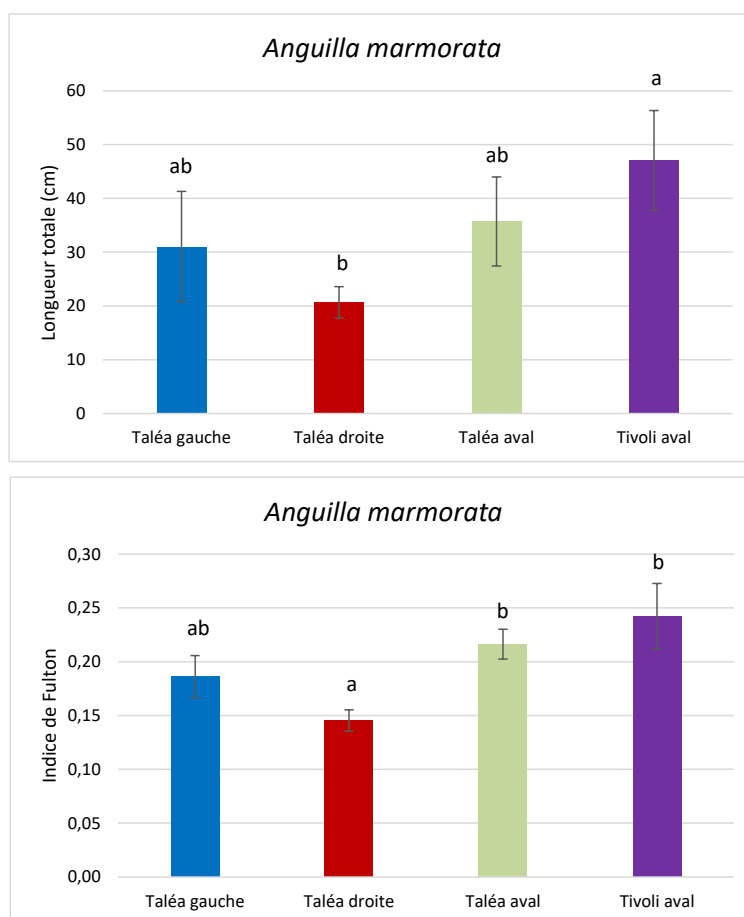


Figure 52 : Longueur totale et indice de Fulton pour l'anguille du Pacifique en fonction des 4 sites dulçaquicoles (moyenne ± écart-type, n=5)

Les lettres différentes indiquent des différences significatives entre les sites pour chaque organe ($\alpha = 0,05$).

Pour le lochon blanc (*Awaous guamensis*) qui n'a pu être pêché que sur les sites Taléa droite et aval (n = 1) et sur la Tivoli (n = 5 ; Figure 53), les individus récoltés semblent également plus petits sur le site de Taléa droite comparativement à Taléa aval et Tivoli. En revanche, aucune différence dans les indices de Fulton n'est observée entre les sites pour cette espèce, ce qui montre une absence d'impact du site de collecte sur ce paramètre.

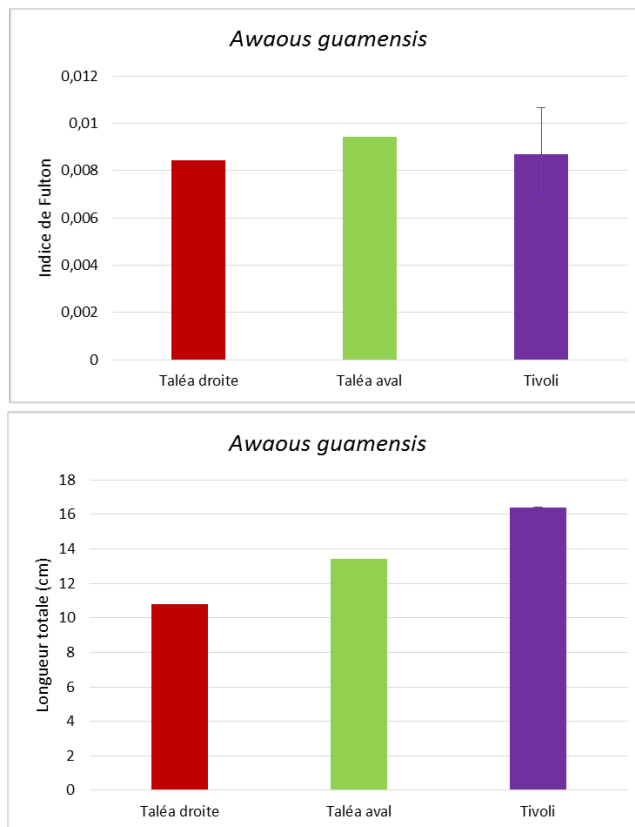


Figure 53 : Longueur totale et indice de Fulton pour le lochon blanc en fonction des sites Taléa droite, aval et Tivoli (moyenne \pm écart-type, n = 5 pour Tivoli, n = 1 pour Taléa droite et aval)

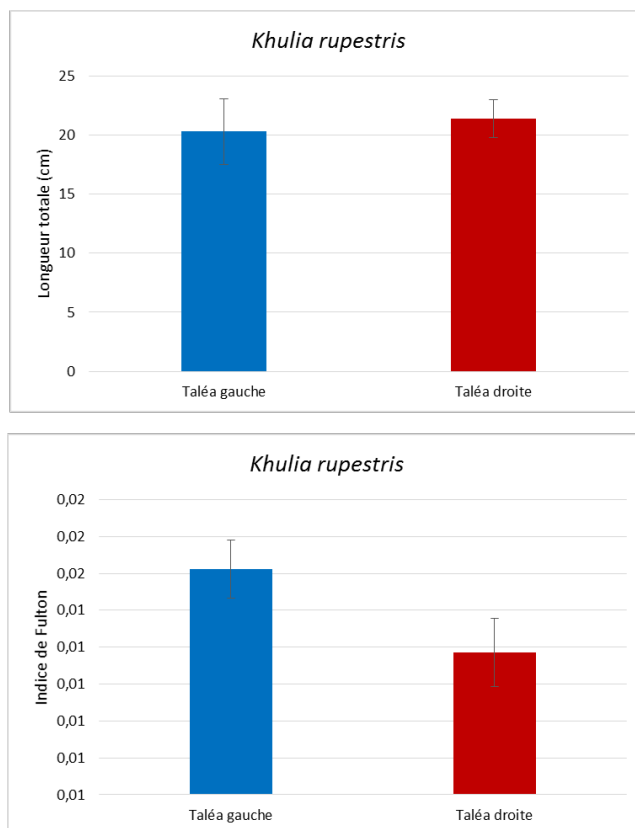


Figure 54 : Longueur totale et indice de Fulton pour la carpe en fonction des sites Taléa gauche et droite (moyenne \pm écart-type, n = 5)

Pour la carpe qui n'a été prélevée qu'au niveau des sites Taléa gauche et droite, nous n'observons pas de différence de taille entre les individus des deux sites, alors que l'indice de Fulton est plus faible sur le site Taléa droite. Ceci indique que les individus provenant de Taléa droite sont en moins bonne condition physiologique sur ce site (Figure 54).

Enfin pour les lochons noirs (*Sicyopterus lagocephalus*), prélevés sur les 2 sites de Taléa gauche et Tivoli, les individus les plus grands proviennent de Tivoli, alors que l'indice de Fulton est quasiment le même sur les deux sites, indiquant des conditions physiologiques équivalentes pour cette espèce entre ces deux sites (Figure 55).

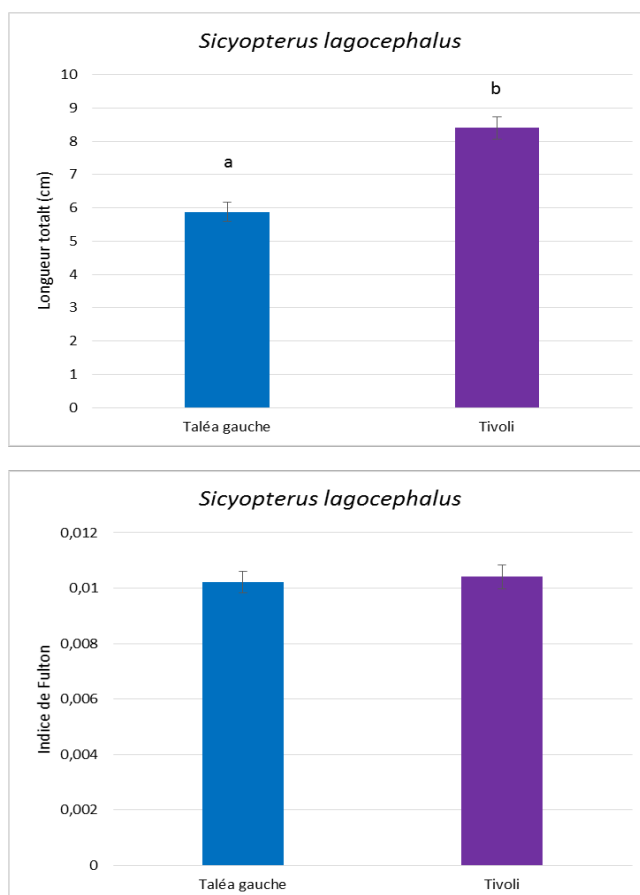


Figure 55 : Longueur totale et indice de Fulton pour le lochon noir en fonction des sites Taléa gauche et Tivoli (moyenne \pm écart-type, n = 5).

○ Analyse de la bioaccumulation métallique dans les tissus et organes

Les analyses de bioaccumulation métallique ont été réalisées dans 3 organes ou tissus des anguilles (branchies, foie, muscles et reins quand celui-ci a pu être prélevé), seule espèce de poisson prélevée sur l'ensemble des sites échantillonnés (Figure 56).

Pour le foie, les résultats montrent pour le Ni et le Cr, des concentrations décroissantes entre les sites Taléa gauche sous influence minière, suivi de Taléa droite, Taléa aval et Tivoli. Les valeurs de concentrations en Ni mesurées dans le foie des anguilles sont comparativement plus faibles dans les anguilles que celles mesurées dans l'hépatopancréas des crevettes (6,2 et 214 mg/kg PS respectivement pour le site Taléa gauche). Encore une fois, nous n'observons pas de phénomène de bioamplification de ces métaux entre crustacés et poissons. Pour les autres métaux, les différences ne sont pas significatives entre site pour cet organe, hormis le Co qui est moins accumulé à Tivoli.

Concernant les branchies, nous observons des accumulations présentant les mêmes tendances que dans le foie, même si non significatives pour le Ni et le Cr. Ces concentrations sont de plus largement supérieures à celles mesurées dans le foie (28,3 mg/kg contre 6,2 mg/kg sur le site Taléa gauche, 13,7 contre 3,3 mg/kg sur Taléa droite, 12,8 contre 1,8 mg/kg sur Taléa aval et 5,7 contre 1,4 mg/kg sur Tivoli). Ces résultats semblent suggérer une importance non négligeable de la voie directe de contamination des anguilles (par la voie dissoute) pour ces deux métaux, notamment pour les sites de Taléa.

Néanmoins, l'organe qui présente les plus fortes accumulations, même si très peu d'analyses ont pu être faites semble être le rein. Il s'agit en effet d'un organe d'excrétion au niveau duquel la plupart des métaux divalents sont fortement accumulés avant élimination.

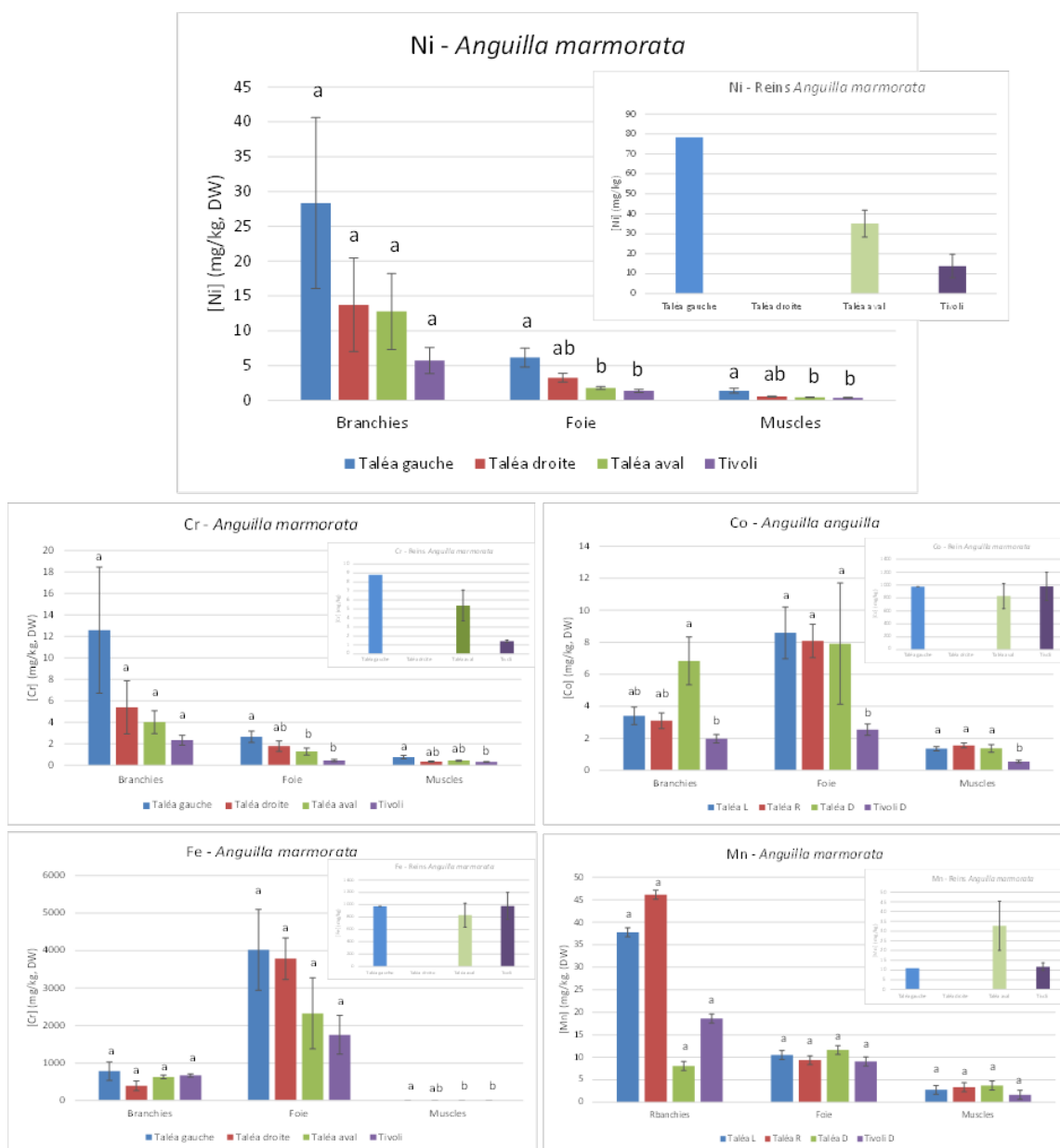


Figure 56 : Bioaccumulation de Ni, Cr, Co, Fe et Mn dans les organes d'Anguilla marmorata prélevée sur les différents sites (moyenne ± SEM, n=5)

Les lettres différentes indiquent des différences significatives entre les sites pour chaque organe ($\alpha = 0,05$)

Pour les autres espèces de poissons, même si beaucoup moins de stations ont pu être échantillonnées, les analyses de métaux dans les organes (foie, branchies, reins et muscles) ont été réalisées.

Pour le lochon blanc (*Awaous guamensis*), les concentrations de Ni semblent proches entre les deux sites Taléa aval (n = 1) et Tivoli (n = 5), avec des concentrations les plus élevées mesurées dans les branchies, suivies du rein, du foie et des muscles (Figure 57). Comme précédemment pour les crustacés et les anguilles, la voie dissoute d'exposition au Ni semble être prépondérante dans l'accumulation des métaux par ce poisson.

Cette même tendance se retrouve pour le Cr, le Fe et le Mn, alors que les concentrations sont équivalentes pour le Co dans les branchies et le rein. De façon générale, le lochon blanc accumule moins les métaux que l'anguille, quel que soit l'organe, hormis pour le Mn qui est beaucoup plus accumulé chez ce poisson.

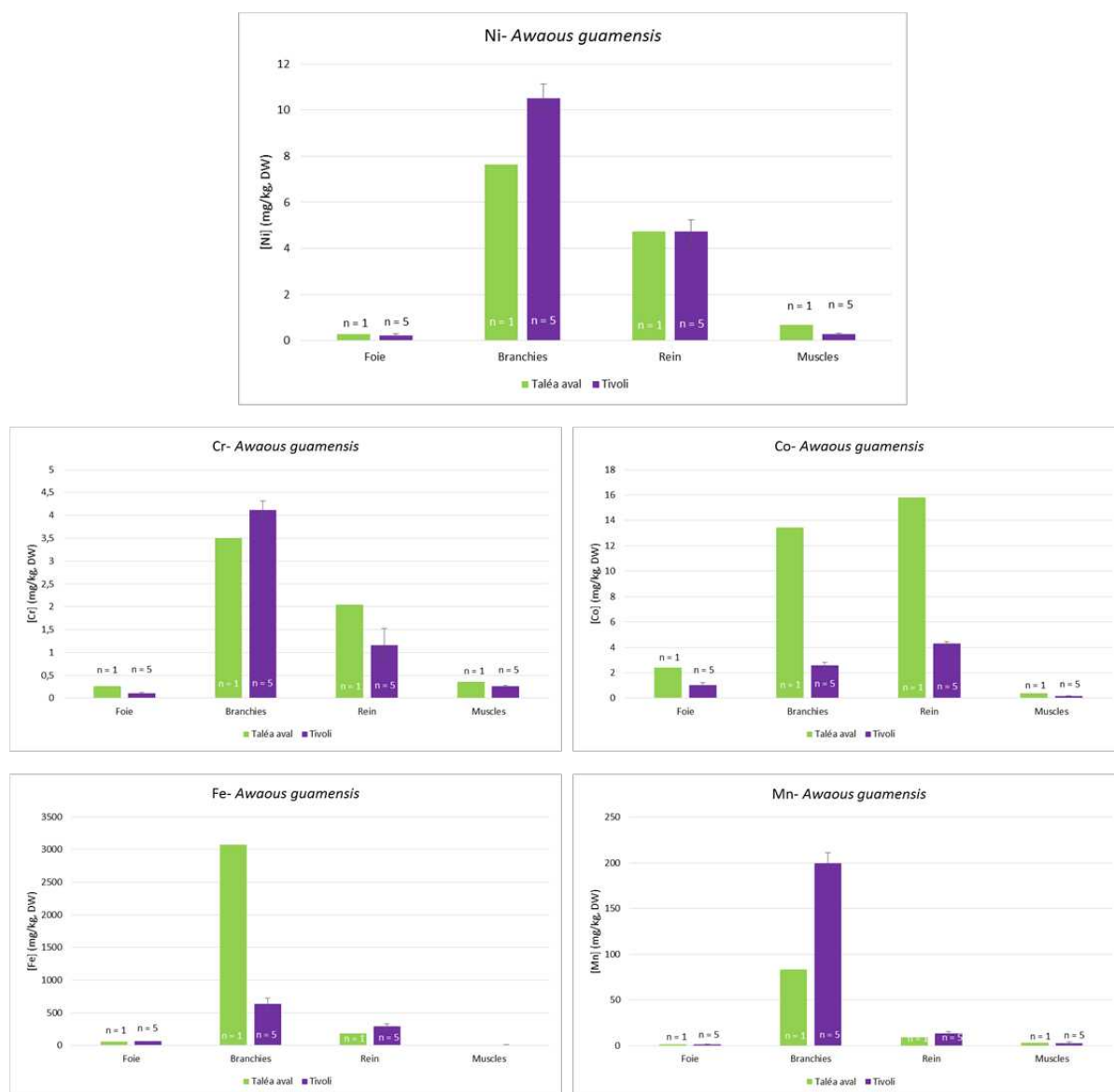


Figure 57 : Bioaccumulation de Ni, Cr, Co, Fe et Mn dans les organes d'*Awaous guamensis* prélevés sur les sites Taléa aval et Tivoli (moyenne ± SEM)

Ces différences de répartition de métaux entre espèces peuvent être expliquées par des différences de régime alimentaire (carnivore pour l'anguille qui se nourrit plutôt de crevettes, mais aussi d'alevins de poissons et plutôt omnivore pour le lochon blanc qui se nourrit d'algues, de détritus, de vers, voire de gastéropodes et crustacés). Étant donné qu'un seul

individu a été prélevé sur Taléa aval, comparativement à 5 sur Tivoli, il n'est pas possible de conclure quant à un effet dû au site de prélèvement.

Concernant la carpe (*Khulia rupestris*), de nouveau, des accumulations très importantes sont mesurées dans les branchies, suivies du rein, du foie et enfin des muscles pour la plupart des métaux, hormis le Fe pour lequel les accumulations sont plus importantes dans le foie que dans les reins (Figure 58). En particulier pour le Ni et le Cr, les accumulations mesurées dans les branchies sur le site de Taléa gauche sous influence minière, sont beaucoup plus élevées que celles mesurées dans les anguilles (102,9 mgNi/kg et 37,9 mgCr/kg chez la carpe comparativement à 28,3 mgNi/kg et 12,6 mgCr/kg chez l'anguille).

La carpe est ainsi fortement exposée par voie dissoute au Ni, Cr, mais également Co, Fe et Mn sur ce site. Pour le site de Taléa droite, les accumulations de métaux sont beaucoup plus proches entre organes et les branchies n'apparaissent pas toujours comme le premier organe accumulateur.

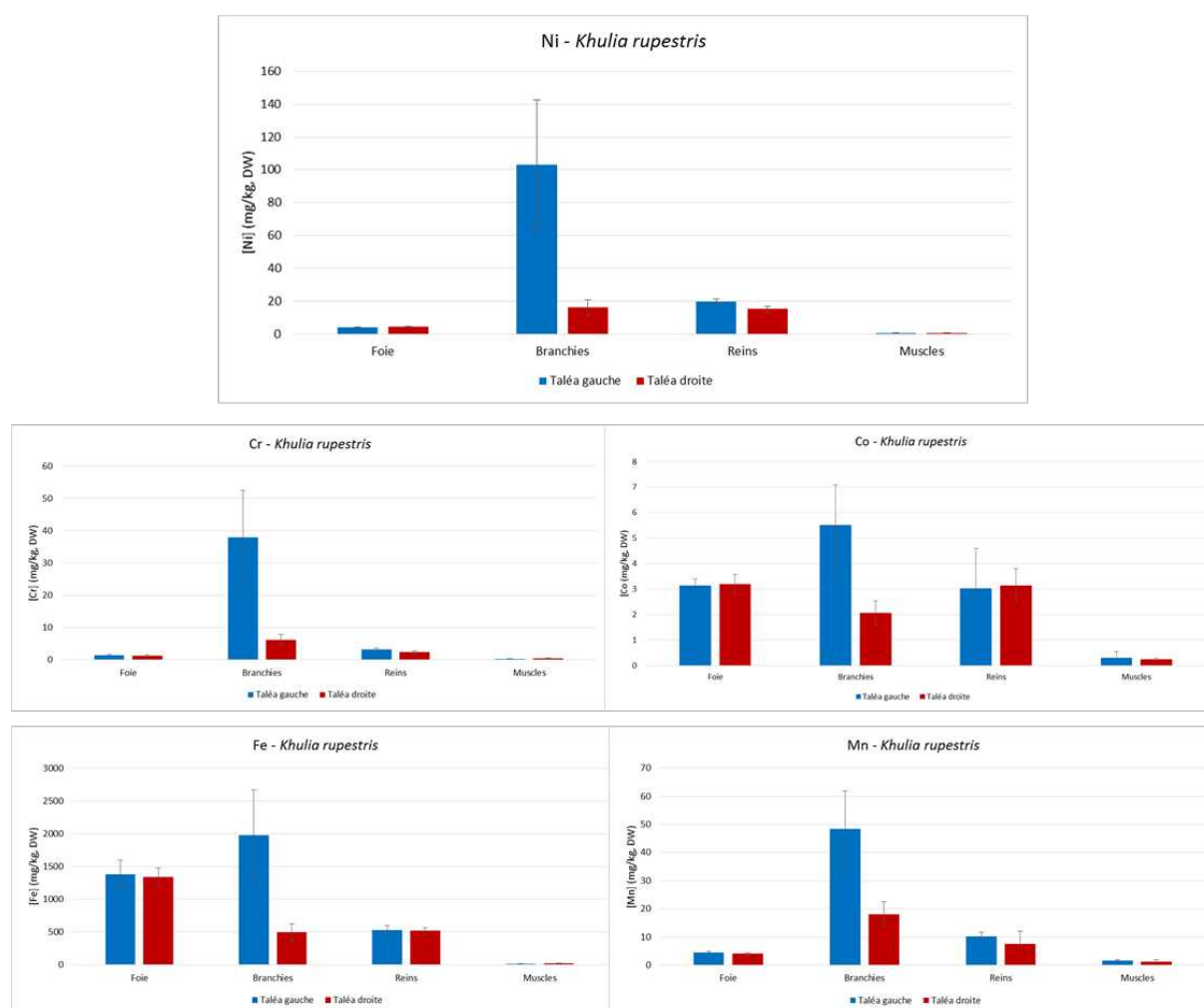


Figure 58 : Bioaccumulation de Ni, Cr, Co, Fe et Mn dans les organes de *Khulia rupestris* prélevés sur les sites Taléa gauche et droite (moyenne ± SEM, n = 5)

Concernant le lochon noir (*Sicypterus lagocephalus*), de la même façon que pour les autres espèces, les accumulations métalliques les plus importantes sont mesurées dans les branchies, suivies du foie et des muscles (reins trop petits pour pouvoir les prélever et les analyser ; Figure 59). Le site qui s'avère le plus contaminé est celui de Taléa gauche, hormis pour le Mn pour lequel les accumulations les plus élevées sont mesurées sur Tivoli au niveau des branchies. Les niveaux d'accumulation mesurés dans cette espèce pour le Ni et le Cr sont les plus élevés de toutes les espèces de poissons. Le lochon noir s'avère donc être très accumulateur de ces éléments métalliques, et pourrait représenter un bon

indicateur de pollution métallique des sites ultramaïques sous influence minière. Seulement 2 sites ont permis de pouvoir en pêcher, ce qui peut ponctuellement limiter l'utilisation de cette espèce.

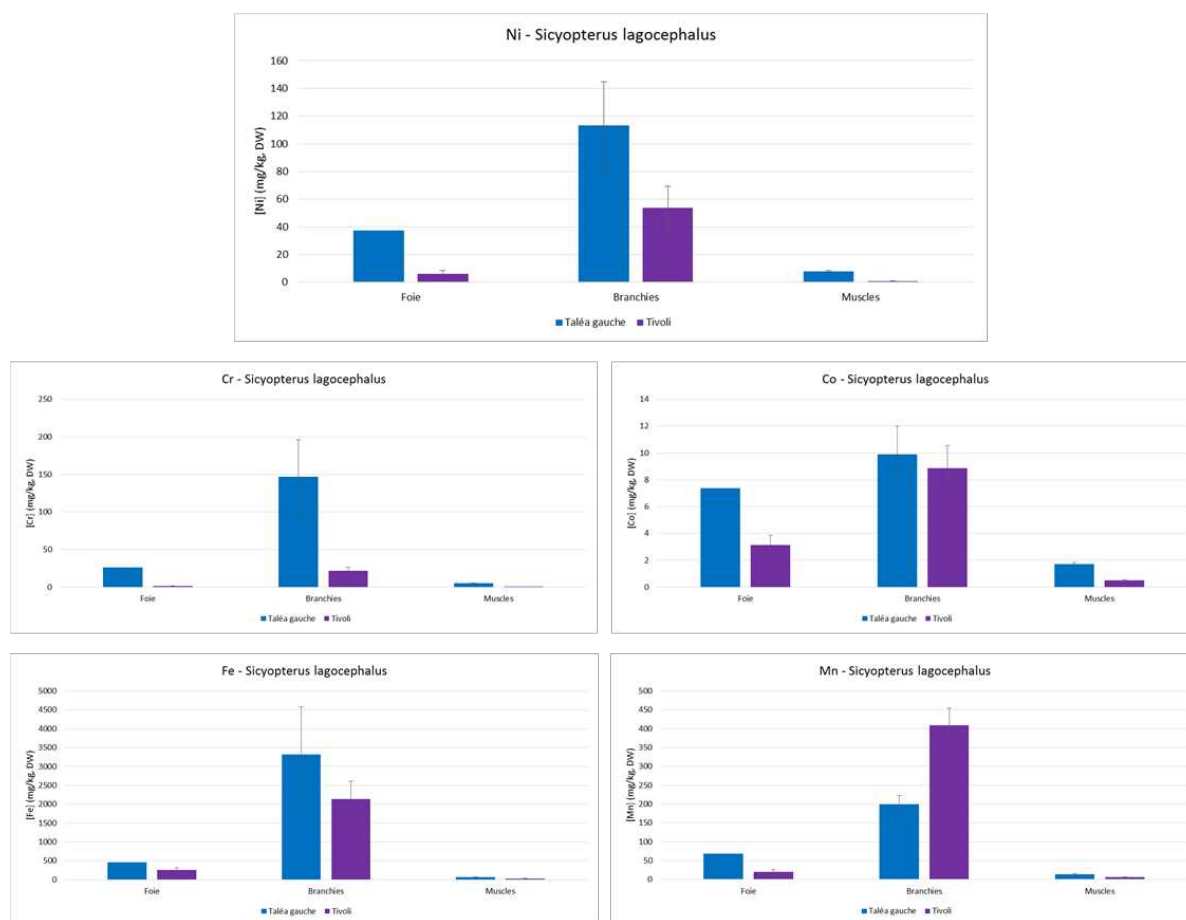


Figure 59 : Bioaccumulation de Ni, Cr, Co, Fe et Mn dans les organes de *Sicyopterus lagocephalus* prélevé sur les sites Taléa gauche et Tivoli (moyenne \pm SEM, n = 5)

Si nous essayons de comparer directement les capacités de bioaccumulation par exemple du Ni dans le foie des différentes espèces de poissons sur un même site, nous pouvons constater que la première espèce qui accumule le plus ce métal sur le site de Taléa gauche, comparativement à l'anguille et la carpe est le lochon noir (Figure 60). Cette espèce de très petite taille est un poisson brouteur de biofilm, ce qui en fait une espèce particulièrement sensible aux métaux accumulés dans ce compartiment. Cela signifie ainsi que les métaux contenus dans le biofilm, le Ni, mais également le Cr qui présente le même profil de bioaccumulation, sont bien disponibles pour le reste de la chaîne trophique. Les accumulations dans les tissus restent néanmoins toujours inférieures à celles mesurées dans le biofilm ou les crevettes.

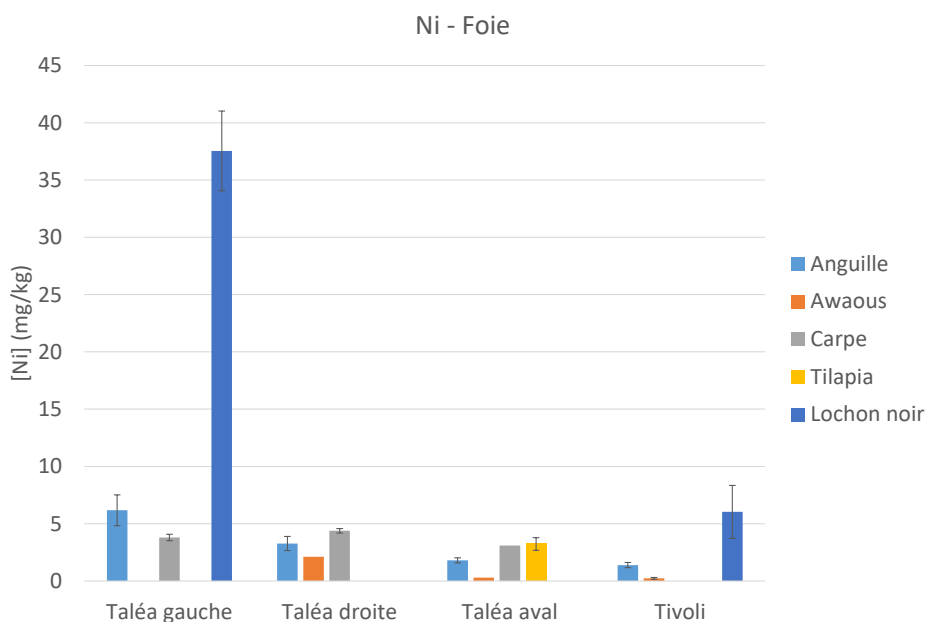


Figure 60 : Bioaccumulation du Ni dans le foie des différentes espèces de poissons prélevées

Au niveau des branchies, nous retrouvons le même schéma, avec les accumulations les plus élevées mesurées dans les branchies du lochon noir sur le site de Taléa gauche (Figure 61). La carpe accumule également beaucoup le Ni sur ce site au niveau de ses branchies, loin devant l'anguille. Nous constatons que sur le site de Tivoli, le lochon noir accumule également le plus le Ni comparativement aux autres espèces. Comme évoqué précédemment, cette espèce pourrait représenter un bon indicateur de pollution des sites ultramafiques sous influence minière.

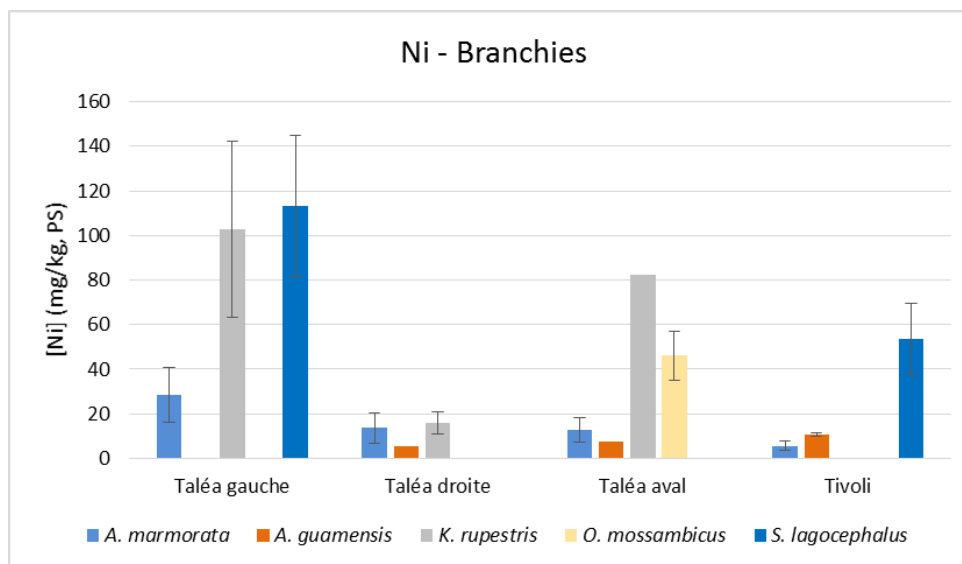


Figure 61 : Bioaccumulation du Ni dans les branchies des différentes espèces de poissons prélevées

Les résultats présentés sont inclus dans l'annexe 8.

4.2.2.3. Structuration du réseau trophique

4.2.2.3.1. Objectifs

La mise en évidence d'une architecture trophique a pour objectif majeur de permettre de comprendre comment la matière organique circule au sein d'un écosystème donné, depuis les sources de matière organique à la base du réseau (microalgues, bactéries, matière détritique etc.) jusqu'aux consommateurs terminaux, qui pourraient ici être représentés, par hypothèse, par les anguilles *Anguilla marmorata* habituellement considérées comme des prédateurs opportunistes. À cet effet, la mesure conjointe des isotopes stables du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$) est devenue depuis déjà une vingtaine d'années un outil très utilisé pour comprendre la structuration trophique d'un écosystème. La signature isotopique du carbone renseigne sur le type de source alimentaire principalement utilisée par les espèces tandis que la signature isotopique en azote renseigne sur le niveau trophique d'un organisme.

L'augmentation des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et de $\delta^{15}\text{N}$ d'une proie vers son consommateur étant souvent considérée à peu près constante (i.e. de l'ordre de 1‰ en moyenne pour le $\delta^{13}\text{C}$ et de 3.4‰ en moyenne pour le $\delta^{15}\text{N}$), il est ensuite théoriquement relativement aisé de retracer sur un espace en deux dimensions le positionnement des différentes espèces échantillonnées afin d'évaluer leurs relations trophiques.

4.2.2.3.2. Résultats

L'examen des plans $\delta^{13}\text{C}$ - $\delta^{15}\text{N}$ met en évidence plusieurs aspects. Le point principal est le fait que l'ensemble des sources potentielles de matière organique est utilisé par les espèces, invertébrés et/ou poissons. Cela concerne aussi bien les végétaux terrestres, source allochtone de carbone dans les écosystèmes aquatiques, que les débris de feuilles, la matière organique sédimentaire ou encore les biofilms ; tous présentent des signatures isotopiques de $\delta^{13}\text{C}$ et de $\delta^{15}\text{N}$ qui suggèrent qu'ils pourraient constituer une source alimentaire plausible pour les espèces de poissons et d'invertébrés étudiés, à l'exception du crabe de palétuvier (*Scylla serrata*) et du cro-cro (*Leiognathus equulus*) dans l'estuaire du fait de leur signatures isotopiques clairement distinctes, notamment en carbone (Figure 62).

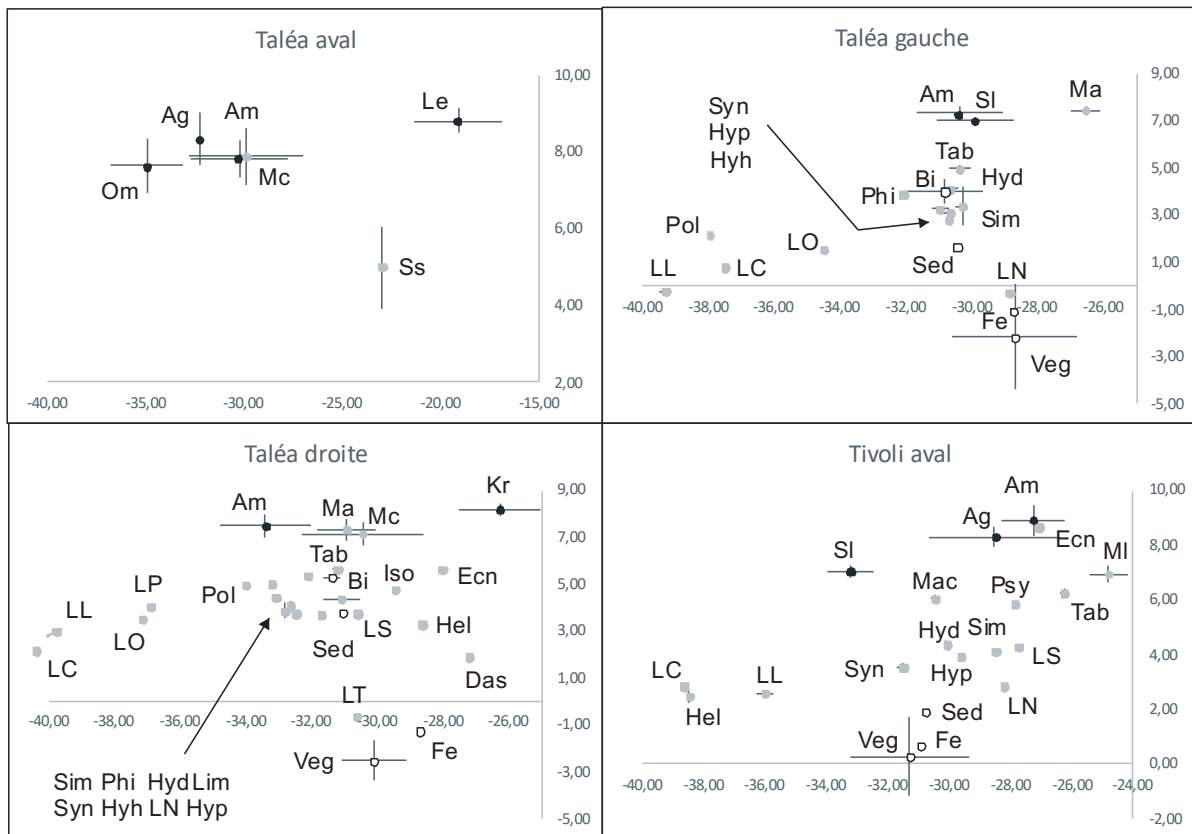


Figure 62 : Positionnements trophiques des échantillons étudiés dans 4 secteurs (Taléa aval, Taléa gauche, Taléa droite et Tivoli aval),

Les sources alimentaires potentielles sont en blanc, les invertébrés en gris et les poissons en noir. L'axe des abscisses correspond au $\delta^{13}C$ et l'axe des ordonnées au $\delta^{15}N$.

Chaque point correspond à la moyenne calculée et les barres représentent les écart-types autour des moyennes. Codes des espèces et sources : poissons Am= *Anguilla marmorata*, Ag= *Awaous guamensis*, Kr= *Kuhlia rupestris*, Le= *Leiognathus equulus*, Om= *Oreochromis mossambicus*, Sl= *Sicyopterus lagocephalus* ; invertébrés Das= *Dasyheleinae*, Ecn= *Ecnomidae*, Hel= *Helicopsychidae*, Hyd= *Hydrobiosidae*, Hyh= *Hydrophilidae*, Hyp= *Hydropsychidae*, Iso= *Isosticta spp.*, LC= *Leptophlebiidae Celiphlebia*, Lim= *Limoniidae*, LL= *Leptophlebiidae Lepeorus*, LN= *Leptophlebiidae Notachalcus*, LO= *Leptophlebiidae Oumas*, LP= *Leptophlebiidae Paraluma*, LS= *Leptophlebiidae Simulacala*, LT= *Leptoceridae Triplectides*, Ma= *Macrobrachium amelum*, Mac= *Macrobrachium sp.*, Mc= *Macrobrachium caledonicum*, Ml= *Macrobrachium lar*, Phi= *Philopotamidae*, Pol= *Polycentropodidae*, Psy= *Psychodidae*, Sim= *Simulium sp.*, Ss= *Scylla serrata*, Syn= *Synthemistidae*, Tab= *Tabanidae* ; sources Bi= *biofilm*, Fe= *débris de feuille*, Sed= *matière sédimentaire*, Veg= *végétaux terrestres*.

Toutefois, les signatures plus négatives à nettement plus négatives en carbone des macroinvertébrés benthiques indiquent qu'une autre source de carbone n'a pas été prise en compte. Si nous nous référons aux régimes alimentaires connus pour ces organismes il apparaît que les larves de *Leptophlebiidae* présentant une signature très négative en carbone sont des « gathering collector » broutant sur le tapis périphytique développé sur les galets où ils vivent. De même les larves de Trichoptères présentant ces faibles signatures (*Polycentropodidae* sur Taléa gauche et *Helicopsychidae* sur Tivoli) sont des râcleurs (« scrapper ») ou déchiqueteurs (« shredder »), se nourrissant également sur le périphyton. Ces organismes sont tous des organismes rhéophiles vivant préférentiellement dans les veines d'eau. Cette source de carbone très négative semble donc plus s'apparenter au périphyton des zones à fort courant, périphyton qui aurait donc une signature différente de celui collecté au droit des zones plus calmes et qui a servi à nos mesures. Pour un même mode d'alimentation on peut voir que les larves de *Leptophlebiidae* des genres *Simulacala* et *Notachalcus* trouvées préférentiellement dans la litière des zones calmes présentent des

signatures en ^{13}C plus élevées en adéquation avec les signatures en carbone de la litière et du biofilm des zones plus calmes.

Cette hypothèse est également sous tendue par le fait que l'ensemble des macroinvertébrés filtreurs se nourrissant sur la matière organique en suspension, autre source de carbone non analysée ici, se regroupent ensemble autour de valeurs plus élevées en carbone (entre -32 et -30 ‰).

La signature en azote des larves d'insectes prédateurs apparaît relativement proche de celle des invertébrés filtreurs, proies potentielles de ces premiers (entre 3 et 5‰). Toutefois, ces prédateurs fourragent sur un mix de larves dont les signatures oscillent entre 1 (« gathering collector ») et 3 à 5‰ (filtreurs), ce qui explique le faible enrichissement en ^{15}N au regard des filtreurs qui ne constituent qu'une partie de leur apport alimentaire.

Concernant les différentes espèces de poissons, nous pouvons constater que le lochon noir *S. lagocephalus* présente une signature en ^{15}N voisine malgré des habitudes alimentaires décrites comme différentes dans la littérature. Il semblerait que toutes les espèces soient plus ou moins omnivores et fourragent toutes sur le même type de ressources composé de biofilms et des invertébrés vivant dans ces biofilms.

Certains producteurs primaires peuvent avoir des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ supérieures à celles des végétaux terrestres mesurées ici. Par exemple les plus fortes valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ mesurées dans les biofilms sont grossièrement comparables à des valeurs voisines de 3,5‰ trouvées dans des cours d'eau tropicaux de la Guadeloupe et celles des algues proches de 8‰ (Coat, 2009). Des valeurs oscillant entre 3 et 5‰ ont également été observées pour la matière organique particulaire des rivières calédoniennes (Briand et al, 2015 ; Letourneur et al, 2017).

Il existe par ailleurs des différences statistiquement significatives dans certaines signatures isotopiques entre sites pour une espèce donnée (Tableau 10). C'est le cas notamment du $\delta^{13}\text{C}$ pour les deux lochons, avec une valeur nettement moins négative pour *Awaous guamensis* dans la Tivoli que dans la Taléa (aval), et inversement, une valeur plus négative pour *Sicyopterus lagocephalus* dans la Tivoli que dans la Taléa gauche (Figure 62). Ces différences suggèrent que ces espèces pourraient ne pas utiliser la (ou les) même(s) source(s) de matière organique et/ou proies invertébrés dans les deux rivières. Une hypothèse alternative serait que la source de matière utilisée et/ou les proies consommées soient identiques dans les deux rivières mais avec des signatures isotopiques différentes.

Tableau 10 : Résumé des tests de comparaisons des moyennes des signatures isotopiques en C et N pour les espèces ou sources présentes dans au moins deux sites.

TA= Taléa aval, TD= Taléa droite, TG= Taléa gauche et TI= Tivoli aval. Ns= non significatif, *= $p < 0.05$, **= $p < 0.01$ et ***= $p < 0.001$

Espèce / type de source		Signature	p	Significativité
Sources	Végétaux terrestres	$\delta^{15}\text{N}$	0,034 *	TA > TG = TD
		$\delta^{13}\text{C}$	0,084 ns	TA = TG = TD
	Biofilm	$\delta^{15}\text{N}$	0,013 *	TD > TG
		$\delta^{13}\text{C}$	0,883 ns	TD = TG
Poissons	<i>Anguilla marmorata</i>	$\delta^{15}\text{N}$	0,058 ns	TI = TG = TD = TA
		$\delta^{13}\text{C}$	0,054 ns	TI = TG = TD = TA
	<i>Awaous guamensis</i>	$\delta^{15}\text{N}$	0,343 ns	TI = TA
		$\delta^{13}\text{C}$	0,003 **	TI > TA
	<i>Sicyopterus lagocephalus</i>	$\delta^{15}\text{N}$	0,772 ns	TG = TI
		$\delta^{13}\text{C}$	<0,001 ***	TG > TI
Invertébrés	Hydrobiosidae	$\delta^{15}\text{N}$	< 0,001 ***	TD > TG
		$\delta^{13}\text{C}$	0,006 **	TD < TG
	Hydrophilidae	$\delta^{15}\text{N}$	0,248 ns	TD = TG
		$\delta^{13}\text{C}$	0,207 ns	TD = TG
	Hydropsychidae	$\delta^{15}\text{N}$	< 0,001 ***	TI = TD > TG
		$\delta^{13}\text{C}$	< 0,001 ***	TI > TG > TD
	Leptophlebiidae <i>Lepeorus</i>	$\delta^{15}\text{N}$	< 0,001 ***	TD > TI > TG
		$\delta^{13}\text{C}$	< 0,001 ***	TI > TA = TD
	<i>Macrobrachium amelum</i>	$\delta^{15}\text{N}$	0,589 ns	TG = TD
		$\delta^{13}\text{C}$	< 0,001 ***	TG > TD
	<i>Macrobrachium caledonicum</i>	$\delta^{15}\text{N}$	0,276 ns	TD = TA
		$\delta^{13}\text{C}$	0,810 ns	TD = TA
Synthemistidae	$\delta^{15}\text{N}$	0,105 ns	TI = TD	
	$\delta^{13}\text{C}$	0,006 **	TI > TD	
Tabanidae	$\delta^{15}\text{N}$	< 0,001 ***	TI > TD > TG	
	$\delta^{13}\text{C}$	< 0,001 ***	TI > TG > TD	

D'autres variations significatives sont observées dans les signatures en $\delta^{13}\text{C}$ et/ou $\delta^{15}\text{N}$ selon les espèces en fonction des sites (Tableau 10). En général, les variations significatives concernent davantage le $\delta^{13}\text{C}$ que le $\delta^{15}\text{N}$, et reflète possiblement un lien avec la nature et la variabilité des caractéristiques isotopiques des sources de matière organique principalement utilisées par les organismes.

Inversement, d'autres espèces ne montrent pas de différences de signatures isotopiques entre sites, suggérant une utilisation de la matière organique et un niveau trophique similaires entre site comme par exemple les Hydrophilidae ou encore *Macrobrachium caledonicum*.

Les crevettes de la famille des Palaemonidae sont connues pour se nourrir sur les débris organiques présents dans le fond des mouilles (feuilles, fruits, ...). Toutefois, le positionnement relatif des différentes espèces de *Macrobrachium* vis-à-vis de ces débris et feuilles suggèrent qu'elles pourraient aussi se nourrir de petits invertébrés.

Enfin, le rôle supposé de prédateur opportuniste de l'anguille *Anguilla marmorata* apparaît plausible, vis-à-vis de différentes catégories d'invertébrés (Figure 62), mais il reste délicat de trancher quant à son possible rôle d'ichtyophage occasionnel. On notera par ailleurs pour cette espèce une signature isotopique moyenne en $\delta^{15}\text{N}$ supérieure dans la rivière Tivoli ($8,26 \pm 0,37 \text{ ‰}$) que dans les différents secteurs de la Taléa, mais cette différence n'est statistiquement pas significative, bien que très proche du seuil « classique » de 5% (Figure 62, Tableau 8). Ceci peut avoir plusieurs causes possibles non exclusives l'une de l'autre. D'une part, pourrait être en lien avec la taille supérieure des individus à Tivoli, l'accroissement en taille des individus étant souvent un facteur expliquant la hausse de la signature en $\delta^{15}\text{N}$, comme cela a été montré chez de nombreuses espèces y compris chez les anguilliformes marins (Briand et al. 2014). D'autre part, un changement d'alimentation peut aussi entraîner une modification de la signature en $\delta^{15}\text{N}$: en effet, si l'anguille se nourrit principalement de proies ayant des faibles signatures en $\delta^{15}\text{N}$, sa propre signature sera nécessairement plus faible que si elle s'alimentait principalement de proies ayant de plus fortes signatures en $\delta^{15}\text{N}$. Enfin, il est également possible d'envisager la combinaison de ces deux possibilités, du fait que les plus gros individus au sein d'une espèce ont souvent une alimentation différente de celle des jeunes individus, ciblant davantage des proies plus grosses elles-mêmes « prédateurs intermédiaires » possibles, du fait de l'accroissement de la taille de la bouche et de besoins énergétiques supérieurs.

Les résultats présentés sont inclus dans l'annexe 9.

4.3. ÉTUDES EXPÉRIMENTALES DU TRANSFERT TROPHIQUE DU NI ENTRE DU BIOFILM PÉRIPHYTIQUE ET UN POISSON MODÈLE BROUTEUR

4.3.1. OBJECTIFS

L'objectif principal des études expérimentales mises en œuvre est de caractériser les mécanismes de transfert trophique des métaux entre du biofilm et des organismes brouteurs à partir du prélèvement d'espèces autochtones. Une première étude expérimentale en conditions contrôlées de laboratoire a été développée en février 2017 en Nouvelle Calédonie, à partir de la contamination expérimentale de biofilm préalablement collecté *in situ*. Ce biofilm contaminé a ensuite servi de support nutritif à des poissons périphtophages de la famille des gobies, *Awaous guamensis* (lochon blanc), qui est un poisson benthique tropical d'eau douce présent en Nouvelle-Calédonie. Ce poisson peut brouter les microalgues et les détritiques contenus dans le biofilm. Cette espèce a été choisie car elle a pu être pêchée en abondance sur le site de référence utilisé pour cette expérience. Ces études se sont focalisées uniquement sur le Ni, contaminant majeur retrouvé dans les sols et eaux calédoniennes, de façon à pouvoir décrire précisément les mécanismes de transfert trophique rencontrés à la base du réseau trophique, et pouvant potentiellement se répercuter sur les maillons trophiques supérieurs. Les taux de transfert trophique de Ni entre ces deux maillons ont été estimés, ainsi que les capacités de dépuración de ce métal par les poissons après arrêt de la contamination. L'expérimentation a été directement menée en Nouvelle-Calédonie pour s'affranchir du transport des espèces vivantes jusqu'en métropole, ou bien de l'utilisation biaisée d'espèces non autochtones à la Nouvelle-Calédonie. Les pêches ont été réalisées avec l'aide du bureau d'étude BioKo, la manipulation s'est déroulée à l'aquarium des lagons de la Nouvelle-Calédonie, et la contamination du biofilm s'est effectuée au sein du laboratoire ex-PPME (ISEA). Les échantillons ont été rapportés en métropole, soit séchés, soit en solution de lugol selon les analyses.

Les analyses de bioaccumulation de Ni ont été réalisées à la station marine d'Arcachon et la caractérisation du biofilm par le bureau d'études Asconit. Cette expérimentation a été réalisée par Julie Bellec, au cours d'un stage long de 6 mois de Master (mémoire de stage joint).

Une seconde expérimentation a ensuite été menée en février 2018, également en Nouvelle-Calédonie, mais selon un protocole expérimental différent suite aux résultats obtenus lors de la première expérimentation. Il a été étudié le transfert trophique du Ni contenu dans un biofilm provenant d'un site naturellement impacté par l'activité minière et donc contaminé également par les autres métaux (Cr, Co, Mn et Fe). L'expérimentation menée avec les mêmes poissons que ceux utilisés précédemment (*Awaous guamensis*) a ainsi conduit à l'ingestion d'un biofilm naturel développé sur des galets qui ont été ramenés à l'Aquarium de Nouvelle-Calédonie où a été menée l'expérience. Les galets provenaient ainsi de deux hydrosystèmes contrastés : la rivière Taléa-Coco, considérée comme un hydrosystème collecteur d'un bassin versant impacté par les activités minières, et la rivière Carénage, en tant que cours d'eau appartenant à un bassin ultramafique sans activité minière. Le biofilm développé sur ces galets est donc considéré comme plus mûre que celui utilisé lors de la première expérience qui a été développé sur lames de verre.

4.3.2. MÉTHODES

4.3.2.1. Première expérimentation (Février 2017)

Du biofilm naturel a été mis à coloniser dans une rivière sur bassin versant ultramafique non impacté par les activités minières (rivière Carénage, 22°18'01.9"S 166°50'10.2"E, Figure 19) au cours du mois de Janvier durant une période de 3 semaines. Une quinzaine de cages perforées contenant chacune 54 lames de microscopes ont ainsi été introduites en rivière (Figure 63).



Figure 63 : **Cages perforées contenant 54 lames de microscope vierges pour colonisation du biofilm en milieu naturel, puis après 3 semaines de colonisation sur le terrain**

Les lames colonisées ont ensuite été récupérées dans des boîtes de rangement percées et placées dans une grande glacière contenant de l'eau de la rivière pour stockage au laboratoire à température constante (18°C), sous aération permanente et à l'obscurité durant toute la durée de l'expérience. L'eau a été renouvelée par de l'eau de rivière toutes les semaines.

En parallèle, 70 lochons adultes ont été prélevés *in situ* dans plusieurs rivières situées sur bassin non impacté par l'activité minière : la Fonwhary principalement (21°42'21.8"S

165°48'13.3"E), la rivière des Carénages (22°18'01.9"S 166°50'10.2"E) et la Ouaménie (21°51'27.6"S 165°58'06.8"E) (Figure 64).



Figure 64 : **Sites de collecte des *Awaous guamensis* par pêche électrique**

Les poissons ont été placés à l'Aquarium pour acclimatation avant expérimentation durant 2 semaines. Un traitement préalable avec du Dimilin a été nécessaire en raison de la présence de vers ancreurs (*Lernaea elegans*).

Le biofilm colonisé *in situ* a ensuite été contaminé au laboratoire à l'aide du rotagit (Figure 65) durant 48h au Ni à 3 conditions de contamination :

- Témoins = 10 µg/L de Ni (= bruit de fond géochimique)
- C1 = 50 µg/L de Ni
- C2 = 250 µg/L de Ni



Figure 65 : **Rotagit, système permettant l'homogénéisation de la contamination du biofilm développé sur lames de verre (rotation lente à raison de 5 tours par minute)**

Dix lames Témoins, 10 lames C1 et 10 lames C2, ont été données à brouter aux poissons, à raison de 5 réplicats et deux temps de prélèvement par condition (7 et 21 jours). Cinq autres lames de chaque condition ont été utilisées pour la mesure de la biomasse et de la contamination en Ni du biofilm avant broutage par les poissons. Au total, 45 lames ont été mises à contaminer à T-2 jours avant le début de l'expérience de contamination trophique des poissons.

De nouvelles lames ont également été contaminées selon le même procédé chaque jour jusqu'au T5 jours. Ensuite seule une pression de contamination des lames à la concentration témoin a été effectuée jusqu'à T19 jours (48h avant la fin de l'expérience).

Après acclimatation, 35 poissons ont été isolés individuellement dans des unités expérimentales, contenant chacune 1 L d'eau déchlorée, afin de les nourrir séparément (Figure 66).



Figure 66 : **Disposition des poissons dans les unités expérimentales**

Les poissons ont ainsi été exposés individuellement par broutage de biofilm (voie trophique) aux 3 conditions d'exposition à raison d'une lame de biofilm par poisson et par jour. Cinq réplicats indépendants par condition ont été prévus. La température de l'eau a été maintenue entre 25 et 26,5°C au cours de l'expérience et l'éclairage est resté naturel. La première phase de contamination de 7 jours a été suivie d'une période de dépuración de 14 jours (Figure 67).

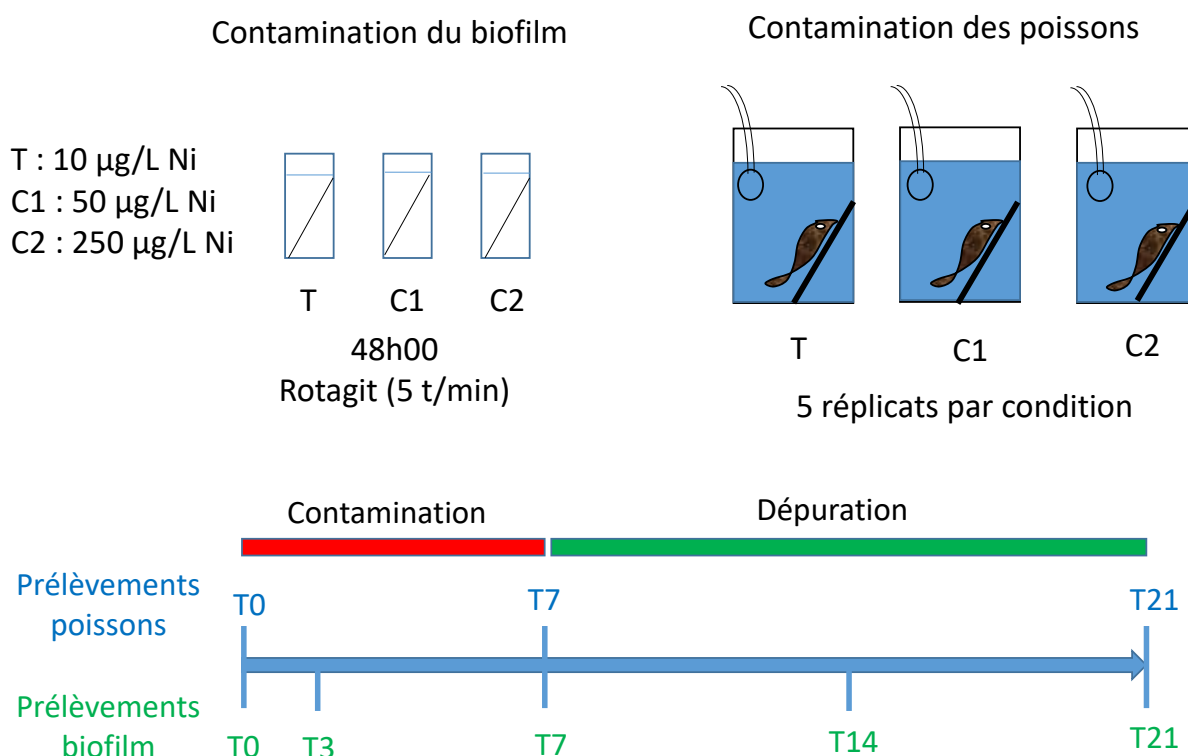


Figure 67 : **Protocole expérimental de contamination trophique d'un poisson brouteur, le lochon, après exposition du biofilm naturel au Ni**

Le biofilm préalablement contaminé ou non a été prélevé aux temps T0, T3, T7, T14 et T21 avant/après broutage pour numération, comptage des diatomées vivantes/mortes, identification des espèces (avant broutage seulement) et dosage du Ni.

Une analyse de la matière sèche sans cendre a également été menée, à partir de 54 lames de biofilms raclées et filtrées par groupe de 9 de manière à obtenir 6 réplicats d'analyse.

Les poissons ont été prélevés aux temps T0, T7 et T21 pour dosage du Ni dans les branchies, le foie et le muscle. Le tube digestif a également été prélevé pour analyse des diatomées présentes à T7 et T21.

4.3.2.2. Deuxième expérimentation (Février 2018)

Pour cette deuxième expérimentation, 50 galets recouverts de biofilm ont été récoltés dans les rivières Taléa-Coco (site sous influence minière) et Carénage (non impacté par l'activité minière, Figure 64), les deux étant situées sur bassin ultramafique. Les galets ont ensuite été transportés dans des glacières remplies d'eau de la rivière pour les transférer à l'aquarium de Nouméa. Une fois sur place, ils ont été introduits dans deux bacs contenant de l'eau douce filtrée provenant du réseau de l'aquarium de Nouméa et oxygénée pour les deux conditions d'exposition.

Environ 70 *A. guamensis* ont été pêchés par pêche électrique dans la rivière Fonwhary située dans une zone volcano-sédimentaire indemne de toute influence minière (Figure 64). Pendant le transport, un bulleur est placé dans les glacières pour oxygéner l'eau. Les poissons ont ensuite été transférés à l'aquarium des lagons de Nouméa où 35 individus de la même gamme de taille ont été sélectionnés pour l'expérience et placés dans un bac aéré pour une acclimatation pendant une semaine.

Une fois acclimatés, 15 poissons ont été introduits dans chaque bac (Figure 68) contenant les galets colonisés de biofilm provenant soit de la rivière non impactée, Carénage (condition C0), soit de la rivière sous influence minière, Taléa (condition C1).



Figure 68 : Aquariums contenant les galets de la rivière Carénage C0 (droite) et de la rivière Taléa C1 (gauche)

L'expérimentation a duré 21 jours et les poissons ont été échantillonnés à T0, T7, T14 et T21 jours. Pendant l'expérimentation, l'eau des aquariums a été prélevée tous les deux jours afin de vérifier le relargage éventuel de métaux dans la colonne d'eau provenant du biofilm colonisant les galets. L'eau a également été renouvelée tous les deux jours. Les analyses de Ni dans l'eau ont été effectuées à l'IRD de Nouméa par ICP-MS.

Les biofilms développés sur les galets ont été prélevés sur filtres (filtres GH Polypro pour les analyses de bioaccumulation et GF/C pour les mesures de MSSC) pour chaque condition aux temps T0, T7, T14 et T21 jours. La bioaccumulation totale et la MSSC ont été mesurées, et la bioaccumulation intracellulaire a été déterminée à T0 et T21, pour les deux conditions d'exposition.

Au temps T0, 5 poissons dans le bac d'acclimatation ont été prélevés puis disséqués. Puis, dans chaque bac, 5 poissons ont été prélevés aux temps T7, T14 et T21 jours. Au temps T21, seulement 4 poissons ont été disséqués dans la condition de contamination car il y a eu 1 mort dans ce bac. Les poissons ont été mesurés et pesés après les avoir endormis dans de la glace. Les branchies, le foie, l'intestin, les muscles et le rein si possible ont été disséqués et mis à sécher à l'étuve à 50°C pendant 48h, avant analyse des métaux à la station marine d'Arcachon.

Un aliquot d'échantillon de foie a également été prélevé lorsque le foie était assez gros, et introduit dans un tube contenant 500µL de RNA later. Ce tube a été conservé à 4°C pendant 24h puis congelé jusqu'au transport au laboratoire à Arcachon pour analyses de biologie moléculaire. Ces prélèvements ont été menés dans le but de rechercher et analyser quelques gènes caractéristiques d'une contamination métallique chez le lochon blanc par PCR quantitative.

4.3.3. RÉSULTATS

4.3.3.1. Première expérimentation (Février 2017)

4.3.3.1.1. Analyse dans l'eau

L'eau de l'aquarium des lagons de Nouvelle-Calédonie alimentant les unités a été analysée avant la mise en place de l'expérimentation pour en connaître sa teneur totale en Ni. Celle-ci était de 0,88 µg/L. Durant l'expérience, un suivi des concentrations de Ni dans l'eau a été mené après 6, 9, 15 et 20 jours (Figure 69).

Les résultats de ce suivi montrent la présence de Ni dans l'eau de toutes les conditions d'exposition, y compris dans les Témoins. Ceci peut être dû à l'apport minime d'eau contaminée lors de l'introduction des lames dans les unités expérimentales mais également à du Ni relargué lors du broutage des biofilms par les poissons. Malgré un changement d'eau quasi-total de chaque unité expérimentale tous les 2 jours, nous constatons une augmentation du Ni au cours du temps notamment jusqu'à T9 jours pour la condition C2. Ces concentrations diminuent par la suite au cours de la phase de dépuración. Aucune différence significative n'apparaît par contre entre les conditions témoins et C1, ni avec la C2 en début et fin d'expérience.

Nous ne pouvons donc pas ignorer une contamination des poissons par la voie directe (Ni dissous dans l'eau), en plus de la contamination trophique par l'ingestion de biofilms contaminés.

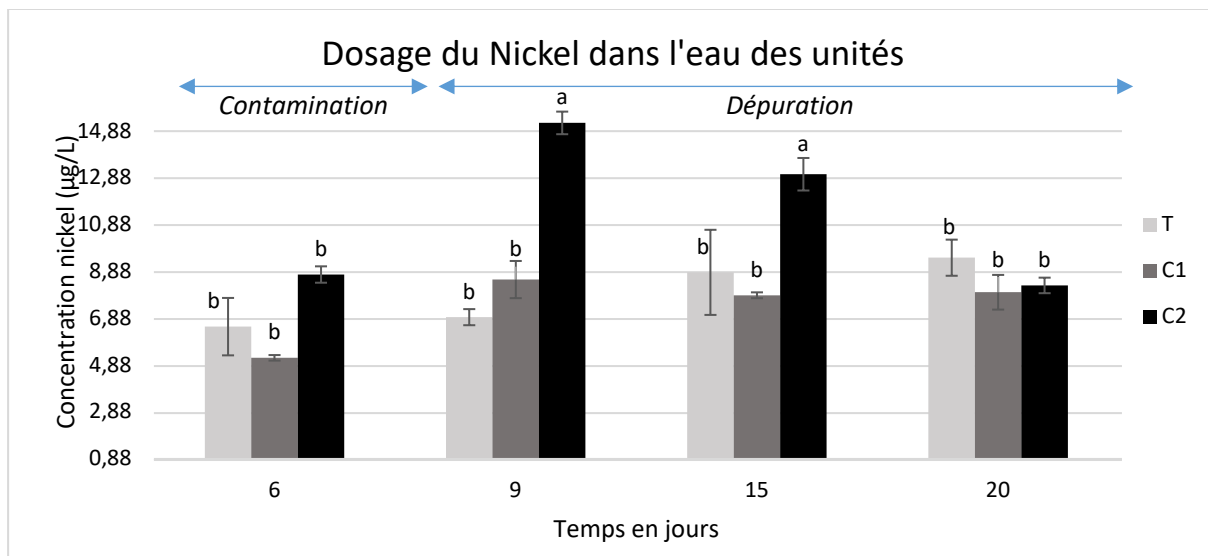


Figure 69 : Concentrations de nickel (en µg/L) dans l'eau des unités expérimentales selon la condition (T = 10 µg/L, C1 = 50 µg/L et C2 = 250 µg/L) au cours du temps (en jours)

(moyennes ± écart-types, n = 5). Les lettres différentes indiquent des différences significatives entre conditions ($\alpha = 0.05$)

4.3.3.1.2. Analyse du Ni dans le biofilm

Tout d'abord, grâce à l'analyse de la matière sèche sans cendre, il a été estimé la part organique du biofilm. Celle-ci est en moyenne de 37%. Cela traduit la présence d'une part importante de matière inorganique (63%) associée au biofilm. Cette fraction est capable de complexer fortement le nickel, mais elle est peu nutritive pour les poissons et probablement non assimilable. Ce pourcentage est proche de celui mesuré dans les biofilms prélevés directement sur le terrain (voir paragraphe 4.2.2.1.1.).

Les résultats de bioaccumulation de Ni dans le biofilm ne révèlent pas de différences significatives de contamination du biofilm au bout de 7 jours entre les conditions de contamination, ni au cours du temps (Figure 70). Ces résultats peuvent être expliqués par plusieurs phénomènes :

- une très grande variabilité dans la contamination du biofilm observée entre les réplicats qui ne permet pas de mettre en évidence de différences significatives entre les conditions, malgré des valeurs moyennes variant de 4500 mg/kg à T0 entre les conditions Témoins et C2,
- la contamination du biofilm au bout de 48h de pression serait complètement masquée par la présence initiale de Ni. En effet, la quantité estimée de Ni, apportée dans les conditions Témoins lors de la contamination du biofilm, est de 0,4 µg de Ni par lame (nous avons apporté 10 µg/L dans 40 mL pour une seule lame). Or, les valeurs de Ni dans les biofilms Témoins sont de l'ordre de 4500 mg/kg en moyenne, pour une biomasse de 1 mg de biofilm, ce qui représente 4,5 µg de Ni par lame. Ainsi, si nous supposons une bioaccumulation totale du Ni par nos biofilms, nous avons déjà initialement 4,1 µg de Ni sur chaque lame. Lors des contaminations des conditions C1 et C2, nous avons respectivement ajouté 2 et 10 µg de Ni supplémentaire, ce qui n'est pourtant visible ni pour la C1, ni pour la C2 en termes de bioaccumulation. Le Ni apporté dans nos conditions expérimentales n'a donc pas été totalement adsorbé/accumulé par le biofilm. Ce dernier point peut expliquer les fortes variations observées entre les réplicats.

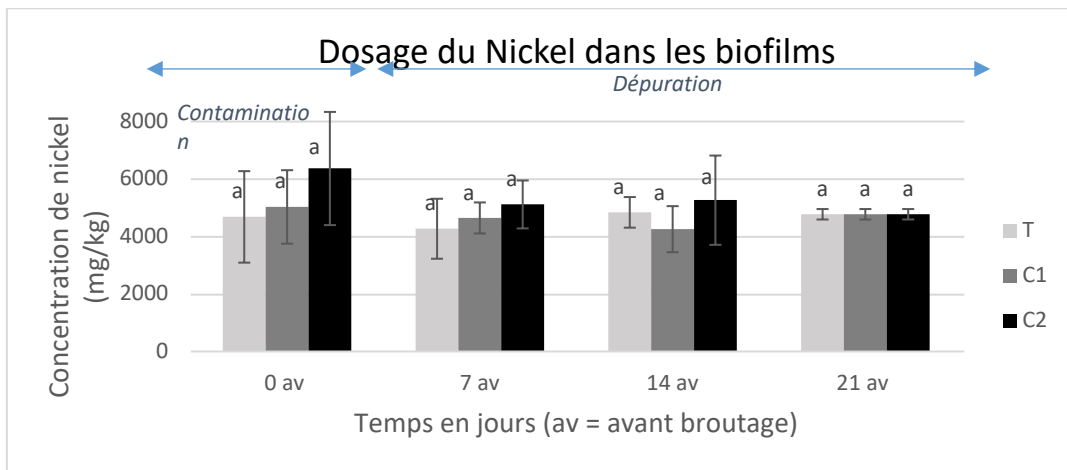


Figure 70 : Concentrations de nickel (en mg/kg, PS) dans les biofilms selon la condition (T = 10 µg/L, C1 = 50 µg/L et C2 = 250 µg/L) au cours du temps (en jours)

(moyennes ± écart-types, n = 5), avant broutage par les poissons (av). Les lettres différentes indiquent des différences significatives entre conditions (α = 0.05)

4.3.3.1.3. Broutage des biofilms par les poissons

Un élément important concernant l'expérimentation de transfert trophique de Ni lors de notre expérience est la vérification de l'intensité du broutage exercée par les poissons sur le biofilm.

Concernant les valeurs avant broutage, il n'apparaît pas d'effet contamination, ni d'effet temps sur le poids du biofilm, ce qui permet de montrer que le biofilm ne s'est pas dégradé au cours du temps lors de sa conservation en laboratoire (Figure 71). Cela met également en évidence que la contamination n'a pas eu d'impact sur la biomasse après 48h d'exposition. Notons toutefois comme pour le graphe précédent, une grande variabilité dans les données. Grâce à la différence moyenne de biomasse mesurée avant puis après broutage, nous observons une différence significative ($p \text{ value} = 8,852 \cdot 10^{-7}$), sur la durée de l'expérience, démontrant que les poissons ont consommé le biofilm, malgré le stress d'un milieu nouveau. Les témoins passent ainsi en moyenne de 0,88 à 0,44 mg, la condition 1 de 0,95 à 0,42 mg, et la condition 2 de 0,80 à 0,28 mg, ce qui donne une différence moyenne de 0,50 mg de biofilm avant/après broutage. Les poissons ont donc bien ingéré le biofilm durant toute l'expérimentation, à hauteur de 57% en moyenne de la quantité apportée.

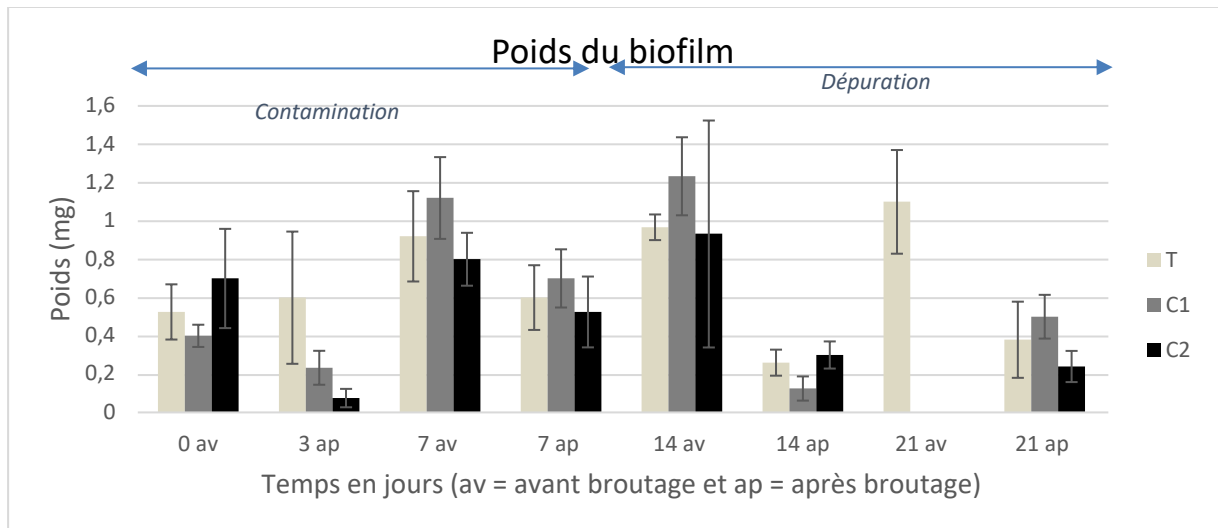


Figure 71 : Poids (en mg) des biofilms avant/après broutage selon les conditions (T = 10 µg/L, C1 = 50 µg/L et C2 = 250 µg/L) au cours du temps (en jours) (moyennes ± écart-types, n = 5)

4.3.3.1.4. Transfert du Ni dans les poissons

○ Évolution du poids des poissons durant l'expérience

Au cours de l'expérience de contamination (7j) puis de dépuración (14j), nous avons pu observer une diminution de l'indice hépato-somatique des poissons, indépendamment de la condition de contamination. Cela signifie une baisse des conditions physiologiques optimales de ces poissons durant l'expérience. En effet, nous avons constaté en parallèle une perte de poids des poissons (en moyenne de 7% après 7j et de 15% à 21j), ce qui signifie que la nourriture apportée aux poissons n'était pas suffisante pour les maintenir en bon état, malgré un broutage efficace du biofilm.

○ Bioaccumulation du Ni dans les organes

Les résultats de bioaccumulation du Ni mesuré dans les différents organes des poissons (foie, branchie et muscles) montrent une absence de bioaccumulation en fonction de la condition de contamination, notamment après 7j d'exposition dans le foie, les branchies ou le muscle (Figure 72). Cette absence de différence significative est en grande partie expliquée par l'absence de bioaccumulation du Ni par le biofilm après 48h d'exposition. En revanche, nous observons une accumulation progressive au cours du temps, qui est significative dans les branchies, mais pas dans le foie, ni dans les muscles, probablement en raison d'une trop forte variabilité des données. Cette augmentation des concentrations dans les branchies par rapport au T0 peut s'expliquer par la présence de Ni mesuré dans l'eau des unités expérimentales suite au broutage du biofilm par les poissons comme expliqué précédemment (Figure 69).

Comme observé sur le terrain, nous constatons au laboratoire une accumulation plus importante du Ni dans les branchies comparativement au foie, alors que le biofilm ingéré était extrêmement contaminé (en moyenne 4500 mg/kg, PS). Cela semble signifier une très faible biodisponibilité du Ni associé au biofilm contrairement au Ni dissous présent dans l'eau qui est efficacement absorbé par les branchies.

Enfin, nous confirmons l'observation faite *in situ*, c'est-à-dire une très faible accumulation de Ni dans les muscles du poisson, ne dépassant pas 0,7 mg/kg (PS).

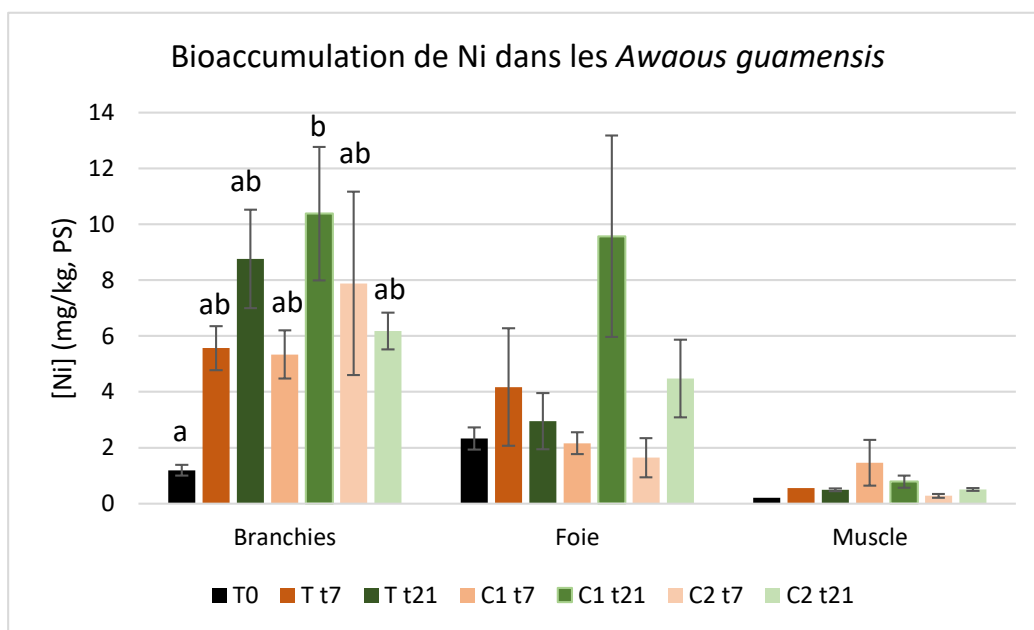


Figure 72 : Concentrations de nickel (en mg/kg, PS) dans les *Awaous guamensis* selon la condition (T = 10 µg/L, C1 = 50 µg/L et C2 = 250 µg/L) au cours du temps (T0, t7, t21)

(moyennes ± SEM, n = 3 à 5). Les lettres différentes indiquent des différences significatives entre conditions ($\alpha = 0.05$) pour les branchies. Aucune différence significative n'apparaît pour le foie et les muscles.

4.3.3.1.5. Analyse des communautés de diatomées du biofilm issues des prélèvements durant le transfert trophique de Ni

Deux types d'analyses de comptages cellulaires de diatomées ont été effectués sur les biofilms issus de l'expérimentation détaillée ci-dessus :

- Numérations de diatomées issues de lames de verre avant et après broyage par les poissons en expérimentation, en différenciant les cellules vivantes des mortes ;
- Numérations de diatomées dans les contenus stomacaux des poissons.

Les résultats présentés ci-dessous correspondent au traitement de l'ensemble des 5 réplicats collectés pour chaque condition expérimentale, excepté au temps T14 « Avant » qui ne compte que 3 réplicats : Témoin et concentrations C1 et C2. L'ensemble des données de numérations cellulaires est disponible en annexe 10.

○ Protocole

Le même protocole de comptage que celui décrit précédemment a été mis en œuvre pour les échantillons issus de l'expérience en microcosmes que ce soit pour les échantillons de biofilm issus des lames de verre ou ceux du contenu digestif des poissons.

○ Effort de comptage

L'« effort de comptage » correspond au nombre de colonnes de la cellule de Nageotte dans lesquels les diatomées sont dénombrées pour chaque réplicat à chaque condition expérimentale. Il est important de déterminer l'incidence du nombre de colonnes comptées

sur le nombre de diatomées dénombrées afin de déterminer un nombre de colonnes minimal à considérer pour obtenir une bonne représentativité.

La figure 73 illustre l'effort de comptage effectué sur l'ensemble des échantillons analysés issus de l'expérience de transfert trophique menée au premier semestre 2017. Le nombre de colonnes prises en compte sur la cellule de Nageotte varie de 12 à 60 et le nombre de diatomées comptées varie de 0 à 926. On peut observer que le nombre de colonnes champs comptés n'influe pas forcément sur le nombre de diatomées comptées qui dépend plutôt de la concentration en cellules diatomiques de l'échantillon.

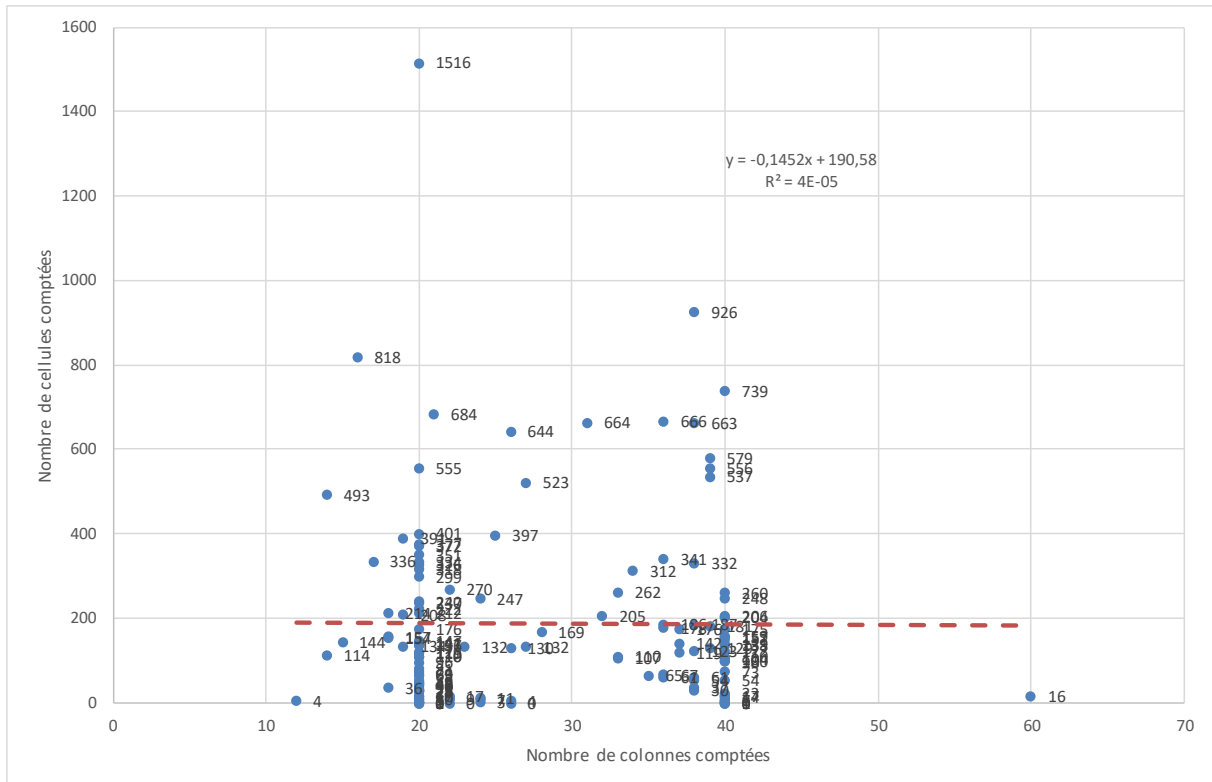


Figure 73 : Illustration de l'effort de comptage des cellules au sein de la cellule de Nageotte et mise en évidence de l'indépendance du nombre de champs pris en compte et du nombre de diatomées comptées par la droite de régression (tirets rouges).

D'après la figure 73, on observe que le nombre de colonnes pris en compte varie de 12 à 60 et que le nombre de cellules comptées par réplicat varie de 0 à 1516. La répartition des données ne semble pas montrer de corrélation entre le nombre de colonnes comptées et le nombre de cellules dénombrées. Ainsi, le nombre de colonnes prises en compte lors de l'étude, avec un minimum de 12 colonnes, ne semble pas affecter significativement la numération cellulaire. Cela est confirmé par la droite de régression dont la pente est presque nulle (-0,1452) et dont le coefficient de corrélation (R^2) est infime ($4 \cdot 10^{-5}$), assurant ainsi que les résultats de dénombrements cellulaires sont bien liés à la concentration cellulaire de l'échantillon plutôt qu'à un biais du protocole.

○ Résultats de la densité cellulaire

La Figure 74 présente l'évolution des moyennes de densités cellulaires estimées au sein du biofilm et du contenu stomacal des poissons au cours du temps et à différents degrés d'exposition de contamination au Ni.

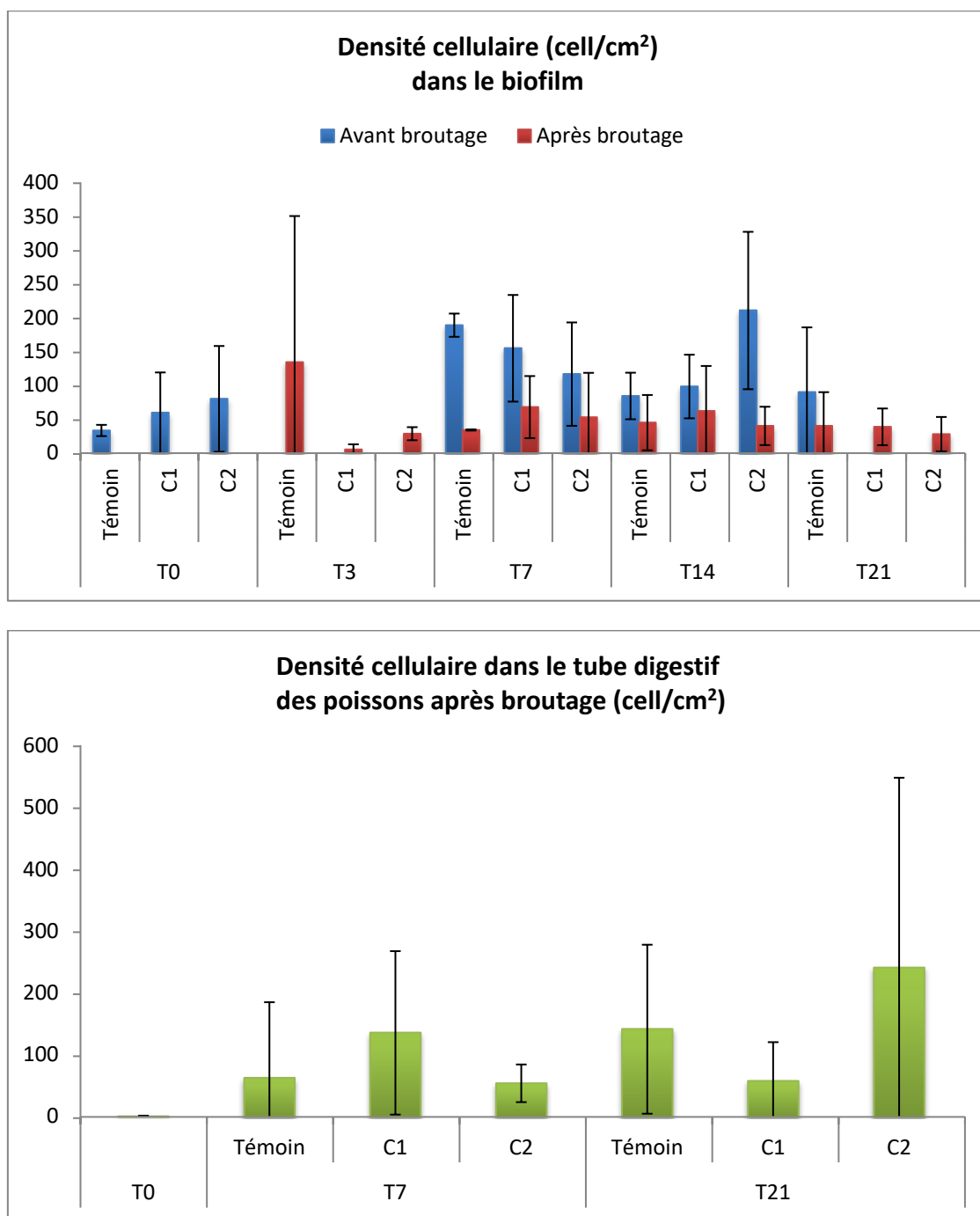


Figure 74 : Évolution de la densité cellulaire du biofilm et du contenu digestif des poissons au cours du temps, avant et après broyage et selon 3 concentrations de contaminant (moyennes ± SEM, n = 3 à 5).

Outre les variations importantes inter-réplicats, même les valeurs les plus fortes rencontrées restent faibles, bien que du même ordre de grandeur que celles observées sur le terrain.

Aucune évolution significative de la densité cellulaire avant broutage n'est constatée selon les 3 conditions de contamination. La densité cellulaire observée avant broutage semble donc indépendante de l'intensité de contamination par le nickel.

En revanche, l'évolution générale de la densité cellulaire au sein du biofilm, pour les 3 conditions expérimentales (Témoin, C1 et C2), montre une baisse significative ($p < 1\%$) de la densité cellulaire suite à l'activité de broutage (excepté en condition Témoin entre T0 et T3). La densité cellulaire aux conditions C1 et C2 n'a pas été évaluée avant le broutage au temps T21.

Malgré une forte variabilité des mesures de densité inter-réplicats rendant incertaines des comparaisons entre les différentes conditions, les résultats obtenus mettent en évidence une activité de broutage efficace, responsable de la diminution de la densité cellulaire.

En ce qui concerne les profils de densité cellulaire des contenus digestifs, la condition Témoin est évaluée 3 fois : à T0 puis à T7 et T21 après broutage. Ces 2 derniers stades sont aussi analysés aux conditions C1 et C2. On remarque pour la condition Témoin une hausse continue de la densité cellulaire qui au départ est quasi nulle, indiquant une période de jeûn en début d'expérience. Au temps intermédiaire, T7 après broutage la densité cellulaire pour les 3 conditions est sensiblement la même, compte tenu de la dispersion des données. A l'instar de la condition Témoin, elle augmente ensuite au temps T21 pour la condition C2. En revanche, elle diminue sensiblement pour la condition C1. Aucune différence significative de la densité cellulaire des contenus digestifs après broutage n'est observée en fonction des 3 conditions de contamination.

La hausse continue de la densité cellulaire des contenus digestifs d conditions Témoin et C2 peut indiquer que les poissons ne sont pas rassasiés et continuent d'absorber de la nourriture quelle que soit la condition de contamination.

Malgré l'hétérogénéité des données des réplicats, les résultats obtenus par l'étude de la densité cellulaire des biofilms comme des contenus digestifs sont cohérents et ne révèlent pas d'effet des contaminants sur la croissance du biofilm comme sur sa consommation par les poissons. Ce constat montrerait donc que la contamination métallique de la chaîne alimentaire peut se faire par le biofilm et ce consommateur primaire puisque ce maillon est maintenu même en condition contaminée.

○ Pourcentage relatif cellules mortes/cellules vivantes

Le pourcentage relatif entre les cellules mortes et les cellules vivantes est un indicateur de l'état de santé de la communauté diatomique prélevée. La figure 75 illustre le pourcentage de cellules vivantes au sein du biofilm selon les conditions expérimentales étudiées.

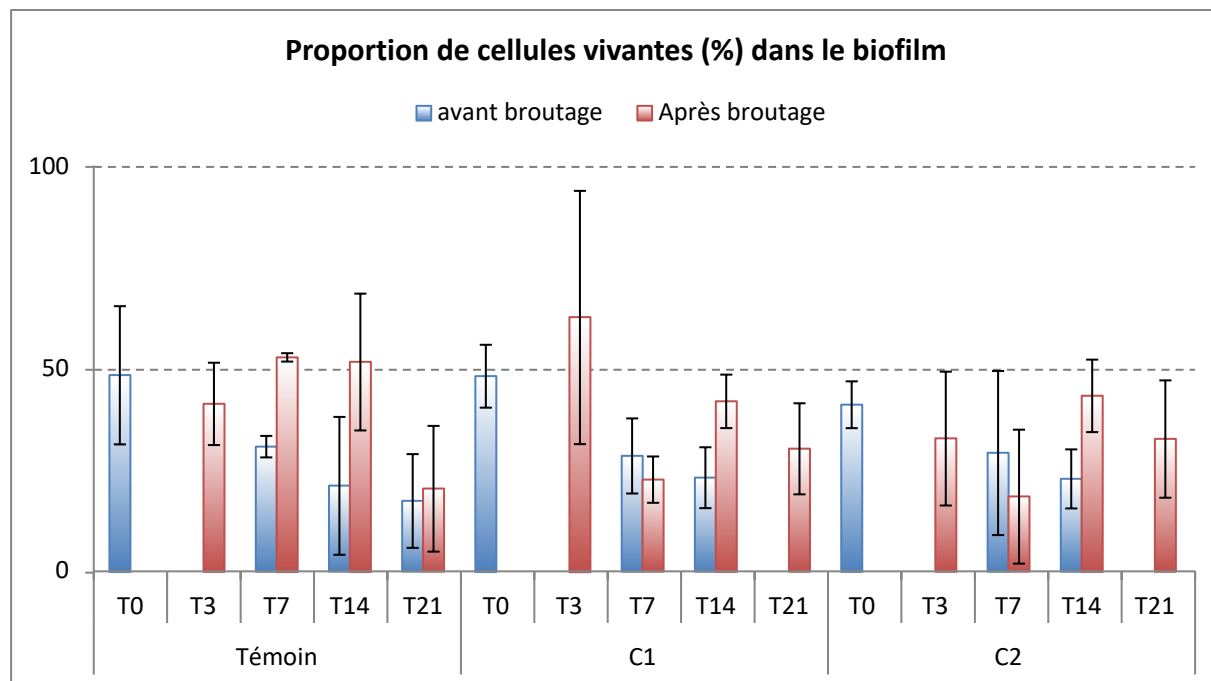


Figure 75 : **Évolution du pourcentage de cellules vivantes au cours du temps au sein du biofilm, avant et après broyage et selon 3 concentrations de contaminant (moyennes \pm SEM, n = 3 à 5).**

La proportion de cellules vivantes dans le contenu digestif des poissons n'a pas été représentée car le taux de mortalité des cellules est total quel que soit le traitement : Témoin, C1 et C2. Cela indique que lors du broyage, les cellules sont broyées et/ou digérées entièrement, sans effet des contaminants.

Au sein du biofilm, quelles que soient les conditions expérimentales, les communautés diatomiques semblent plutôt moribondes avec des valeurs de pourcentage de diatomées vivantes le plus souvent inférieures à 50 %, excepté après broyage aux temps T3 en condition C1 (63%) et T14 en condition Témoin (52%).

Le pourcentage de cellules vivantes du biofilm avant broyage décroît significativement ($p < 1\%$) au cours du temps indiquant ainsi que les conditions expérimentales ne sont pas optimales pour le bon développement des diatomées dans le biofilm, et ce, indifféremment des conditions de contamination.

Après broyage, la proportion de cellules vivantes évolue significativement au cours du temps ($p < 1\%$) ainsi que sous l'influence combinée du temps et du degré de contamination ($p < 5\%$). À T7, elle est parfois supérieure, parfois inférieure au pourcentage de cellules vivantes avant broyage en fonction des conditions de contamination et, à T14, elle est systématiquement plus élevée qu'avant broyage.

Le broyage a une influence significative ($p < 5\%$) sur la densité cellulaire dans les conditions témoin mais aucune influence significative dans les conditions de contamination C1 et C2.

Une consommation sélective des cellules mortes ne semble pas avantageuse d'un point de vue physiologique et ne peut expliquer l'augmentation de la densité cellulaire du biofilm

après broutage. Peut-être les cellules mortes sont-elles plus accessibles au sein du biofilm et, de ce fait, plus facilement consommées ? Une consommation sélective d'espèces de diatomées au sein du biofilm en fonction du port (prostré, érigé, pédiculé) des diatomées a déjà été montré chez certaines espèces de gobies du genre *Sicydium* (Monti et al. in press). L'évolution du biofilm dans ces conditions expérimentales pourraient s'accompagner de la prolifération d'espèces moins accessibles (au port prostré) alors que les diatomées plus accessibles (port érigé) meurent et sont facilement consommées.

En conclusion, chez les poissons, l'étude des abondances cellulaires et du taux de mortalité du biofilm des contenus stomacaux montre que le biofilm est ingéré et digéré sans effet notable des contaminants. En revanche, l'image d'un biofilm dynamique et résilient qui ressortait de l'analyse des abondances cellulaires est contrebalancée par l'étude de la mortalité cellulaire au sein de ce biofilm qui révèle une communauté plutôt moribonde et vraisemblablement en cours de mutation, et ce, quelle que soit la concentration en contaminant.

L'analyse des communautés diatomiques du biofilm lors du transfert trophique de Ni ne permet pas ici de mettre en évidence un effet différentiel des conditions de contamination sur les flores ni sur les comportements des poissons brouteurs.

4.3.3.2. Deuxième expérimentation (Février 2018)

Suite aux résultats de l'étude expérimentale précédente, ayant révélé d'une part une faible capacité d'accumulation du Ni après 48h00 d'exposition par le biofilm colonisé pendant 3 semaines en rivière sur lames de verre, et d'autre part la quasi absence de transfert trophique de ce métal chez les *Awaous guamensis* après 7j de contamination, nous avons décidé lors de cette deuxième expérience de privilégier l'utilisation d'un biofilm déjà naturellement contaminé *in situ*, provenant de galets récoltés sur deux rivières contrastées en terme d'activité minière. De plus, la durée d'exposition des poissons est passée de 7 à 21 jours.

4.3.3.2.1. Analyse de la MSSC et du nickel dans les biofilms

Le poids sec et la matière sèche sans cendre (MSSC) renseignent sur la proportion de matériel organique (composante vivante du biofilm) et de matériel inorganique. Nos analyses montrent que les biofilms utilisés lors de cette expérience contiennent une proportion majoritaire de matériel inorganique avec une moyenne égale à 76% (Figure 76), donc plus importante que lors de l'expérience précédente qui était de 63%. Cette part est peu nutritive pour les poissons et probablement non assimilable. La fraction organique (24%) tient compte des communautés des organismes unicellulaires présents dans le biofilm (microalgues, bactéries, champignons).

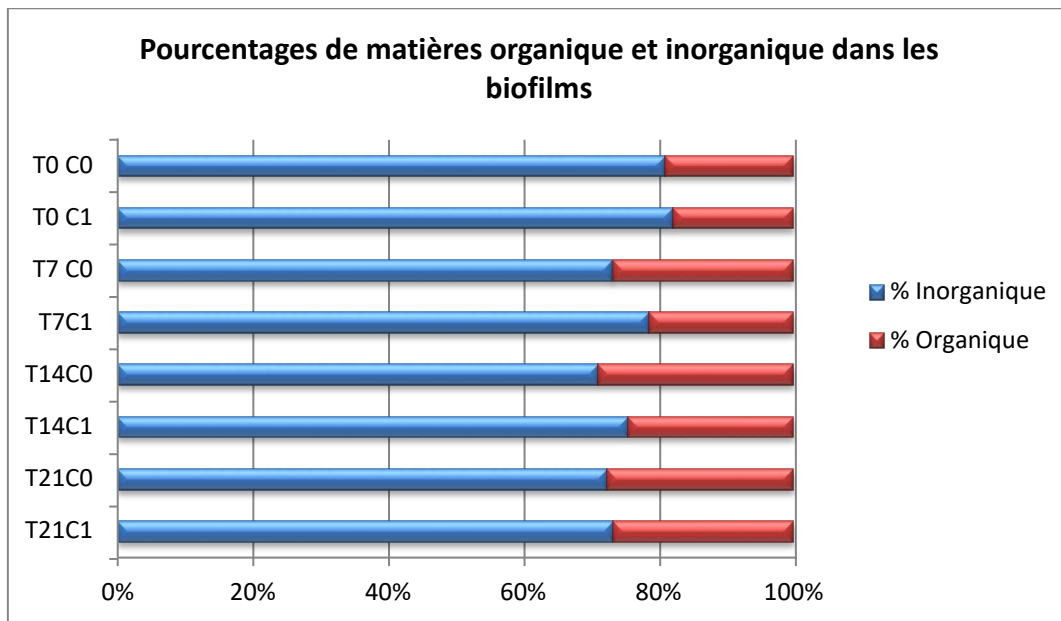


Figure 76 : **Pourcentage de matériel organique et inorganique dans les biofilms de chaque conditions C0 et C1 et à chaque temps de prélèvement.**

Les valeurs retrouvées ici sont en accord avec celles mesurées sur le terrain en Mai 2016 pour lesquelles les biofilms sur les galets étaient majoritairement composés de matériel minéral (66,7%). En moyenne, nous retrouvons plus de matériel inorganique dans la condition C1 (77%) que dans la condition C0 (74%), signe d'une quantité légèrement plus importante de matière minérale dans la condition C1. Lors du prélèvement des galets, nous avons aussi remarqué que le matériel développé sur les galets de la rivière contaminée était plus dense et très chargé en latérites, par rapport au matériel présent sur les galets de la rivière Carénage.

Concernant la bioaccumulation en nickel du biofilm des deux conditions d'expérimentation, nous observons une concentration en Ni significativement inférieure dans les biofilms de la condition C0 par rapport aux biofilms C1, excepté pour le temps T21 où la différence n'est plus significative (Figure 77). La concentration moyenne en nickel à T0 dans les biofilms récoltés dans la rivière Carénage (C0) est égale à 5 315 mg/kg, et 7 996 mg/kg (PS) dans les biofilms récoltés dans la rivière Taléa, soit une augmentation d'un facteur de 1,5 entre Carénage et Taléa. Au cours du temps, la concentration en Ni dans les biofilms contaminés diminue légèrement. Ceci peut être dû à un relargage de nickel dans l'eau.

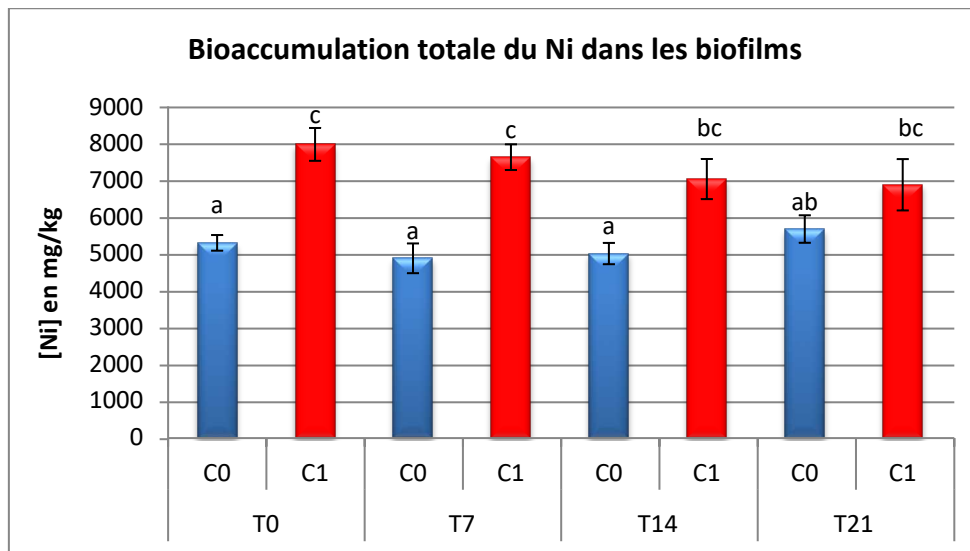


Figure 77 : Bioaccumulation totale en Ni (mg/kg, PS) dans les biofilms des conditions C0 et C1 au cours du temps (moyenne \pm SEM, n=3).

Les lettres différentes indiquent une différence significative (pvalue < 5%)

D'après les résultats des données de mai 2016 *in situ*, la concentration moyenne en nickel dans les biofilms de la rivière Taléa-Coco (bras gauche) sous influence directe de la mine s'élevait à 8 385 mg/kg. Cette valeur est proche de celle obtenue dans notre expérimentation (7 996 mg/kg). Cette légère diminution peut s'expliquer par la localisation du point de prélèvement dans notre étude plus en aval de la rivière, en dessous de la confluence de la rivière Taléa bras gauche et Taléa bras droit pour des raisons d'accessibilité au site. Le bras droit étant moins contaminé que le bras gauche, la concentration en nickel au niveau de la confluence des deux bras est donc un peu moins importante (dilution). Cette différence peut également s'expliquer par la période de prélèvement qui n'est pas tout à fait la même (février par rapport à mai).

D'autre part, nous pouvons remarquer une corrélation linéaire positive entre la concentration en Fer et la concentration en Ni dans les biofilms (Figure 78). Les droites de corrélation n'ont pas été tracées sur ce graphique pour une question de lisibilité mais nous obtenons les coefficients de corrélation suivants. Pour la condition C0 : T0 = 0,94 ; T7 = 0,42 ; T14 = 0,99 ; T21 = 0,89. Pour la condition C1 : T0 = 0,82 ; T7 = 0,86 ; T14 = 0,81 ; T21 = 0,94. Ainsi, plus la concentration en fer augmente dans les biofilms plus celle en nickel augmente également avec une proportion de Ni supérieure dans les biofilms C1 à celle des biofilms de la condition C0 pour une même concentration en Fe. Ceci reflète la géologie de l'environnement néo-calédonien riche en fer et nickel, principaux éléments des roches latéritiques.

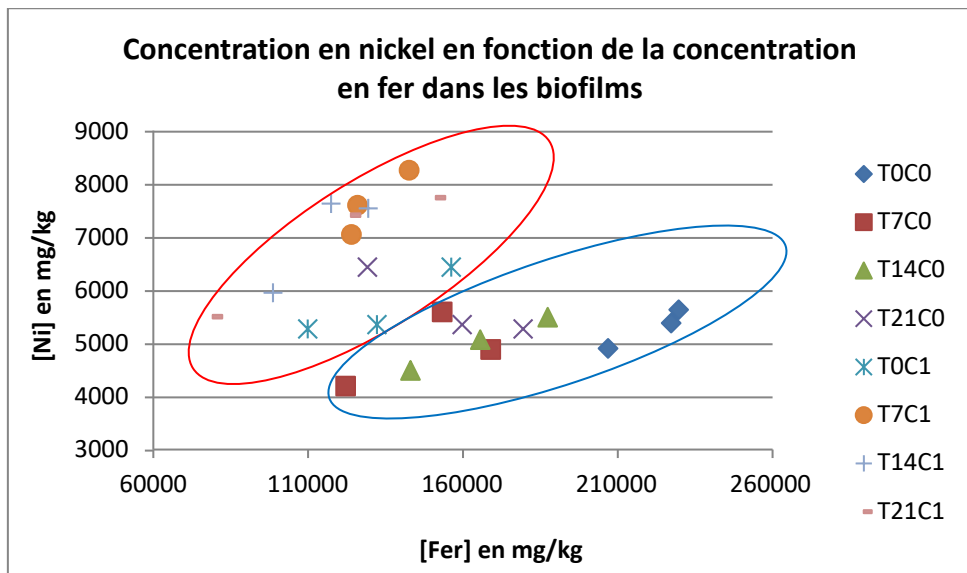


Figure 78 : Concentration en Ni (mg/kg, PS) en fonction de la concentration en Fer (mg/kg, PS) dans les biofilms

Les valeurs des concentrations en Ni, suite au traitement EDTA, de manière à déterminer la fraction intra-cellulaire de métaux contenue dans les biofilms, ne présentent pas de différence significative avec celles mesurées sans traitement (Figure 79). Il apparaît donc que ce métal est très faiblement mobilisable et donc fortement complexé dans la matrice. Le biofilm étant composé en grande partie de matière inorganique, le Ni est complexé majoritairement à celle-ci. La corrélation positive Fer-Nickel vue précédemment soutient cette hypothèse. D'autre part, la part organique du biofilm étant faible, alors que la concentration de Ni associée à la fraction inorganique est très élevée, la fraction intra-cellulaire du biofilm, même si présente, n'est pas révélée.

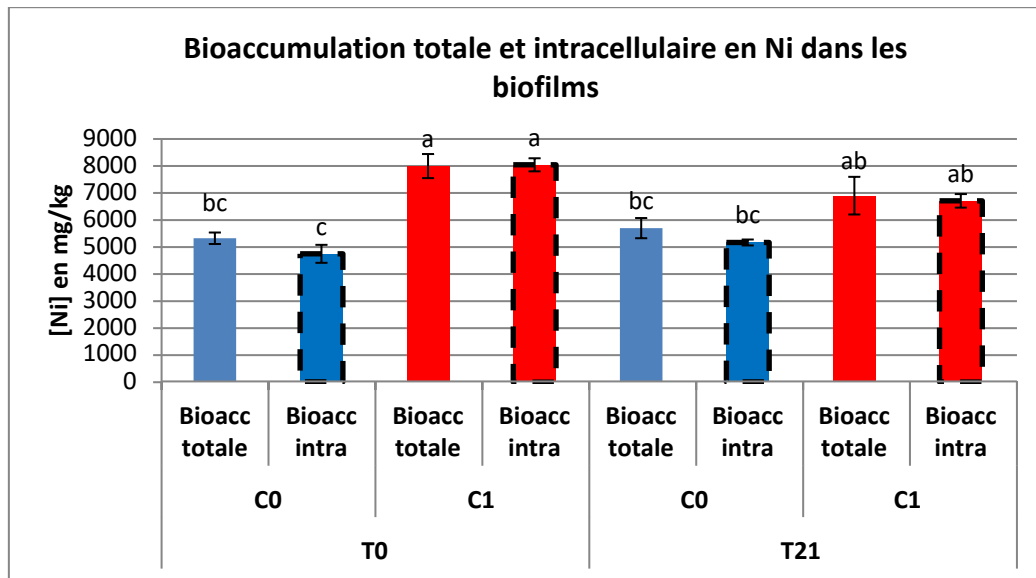


Figure 79 : Bioaccumulation totale et intracellulaire en Ni (mg/kg, PS) dans les biofilms

4.3.3.2.2. Analyse de l'évolution du biofilm dans les conditions expérimentales

L'analyse des communautés diatomiques du biofilm (densité cellulaire, proportion de cellules vivantes et inventaire floristique) aux 2 conditions de contaminations (Témoin et contaminée), en début et fin d'expérience (T0 et T21) a permis de mieux comprendre l'évolution du biofilm en condition expérimentale.

Les indices de diversité des communautés diatomiques sont sensiblement plus élevés au temps T0 en milieu Témoin qu'en milieu Contaminé avec respectivement 32 et 23 taxons recensés, et une abondance spécifique relativement équilibrée entre les espèces. Au temps T21, on observe une chute drastique de ces indices quel que soit le milieu considéré avec la disparition de plus de la moitié des taxons initialement présents et l'ultra dominance d'un seul taxon sur les autres.

L'analyse floristique a montré une évolution similaire des communautés entre les temps T0 et T21 quel que soit le milieu considéré, Témoin ou Contaminé. D'abord composé de taxons endémiques et inféodés aux substrats ultramafiques au temps T0, les communautés sont presque exclusivement composées d'une seule et même espèce au temps T21, *Sellaphora ruttneri* (Figure 80), considéré comme ubiquiste en zone tropicale (annexe 11).

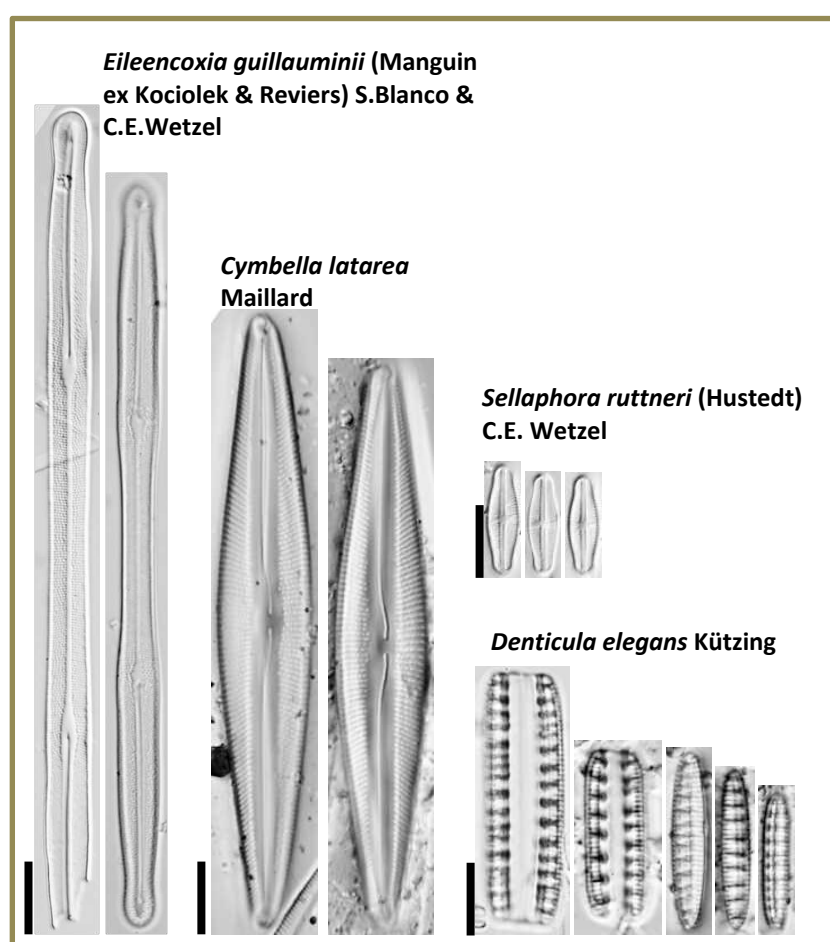


Figure 80 : Illustration de quelques taxons remarquables rencontrés lors de cette étude, barre d'échelle : 10 µm

L'expérience en mésocosme montre donc une dynamique de peuplement similaire sur 21 jours sans lien avec un effet du contaminant. Cette dynamique consiste en une dégradation des indices de diversité tendant vers un peuplement monospécifique composé par *Sellaphora ruttneri*, ce qui illustre les capacités opportunistes de ce taxon.

Il est d'ailleurs intéressant de constater que les taxons inventoriés au début de l'expérience sont des taxons relativement grands et qu'ils disparaissent au profit d'un taxon de petite taille. Chez les diatomées, il semble que les capacités reproductrices des petits taxons soient plus élevées que chez les grandes espèces. De plus, le taxon dominant en fin d'expérience est proche du groupe *Eolimna minima* sensu lato, connu pour ces dispositions opportunistes à l'échelle mondiale, et sa capacité de colonisation de nombreux milieux dont ceux impactés par des pollutions métalliques (e.g., Morin et al. 2008).

La densité cellulaire, augmente au cours des 3 semaines d'exposition au broutage et s'accompagne de l'augmentation de la proportion de cellules vivantes, plus marquée en condition contaminée. Il semblerait donc que dans les conditions de l'expérience, le peuplement diatomique évolue nettement vers la prolifération d'une espèce cosmopolite, *Sellaphora ruttneri*, vraisemblablement résistante aux conditions globales de l'expérience et vraisemblablement à la contamination métallique expérimentale.

4.3.3.2.3. Analyse du nickel dans l'eau des unités expérimentales

Les analyses des prélèvements d'eau des aquariums ont été réalisées par ICP-MS à l'IRD de Nouméa (Figure 81). La concentration en Ni du réseau de l'aquarium des lagons de Nouméa est égale à 0,88 µg/L.

Dans l'eau des aquariums (Figure 81-A), nous retrouvons une concentration en nickel total dans la condition C0 supérieure à la condition C1 tout au long de l'expérience (sauf à T0), signe d'un relargage de Ni plus important dans C0 que C1. Au temps T7, nous observons une hausse de la concentration en Ni total surtout dans la condition C1 suggérant un relargage de Ni plus important. A ce moment-là, une quantité importante de MES a été observée dans les deux bacs. De plus, nous remarquons une forte augmentation de Ni particulaire à T7 (Figure 81-B). C'est donc bien cet apport de MES qui explique l'augmentation du Ni total dans l'eau à T7.

En moyenne, l'eau du bac C0 contient plus de nickel dissous que l'eau du bac C1 (82% contre 60%, Figure 81-B). Le nickel présent dans les biofilms C0 a plus de facilité à passer en solution que celui des biofilms C1, avec une part plus importante de nickel en phase dissoute par rapport à la phase particulaire. Nous pouvons donc nous attendre à une accumulation plus grande du Ni notamment dans les branchies des poissons dans la condition C0 par rapport à C1. Néanmoins, la question de la biodisponibilité de ce Ni dissous se pose. En effet, dans la fraction inférieure à 0,45µm, qualifiée de manière conventionnelle comme la phase dissoute, il persiste des particules de diamètres inférieurs à ce vide de maille que l'on appelle colloïdes. Ces colloïdes piègent souvent une grande partie des métaux présents dans la fraction inférieure à 0,45µm. Les acides fulviques et les acides humiques par exemple sont des macromolécules possédant de nombreux sites de complexation et ils constituent des ligands naturels pour les ions métalliques en solution. La taille de ce complexe peut le rendre inapte à traverser les membranes des organismes vivants (Papp, 2011). Ceux-ci contribuent ainsi à diminuer la biodisponibilité des ETM pour les organismes aquatiques.

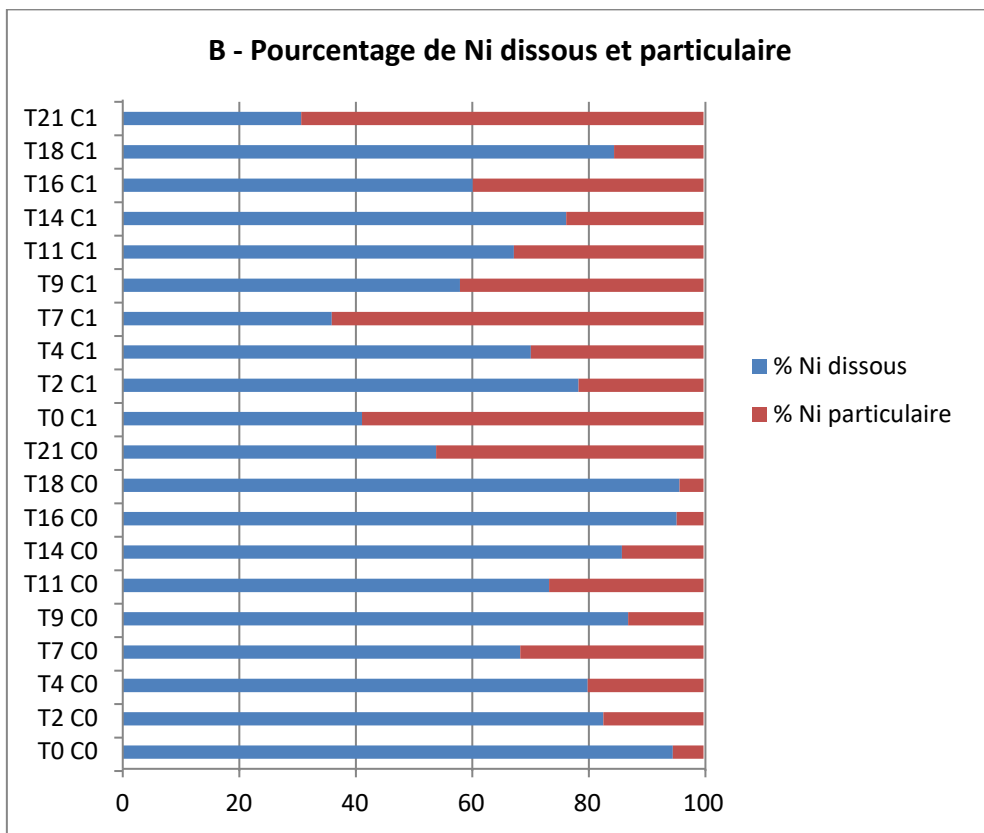
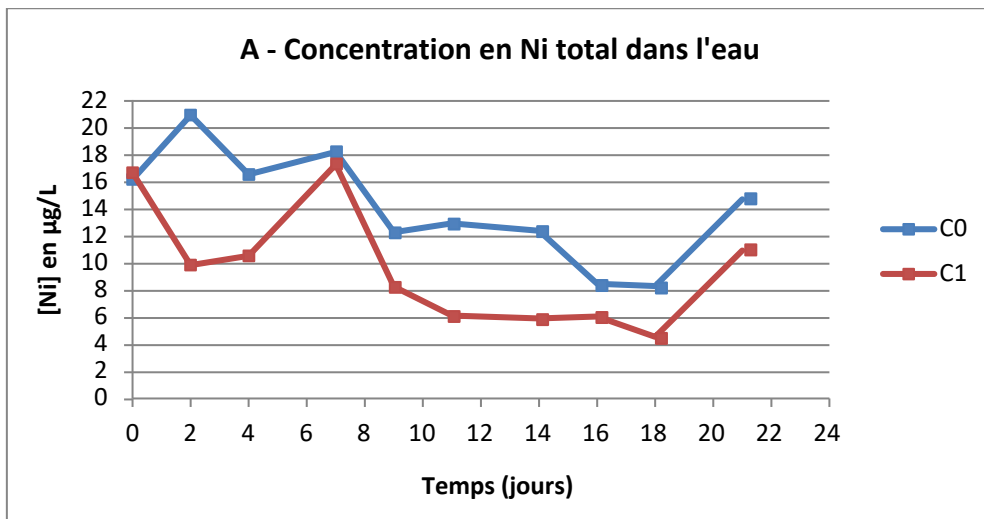


Figure 81 : Concentration en Ni total en µg/L dans l'eau des aquariums au cours du temps (A) et répartition du métal entre les fractions dissoute et particulaire (B)

4.3.3.2.4. Analyse du nickel dans les organes des poissons

○ État physiologique

Les poissons analysés mesuraient entre 7 et 13,5 cm de long et pesaient entre 3,08 et 20,65 g. Ces mesures ont permis de calculer l'indice de Fulton (Figure 82) dans le but d'avoir un premier aperçu de la condition physique des poissons avant l'analyse de la bioaccumulation.

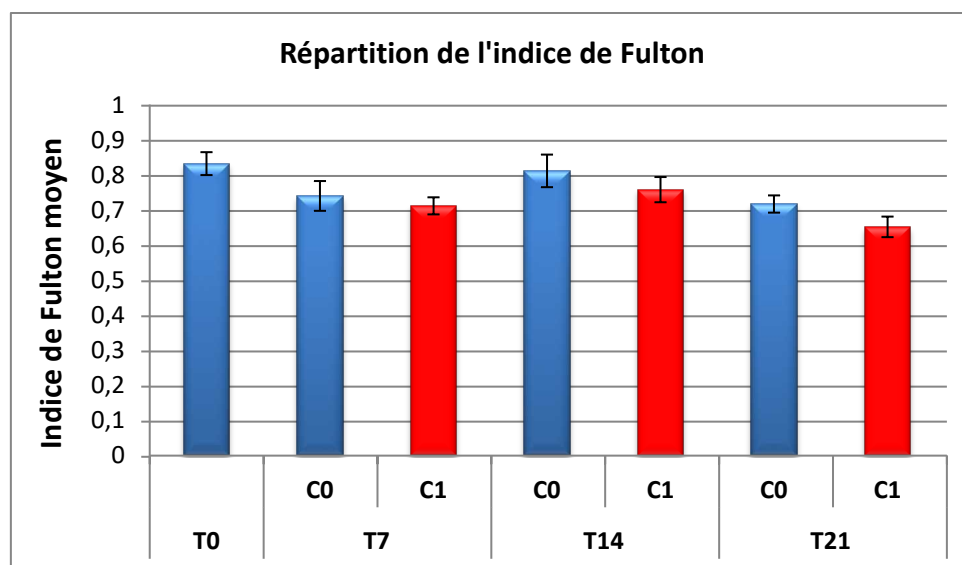


Figure 82 : Répartition de l'indice de Fulton des poissons des conditions C0 et C1 à chaque temps (moyenne ± SEM, n=5, à T21C1 : n=4)

Bien qu'aucune différence significative n'apparaisse entre les échantillons, nous pouvons voir que l'indice de Fulton est maximal pour les poissons à T0, n'ayant pas subi l'expérimentation (0,83). Aux temps T7, T14 et T21, l'indice de Fulton pour les poissons dans l'aquarium C0 est légèrement plus grand que celui des poissons dans le bac C1 et il est minimal au temps T21 pour la condition C1 (0,65). Nous pouvons donc suggérer que les conditions de l'expérience semblent provoquer un stress pour les poissons au cours du temps.

Ceci est en accord avec de précédentes études menées sur la truite arc en ciel (*Salmo gairdneri*). Elles montrent qu'une exposition aux métaux peut induire plusieurs troubles physiologiques comme la modification des glucides du foie, l'activité protéolytique du foie (action des enzymes qui brisent les liaisons peptidiques des protéines), les protéines totales du foie et l'acide sialique contenu dans les branchies (Arillo et al, 1982). Hughes et al (1979) ont également démontré la présence de lésions au niveau de la structure des branchies ce qui entraîne une diminution de la capacité du poisson à transférer l'oxygène de l'eau dans le sang. Au niveau biochimique, c'est l'hémoglobine qui achemine l'oxygène depuis les branchies jusqu'aux tissus. Avec la présence de Ni, l'hémoglobine ne semble plus jouer son rôle de transporteur d'oxygène. Une étude réalisée sur l'impact des métaux sur le métabolisme des anguilles (Javed et al, 2013) a montré qu'une exposition au nickel provoque des modifications biochimiques chez l'individu. Il subit une hyperglycémie, il a besoin d'énergie pour pallier le stress engendré par la contamination, ainsi qu'une diminution des activités enzymatiques qui contribuent à la synthèse du glycogène dans le foie. Tous ces phénomènes peuvent ainsi conduire à une diminution de l'embonpoint des poissons.

○ Analyse du nickel dans les branchies

L'analyse des résultats de la bioaccumulation en nickel dans les branchies des poissons montre que la concentration moyenne en nickel augmente de façon significative entre T0 et T7, quelle que soit la condition de contamination (Figure 83), puis se maintient jusqu'à la fin de l'expérimentation. Une légère tendance à la hausse est observée entre T7 et T21, dans les deux conditions.

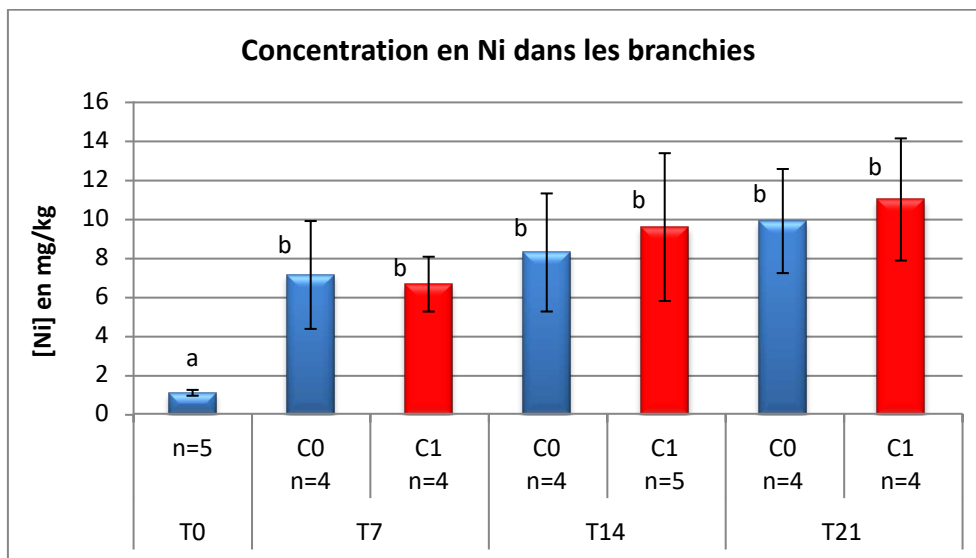


Figure 83 : Bioaccumulation en Ni (mg/kg) dans les branchies des poissons des conditions C0 et C1 au cours du temps (moyenne \pm SEM). Les lettres différentes indiquent une différence significative (p value < 5%)

La concentration en Ni des branchies passe de 1,08 mg/kg au temps T0 à 7,14 mg/kg au temps T7 pour C0 et 6,67 mg/kg pour C1. Puis augmente jusqu'à 10 mg/kg au T21 pour C0 et à 11 mg/kg pour C1. Nous observons donc une accumulation significative de Ni dans les branchies des poissons et ce quels que soient les niveaux d'exposition. Ce niveau d'accumulation dans les branchies peut être considéré comme relevant de l'exposition par voie directe (respiration branchiale) des poissons et donc de l'exposition au Ni dissous de la colonne d'eau. Il est intéressant de constater que malgré les différences observées entre les concentrations en Ni dissous des conditions C0 et C1 (concentrations plus importantes pour C0 que pour C1), nous n'observons pas de différences significatives entre les niveaux d'accumulation en Ni dans les branchies des poissons des deux conditions. En prenant l'exemple du temps T7, la concentration en nickel dissous dans l'eau du bac témoin était deux fois plus élevée que dans la condition contaminée (T7C0 : [Ni] dissous = 12,5 μ g/L et T7C1 : [Ni] dissous = 6,2 μ g/L). Cela montre que l'ensemble de la fraction dissoute du Ni n'est pas forcément biodisponible. En effet, celle-ci est constituée aussi d'une part de phase colloïdale qui est peu disponible. Cette phase colloïdale serait prépondérante dans la condition C0.

○ Analyse du nickel dans le foie

La concentration en nickel dans le foie des poissons ne présente pas de différence significative que ce soit en fonction du temps ou des conditions de contamination (Figure 84).

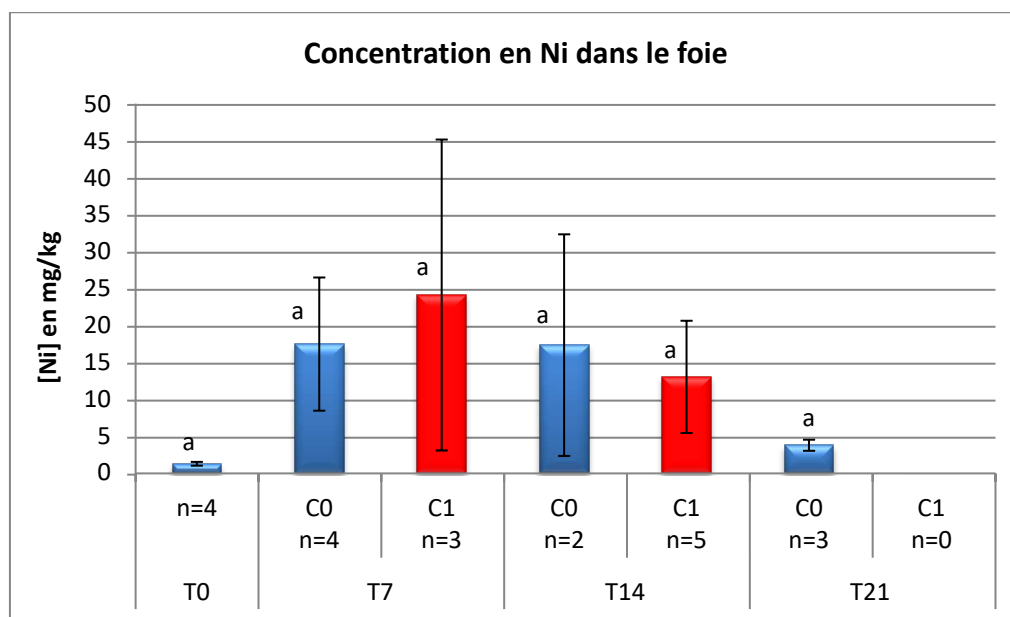


Figure 84 : **Bioaccumulation en Ni (mg/kg) dans le foie des poissons des conditions C0 et C1 au cours du temps (moyenne \pm SEM). Les lettres différentes indiquent une différence significative (pvalue < 5%)**

Nous observons néanmoins une augmentation de concentration en Ni de T0 à T7 dans les deux conditions d'exposition. Celle-ci est légèrement plus importante dans la condition C1 que dans la condition C0 (Ni = 17,58 mg/kg et Ni = 24,27 mg/kg, respectivement pour C0 et C1), bien que les deux concentrations ne soient pas significativement différentes (importante variabilité). Suite à cette augmentation observée entre T0 et T7, il est intéressant de constater qu'une tendance à la diminution des concentrations s'amorce entre T7 et T14, pour se poursuivre à T21, temps où les concentrations sont revenues proches de celles mesurées à T0 voire même inférieures à la limite de détection de l'appareil. Comme pour le temps T7, aucune différence significative n'est notée ni à T14 ni à T21 entre les concentrations mesurées dans les foies des poissons des conditions C0 et C1.

Ces résultats mettent en évidence :

- Une légère accumulation de Ni dans le foie des poissons dans les premiers temps de l'expérimentation. Cette accumulation peut résulter à la fois du nickel entré par la voie directe (via les branchies) et du nickel entré par la voie trophique ;
- Puis une tendance à une diminution d'accumulation en Ni dans le foie. Cette diminution soutient l'hypothèse que les mécanismes de régulation du métal se sont mis en œuvre pour épurer l'organisme. En effet, Couture et al., (2008) ont supposé l'existence d'un mécanisme de contrôle homéostatique pour le Ni dans le poisson d'eau douce *Perca flavescens*. Leurs résultats indiquent qu'il existe une influence de la concentration d'exposition en Ni (eau et régime alimentaire) mesurable mais modeste dans les concentrations en Ni présentes dans les tissus du foie et du rein. Les concentrations en Ni auxquelles les organismes étaient exposés variaient d'un facteur 100 entre la condition témoin et la condition contaminée. Les concentrations dans les tissus restaient néanmoins faibles (facteur de 10 dans le foie et facteur de 20 dans le rein entre la condition témoin et contaminée). Il apparaît donc que les

poissons provenant de régions contaminées auraient développé des capacités de régulation du nickel.

Ainsi, ces premiers résultats chez un poisson calédonien vivant dans des zones naturellement riches en Ni, semble mettre en avant l'existence d'un mécanisme de régulation dans le foie qui permet au poisson de s'adapter à l'augmentation en Ni de son environnement (eau ou nourriture).

● Analyse du nickel dans l'intestin

L'analyse de nickel dans l'intestin des poissons montre une bioaccumulation significative entre T0 et T7 signe d'une contamination des poissons suite à l'introduction des galets recouverts de biofilms riches en Ni dans les aquariums (Figure 85).

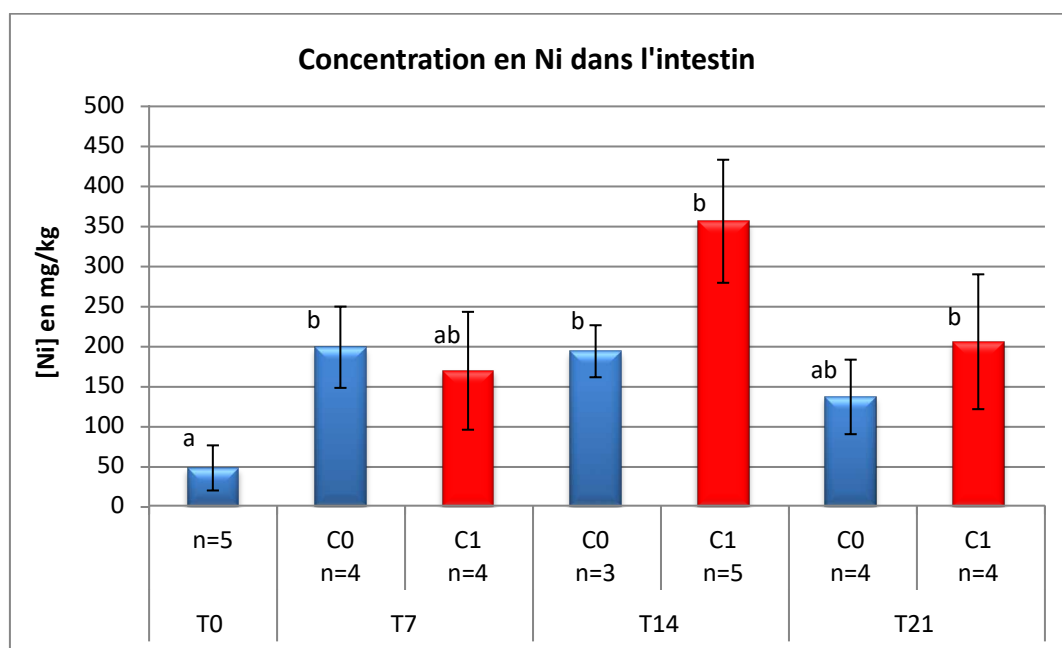


Figure 85 : Bioaccumulation en Ni (mg/kg) dans les intestins des poissons des conditions C0 et C1 au cours du temps (moyenne \pm SEM)

Les lettres différentes indiquent une différence significative (p value < 5%).

La bioaccumulation augmente légèrement entre T7 et T14 puis diminue à T21 pour atteindre les niveaux d'accumulation proches de ceux à T7. L'augmentation entre T7 et T14 n'est pas significative et peut tout simplement résulter de la présence de biofilms dans l'intestin. En effet, bien qu'ayant été vidé, les intestins contenaient encore plus ou moins de biofilm riche en Ni (impossibilité de nettoyer complètement les tractus digestifs de petite taille sans les dégrader complètement). En comparant les valeurs d'accumulations de Ni dans l'intestin avec celles dans les branchies ou dans le foie, nous remarquons que le Ni s'accumule majoritairement dans l'intestin. En effet, dans le foie, les concentrations en Ni sont comprises dans une gamme allant de 3,8 à 24 mg/kg. Elles sont comprises entre 1 et 11 mg/kg dans les branchies. Dans les intestins, les concentrations en nickel sont 15 à 36 fois plus élevées. Elles vont de 136 mg/kg (T21C0) jusqu'à 356 mg/kg (T14C1). Ce dernier point souligne l'importance de l'exposition par la voie trophique dans notre expérimentation. Cependant, comme évoqué ci-dessus, malgré une vidange de l'intestin au moment de la dissection, le tube digestif peut contenir encore du biofilm.

Pour appuyer cette hypothèse, nous avons à nouveau recherché si une corrélation linéaire entre le Fer et le Ni accumulé dans l'intestin apparaissait (Figure 86). Nous obtenons en effet les coefficients de corrélation suivants : T0 = 0,98 ; pour la condition C0 : T7 = 0,98 ; T14 = 0,05 ; T21 = 0,99 ; pour la condition C1 : T7 = 0,99 ; T14 = 0,98 ; T21 : 0,99. Cette corrélation, identique à celle observée dans les biofilms précédemment, valide l'hypothèse établie stipulant qu'une grande partie du Ni analysé ici est celui contenu dans les fragments de biofilms encore présents dans le tractus digestif. La voie trophique ne jouerait alors pas un rôle prépondérant dans l'exposition des poissons et la voie directe serait la voie prépondérante d'exposition comme semble le suggérer les niveaux de concentrations identiques observés entre les branchies et le foie à T7. Si la voie trophique avait un apport significatif, les concentrations en Ni dans le foie (qui résulte de l'apport par voie directe et trophique) à T7 devraient être bien supérieures à celles des branchies. Ces résultats sont en cohérence avec ceux observés lors de la première expérience de laboratoire, ainsi que lors des mesures de terrain de mai 2016.

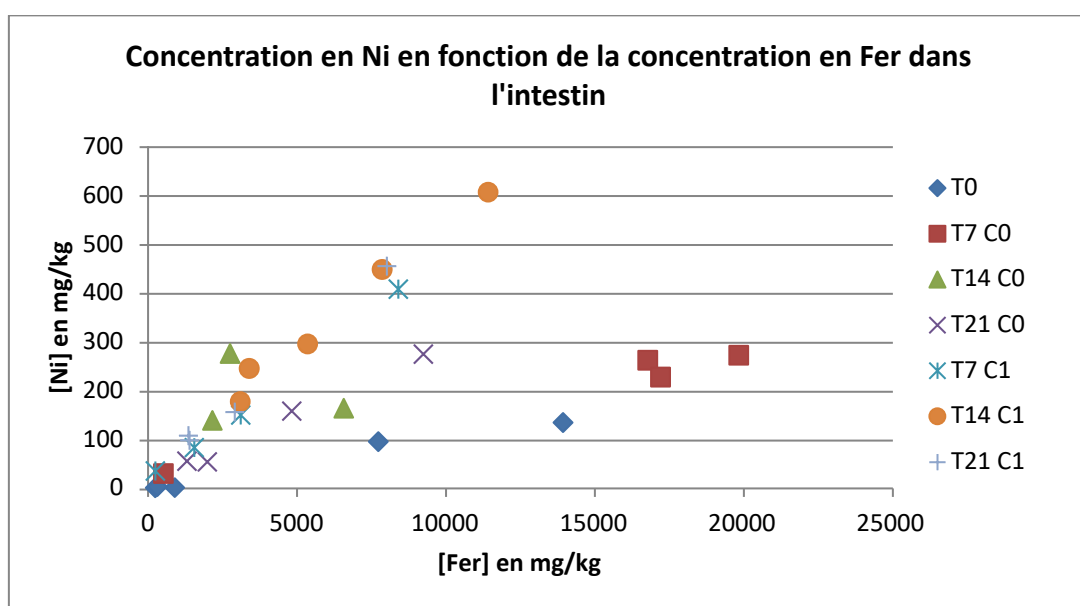


Figure 86 : **Corrélation entre les concentrations de Ni (mg/kg, PS) et de Fer (mg/kg, PS) dans l'intestin des poissons**

○ Analyse du nickel dans le muscle

Malgré un faible nombre de données de bioaccumulation, nous présentons à titre informatif les concentrations en Ni relevées dans le muscle des poissons (Figure 87).

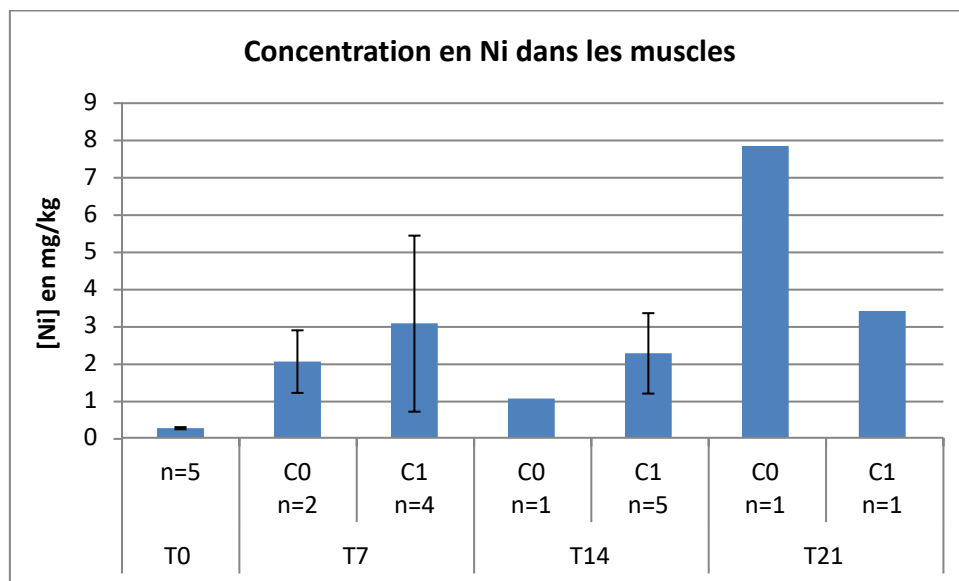


Figure 87 : **Bioaccumulation en Ni (mg/kg) dans les muscles des poissons des conditions C0 et C1 au cours du temps (moyenne ± SEM)**

De façon générale, nous observons une augmentation des concentrations en Ni dans les muscles des poissons pour les deux conditions par rapport à T0. Une partie du Ni entré dans l'organisme s'accumule dans le muscle malgré les mécanismes d'épuration possiblement mis en place dans le foie à partir de T7. Ces niveaux d'accumulation dans le muscle demeurent néanmoins faibles et inférieurs à ceux des autres organes.

Ce résultat souligne l'absence de risque pour la consommation humaine de la chair de poissons d'eau douce de Nouvelle Calédonie, comme observé lors des études de terrain menées en mai 2016.

4.4. DÉVELOPPEMENT D'UN OUTIL DIATOMÉES EN TANT QUE BIOINDICATEUR D'EXPOSITION ET D'EFFETS DES ETM AU SEIN DES HYDROSYSTÈMES ULTRAMAFIQUES

4.4.1. OBJECTIFS

Afin de mieux comprendre et surveiller les pollutions toxiques et leurs effets, les objectifs de la DCE impliquent d'abord un bon diagnostic du niveau de contamination chimique dans les écosystèmes naturels, au moyen d'analyses chimiques. Ils impliquent également une connaissance approfondie des liens entre la contamination chimique et les effets biologiques, en tenant compte de la biodisponibilité des micropolluants afin de mieux caractériser l'exposition des organismes et de proposer des actions et des programmes d'atténuation plus efficaces.

L'utilisation de biomarqueurs pour évaluer correctement les effets toxiques semble être une voie prometteuse (plus spécifique, plus sensible que la bioindication), mais des développements méthodologiques restent nécessaires sur certains éléments clés de la qualité biologique de la DCE (tels que les diatomées des rivières), afin d'être systématiquement utilisées dans les réseaux de surveillance (Carafa et al., 2010).

Ainsi, la détermination des niveaux de transcription de gènes cibles impliqués dans des fonctions et voies cellulaires essentielles s'avère d'un grand intérêt pour évaluer les impacts moléculaires des polluants environnementaux. En effet, cette approche a été utilisée avec succès pour évaluer les impacts d'ETM tels que le cadmium ou le mercure, mais également de composés organiques tels que des herbicides ou des HAP, chez plusieurs poissons (Cambier et al, 2010; Pierron et al, 2008, Arini et al, 2015), ou les bivalves d'eau douce *Corbicula fluminea* et *Dreissena polymorpha* (Arini et al, 2014; Santos et Martinez, 2014; Châtel et al, 2014).

Cependant, concernant les diatomées benthiques d'eau douce, très peu d'études transcriptomiques sont disponibles, grandement liés au fait que seulement deux génomes complets d'espèces marines sont entièrement séquencés (*Thalassiosira pseudonana*, *Phaeodactylum tricornutum*). Kim-Tiam et al (2012) ont proposé pour la première fois, une approche transcriptomique basée sur 9 gènes d'intérêt pour la détection des effets toxiques d'un métal trace (Cd) sur l'espèce *Eolimna minima* et d'autres espèces d'eau douce cultivées. Moisset et al (2015) ont ensuite utilisé avec succès ces gènes pour évaluer la toxicité du Diuron (herbicide) sur 3 espèces de diatomées de rivière.

Basée sur ces études, menées au sein du partenaire EPOC-EA du projet, le but de cette tâche était de disposer d'outils de diagnostic de l'impact des ETM sur le compartiment périphytique situé dans des hydrosystèmes néo-calédonien contaminés par le nickel (Ni). Cet outil a tout d'abord été utilisé lors des expositions en conditions contrôlées de laboratoire.

4.4.2. EXPRESSION DE GÈNES DES DIATOMÉES DES BIOFILMS

Les gènes interviennent dans les mécanismes de réponse des organismes vis-à-vis des contaminations métalliques et environnementales et/ou sont susceptibles d'être perturbées face à ces dernières. Lors de cette étude des couples d'amorces, ciblant des gènes d'intérêt et pouvant être utilisés en PCR quantitative en temps réel, ont été déterminés.

Les échantillons de biofilms issus de l'expérimentation menée en laboratoire en mai 2016 ou prélevés *in situ* sur les sites de la rivière Tivoli et de la rivière Taléa-Coco durant les campagnes de mai et novembre 2016 ont été collectés par grattage. Deux lames de verres colonisées pendant 3 semaines sur site ont été utilisées pour les échantillons de terrain. Les biofilms ont été récupérés dans des microtubes de 1,5 mL puis 500 µL de tampon de conservation RNA later ont été ajoutés. Les échantillons ont été conservés à 4°C pendant une nuit, puis congelés à -20°C jusqu'à leur transport vers la métropole. Ils ont ensuite été placés à -80°C jusqu'à l'extraction des ARN totaux.

L'extraction des ARN totaux a été réalisée selon le protocole décrit par Kim Tiam et al (2012). Les biofilms ont été récupérés par centrifugation 5 min à 5000 rpm à température ambiante. Afin de casser l'enveloppe de silice et d'accéder au matériel génétique, 1 mL de Trizol (Tri Reagent Solution) ainsi que 200 µL de billes en verre (2,5 µm de diamètre, Sartorius AG), ont été ajoutés dans les échantillons. Ces derniers ont ensuite été traités 2 fois 40 secondes à 6.0 m/s au broyeur (MP fastprep). Après addition de 200 µL de chloroforme, l'échantillon est vortexé 10 secondes puis centrifugé pendant 5 minutes à 13 500 rpm à température ambiante. La phase aqueuse supérieure est transférée dans des tubes propres et un volume ETOH est ajouté. La suite de l'extraction des ARN totaux a été réalisée à l'aide du Kit « SV Total RNA Isolation System » (Promega) en suivant les recommandations du fournisseur.

La rétro-transcription des ARN totaux a été réalisée à l'aide du kit « GoScript Reverse Transcription System » (Promega). Cette étape permet la transformation des ARN purifiés en ADNc. Pour un échantillon, 1 µL d'oligo dT [1µM] a été déposé dans un microtube avec 1 µL d'hexaprimer [1 µM] et 10 µL d'ARN purifiés (environ 1 µg). Le mélange a ensuite subi un

cycle au thermocycleur pendant 5 minutes à 70°C suivi d'une descente progressive en température pour atteindre 4°C afin de linéariser les ARN et permettre aux amorces de se fixer. Après quoi 1 µL d'une solution de dNTP [10 mM], 4 µL de tampon d'activité 5x, 1,5 µL de MgCl₂ [25 mM], 1 µL de reverse transcriptase [1 U/µL] et 0,5 µL de RNAsine sont ajoutés. Ce mélange est replacé dans le thermocycleur avec le protocole suivant ; 5 minutes à 25°C, puis 1 heure à 42°C pour réaliser la synthèse des ADNc. Les échantillons contenant alors les ADNc en vue de la qPCR ont été stockés à -20°C.

Les réactions de qPCR ont été réalisées dans un LightCycler 480 (Roche). Les réactions de PCR ont été réalisées dans des microplaques de 96 puits en utilisant le kit « GoTaq® qPCR Master Mix» (Promega). Un mix amorce pour chaque gène (2 µM d'amorces sens et 2 µM d'amorces anti-sens) a été réalisé. Dans chaque puits, 13 µL de mix réactif 2x dilué (10 µL tampon 2x + 3 µL d'eau), 2 µL du mix amorce et 5 µL d'ADNc dilué au 1/10 ont été ajoutés. Chaque PCR est constituée de plusieurs étapes : activation de la *Taq* polymérase à 95°C pendant 3 min, suivi de 50 cycles de PCR (95°C, 30s ; 55°C 30s ; 72°C 30s). En fin de réaction, la qualité des amplifications observées a été analysée par la réalisation de courbes de fusion. Celles-ci sont obtenues par une prise de fluorescence en continu lors d'une montée en température progressive de l'appareil de 60°C à 95°C. Le niveau d'expression de chaque gène a été déterminé par rapport à celui du gène de référence (*β-actine*) dont l'expression est stable et ne présente pas de variation en fonction des temps de prélèvement et des sites. En effet, *rpl7* ne s'est pas montré stable et n'a donc pas été retenu.

L'expression relative des gènes (induction ou répression) sera ensuite déterminée par la méthode :

$2^{-\Delta\Delta Ct}$, avec $\Delta Ct = Ct \text{ gène} - Ct \text{ référence}$ (Livak et Schmittgen, 2001).

4.4.3. RÉSULTATS

4.4.3.1. Caractérisation des gènes cibles

A partir des données acquises par EPOC-EA sur quatre souches monospécifiques de diatomées: *Eolimna minima* (EOMI), *Nitzschia palea* (NPAL), *Planothidium lanceolatum* (PTLA), *Gomphonema parvulum* (GPAR) et des quelques séquences disponibles dans les banques de données, la caractérisation de dix gènes d'intérêt chez les diatomées a été réalisée. Parmi eux, trois gènes sont impliqués dans le métabolisme énergétique mitochondrial (*12S*, *cox1* et *nd5*), deux dans le métabolisme photosynthétique (*psaA* et *d1*) et un dans le métabolisme de la silice impliqué dans la synthèse du frustule (*sil1*). A ces derniers, s'ajoutent deux gènes permettant la défense contre le stress oxydant potentiellement généré par les ETM dans les cellules (*cat* et *gpx*), ainsi que deux gènes de références (*β actine* et *rpl7*). Pour chacun de ces gènes, des couples d'amorces permettant d'évaluer leur niveau d'expression au sein des biofilms naturels ont été déterminés. Ces derniers ont notamment été utilisés lors de l'approche expérimentale de transfert trophique du Ni afin d'évaluer l'impact de ce métal sur le biofilm utilisé, mais également sur les biofilms récupérés sur différents points des rivières Tivoli et Taléa-Coco. Les gènes *sod*, *gst*, *cyp1A1* et *pc synthase* initialement prévus n'ont pas pu être caractérisés à ce jour. En effet, le peu de séquences disponibles dans les banques de données concernant les diatomées et le faible nombre de régions conservées dans les séquences nucléotidiques de ces gènes n'ont pas permis de pouvoir désigner des amorces consensuelles utilisables en PCR afin de rechercher ces gènes.

4.4.3.2. Expression différentielle de gènes de diatomées en conditions de contamination aiguë : approche expérimentale

Les couples d'amorces déterminés pour les gènes caractérisés ont tout d'abord été utilisés lors d'une approche expérimentale de contamination au Ni effectuée au laboratoire afin d'évaluer l'impact de ce métal sur le biofilm.

Pour l'approche expérimentale, des lames colonisées par du biofilm issu de la rivière Carénage (voir paragraphe 4.3.2.) ont été grattées et mises en suspension dans 40 mL de milieu de culture Dauta (Dauta, 1982), avant d'être exposées au Ni. Trois conditions différentes ont été réalisées en triplicat ; (i) une condition témoin, (ii) une exposition à 50 µg/L de Ni (C1) et (iii) une exposition à 250 µg/L de Ni (C2). Des prélèvements de culture ont été effectués après 48h et 30 jours d'exposition, puis les ARN totaux ont été extraits et rétro-transcrits avant d'être utilisés en PCR quantitative en temps réel (Stratagène MX3000P).

Pour cette expérimentation de laboratoire, les courbes de fusion des analyses par PCR quantitative de l'expression des gènes de diatomées sont en annexe 12, et les résultats de PCR quantitative de l'expression relative à l'actine des gènes de diatomées sont en annexe 13. L'expression différentielle des gènes par rapport aux conditions témoins est illustrée dans le tableau 11.

Tableau 11 : Expression différentielle par rapport aux conditions témoin des gènes observés après 48 h et 30 jours d'exposition au Ni à 50 µg/L (C1) et 250 µg/L (C2)

Les données sont exprimées en facteurs d'induction (≥ 2), et facteurs de répression ($\leq 0,5$), / = niveaux d'expressions identiques à ceux des témoins

Gènes et fonctions	48 h		30 jours	
	C 1	C 2	C 1	C 2
Photosynthèse				
<i>psaA</i>	15		/	0,3
<i>D1</i>	/	0,5	/	0,3
Métabolisme mitochondrial				
<i>cox 1</i>	0,3	0,1	/	0,04
<i>nd5</i>	/	/	/	/
<i>12S</i>	/	0,5	/	0,3
Réponse au stress oxydant				
<i>cat</i>	24	/	/	0,1
<i>gpx</i>	0,1	/	/	/
Métabolisme de la silice				
<i>Sil1</i>	2	415	/	0,1

Après 48h d'exposition, les gènes *psaA*, *cat* et *sil1* sont surexprimés dans la condition C1. Au contraire une répression des gènes *cox1* et *gpx* est observée. Ces résultats traduisent une atteinte du métabolisme mitochondrial, qui semble compensée par une augmentation du métabolisme photosynthétique afin de maintenir la production d'énergie dans la cellule. L'augmentation de *cat* dénote l'apparition d'un stress oxydant probablement lié à la production de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). En effet le gène *cat* permet la production de la catalase, enzyme métabolisant l'H₂O₂ dans le cytoplasme (Hermes-Lima, 2004). Ces espèces réactives de l'oxygène sont hautement cytotoxiques et provoquent généralement une réponse de la cellule afin d'en diminuer leurs impacts (Toyooka et al, 2003). Une augmentation d'H₂O₂ après exposition au Ni a déjà été observée chez des plantes comme le riz et a aussi été corrélée à une surexpression du gène *cat* chez ces organismes (Sirhindi et al, 2016). Pour la condition C2, des atteintes du métabolisme mitochondrial et

photosynthétique sont observées ainsi qu'une forte augmentation du gène *sil1*. Cette augmentation peut être vue comme un système de défense contre le Ni. En effet, Branco et al (2010) ont observé une augmentation de la synthèse du frustule après exposition au Cd chez *Nitzschia palea*. Ces auteurs ont démontré que le Cd se fixe sur le frustule empêchant ainsi son accumulation dans la cellule. Le même système de chélation du métal peut être suggéré ici pour le Ni. Les répressions observées à C2 sont encore plus fortes après 30 jours d'exposition et touchent un plus grand nombre de gènes. Au contraire à ce même temps, tous les gènes étudiés voient leur expression redevenir comparable au témoin de la condition C1.

L'ensemble de ces résultats suggèrent que lors de l'exposition à C1 le biofilm a mis en place des mécanismes de défenses pour lutter contre les effets du Ni. Au contraire, les réponses géniques observées lors de la condition d'exposition C2 à 48h et à 30 jours sont plus représentatives d'une toxicité aiguë de cette concentration de Ni.

4.4.3.3. Expression différentielle de gènes de diatomées en conditions naturelles sur Tivoli et Talea-Coco

Le niveau d'expression des gènes caractérisés des diatomées a été déterminé ensuite sur les échantillons de biofilms des missions de mai et de novembre 2016, développés sur lames de verre après 3 semaines de colonisation, par PCR quantitative en temps réel.

4.4.3.3.1. Comparaison des niveaux d'expression sur sites selon la saison

Lors de notre analyse, 3 gènes étudiés n'ont pas montré d'amplification satisfaisante pour l'ensemble des échantillons (*nd5*, *gpx*, *sil1*). En effet, les courbes de fusion obtenues n'étaient pas bonnes et suggèrent que les couples d'amorces utilisés ne permettaient pas de cibler correctement ces gènes dans les espèces présentes sur ces hydrosystèmes au sein des biofilms. Pour les 7 autres gènes, les amplifications ont été très satisfaisantes pour l'ensemble des échantillons des sites étudiés.

○ Sur la rivière Tivoli

Au niveau du site amont de la rivière Tivoli, les résultats obtenus montrent que les niveaux d'expression différentielle sont plus importants au mois de novembre qu'au mois de mai (Tableau 12). Ainsi, par exemple les gènes mitochondriaux *12S* et *cox1* sont en moyenne plus de 4700 fois exprimés en novembre. De même les gènes de la photosynthèse *psaA* et *D1* sont respectivement 31 et 359 fois plus exprimés à cette même période. Ce résultat suggère une activité métabolique plus importante en novembre au niveau de ce site choisi comme site de référence lors de notre étude.

Tableau 12 : Valeur moyenne de l'expression différentielle des gènes étudiés au niveau du site amont de la rivière Tivoli au mois de mai et novembre 2016.

Les chiffres donnés indiquent le niveau d'expression par rapport au gène de référence de la \square actine à la même période de prélèvement.

Gènes et fonctions	Tivoli Mai	Tivoli Novembre
photosynthèse		
<i>psa A</i>	16.39	518.48
<i>D1</i>	51.50	18513.43
métabolisme mitochondrial		
<i>cox 1</i>	0.07	312.39
12S	513.44	2461746.74
réponse au stress oxydant		
<i>cat</i>	0.15	0.04

Au niveau du site aval, aucune amplification exploitable n'a été obtenue et ce pour l'ensemble des échantillons prélevés et pour l'ensemble des gènes étudiés. Ce résultat surprenant, obtenu seulement pour ce site, peut sûrement être rapproché des résultats d'abondances relatives des diatomées déterminées sur les sites de la rivière Tivoli. En effet, au niveau du site amont l'espèce majoritaire est *Achnanthydium minutissimum*. Cette diatomée est classiquement retrouvée dans des rivières européennes et de précédentes études de notre laboratoire ont permis de montrer que nos couples d'amorces se montraient capables de cibler cette espèce. Au contraire, l'espèce décrite comme majoritaire au site aval est *Cocconeis euglypta*. L'absence d'amplification correcte sur ce site aval suggère que les amorces que nous avons utilisées ne permettent pas d'étudier cette espèce.

○ Sur la rivière Taléa-Coco

Au niveau des 3 sites de la Taléa-Coco nous constatons que les niveaux d'expression différentielle obtenus sont très différents entre ces sites en fonction de la saison. Au mois de mai, les plus fortes expressions différentielles sont obtenues sur le site du bras droit, alors que les plus faibles sont déterminées sur le bras gauche, et cela pour l'ensemble des gènes étudiés (Tableau 13). Par contre au mois de novembre le bras gauche est le site possédant les expressions différentielles les plus fortes. En effet, à cette période, ces niveaux d'expression sont très significativement supérieurs pour l'ensemble des gènes.

Tableau 13 : Moyenne de l'expression différentielle des gènes étudiés au niveau des 3 sites étudiés de la rivière Taléa-Coco au mois de mai et novembre 2016

Les chiffres donnés indiquent le niveau d'expression par rapport au gène de référence de la \square actine à la même période de prélèvement.

Taléa-Coco	Mai			Novembre		
	Pont	Bras droit	Bras Gauche	aval	Bras droit	Bras Gauche
photosynthèse						
<i>psa A</i>	111.39	257.20	118.07	0.32	3.61	50.82
<i>D1</i>	188.62	963.01	22.64	15.02	287.00	12402.07
métabolisme mitochondrial						
<i>cox 1</i>	0.02	0.03	0.002	44612824.67	736.67	411471.02
12S	3800.72	34040.73	13.04	663.31	34623.99	730966.84
réponse au stress oxydant						
<i>cat</i>	8.12624E-05	0.11	3.59403E-06	0.01	5.42854E-06	0.004

4.4.3.3.2. Comparaison des niveaux d'expression selon l'hydrosystème et la saison

○ Comparaison Tivoli vs Taléa-Coco

Pour réaliser cette analyse, le site amont de la rivière Tivoli a été pris comme référence et les niveaux d'expression obtenus sur ce site comparés à ceux déterminés sur les sites de la Taléa-Coco. Les facteurs d'induction ou de répression mis en évidence sont ainsi regroupés dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Niveau d'expression différentielle des gènes d'intérêts observés sur les biofilms des 3 sites de la Taléa-Coco par rapport à ceux déterminés sur la Tivoli amont en mai et novembre 2016.

Les résultats sont exprimés sous forme de facteurs de répression en bleu et facteurs d'induction en rouge. / : Expression identique à la Tivoli. Seul les facteurs montrant des différences significatives (p -value < 0,05) sont indiqués dans ce tableau.

Taléa-Coco	Mai			Novembre		
	Pont	Bras droit	Bras Gauche	aval	Bras droit	Bras Gauche
photosynthèse						
<i>psa A</i>	7	16	7	0.001	0.01	0.1
<i>D1</i>	4	19	/	0.001	0.02	0.7
métabolisme mitochondrial						
<i>cox 1</i>	0.27	/	0.03	87595	2.4	1317
12S	7	66	0.03	0.0003	0.01	0.3
réponse au stress oxydant						
<i>cat</i>	0.001	/	0.00002	0.3	0.0001	0.1

Les niveaux d'expression observés en mai au niveau des sites Pont et bras droit suivent le même patron. En effet, des surexpressions des gènes impliqués dans la photosynthèse (*psaA* et *D1*) et du gène mitochondrial 12S sont observés. Cependant, ces facteurs d'induction sont beaucoup plus forts au niveau du bras droit de la Taléa-Coco. Par exemple, les gènes *psaA* et *D1* sont induits de 16 et 19 fois respectivement sur ce site du bras droit, alors qu'ils ne le sont que de 7 et 4 fois sur le site de Pont situé plus en aval. Au contraire, les gènes *cox1* et *cat* voient leur niveau d'expression réduit en mai sur le site de Pont. Au niveau du bras gauche, seul le gène *psa A* est induit en novembre 2016 (X 7) alors que la majorité des autres gènes analysés est réprimé.

Les profils d'expression déterminés en novembre sur les 3 sites de la Taléa-Coco sont assez différents. En effet, à cette période la majorité des gènes sont beaucoup moins exprimés sur ces sites que sur le site de référence de la Tivoli amont. Seul le gène *cox 1* se retrouve induit sur ces sites avec des valeurs de surexpression particulièrement fortes au niveau du bras gauche (x1317) et du site aval (X87595).

Cette différence de réponse entre mai et novembre est sûrement à corréliser avec les caractéristiques des deux saisons. En effet, le mois de mai signe la fin de la saison humide et donc le début de la saison fraîche.

Au contraire le mois de novembre correspond à la fin de la saison sèche. Cette dernière saison est plus propice au développement algal du fait des conditions hydrologiques plus modérées qui limitent l'arrachement observé lors de fortes crues. Cependant des précipitations pendant la phase de colonisation de 3 semaines sur la Taléa-Coco peuvent être suggérées. En effet une plus forte quantité de matière inorganique présente dans les biofilms des 3 sites (provenant des MES arrivant depuis l'amont) sur la Taléa-Coco en novembre est observée.

Le fait d'observer une majorité de répression de gènes en novembre est en accord avec la littérature disponible, notamment sur le Ni. En effet, Dondero et al (2011) ont montré que lors d'exposition au Ni (0.01 à 15 mg/L durant 4 jours) de Moules *Mytilus galloprovincialis* 64% des gènes différentiellement exprimés dans les branchies et la glande digestive, étaient réprimés. Ces gènes étaient notamment impliqués dans le métabolisme des acides nucléiques, la prolifération cellulaire et le métabolisme général. Les auteurs concluent que ces sous expressions sont à rapprocher de l'induction des mécanismes épigénétiques (méthylation du génome et des histones) conduisant au « gene silencing » de ces fonctions. Nos résultats peuvent aussi être corrélés à ceux obtenus au cours de ce projet lors des expositions en conditions contrôlées de laboratoire. En effet, si des surexpressions de certains gènes étaient mises en évidence sur le biofilm après 48h d'exposition, la quasi-totalité des gènes étaient réprimés après 30 jours pour la concentration la plus forte (250 µg/L).

○ Comparaison entre les sites de la rivière Taléa-Coco

Il paraît intéressant de comparer les sites à l'intérieur de l'hydrosystème Taléa-Coco afin de s'affranchir des possibles diversités spécifiques différentes de diatomées entre cette rivière et la Tivoli. De plus, la Taléa-Coco est sous influence de l'activité minière de la région et il a été montré précédemment que les cortèges d'espèces présents sur ces sites sont grandement influencés par cette activité et les ETM qu'elle rejette (voir paragraphe 4.2.2.1.3.). Ainsi, pour faire cette comparaison, nous avons tenu compte du fait que le site du bras droit était celui qui subissait le moins les effets de la contamination aux ETM sur la Taléa-Coco, en accord avec les résultats de bioaccumulation observés précédemment au mois de mai ([Ni] = 16000 mg/kg PS et 2000 mg/kg PS respectivement sur le bras Gauche et le bras Droit) et novembre 2016 ([Ni] = 8000 mg/kg PS et 6000 mg/kg PS respectivement sur le bras gauche et le bras Droit). Les niveaux d'expressions des gènes étudiés sur les sites bras gauche et plus en aval ont donc été comparés à ceux déterminés sur le bras droit. Cette comparaison permet de mettre en évidence une réponse moléculaire différente très marquée en fonction de la saison (Tableau 15). En effet, en mai au site Pont les gènes *D1*, *12S* et *cat* voient leur expression réduite par rapport à celle du bras droit avec des facteurs de répression allant de 0.001 à 0.2 selon le gène. Ces sous-expressions sont encore plus fortes au niveau du bras gauche pour ces trois gènes, avec de plus le gène *cox1* réprimé lui aussi 0.07 fois. En novembre, le patron d'expression est vraiment différent. Au niveau du site Aval, les gènes impliqués dans la photosynthèse (*D1* et *psa A*) restent réprimés, mais les gènes *cox1* et *cat* sont eux très fortement induits (37145 fois et 2105 fois respectivement). Au niveau du site du bras gauche, l'ensemble des gènes sont quant à eux surexprimés avec une nouvelle fois les valeurs les plus élevées pour les gènes *cox1* et *cat*.

Tableau 15 : Niveau d'expression différentielle des gènes d'intérêts observés sur les biofilms des sites Pont, Aval et Bras Gauche de la Taléa-Coco par rapport à ceux déterminés sur le site du Bras droit en mai et novembre 2016.

Les résultats sont exprimés sous forme de facteurs de répression en bleu et facteurs d'induction en rouge. / : Expression identique au bras droit. Seul les facteurs montrant des différences significatives (p -value<0,05) sont indiqués dans ce tableau.

Taléa-Coco	Mai		Novembre	
	Pont	Bras Gauche	aval	Bras Gauche
photosynthèse				
<i>psa A</i>	/	/	0.1	14
<i>D1</i>	0.2	0.02	0.1	43
métabolisme mitochondrial				
<i>cox 1</i>	/	0.07	37145	559
12S	0.1	0.0004	0.02	21
réponse au stress oxydant				
<i>cat</i>	0.001	3E-05	2105	676

Cette différence de réponse entre mai et novembre est sûrement, encore une fois, à corrélérer avec la différence du régime de précipitations entre les mois de mai et novembre.

Les fortes augmentations des niveaux d'expression au niveau du bras gauche en novembre suggèrent que ce site est le plus impacté, ce qui est cohérent avec l'ensemble des données acquises et le fait que ce site est sous influence des rejets miniers. A cette saison, le biofilm est capable de s'adapter à la contamination comme observé en laboratoire à la plus faible concentration d'exposition, ce qui est en accord avec les bioaccumulations métalliques plus faibles observés à cette saison comparativement au mois de mai. En effet, en mai, les réponses génétiques sont quasi exclusivement des répressions, suggérant une atteinte toxique beaucoup plus sévère du biofilm comme observé en laboratoire à la plus forte condition d'exposition. En novembre, la forte augmentation des gènes impliqués dans la photosynthèse, le métabolisme mitochondrial et la réponse au stress oxydant suggère une demande en énergie accrue au niveau des cellules et la génération d'un fort stress oxydant. En effet, le gène *cox1* est impliqué dans la respiration cellulaire qui a lieu dans les membranes de la mitochondrie et qui est productrice d'ATP (*Adénosine Triphosphate*). De même, la surexpression des gènes photosynthétiques (*psa A* et *D1*) peut également dénoter une augmentation de la production d'énergie issue de la photosynthèse. Néanmoins ces réactions, notamment de phosphorylation oxydative au niveau de la chaîne respiratoire et de photosynthèse, sont une source de production d'ERO (*Espèces réactives de l'oxygène*) au sein des cellules. L'augmentation de la *cat* montre donc ici la réponse au stress oxydant généré. De nombreuses publications montrent que le Ni est capable de générer un stress oxydant chez divers organismes aquatiques. Ainsi, chez la perchaude (*Perca flavescens*), l'exposition au Ni engendre une augmentation d'ERO, de même qu'une surexpression de la *cat* (Defo et al, 2014). Chez la lentille d'eau (*Landoltia punctata*) ce métal provoque une perturbation de la photosynthèse conduisant également à la génération d'un stress oxydant (Guo et al, 2017). Enfin, Das et al (2018) ont montré que chez différentes espèces de carpes, l'exposition au Ni conduit à une modification de l'activité mitochondriale et donc la production d'ERO.

4.5. DISCUSSION ET CONCLUSION

Plusieurs travaux à travers le monde, ont mis en évidence le rôle de l'industrie minière sur la modification des processus de dispersion des ETM au sein des compartiments biologiques aquatiques (Ashraf et al., 2011 ; Boudou et al., 2006). Il y est généralement observé une augmentation des processus de bioaccumulation et de bioconcentration des ETM par les organismes aquatiques conduisant à des concentrations en ETM élevées au sein des différents tissus. Ces augmentations dépendent toutefois fortement de la biodisponibilité et donc de la réactivité chimique des ETM. À titre d'exemple, Boudou et al. (2002), ont mis en évidence des concentrations en méthylmercure (MeHg) similaires au sein de poissons piscivores de deux cours d'eau guyanais et ce malgré la présence d'une mine entraînant des concentrations en mercure (Hg) 10 fois plus importantes dans la colonne d'eau d'un des cours d'eau. Les espèces chimiques du Hg en présence étant complexées à la matière en suspension, ce métal apparaissait peu disponible pour les maillons biologiques. A l'opposé, Dominique et al. (2005), ont montré que la modification de la réactivité chimique de ce métal liée à sa transformation en MeHg au sein de la partie anoxique d'un réservoir de barrage, entraînait une surexposition des populations de poissons en aval de l'ouvrage au regard de celles observées en amont.

Cette surexposition aux ETM peut aller jusqu'à entraîner des effets toxiques sur les organismes (altération de croissance et de l'état de santé général), voire dans les cas les plus extrêmes, la disparition de ces derniers. Ainsi, plusieurs lacs de la région Sudbury, région minière et industrielle du Canada, ont vu leurs populations de poissons fortement décliner dans les années 70, suite à des accumulations importantes dans ces milieux de Cuivre et Nickel liés à l'industrie minière (Giguère et al., 2006). Le développement des biomarqueurs d'effets, outils permettant de détecter dans une population naturelle les changements provoqués par un polluant, a permis de mettre en évidence les différents effets toxiques moins « spectaculaires » générés par les ETM, comme le déséquilibre entre le système pro-oxydatif et anti-oxydatif, déséquilibre générant un stress oxydant toxique pour l'organisme (Siess, 1991).

En Nouvelle-Calédonie les mécanismes de dispersion des ETM naturellement présents dans les sols ultramafiques au sein des différents compartiments biologiques n'ont fait l'objet que de très peu d'études. Les quelques travaux existants portent sur les organismes lagunaires et sont cantonnés à un premier screening des niveaux de bioaccumulation des ETM cibles au sein de différents organismes (Breau, 2003), ainsi qu'à la mise en place de bioindicateurs marins d'exposition à ces ETM (Breau, 2003 ; Hedouin, 2006). Pour les milieux aquatiques dulçaquicoles, les données sur la bioaccumulation et la dispersion des ETM au sein des maillons biologiques restaient encore plus rares. Seuls quelques suivis des concentrations en ETM au sein de deux modèles biologiques dulçaquicoles (poissons Gobiidae et crustacés du genre *Macrobrachium*) avaient été menés avant le programme DMML (Biotop, 2010).

Il apparaissait donc que le cycle des ETM (bioaccumulation, bioconcentration et type de transfert le long des réseaux trophiques) au sein des compartiments biologiques présents le long du continuum bassin-versant/lagon des massifs ultramafiques calédoniens, était peu connu. De même il n'existait aucune étude publique sur les effets toxiques de ces ETM sur les communautés aquatiques présentes dans ces milieux.

Grâce au programme DMML, l'étude d'un large éventail de plusieurs espèces et/ou communautés représentatives de cours d'eau néo-calédoniens considérés comme zone-ateliers a pu être menée depuis le compartiment primaire avec les biofilms de rivières (périphytiques) jusqu'au dernier maillon des réseaux trophiques dulçaquicoles avec les anguilles (poissons carnivores). Les résultats obtenus sont nouveaux et enrichissent les connaissances sur ces milieux aquatiques tropicaux d'eau douce. Ils sont recensés dans ce rapport dans la partie Tâche 2 dévolue à l'étude de la contamination des organismes vivants des cours d'eau néo-calédoniens sur tout leur parcours longitudinal depuis les zones amont exploitées pour leur minerais (ou non) jusqu'aux zones aval débouchant sur le lagon. Ils sont

complétés dans cette même tâche 2 par une approche expérimentale de laboratoire au cours desquelles la contamination spécifique au nickel a été étudiée. Les deux volets sont discutés ci-dessous.

4.5.1. UNE CONTAMINATION METALLIQUE DES ORGANISMES VIVANTS DE LA RIVIERE TALÉA-COCO DEPUIS LA ZONE D'EXPLOITATION MINIÈRE JUSQU'À L'AVAL

En tant que producteur primaire jouant un rôle déterminant dans les cours d'eau dulcaquicoles, les biofilms périphytiques se sont avérés être un compartiment biologique extrêmement bioaccumulateur des cinq métaux suivis (Co, Cr, Fe, Ni, Mn) sur tous les sites étudiés des deux hydrosystèmes avec par ordre décroissant des valeurs maximales de bioaccumulation : le fer, le nickel, le manganèse, le chrome et enfin le cobalt. Cet ordre est respecté quels que soient les supports de développement des biofilms (supports naturels avec les galets dont l'âge est inconnu, et supports artificiels pour les lames avec un biofilm dont le temps de développement sur substrat est maîtrisé).

L'hydrosystème Taléa-Coco, identifié comme zone-atelier soumise à une activité d'extraction de minerais dans sa zone amont, et échantillonné au niveau des deux bras Gauche et Droit, ainsi qu'à l'aval de son cours, apparaît toujours avec des niveaux de concentration métallique supérieurs à ceux analysés sur l'hydrosystème de référence Tivoli (sauf pour le manganèse) pour les deux saisons étudiées. La Taléa-Coco révèle des niveaux de bioaccumulation métallique dans les biofilms toujours plus élevés sur le site du Bras Gauche par rapport aux deux autres sites (jusqu'à 16000 mg Ni/kg PS), surtout au mois de mai. Ces valeurs prouvent l'influence directe de la zone amont d'exploitation minière sur la contamination des biofilms en fin de saison humide sur le Bras Gauche de la Taléa-Coco comparativement à son Bras Droit et à ses sites plus aval. Cet effet est nettement atténué et bien moins significatif en novembre avec une différence moins perceptible entre les différents sites échantillonnés sur la Taléa-Coco. Effectivement, les sites du Bras Droit et de l'aval en novembre voient leurs niveaux de concentration augmenter par rapport à mai, suggérant ainsi une influence probable des précipitations en fin de saison sèche qui diluerait les métaux drainés depuis l'amont et les zones d'exploitation vers les zones plus aval.

Ces résultats font état des niveaux d'accumulation métallique analysés dans les biofilms périphytiques, qui, outre une fraction organique riche en microalgues et en diatomées principalement assurant la part majoritaire de la photosynthèse dans les cours d'eau, comprennent également une proportion de matériel inorganique majoritaire dans les deux hydrosystèmes. En effet, quelle que soit la saison et les supports de développement, les biofilms sont constitués à 67% de matière minérale et à 33% de matière organique. Cependant si la proportion des deux fractions organique (*i.e.* comprenant le vivant) et minérale (fraction non-vivante) est identique entre les deux saisons, ce n'est pas pour autant le cas des quantités de biofilms développés sur les supports-lames (surfaces standardisées) tout particulièrement sur Taléa-Coco. Ainsi, les biofilms se retrouvent bien plus épais en novembre qu'en mai sur tous les sites de Taléa-Coco. En fin de saison sèche en novembre, les conditions de croissance du biofilm sont meilleures (régime hydrologique plus modéré). Les biofilms ayant gagné en épaisseur, du fait de ces conditions favorables, voient en novembre leurs masses augmenter et par conséquent leurs concentrations métalliques diminuer par rapport à mai par un artéfact de dilution pondérale des métaux au sein des biofilms.

Les analyses quantitatives et qualitatives menées sur des communautés diatomiques de substrat naturel (galets) et substrat artificiel (lames de verre) sur les 5 stations de la zone-atelier ont permis de caractériser la composante micro-algale des biofilms et de valider le protocole expérimental. En effet, les cortèges floristiques observés sont homogènes entre les substrats naturels et artificiels au sein d'une même station, démontrant ainsi que les

flores ayant colonisé les substrats artificiels sont bien représentatives de la communauté "naturelle" de la station. En revanche, les stations sont bien discriminées entre elles de par leurs flores respectives, en particulier les stations Taléa-Coco Bras Gauche et Tivoli Aval. Cette dernière située sur une zone volcano-sédimentaire possède en effet une flore plus ubiquiste quant au fond géochimique.

L'analyse conjointe des mesures de chlorophylle *a* et des densités cellulaires de diatomées indique que la concentration en pigments photosynthétiques est plus élevée sur galet que sur lame de verre alors que la densité en cellules de diatomées est plus faible. De même, la rivière Tivoli connaît les valeurs les plus fortes en termes de chlorophylle *a*, en particulier à la station aval alors que les stations hébergeant les plus fortes densités cellulaires en diatomées sont la Taléa-Coco Bras Droit et la Taléa-Coco Bras Droit Pont. Ces résultats suggèrent une capacité de colonisation précoce des substrats par les diatomées et soulignent l'importance des diatomées parmi les organismes photosynthétiques dans les conditions environnementales extrêmes (oligotrophie, substrats ultramafiques). L'étude de ce maillon biologique est donc particulièrement indiquée en Nouvelle-Calédonie.

Pour autant, le calcul de l'Indice Diatomique Nouvelle-Calédonie à partir de chaque inventaire n'a pas permis de mettre en évidence un impact minier, y compris sur la Taléa-Coco Bras gauche, contrairement aux analyses transcriptomiques qui révèlent des niveaux d'expression diminués. Il serait intéressant de renouveler la mise en œuvre conjointe de la méthode transcriptomique et de la méthode structurale afin de déterminer les différentes indications et les conditions d'application de chaque méthode.

Concernant les analyses menées sur les autres maillons trophiques (crustacés et poissons) prélevés *in situ* en mai 2016 parallèlement au biofilm, nous pouvons constater comme observé à la base du réseau trophique des accumulations de Ni, Cr, Co et Fe quasi systématiquement les plus élevées mesurées dans les organismes prélevés sur le site de Taléa gauche sous influence minière, avec des concentrations dégressives sur les sites de Taléa aval, Taléa droite et enfin Tivoli, notamment pour le foie et l'hépatopancréas. Seul le Mn présente un comportement différent, avec parfois des accumulations plus élevées sur le site de référence Tivoli. Ces résultats montrent ainsi un transfert des ETM présents dans les eaux douces vers les organismes aquatiques, selon un gradient amont-aval le long de la Taléa.

Que ce soit pour crustacés ou pour les poissons, nous observons quasi systématiquement des accumulations les plus élevées mesurées dans les branchies, comparativement aux organes plus internes tels que le foie ou les reins dont l'accumulation résulte des apports de métaux cumulés par les voies directe et trophique. Ces résultats soulignent un rôle très important de la voie de contamination des organismes par la phase dissoute des métaux présents dans l'eau, qui apparaît comme prépondérante par rapport à la voie trophique. En effet, la part importante de matériel inorganique dans le biofilm situé à la base du réseau trophique, même si très contaminé par les ETM n'explique pas ces résultats, indiquant que ces métaux sont probablement très peu disponibles pour les organismes aquatiques, contrairement à ceux présents dans la fraction dissoute. De plus, même si nous observons des différences d'accumulation marquées entre espèces, avec notamment le lochon noir qui semble le plus accumulateur d'ETM parmi les poissons, alors qu'il présente un régime alimentaire périphytophage (brouteur de biofilm), la voie dissoute de contamination reste majoritaire pour ce poisson également. Ainsi, nous pouvons constater un faible transfert des ETM depuis la base du réseau trophique vers les prédateurs supérieurs par la voie trophique, ce qui rejoint par ailleurs des résultats similaires obtenus pour la majorité des ETM dans le lagon (Briand et al. 2018).

Très peu d'études se sont intéressées jusqu'à présent au potentiel de bioamplification du nickel chez les poissons, et encore moins sur le territoire de la Nouvelle-Calédonie. Seuls les travaux de Briand et al. (2018) ont documenté les poissons du lagon. Nos résultats sont donc une première dans ce domaine pour les cours d'eaux de ce territoire. Si nous

comparons les concentrations en ETM accumulés dans les différents maillons trophiques, nous observons en réalité une diminution des concentrations depuis les biofilms vers les maillons supérieurs avec en dernier lieu l'anguille qui est carnivore. Nous constatons donc une absence de phénomène de bioamplification du Ni et des autres métaux le long des réseaux trophiques aquatiques d'eau douce de Nouvelle Calédonie. Ces résultats semblent cohérents avec une étude menée au Canada qui montre en effet une efficacité d'assimilation du Ni du poisson tête de boules (*Pimephales promelas*) très faible, de 10 à 11%, malgré une part de Ni biodisponible égale à 50 ou 85%, suivant le régime alimentaire (*D. magna* ou *T. tubifex*) du poisson (Lapointe et al, 2009). Le Ni apparaît donc comme un métal très peu transférable par voie trophique, même avec une part importante de Ni biodisponible provenant de la proie.

L'ensemble des sources potentielles de matière organique qui a été étudié est utilisé par les invertébrés et/ou poissons des hydrosystèmes du Koniambo. Cela concerne aussi bien les végétaux terrestres, source allochtone de carbone dans les écosystèmes aquatiques, que les détritux, la matière organique sédimentaire ou encore les biofilms. Seules les espèces présentes dans la partie estuaire de la Taléa-aval, i.e. le crabe de palétuvier (*Scylla serrata*) et le cro-cro (*Leiognathus equulus*) qui ont des signatures isotopiques clairement distinctes, s'alimentent vraisemblablement sur des proies qui dépendent d'autres sources de matière organique.

L'examen du positionnement des différentes espèces dans le plan $\delta^{13}\text{C}$ - $\delta^{15}\text{N}$ suggère que toutes les espèces pourraient être plus ou moins omnivores à des degrés divers, sans doute davantage par « opportunisme » (présence, voire abondance, de telle ou telle catégorie de proies) que par une réelle stratégie trophique. Ceci impliquerait que les invertébrés et poissons présents dans les hydrosystèmes étudiés s'alimentent toutes sur le même type de ressources composé, pour l'essentiel, de biofilms et des invertébrés vivant dans ces biofilms, même si les proportions relatives des sources et leurs caractéristiques isotopiques peuvent changer selon les sites et/ou les saisons. Cette hypothèse permet par exemple de comprendre pourquoi les deux espèces de lochons présentent des signatures différentes entre Taléa aval et Tivoli aval.

Enfin, le rôle supposé de prédateur opportuniste de l'anguille *Anguilla marmorata* apparaît plausible, vis-à-vis de différentes catégories d'invertébrés, mais il reste délicat de trancher quant à son possible rôle d'ichtyophage occasionnel ; l'espèce ne montrant pas de signature en $d^{15}\text{N}$ particulièrement plus élevée que les autres poissons.

4.5.2. UN TRANSFERT TROPHIQUE ET DES IMPACTS DU NICKEL EN LABORATOIRE EN LIEN AVEC UNE CONTAMINATION PROVENANT DE L'ACTIVITÉ MINIÈRE

Lors des deux études expérimentales de transfert de Ni entre du biofilm périphytique et un poisson brouteur omnivore, le lochon blanc (*Awaous guamensis*), nous avons constaté comme précédemment suggéré sur le terrain, une faible capacité du Ni à transférer par la voie trophique, alors que le métal présent en phase dissoute conduisait à une accumulation significative de ce métal dans les branchies, suggérant encore une fois la prépondérance de la voie directe de contamination comparativement à la voie trophique.

Lors de l'analyse de notre premier maillon trophique, les biofilms, nous avons constaté la présence d'une part inorganique majoritaire (de 63 à 73%) riche en métaux provenant des MES charriées par les cours d'eau. L'environnement néo-calédonien est caractérisé par une quantité importante en métaux Ni, Fe, Mn, Cr par la formation géologique de l'île. Des suivis environnementaux effectués par les différents partenaires de l'CEIL ont permis d'analyser les concentrations en métaux Fe, Ni et Mn dans trois rivières considérées comme références dans la zone Sud de la Nouvelle Calédonie au début de l'année 2017. Celles-ci étaient

comprises entre : 30 et 100 µg/L pour le fer ; 12,3 et 23 µg/L pour Ni ; 0,5 et 5 µg/L pour Mn. (Cartographie de l'ŒIL, Géoportail Galaxia). Au cours de notre deuxième expérience de laboratoire où nous avons utilisé du biofilm naturel provenant de galets, nous avons vu que le fer était également l'élément le plus présent dans les biofilms (de 115 278 allant jusqu'à 221 793 mg/kg, PS) et la bioaccumulation en métaux retrouvée dans les biofilms suivait le même ordre de concentration que celles mesurées dans les eaux douces : Fer > Ni > Mn > Cr > Co. Nos résultats ont de plus révélé une corrélation importante entre le Fer et le Ni au sein du biofilm. Cela suggère que le Ni est complexé aux éléments ferrallitiques qui composent la part inorganique de ce maillon. Le traitement EDTA valide cette hypothèse. Le Ni est très peu ou pas mobilisable (pas de différence significative en concentration en Ni avant et après traitement EDTA), signe que le métal est sous forme de complexe.

Malgré la faible capacité des biofilms à relarguer du Ni suite au traitement EDTA, il est apparu que ces derniers ont participé à l'augmentation des concentrations en Ni dans la colonne d'eau. Nos analyses ont mis en évidence que ce nickel était essentiellement contenu dans la fraction dissoute pour les deux conditions (80% pour la référence et 60% pour la condition contaminée). Cette fraction a ainsi pu participer à l'exposition des poissons par la voie directe, comme le démontrent les résultats sur la répartition du Ni dans les différents organes et tissus des poissons. Néanmoins, il faut souligner que l'ensemble de cette fraction n'apparaît pas biodisponible pour les organismes. En effet, malgré la présence de concentrations en Ni dissous différentes entre les deux conditions, le niveau d'accumulation en Ni demeure le même dans les branchies des poissons exposés, suggérant qu'une partie du Ni dissous n'est pas disponible car vraisemblablement complexé à la fraction colloïdale. Ces résultats mettent en évidence que le Ni contenu dans la fraction inorganique des biofilms est capable de passer dans la colonne d'eau et de soutenir, du moins pendant 21 jours, des concentrations en Ni comprises entre 15 et 20 µg/L, concentrations légèrement supérieures à celles définies pour le fond géochimique des cours d'eaux ultramaïques calédoniens voisine de 10 µg/L. Cette fraction pourrait donc jouer un rôle non négligeable dans le fond géochimique en Ni des cours d'eau, faisant des matériaux ferrallitiques composant les biofilms une source de Ni.

L'organotropisme du Ni dans les poissons semble suggérer que la principale voie d'exposition a été la voie directe. Les ordres de grandeurs similaires entre les niveaux d'accumulation dans le foie et les branchies soutiennent une entrée du métal essentiellement pas la voie directe et peu par la voie trophique. Ce résultat est similaire à celui observé dans les poissons collectés sur les cours d'eau du massif exploité du Mont Koniombo lors des échantillonnages de terrain de mai 2016. Il semble en outre que le Ni mesuré dans le tractus digestif soit plus lié au biofilm n'ayant pas pu être vidangé, comme l'indique la forte corrélation observée entre le Fe et le Ni, corrélation identique à celle observée dans le biofilm. D'autre part, il est admis que le Ni s'accumule préférentiellement dans le rein (Pyle et Couture, 2011 ; Ptashynski et Klaverkamp 2002). Malheureusement, lors de notre expérience, cet organe n'a pas pu être disséqué et analysé pour tous les poissons, sa taille ou son poids étant trop faible. L'accumulation dans cet organe reflèterait mieux l'accumulation réelle du Ni par les poissons (Pyle et Couture, 2011). Seulement, comme vu précédemment sur le terrain, cet organe joue un rôle majoritaire dans l'accumulation du Ni par exemple chez l'anguille marbrée, alors que ce n'est pas le cas pour d'autres espèces telles que la carpe ou le lochon blanc.

Nos résultats ont également montré que la concentration en Ni dans le foie des organismes a tendance à augmenter dans un premier temps puis à diminuer pour retourner à des taux d'accumulation comparables à T0 à la fin de l'expérimentation. Cette évolution de la concentration en nickel dans le foie au cours du temps suggère que les poissons sont en mesure de réguler les concentrations en Ni. Une fois entré dans l'organisme par voie trophique ou directe, la grande majorité du nickel circulant dans le sang (90%) est lié à des albumines plasmatiques, le reste étant lié à des acides aminés libres ou à de petits peptides plasmatiques. Le Ni a par exemple une forte affinité avec la cystéine et l'histidine (Pyle et Couture, 2011). Ce métal peut avoir différents impacts subcellulaires suivant les espèces.

Soit il aura une affinité pour les protéines comme les enzymes chez la perchaude (Giguère et al., 2006) ou bien sa présence peut déclencher des mécanismes de détoxification comme chez le poisson tête de boules (Lapointe et Couture, 2009). Cette répartition sub-cellulaire diffère également suivant le type de proie dont il se nourrit lors d'une contamination par voie trophique (Lapointe et al., 2009). Pour les poissons se nourrissant de *T. tubifex*, la part majoritaire de Ni accumulé était situé dans la fraction de prise en charge du métal pour sa détoxification, au contraire de ceux ayant pour régime alimentaire *D. magna*. Il a été supposé que le mécanisme de détoxification existant serait le piégeage du Ni dans les tissus épithéliaux ou dans le sang ou bien la séquestration de ce métal par des métallothionéines. Ce sont des protéines de faible poids moléculaire, riches en cystéines, dont leur fonction est de réguler la présence de cations divalents dans l'organisme (comme les métaux). Ptashynski et al., (2002) ont exposé des poissons par voie trophique à du Ni et ceux-ci produisaient un taux important de métallothionéines dans leurs intestins. Il serait intéressant à l'avenir d'étudier ces différents mécanismes de défense ou d'impacts du Ni chez les poissons en Nouvelle-Calédonie, étant donné le bruit de fond géochimique élevé de cette zone. Nous avons prélevé dans cet objectif des tissus de foie sur les poissons de notre deuxième expérience de manière à explorer les premières réponses d'expressions de gènes spécifiques. Ainsi, au départ de notre étude, huit gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant (*sod Cu/Zn*, *sod Mn*, *cat*), le métabolisme mitochondrial (*cox1*, *12S*) et la détoxification (*p53*, *mt* et *tap*), ainsi que deux gènes de référence (β actine et *rpl7*) ont été ciblés. Les séquences correspondantes disponibles dans les bases de données pour d'autres espèces de poissons ont été utilisées afin de réaliser des alignements multiples grâce au logiciel ClustalW. Des amorces sens et anti-sens situées dans les régions les plus conservées ont été déduites de ces alignements. Malheureusement, la recherche de gènes chez cette espèce s'est avérée pour l'instant infructueuse et des recherches plus poussées seraient nécessaires dans le futur pour aller plus loin dans l'étude des mécanismes de détoxification ou de toxicité du Ni et des métaux associés chez les poissons. Ce manque de résultats peut s'expliquer par le faible nombre de séquences, dans les banques de données, d'espèces phylogénétiquement proches du lochon blanc pour les gènes envisagés.

Concernant les effets de la contamination observés en transcriptomique sur les diatomées périphytiques, notre analyse montre que pour la plus faible concentration (50 μ g/L), des effets modérés sont observables à 48h d'exposition avec des atteintes du métabolisme mitochondrial compensées par une surexpression de l'expression de gènes impliqués dans la photosynthèse. Ces compensations dénotent la capacité de la cellule à maintenir un niveau d'ATP suffisant dans les diatomées afin de garantir leur viabilité. Après 30j d'exposition l'ensemble des gènes analysés reviennent à un niveau d'expression comparable à celui du témoin. Ce résultat démontre que pour ce niveau de concentration en Ni et nos conditions expérimentales les biofilms ont été capables de mettre en place des mécanismes de défense efficaces. Au contraire à la concentration de 250 μ g/L de fortes répressions de l'ensemble des gènes sont observées dès 48h, mais surtout à 30j. Ces résultats montrent des effets que nous pouvons relier plus à une toxicité aiguë du Ni dans ces conditions. Ces résultats sont en accord avec des publications récentes présentes dans la littérature. Ainsi par exemple chez l'algue verte *Ankistrodesmus falcatus*, une exposition à 120 μ g/L de Ni provoque une inhibition complète de la croissance et une diminution de l'activité des SOD (Martínez-Ruiz and Martínez-Jerónimo, 2015). Chez le poisson *Oreochromis niloticus*, une exposition à 50 μ g/L provoque des effets forts avec une rupture des cellules branchiales conduisant à des hémorragies (Marcato et al, 2014).

Les résultats d'expressions de gènes que nous avons menés sur le terrain indiquent que les biofilms diatomiques présents sur la Taléa-Coco présentent des niveaux d'expression souvent plus bas que ceux observés sur le site de référence de la Tivoli, suggérant un impact important des ETM présents sur l'activité métabolique de ces organismes. Nous avons constaté que les effets sont plus forts en mai, à la fin de la saison humide et période la plus propice à la bioaccumulation métallique dans le biofilm. De plus, les biofilms situés sur le bras gauche sont ceux qui subissent le plus les impacts des ETM avec des effets observés sur le métabolisme mitochondrial, la photosynthèse et la réponse au stress

oxydant. Ces résultats sont également à corréliser avec les identifications d'espèces diatomiques présentes sur les différents sites. En effet, les échantillons issus de la Taléa-Coco Bras Gauche se distinguent nettement des échantillons prélevés dans les autres stations, qui présentent une grande similarité entre eux. Ceci suggère que les effets des ETM sur le bras gauche ont conduit à une modification des communautés présentes sur ce site. Peu d'études sont disponibles dans la bibliographie concernant l'expression génique chez les diatomées soumises au Ni. Cependant, récemment Panneerselvan et al (2018) ont comparé l'effet de ce métal sur deux diatomées marines (*Odontella mobiliensis* et *Coscinodiscus centralis*) et deux copépodes (*Oithona similis* et *Acartia danae*). Ces résultats montrent que les diatomées sont particulièrement sensibles et que des doses supérieures à 13 µg/L se montrent dommageables.

Les effets observés sur les diatomées périphtiques *in situ* et en conditions de laboratoire lors de cette étude sont donc comparables. En effet, comparés aux sites de référence de la Tivoli, les niveaux d'expression sur les sites de la Taléa-Coco, et notamment sur le bras gauche, sont beaucoup plus faibles, dénotant l'effet des ETM présents sur ces sites, dont le Ni. Cependant, il faut noter une différence importante en termes de structuration d'espèce des communautés. Ainsi, les espèces diatomiques présentes sur le bras gauche se différencient nettement de celles de la Tivoli, mais également de celles des autres sites de la Taléa-Coco. Ceci pourrait rendre compte d'une sélection d'espèces plus « résistantes » sur ce site impacté par les activités minières.

5. VALORISATION DU PROGRAMME DMML

Mémoire de thèse

C. Pasquet, « Evaluation de la biodisponibilité du nickel, cobalt et manganèse dans les poussières de sols ultramafiques et développement d'un outil de bioindication lichénique des poussières émises par les activités minières en Nouvelle-Calédonie ». 13 décembre 2016, Université de la Nouvelle-Calédonie

Publications dans des revues internationales avec comité de lecture

C. Pasquet, F. Monna, F. van Oort, P. Gunkel-Grillon, C. Laporte-Magoni, R. Losno, C. Château, « Mobility of Ni, Co, and Mn in ultramafic mining soils of New-Caledonia assessed by kinetic EDTA extractions ». *Environmental Monitoring and Assessment* (2018) 190:638.

C. Pasquet, P. Gunkel-Grillon, C. Laporte-Magoni, A. Serres, T. Quiniou, F. Rocca, F. Monna, R. Losno, Folkert van Oort, C. Chateau, "Alternative dry separation of PM10 from soils for characterization by kinetic extraction: example of new Caledonian mining soils". *Environmental Science and Pollution Research* (2016) 23:25105–25113.

Pasquet, C., Le Monier, P., Monna, F., Durllet, C., Brigaud, B., Losno, R., Chateau, C., Laporte-Magoni, C., Gunkel-Grillon, P. « Impact of nickel mining in New Caledonia assessed by compositional data analysis of lichens ». SpringerPlus Open Access, Volume 5, Issue 1, 1 December 2016, Article number 2022.

Proceeding de congrès internationaux

Roth E., Rivière E., Burgalat J., Ngassa N., Dembele Y., Zaiter M., Chakir A., Pasquet C., Pigeau R., Gunkel-Grillon P. Fate of atmospheric dust from mining activities in New Caledonia and the impact on the lichen content of lichen. *Environmental Impact 2018, WIT Transactions on Ecology and the Environment*, WIT Press, Vol 215, 489-498

C. Pasquet, P. Le Monier, F. Monna, C. Durllet, B. Brigaud, R. Losno, C. Laporte-Magoni, P. Gunkel-Grillon. "Lichen used to assess nickel atmospheric dispersion, an example of New Caledonia". *International Conference on Environment, Chemistry and Biology – ICECB 2015*, 19-21 November, 2015, Auckland, New Zealand, Volume 90. IACSIT Press, p22-27

Communications orales dans des congrès internationaux

Roth E.*, Rivière E., Burgalat J., Ngassa N., Dembele Y., Zaiter M., Chakir A., Pasquet C., Pigeau R., Gunkel-Grillon P. Fate of atmospheric dust from mining activities in New Caledonia and the impact on the lichen content of lichen. *Environnemental Impact*, Naples, 20-22 juin 2018.

Baudrimont M., Dominique Y., Gunkel-Grillon P., Juillot F., Boula A., Laporte-Magoni C., Folcher N.S., Bellec J., Maury-Brachet R., Gonzalez P., Gourves P-Y. and Feurtet-Mazel A. (2017). Mining activities in New Caledonia: transfer of Ni, Cr, Co, Mn and Fe in freshwater trophic webs from natural biofilm to carnivorous fish. *Ni-Worshop*, 17-19 October 2017, Nancy.

C. Pasquet & P. Gunkel-Grillon & C. Laporte-Magoni & A. Serres & T. Quiniou & F. Rocca & F. Monna & R. Losno & F. van Oort, " A new and simple dry separation of PM10 from mining soils for Ni, Co and Mn bioavailability study by kinetic extractions", SETAC Australasia Conference, The role of environmental toxicology and chemistry in a changing environment, Goldcoast Australia, 4-6 sept 2017

Pasquet, C.; Gunkel-Grillon, P.; Laporte-Magoni, C.; Monna, F.; Losno, R.; van Oort, F. (2016) "Kinetic extraction as an accurate tool to assess nickel bioavailability in ultramafic soils". SETAC Asia/Pacific Singapore, 16-19 sept. 2016.

C. Pasquet, P. Le Monier, F. Monna, C. Durllet, B. Brigaud, R. Losno, C. Laporte-Magoni, P. Gunkel-Grillon. "Lichen used to assess nickel atmospheric dispersion, an example of New Caledonia". International Conference on Environment, Chemistry and Biology – ICECB 2015, 19-21 November, 2015, Auckland, New Zealand.

Communications affichées dans des congrès internationaux

Zaiter M., Pasquet C., Gunkel P., Laporte-Magoni C., Burgalat J., Chakir A., Riviere E., Roth E., Study of the impact parameter of mining activities of Koniambo SA using atmospheric modelling coupled with lichen biomonitoring, 4ème édition du Colloque Francophone Combustion et pollution atmosphérique (COMPOLA 2016), 23-26 avril 2018 - Ouarzazate, Maroc.

Baudrimont M., Dominique Y., Gunkel-Grillon P., Juillot F., Boula A., Laporte-Magoni C., Folcher N.S., Bellec J., Maury-Brachet R., Gonzalez P., Gourves P-Y. and Feurtet-Mazel A. (2017). Transfer of Ni, Cr, Co, Mn and Fe from mining activities to freshwater trophic webs in rivers of New Caledonia. SETAC Australasia Conference, 4-6 September 2017, Gold Coast.

C. Pasquet, P. Le Monier, F. Monna, C. Laporte-Magoni, P. Gunkel-Grillon*, "Lichen and compositional data analysis: a new approach to investigate areas influenced by Ni mines dusts. SETAC Australasia Conférence, The role of environmental toxicology and chemistry in a changing environment, Goldcoast Australia, 4-6 sept 2017

Mémoires de stage

Bellec J. 2017. Étude expérimentale du transfert trophique du Nickel d'un biofilm naturel vers un poisson brouteur de Nouvelle Calédonie, *Awaous guamensis*. Rapport de stage de Master 2 Ecotoxicologie et Chimie de l'Environnement, université de Bordeaux, 57p.

Boulay E., 2018. Etude expérimentale du transfert trophique de nickel entre du biofilm naturel soumis à l'exploitation minière en Nouvelle-Calédonie et un poisson brouteur d'eau douce. Rapport de stage de Master 2 Ecotoxicologie et Chimie de l'Environnement, université de Bordeaux, 45p.

Dembele Y. 2017. Modélisation de la trajectoire des particules liées aux Activités minières en Nouvelle Calédonie. Rapport de stage de Master 2, Université de Reims Champagne Ardenne.

Ngassa Happy Margaret Nadia, 2016, Modélisation de la trajectoire des poussières PM10 – PM2.5 issues d'une industrie minière de Nouvelle Calédonie, Master 1 Université de Reims Champagne Ardenne.

Zaiter Mariam, 2018, Modélisation atmosphérique des particules de Nickel provenant des mines à Nouvelle Calédonie, Master 2 Université Libanaise.

Conférences orales nationales

Ngassa Happy, M. N., Burgalat, J., Rivière E., Roth E.* Modélisation de l'origine des particules mesurées dans les tribus autour de Koniambo et du devenir de celles émises par les activités minières de Koniambo. Workshop Université de Nouvelle Calédonie, 14 décembre 2016

Séminaires invités

Roth, E.*, Rivière E., Impact des activités minières de l'exploitation de Koniambo sur l'environnement. Exposition des populations aux particules. Séminaire de rencontre avec Scal'air et Environord, Strasbourg, ATMO-Grand Est. 6 octobre 2017

Ngassa Happy N., Burgalat J., Rivière E., Roth E.*, Modélisation de la trajectoire des particules atmosphériques dans la région de Koniambo, Laboratoire PPME, Université de Nouvelle Calédonie, 8 août 2016.

6. PERSPECTIVES ET OPPORTUNITÉS

Les travaux du programme DMML ont montré qu'une quantité importante de métaux présent dans les particules fines donc mobilisables par le vent et l'eau est soluble à plus ou moins long terme.

Ils ont également montré que l'atmosphère étant un vecteur important de dispersion des poussières. Le suivi de la qualité de l'air, principalement réalisé à Nouméa, mériterait donc d'être étendu aux autres zones habitées de la Nouvelle-Calédonie. L'utilisation des lichens comme bio-indicateur pourrait permettre dans un premier temps d'identifier les zones les plus exposées, zones qui pourraient alors faire par la suite l'objet d'un suivi plus approfondi. Des études plus fines sur sites miniers permettraient également de mieux cerner les activités fortement émettrices afin d'adopter les meilleures pratiques possibles en termes de contrôle des émissions de poussières.

Les premières études menées sur la contamination des réseaux trophiques d'eau douce en Nouvelle-Calédonie sous influence minière a permis de montrer l'impact réel des rejets métalliques dans les cours d'eau amont jusqu'à l'aval au niveau des estuaires sur la composante biologique de ces systèmes. Un volet du programme DMML s'est attaché à étudier en conditions expérimentales de laboratoire la contamination du nickel sur les biofilms et des poissons *Awaous*. Cependant il serait aussi intéressant de poursuivre ces investigations au niveau expérimental en étudiant la bioaccumulation et les impacts de cocktail de métaux dans les organismes aquatiques à des niveaux correspondant à des conditions de terrain réalistes et contrastées. Les conditions contrôlées de laboratoire permettraient de préciser les interactions métaux-organismes difficilement interprétables en milieu naturel compte tenu de la variabilité des conditions hydrologiques et climatiques.

Suite à ces premiers travaux, de nouveaux projets ont vu le jour, notamment un projet qui a été déposé pour financement au CNRS à l'appel d'offre EC2CO Ecodyn intitulé INIAME : Interaction Nickel - nanoplastiques dans les Mangroves de Nouvelle-Calédonie : transfert et impacts toxiques chez l'huître de palétuviers *Isognomon isognomon*. Ce projet est porté par Magalie Baudrimont de l'UMR EPOC, avec Bioeko et l'UMR Géosciences de Rennes comme partenaires. L'objectif du projet est de s'intéresser au transfert de Ni potentiellement favorisé par la présence de nanoplastiques dans l'eau, vers des bivalves filtreurs situés dans les mangroves juste à l'aval d'estuaires impactés ou non par l'activité minière. Il s'agit d'avoir une première idée de la contamination en micro- et nanoplastiques de ces zones et d'étudier les impacts toxiques des interactions Ni-Nanoplastiques sur les bivalves des mangroves *Isognomon isognomon* par des approches de transcriptomique haut débit. Ce projet est en bonne voie de financement.

Le projet QUAVAR « Qualité des eaux douces et valeurs de rejets pour les cours d'eau des milieux ultrabasiques » fait également suite au projet DMML avec pour partie le même consortium (UNC, UB et Bioeko). La qualité de l'eau est très variable selon les régions et est liée, entre autres, aux paramètres physico-chimiques (Eh, pH, T, turbidité, matière organiques, ...) et à sa composition chimique. À ce jour, la ligne de base pour les substrats ultrabasiques riches en métaux n'a pas été définie. Pour la mise en place d'une politique de l'eau et d'une réglementation pour la protection des milieux dulçaquicoles, il est impératif de définir cette ligne de base qui peut être spécifique des hydro-écorégions de Nouvelle-Calédonie. La définition de cette ligne de base permettra (1) de définir des seuils de qualité environnementale adaptés à la spécificité de ces milieux calédoniens contenant naturellement d'importantes teneurs en éléments métalliques et (2) à terme de distinguer un état écologique "naturel" d'un état écologique impacté par les activités minières.

Il est prévu dans un premier temps de recueillir les données existantes auprès des acteurs de l'eau en Nouvelle-Calédonie et de les analyser. Des mesures géochimiques complémentaires seront ensuite réalisées pour mieux appréhender la variabilité saisonnière et spatiale et pour acquérir des données complémentaires nécessaires à l'évaluation de la biodisponibilité des éléments métalliques en contexte ultramafique avec un focus sur le rôle de la fraction colloïdale. Des biotests seront ensuite réalisés en laboratoire avec des espèces locales pour alimenter les modèles SSD (Species Sensitivity Distribution) et les effets observés au laboratoire seront validés par des observations *in situ*. Des Seuils de Qualité Environnementale (SQE) spécifiques des cours d'eau des milieux ultramafiques seront définis pour établir *in fine* une Norme de Qualité Environnementale (NQE) qui permettra de distinguer un bon état écologique d'un état dégradé d'un cours d'eau.

Lien entre le projet QUAVAR et le projet INIAME : mutualisation des prélèvements *in situ* des différents maillons biologiques étudiés sur les sites impactés ou non par les activités minières, et interprétation couplée des impacts observés en eau douce par rapport à ceux mesurés plus en aval dans les mangroves.

7. BIBLIOGRAPHIE

- Acs, E., A. K. Borsodi, K. Kröpfl, P. Vladoar et G. Zaray (2007). Changes in the algal composition, bacterial metabolic activity and element content of biofilms developed on artificial substrata in the early phase of colonization. *Acta Botanica Croatica*. 66 2: 89-100.
- Aitchison, J., (1982). The Statistical Analysis of Compositional Data. *J. R. Stat. Soc. Ser. B (Statistical Methodol.* 44, 139–177
- Aitchison, J., (1986). The Statistical Analysis of Compositional Data, Monographs on Statistics and Applied Probability. Chapman and Hall Ltd, London (UK).
- Aitchison, J., Greenacre, M., (2002). Biplots of compositional data. *J. R. Stat. Soc. Ser. C (Applied Stat.* 51, 375–392.
- Andersen, A., Berge, S.R., Engeland, A., Norseth, T., 1996. Exposure to nickel compounds and smoking in relation to incidence of lung and nasal cancer among nickel refinery workers. *Occup. Environ. Med.* 53, 708–13.
- Arillo A., Margiocco C., Melodia F., Mensi P., 1982. Biochemical effects of long-term exposure to Cr, Cd, Ni on rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich): influence of sex and season. *Chemosphere*, 11:47-57.
- Arini, A., Baudrimont, M., Feurtet-Mazel, A., Coynel, A., Blanc, G., Coste, M., Delmas, F. (2011). Comparison of periphytic biofilm and filtering bivalve metal bioaccumulation (Cd and Zn) to monitor hydrosystem restoration after industrial remediation: a year of biomonitoring. *Journal of Environmental Monitoring* 13: 3386-3398
- Arini A., Daffe G., Gonzalez P., Feurtet-Mazel A. and Baudrimont M. (2014). What are the outcomes of an industrial remediation on a metal-impacted hydrosystem? A 2-year field biomonitoring of the filter-feeding bivalve *Corbicula fluminea*. *Chemosphere*. 108:214-224.
- Arini A., Gourves P-Y., Gonzalez P., Feurtet-Mazel A. and Baudrimont M. (2015). Metal detoxification and gene expression regulation after a Cd and Zn contamination: an experimental study on *Danio rerio*. *Chemosphere*. 128: 125-133.
- Ashraf, M. A., Maah, M. J., Yusoff, I. (2011) Heavy metals accumulation in plants growing in ex tin mining catchment. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 8 (2), 401-416.
- Aslan, A., Gurbuz, H., Yazici, K., Cicek, A., Turan, M., Ercisli, S., (2012), Evaluation of lichens as bio-indicators of metal pollution. *J. Elemntol.* 18 (3), pp. 353-369.
- Ayrault S.; Clochiatti R., Carrot F., Daudin L., James P. Bennett J.P. (2007) Factors to consider for trace element deposition biomonitoring surveys with lichen transplants. *Science of The Total Environment*, Volume 372, Issues 2–3, 1 January 2007, Pages 717-727
- Balabanova, B., Stafilov, T., Sajn, R., Bačeva, K., (2013a). Spatial distribution and characterization of some toxic metals and lithogenic elements in topsoil and subsoil from copper mine environs. *Int. J. Environ. Prot.* 3, 1–9.
- Balabanova, B., Stafilov, T., Šajn, R., Bačeva, K., (2013b). Comparison of response of moss, lichens and attic dust to geology and atmospheric pollution from copper mine. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 11, 517–528.
- Bergamaschi, L., Rizzio, E., Valcuvia, M.G., Verza, G., Profumo, A., Gallorini, M., (2002). Determination of trace elements and evaluation of their enrichment factors in Himalayan lichens. *Environ. Pollut.* 120, 137–144.
- Bermond A, Varrault G, Sappin-Didier V, Mench M (2005) A kinetic approach to predict soil trace metal bioavailability: preliminary results. *Plant Soil* 275:21–29.
- Biotop (2010). Suivi de la qualité physico-chimique et hydrobiologique des eaux du massif de Koniambo. Rapport 120 p.
- Boamponsem, L.K., Adam, J.I., Dampare, S.B., Nyarko, B.J.B., Essumang, D.K., (2010). Assessment of atmospheric heavy metal deposition in the Tarkwa gold mining area of Ghana using epiphytic lichens. *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. with Mater. Atoms* 268, 1492–1501.

- Boudou A., Dominique Y., Cordier S., Frery N. (2006). Goldmining and mercury pollution in French Guiana : Environmental impact and health effects. *Environnement, Risques et Santé* 5:167-177.
- Bramwell, D., 2011. Biogeography and conservation of the flora of New Caledonia, in: Bramwell, D., Caujapé-Castells, J. (Eds.), *The Biology of Island Floras*. Cambridge University Press, pp. 226–238.
- Breau L. (2003). Etude de la bioaccumulation des métaux dans quelques espèces marines tropicales: recherche de bioindicateurs de contamination et application à la surveillance de l'environnement côtier dans le lagon sud-ouest de la Nouvelle-Calédonie. Ph D Thesis, La Rochelle University, France, 2003. 318 p.
- Briand M.J., Letourneur Y., Bonnet X., Wafo E., Fauvel T., Brischoux F., Guillou G., Bustamante P. 2014. Spatial variability of metallic and organic contamination of anguilliform fish in New Caledonia. *Environ. Sci. Pol. Res.*, 21: 4576-4591.
- Briand M.J., Bonnet X., Goiran C., Guillou G., Letourneur Y. 2015. Major sources of organic matter in a complex coral reef lagoon: Identification from isotopic signatures ($\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$). *Plos One*, 10(7): e0131555.
- Briand M.J., Bustamante P., Bonnet X., Churlaud C., Letourneur Y. 2018. Tracking trace elements into complex coral reef trophic networks. *Sci. Tot. Env.*, 612: 1091-1104.
- Cambier S., Gonzalez P., Durrieu G., Maury-Brachet R., Boudou A., Bourdineaud J.P. (2010). Cadmium-induced genotoxicity in zebrafish at environmentally relevant doses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73; 312-319.
- Camizuli E, Monna F, Bermond A, et al (2014) Impact of historical mining assessed in soils by kinetic extraction and lead isotopic ratios. *Sci Total Environ* 472:425–436. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.10.103
- Carafa, R., M. Real, A. Munné, A. Ginebreda, H. Guasch and L. Tirapu. (2010). Recommendations for water monitoring programs of priority and emerging pollutants. Contributions from newly developed methods. In *KEYBIOEFFECTS project: Cause-effect relations of key pollutants on the biodiversity of European rivers*, 57p.
- Carignan, J., Simonetti, A., Gariépy, C., (2002). Dispersal of atmospheric lead in northeastern North America as recorded by epiphytic lichens. *Atmos. Environ.* 36, 3759–3766.
- Chakraborty, M., Ahmad, M., Singh, R., Pal, D., Bandopadhyay, C., & Chaulya, S., (2002) Determination of the emission rate from various opencast mining operations. *Environ Model Softw*, 17, pp. 467–480, 2002.
- Châtel A, Faucet-Marquis V, Pfohl-Leszkowicz A, Gourlay-Francé C, Vincent-Hubert F. (2014). DNA adduct formation and induction of detoxification mechanisms in *Dreissena polymorpha* exposed to nitro-PAHs. *Mutagenesis*. 29:457-465.
- Chen, T.-B., Zheng, Y.-M., Lei, M., Huang, Z.-C., Wu, H.-T., Chen, H., Fan, K.-K., Yu, K., Wu, X., Tian, Q.-Z., (2005). Assessment of heavy metal pollution in surface soils of urban parks in Beijing, China. *Chemosphere* 60, 542–551.
- Cicchella, D., Giaccio, L., Lima, A., Albanese, S., Cosenza, A., Civitillo, D., De Vivo, B., (2014). Assessment of the topsoil heavy metals pollution in the Sarno River basin, south Italy. *Environ. Earth Sci.* 71, 5129–5143.
- Cloquet, C., Carignan, J., Libourel, G., (2006). Atmospheric pollutant dispersion around an urban area using trace metal concentrations and Pb isotopic compositions in epiphytic lichens. *Atmos. Environ.* 40, 574–587
- Conti, M.E., Cecchetti, G., Biological monitoring; lichens as bioindicators of air pollution assessment - a review. (2001) *Environ. Pollut.* 1114, 471–492, 2001.
- Couture P., Busby P., Rajotte J., Gauthier C., Pyle G., 2008. Seasonal and regional variations of metal contamination and condition indicators in yellow perch (*Perca flavescens*) along two polymetallic gradients. I. Factors influencing tissue metal concentrations. *Human and Ecological Risk Assessment*, 14:97-125.
- Csavina, J., Field, J., Taylor, M.P., Gao, S., Landázuri, A., Betterton, E.A., Sáez, A.E. (2012) A review on the importance of metals and metalloids in atmospheric dust and aerosol from mining operations. *Sci. Total Environ.* 433, 58–73, 2012.

- Das D, Das P, Moniruzzaman M, Poddar Sarkar M, Mukherjee J, Chakraborty SB.(2018). Consequences of oxidative damage and mitochondrial dysfunction on the fatty acid profile of muscle of Indian Major Carps considering metal toxicity. *Chemosphere*. 207:385-396.
- J. Daunis-i-Estadella, S. Thió-Henestrosa, G. Mateu-Figueras (2011). Including supplementary elements in a compositional biplot. *Computers & Geosciences*, Volume 37, Issue 5, May 2011, Pages 696-701
- Dauta, A. (1982). Conditions de développement du phytoplancton. Etude comparative du comportement de huit espèces en culture. II. rôle des nutriments : assimilation et stockage intracellulaire. *Annls Limnol*. 18 (3) 1982: 263-292.
- Defo MA, Bernatchez L, Campbell PG, Couture P. (2014). Waterborne cadmium and nickel impact oxidative stress responses and retinoid metabolism in yellow perch. *Aquat Toxicol*. 154:207-220.
- De Jonge, M., Van de Vijver, B., Blust, R., Bervoets, L. (2008). Responses of aquatic organisms to metal pollution in a lowland river in Flanders: A comparison of diatoms and macroinvertebrates. *Science of the Total Environment* 407, 615-629.
- Delmelle P. (2011) Projet du CNRt Nickel et son Environnement: Nickel et poussières, Evaluation préliminaire de la toxicité des particules de sols de latérites en Nouvelle-Calédonie.
- Dondero F., Banni M., Negri A., Boatti L., Dagnino L. and Viarengo A. (2011). Interactions of a pesticide/heavy metal mixture in marine bivalves: a transcriptomic assessment. *BMC genomics*. 12:195. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/12/195>.
- Dongarra, G., Ottomello, D., Sabatino, G. & Triscari, M. (1995) Use of lichens in detecting environmental risk and in geochemical prospecting. *Environmental Geology*, 26, pp. 139–146, 1995
- Doucet, F., Carignan, J., (2001) Atmospheric Pb isotopic composition and trace metal concentration as revealed by epiphytic lichens: an investigation related to two altitudinal sections in Eastern France. *Atmos. Environ*. 35, 3681–3690, 2001.
- Duong, T.T., Feurtet-Mazel, A., Coste, M., Dang, D.K., Boudou, A. (2007). Dynamics of diatom colonization process in some rivers influenced by urban pollution (Hanoi, Vietnam). *Ecological Indicators* 7, 839-851.
- Duong T. T., Morin, S., Herlory O., Feurtet-Mazel, A., Coste, M., Boudou, A. (2008). Seasonal effects of cadmium accumulation in periphytic diatom communities of freshwater biofilms. *Aquatic Toxicology*, 90, 1, 19-28.
- Duong, T.T., Morin, S., Coste, M., Herlory, O., Feurtet-Mazel, A., Boudou, A. (2009). Experimental toxicity and bioaccumulation of cadmium in freshwater periphytic diatoms in relation with biofilm maturity. *Science of The Total Environment* 408, 552-562.
- Egozcue, J.J., Pawlowsky-Glahn, V., Mateu-Figueras, G., Barceló-Vidal, C., (2003). Isometric Logratio Transformations for Compositional Data Analysis. *Math. Geol*. 35, 279–300.
- Fangueiro D, Bermond A, Santos E, et al (2005) Kinetic approach to heavy metal mobilization assessment in sediments: choose of kinetic equations and models to achieve maximum information. *Talanta* 66:844–57.
- Feurtet-Mazel, A., Gold C., Coste M., Boudou A. (2003). Study of periphytic diatoms communities exposed to metallic contamination through complementary field and laboratory experiments. *Journal de Physique*. IV: JP 107 (I), 467-470.
- Fliedner, A., Rüdell, H., Knopf, B., Weinfurter, K., Paulus, M., Ricking, M., Koschorreck, J., (2014). Spatial and temporal trends of metals and arsenic in German freshwater compartments. *Environ. Sci. Pollut. Res*. 21, 5521–5536.
- Filzmoser, P., Hron, K., Reimann, C., Garrett, R.G., (2009). Robust factor analysis for compositional data. *Comput. Geosci*. 35, 1854–1861.
- Gabriel, K.R., (1971). The biplot graphic display of matrices with application to principal components analysis. *Biometrika* 58, 453–467.
- Giguère A, Campbell PG, Hare L, Couture P. (2006). Sub-cellular partitioning of cadmium, copper, nickel and zinc in indigenous yellow perch (*Perca flavescens*) sampled along a polymetallic gradient. *Aquat Toxicol*. 2006 May 1;77(2):178-89.

- Goix, S., Resongles, E., Point, D., Oliva, P., Duprey, J.L., de la Galvez, E., Ugarte, L., Huayta, C., Prunier, J., Zouiten, C., Gardon, J., (2013). Transplantation of epiphytic bioaccumulators (*Tillandsia capillaris*) for high spatial resolution biomonitoring of trace elements and point sources deconvolution in a complex mining/smelting urban context. *Atmos. Environ.* 80, 330–341.
- Gold, C., Feurtet-Mazel, A., Coste, M., Boudou, A. (2002). Field transfer of periphytic diatom communities to assess short-term structural effects of metals (Cd, Zn) in rivers. *Water Research* 36, 3654-3664.
- Guasch, H., Admiraal, W., Sabater, S. (2003). Contrasting effects of organic and inorganic toxicants on freshwater periphyton. *Aquatic Toxicology* 64, 165-175.
- A. K. Gupta, S. Sinha 2007, "Assessment of single extraction methods for the prediction of bioavailability of metals to *Brassica juncea* L. Czern. (var. Vaibhav) grown on tannery waste contaminated soil". *Journal of Hazardous Materials* 149 (2007) 144–150.
- Guo L., Ding Y., Xu Y., Li Z., Jin Y., He K., Fang Y., Zhao H. (2017). Responses of *Landoltia punctata* to cobalt and nickel: Removal, growth, photosynthesis, antioxidant system and starch metabolism. *Aquat. Tox.* 190: 87-93.
- Gunkel-Grillon, P., Laporte-Magoni, C., Lemestre, M., Bazire, N. "Toxic chromium release from nickel mining sediments in surface waters, New Caledonia". *Environmental Chemistry Letters* (2014) Vol.12, N°4, 511-516.
- Gutzman DW, Langford CH (1993) Kinetic study of the speciation of copper(II) bound to a hydrous ferric oxide. *Environ Sci Technol* 27:1388–1393.
- Harrison, R.M., Yin, J., 2000. Particulate matter in the atmosphere: which particle properties are important for its effects on health? *Sci. Total Environ.* 249, 85–101.
- Hédouin L., 2006. Caractérisation d'espèces bioindicatrices pour la surveillance des activités minières et la gestion de l'environnement en milieu récifal et lagunaire : application au lagon de Nouvelle-Calédonie. Thèse de doctorat. Océanologie Biologique et environnement marin, La Rochelle.
- Hédouin, L., Pringault, O., Metian, M., Bustamante, P., Warnau, M., (2007). Nickel bioaccumulation in bivalves from the New Caledonia lagoon: seawater and food exposure. *Chemosphere* 66, 1449–57.
- Holm, S., (1979). A Simple Sequentially Rejective Multiple Test Procedure. *Scand. J. Stat.* 6, 65–70.
- Holy, M., Leblond, S., Pesch, R., Schröder, W., (2009). Assessing spatial patterns of metal bioaccumulation in French mosses by means of an exposure index. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 16, 499–507.
- Huertas, J.I., Huertas, M.E., Izquierdo, S., & González, E. D., Air quality impact assessment of multiple open pit coal mines in northern Colombia. *J Environ Manage*, 93, pp. 121–129, 2012.
- Hughes G.M., Perry S.F., Brown V.M., 1979. A morphometric study of effects of nickel, chromium and cadmium on the secondary lamellae of rainbow trout gills. *Water Res.*, 13:665-679.
- IUSS Working Group WRB (2014) World reference base for soil resources 2014.
- Ivorra, N., Hettelaar, J., Kraak, M.H.S., Sabater, S., Admiraal, W. (2001). Responses of biofilms to combined nutrient and metal exposure. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21, 626-632.
- Jaffré, T., Latham, M., Schmid, M., (1977). Aspects de l'influence de l'extraction du minerai de nickel sur la végétation et les sols en Nouvelle-Calédonie. *Cah. ORSTOM Série Biol.* XII, 307–321.
- Javed M., Usmani N., 2013. Assessment of heavy metal (Cu, Ni, Fe, Co, Mn, Cr, Zn) pollution in effluent dominated rivulet water and their effect on glycogen metabolism and histology of *Mastacembelus armatus*. *SpringerPlus* 2:390.
- Kinalioglu, K. (2010). New and interesting records of lichens from Turkey. *Mycotaxon*, Volume 114, October 2010, Pages 85-90.
- Kim, J.-H., (1999). Spurious correlation between ratios with a common divisor. *Stat. Probab. Lett.* 44, 383–386.
- Kettle, C.J., Hollingsworth, P.M., Jaffré, T., Moran, B., Ennos, R.A., (2007). Identifying the early genetic consequences of habitat degradation in a highly threatened tropical conifer, *Araucaria nemorosa* Laubenfels. *Mol. Ecol.* 16, 3581–3591.

- Kim Tiam S., Feurtet-Mazel A., Delmas F., Mazzella N., Morin S., Daffe G. and Gonzalez P. (2012). Development of q-PCR approaches to assess water quality: Effects of cadmium on gene expression of the diatom *Eolimna minima*. *Water Research*, 46: 934-42.
- Labanowski J, Monna F, Bermond A, et al (2008) Kinetic extractions to assess mobilization of Zn, Pb, Cu, and Cd in a metal-contaminated soil: EDTA vs. citrate. *Environ Pollut* 152:693–701.
- Lapointe, D., Gentes, S., Ponton, D. E., Hare, L., and Couture, P. (2009). Influence of prey type on nickel and thallium assimilation, subcellular distribution and effects in juvenile fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Environ. Sci. Technol.* 43, 8665–8670.
- Lapointe D, Couture P. (2009). Influence of the route of exposure on the accumulation and subcellular distribution of nickel and thallium in juvenile fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Arch Environ Contam Toxicol.* 57(3):571-80.
- Lefrançois E. (2008). Le biofilm épilithique, un élément fondamental du fonctionnement des milieux aquatiques antillais : recherche de modifications de ses caractéristiques selon la qualité du milieu. Rapport Stage Master Lab. biologie marine DYNECAR, Université des Antilles et de La Guyane.
- Letourneur Y., Briand M.J., Guillou G. (2017). Pathways of organic matter in an estuarine mangrove trophic network assessed by carbon and nitrogen stable isotopes. *J. Mar. Biol. Ass. UK.* 98: 1559-1569.
- Meyer, C., Diaz-de-Quijano, M., Monna, F., Franchi, M., Toussaint, M.-L., Gilbert, D., Bernard, N., (2015). Characterisation and distribution of deposited trace elements transported over long and intermediate distances in north-eastern France using Sphagnum peatlands as a sentinel ecosystem. *Atmos. Environ.* 101, 286–293.
- Nimis, P.L., Lazzarin, G., Lazzarin, A., Skert, N., 2000. Biomonitoring of trace elements with lichens in Veneto (NE Italy). *Sci. Total Environ.* 255, 97–111.
- Nyarko, B.J.B., Adomako, D., Serfor-Armah, Y., Dampare, S.B., Adotey, D., Akaho, E.H.K., (2006). Biomonitoring of atmospheric trace element deposition around an industrial town in Ghana. *Radiat. Phys. Chem.* 75, 954–958.
- Losfeld, G., L’Huillier, L., Fogliani, B., Jaffré, T., Grison, C., (2015). Mining in New Caledonia: environmental stakes and restoration opportunities. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 5592–5607.
- Lyautey, E., Jackson, C. R., Cayrou, J., Rols, J. L., Garabetian, F., (2005). Bacterial community succession in natural river biofilm assemblages. *Microbial Ecology* 50 (4), 589–60.
- Madre, J-F. (1998). Logiciel MESURIM ©1998-20013 licence libre GNU, Académie d’Amiens, Institut français de l’éducation, TICE SVT.
- Marcato AC, Yabuki AT, Fontanetti CS. (2014). Nickel exposure promotes osmoregulatory disturbances in *Oreochromis niloticus* gills: histopathological and energy dispersive spectrometry analysis. *Environ Sci Pollut Res Int.* 21:13095-13102
- Martínez-Ruiz EB, Martínez-Jerónimo F. (2015). Nickel has biochemical, physiological, and structural effects on the green microalga *Ankistrodesmus falcatus*: An integrative study. *Aquat Toxicol.* 169:27-36.
- Marquié, J. & Boutry, S., Lefrançois, E., Coste, M., Delmas, F. 2018. Programme de Recherche et d’Étude 2012-2016 : « Diatomées des rivières de Nouvelle-Calédonie : Conception d’un nouvel indice de bio-évaluation de la qualité écologique des cours d’eau à partir des diatomées benthiques ». Rapport final d’élaboration de l’indice. Tome 2 : Annexes (V2 du 28-05-2018). Asconit-Irstea Editions. 122 p..
- Melo, L. F. et T. R. Bott (1997). Biofouling in water systems. *Experimental Thermal and Fluid Science.* 14 4: 375-381.
- Menvielle, G., Luce, D., Févotte, J., Bugel, I., Salomon, C., Goldberg, P., Billon-Galland, M.-A., Goldberg, M., 2003. Occupational exposures and lung Cancer in New Caledonia. *Occup. Environ. Med.* 60, 584–589.
- Moisset S., Kim Tiam S., Feurtet-Mazel A., Morin S., Delmas F., Mazzella N. and Gonzalez P. Contrasted genetic responses of three freshwater diatoms under realistic exposures of diuron (2015). *Environmental Sciences and Pollution Research.* 22:4046-55.
- Monna, F., Poujol, M., Losno, R., Dominik, J., Annegarn, H., Coetzee, H., (2006). Origin of atmospheric lead in Johannesburg , South Africa. *Atmos. Environ.* 40, 6554–6566.

- Monna, F., Bouchaou, L., Rambeau, C., Losno, R., Bruguier, O., Dongarrà, G., Black, S., Chateau, C. (2012). Lichens used as monitors of atmospheric pollution around Agadir (Southwestern Morocco) - A case study predating lead-free gasoline. *Water, Air, Soil Pollut.* 223, 1263–1274.
- Monti, D, E Lefrancois, C Lord, J-M Mortillaro, P J Lopez, et P. Keith. in press. « Selectivity on epilithic diatom consumption for two tropical sympatric gobies: *Sicydium punctatum* Perugia, 1986 and *Sicydium plumieri* (Bloch, 1786) ». *Cybium*.
- Morin, S., T. T. Duong, A. Dabrin, A. Coynel, O. Herlory, M. Baudrimont, F. Delmas, G. Durrieu, J. Schäfer, et P. Winterton. 2008. « Long-term survey of heavy-metal pollution, biofilm contamination and diatom community structure in the Riou Mort watershed, South-West France ». *Environmental Pollution* 151 (3): 532–542.
- Morin, S., Lambert, A.-S., Artigas, J., Coquery, M., Pesce, S. (2012). Diatom immigration drives biofilm recovery after chronic copper exposure. *Freshwater Biology* 57, 1658-1666.
- Murdock, J. N., & Dodds, W. K. (2007). Linking Benthic Algal Biomass to Stream Substratum Topography1. *Journal of Phycology*, 43(3), 449-460. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00357.x>
- Pan, Y., Herlihy, A., Kaufmann, P., Wigington, J., Van Sickle, J., & Moser, T. (2004). Linkages among land-use, water quality, physical habitat conditions and lotic diatom assemblages: a multi-spatial scale assessment. *Hydrobiologia*, 515(1-3), 59–73.
- Panneerselvam K, Marigoudar SR, Dhandapani M. (2018). Toxicity of Nickel on the Selected Species of Marine Diatoms and Copepods. *Bull Environ Contam Toxicol.* 100:331-337.
- Papp R., 2011. Les propriétés environnementales des éléments traces. Particularités et conséquences pour l'analyse de risques. CNEEIC (Collège National d'Experts en Environnement de l'Industrie Chimique).
- C. Pasquet, P. Gunkel-Grillon, C. Laporte-Magoni, A. Serres, T. Quiniou, F. Rocca, F. Monna, R. Losno, Folkert van Oort, C. Chateau, (2016) "Alternative dry separation of PM10 from soils for characterization by kinetic extraction: example of new Caledonian mining soils". *Environmental Science and Pollution Research*.
- Pearson, K., 1896. *Mathematical Contributions to the Theory of Evolution. - On a Form of Spurious Correlation Which May Arise When Indices Are Used in the Measurement of Organs.* *Proc. R. Soc. London* 60, 489–498.
- Peltier, M. R., Wilcox, C. J., and D. C. Sharp (1998). Technical note: Application of the Box-Cox data transformation to animal science experiments. *J Anim Sci* 1998. 76:847-849.
- Pierron F., Baudrimont M., Dufour S., Elie P., Bossy A., Baloche S., Mesmer-Dudons N., Gonzalez P., Bourdineaud JP. And Massabuau JC. (2008). How cadmium could compromise the completion of the European eel's reproductive migration. *Environmental Science and Technology*. 42; 4607-4612.
- Pinheiro J.; Bates D.; BedRoy S.; Sarrhar D.; and R core team (2018).nlme: linear and non-linear mixed effects models. R package version 3.1-137.<https://CRAN.R-project/package=nlme>.
- Ptashynski, M. D., Klaverkamp, J. F., (2002). Accumulation and distribution of dietary nickel in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *Aquat. Toxicol.* 58, 249–264.
- Ptashynski, M. D., Pedlar, R. M., Evans, R. E., Baron, C. L., Klaverkamp, J. F., (2002). Toxicology of dietary nickel in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *Aquat. Toxicol.* 58, 229–247.
- Pyle G., Couture P., 2011. *Homeostasis and Toxicology of Essential Metals*, Edited by Chris M. Wood, Anthony P. Farrell, Colin J. Brauner. *Nickel, Fish Physiology*, Vol. 31, Part A, Pages 253-289.
- Reimann, C., Filzmoser, P., Garrett, R.G., (2002). Factor analysis applied to regional geochemical data: problems and possibilities. *Appl. Geochemistry* 17, 185–206.
- R Development Core Team (2005). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL: <http://www.R-project.org>.
- L. Rocha, S.M. Rodrigues, I. Lopes, A.M.V.M. Soares, A.C. Duarte, E. Pereira, (2011), The water-soluble fraction of potentially toxic elements in contaminated soils: Relationships between ecotoxicity, solubility and geochemical reactivity. *Chemosphere* 84, 1495–1505.

- A. Sahuquillo, A. Rigol, G. Rauret, (2003), « Overview of the use of leaching/extraction tests for risk assessment of trace metals in contaminated soils and sediments ». Trends in Analytical Chemistry, Vol. 22, N°3, 152-159
- Santos KC, Martinez CB. (2014). Genotoxic and biochemical effects of atrazine and Roundup®, alone and in combination, on the Asian clam *Corbicula fluminea*. Ecotoxicol Environ Saf. 100: 7 – 14.
- Schröder, W., Pesch, R., (2010). Long-term monitoring of the metal accumulation in forests measured by use of the moss technique. Eur. J. For. Res. 129, 475–488. doi:10.1007/s10342-009-0298-y
- Schröder, W., Pesch, R., (2007). Synthesizing bioaccumulation data from the German metals in mosses surveys and relating them to ecoregions. Sci. Total Environ. 374, 311–327. doi:10.1016/j.scitotenv.2006.09.015
- Sekar, R., Venugopalan, V. P., Nandakumar, K., Nair, K. V. K., & Rao, V. N. R. (2004). Early stages of biofilm succession in a lentic freshwater environment. Hydrobiologia, 512(1), 97-108. <https://doi.org/10.1023/B:HYDR.0000020314.69538.2c>
- Senhou, A., Chouak, A., Cherkaoui, R., Moutia, Z., Lferde, M., Elyahyaoui, A., El Khoukhi, T., Bounakhla, M., Embarche, K., Gaudry, A., Ayrault, S., Moskura, M., (2002). Sensitivity of biomonitors and local variations of element concentrations in air pollution biomonitoring. J. Radioanal. Nucl. Chem. 254, 343–349.
- Søndergaard, J., (2013). Dispersion and bioaccumulation of elements from an open-pit olivine mine in Southwest Greenland assessed using lichens, seaweeds, mussels and fish. Environ. Monit. Assess. 185, 7025–35.
- Stefano Loppi S.; Stergios Arg Pirintsos S.A. (2003). Epiphytic lichens as sentinels for heavy metal pollution at forest ecosystems (central Italy). Environmental Pollution, Volume 121, Issue 3, March 2003, Pages 327-332
- Stevenson, R. J., B. J. Peterson, D. B. Kirschtel, C. C. King et N. C. Tuchman (1991). Density-dependent growth, ecological strategies, and effects of nutrients and shading on benthic diatom succession in streams. Journal of Phycology. 27 (1): 59-69.
- Stohl, A., (1998). Computation, accuracy and applications of trajectories – a review and bibliography. Atmos. Environ., 32, pp.947–966.
- Van den Boogaart, K.G., Tolosana-Delgado, R., (2013). Analyzing Compositional Data with R, Use R! ed. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Van der Weijden, C.H., (2002). Pitfalls of normalization of marine geochemical data using a common divisor. Mar. Geol. 184, 167–187.
- Varol, M., (2011). Assessment of heavy metal contamination in sediments of the Tigris River (Turkey) using pollution indices and multivariate statistical techniques. J. Hazard. Mater. 195, 355–364.
- Werner, D. (1977). The Biology of Diatoms. Botanical Monographs 13. Blackwell Scientific Publications, 498 p.
- Wetzel, R., G., (2001). Limnology, Lake and river ecosystems. Ed. Elsevier Academic Press. 1006 p.
- Wimpenny, J. W. T. et R. Colasanti (1997). A unifying hypothesis for the structure of microbial biofilms based on cellular automaton models. FEMS Microbiology Ecology. 22, 1-16.
- D. Xu, P. Zhou, Y. Gao, C. Dou, Q. Sun, (2013), « Assessment of trace metal bioavailability in garden soils and health risks via consumption of vegetables in the vicinity of Tongling mining area, China ». Ecotoxicology and Environment safety, 90, 103-111.
- Zhuang, W., Gao, X., (2014). Integrated assessment of heavy metal pollution in the surface sediments of the Laizhou Bay and the coastal waters of the Zhangzi Island, China: Comparison among typical marine sediment quality indices. PLoS One 9, e94145.
- Zvěřina, O., Láska, K., Červenka, R., Kuta, J., Coufalík, P., Komárek, J., (2014). Analysis of mercury and other heavy metals accumulated in lichen *Usnea antarctica* from James Ross Island, Antarctica. Environ. Monit. Assess. 186, 9089–9100.

LISTE DES ANNEXES

- ANNEXE 1 : Réaliser une analyse en composantes principales (ACP) des données transformées des concentrations en Co, Ni, Zn, Cu, Cr, Fe et Ti sur des lichens en utilisant le logiciel OriginPro Software
- ANNEXE 2 : Poids secs et MSSC (Matière sèche Sans Cendre) de biofilms (missions de mai et novembre 2016)
- ANNEXE 3 : Données de de bioaccumulation métallique dans les biofilms sur galets et lames de verre (missions de mai et novembre 2016)
- ANNEXE 4 : Concentrations en chlorophylle *a* et phaeopigments des biofilms collectés sur les 5 stations des rivières Taléa Coco et Tivoli (mission de mai 2016)
- ANNEXE 5 : Densités cellulaires de diatomées dénombrées dans les biofilms collectés sur les 5 stations des rivières Taléa Coco et Tivoli (mission de mai 2016)
- ANNEXE 6 : Inventaires diatomiques des biofilms collectés sur les 5 stations des rivières Taléa Coco et Tivoli (mission de mai 2016)
- ANNEXE 7 : Données de de bioaccumulation métallique dans les crustacés
- ANNEXE 8 : Données de bioaccumulation métallique dans les poissons
- ANNEXE 9 : Résumé des valeurs moyennes des signatures en $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ (et déviations-standard, SD) des sources de matière organique, des invertébrés et des poissons analysés dans les différents sites d'étude
- ANNEXE 10 : Données de numérations cellulaires de diatomées au cours de l'expérimentation Transfert trophique du nickel
- ANNEXE 11 : Inventaires floristiques en ‰ de la deuxième expérimentation
- ANNEXE 12 : Courbes de fusion des analyses par PCR quantitative de l'expression des gènes de diatomées lors de l'étude expérimentale
- ANNEXE 13 : Résultats de PCR quantitative de l'expression relative à l'actine des gènes de diatomées lors de l'expérimentation de laboratoire

Réaliser une analyse en composantes principales (ACP) des données transformées des concentrations en Co, Ni, Zn, Cu, Cr, Fe et Ti sur des lichens en utilisant le logiciel OriginPro Software

Version d'essai de OriginPro disponible sur :
<https://www.originlab.com/demodownload.aspx>

Transformation des données par "centered log-ratio" :

Pour un échantillon de lichen avec n concentrations en métaux (x_1, x_2, \dots, x_n) :

- Moyenne géométrique : $gm(x) = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^n x_i}$
- Centered log-ratio : $Clr(x_i) = \ln(x_i/gm(x))$

Normalisation des scores pour chaque composante principale :

Pour un échantillon de lichen avec m scores suivant m composante principales (s_1, s_2, \dots, s_m)

- Normalisation : $s'_i = s_i \times \sqrt{N}$ (N : nombre total d'échantillons de lichen)

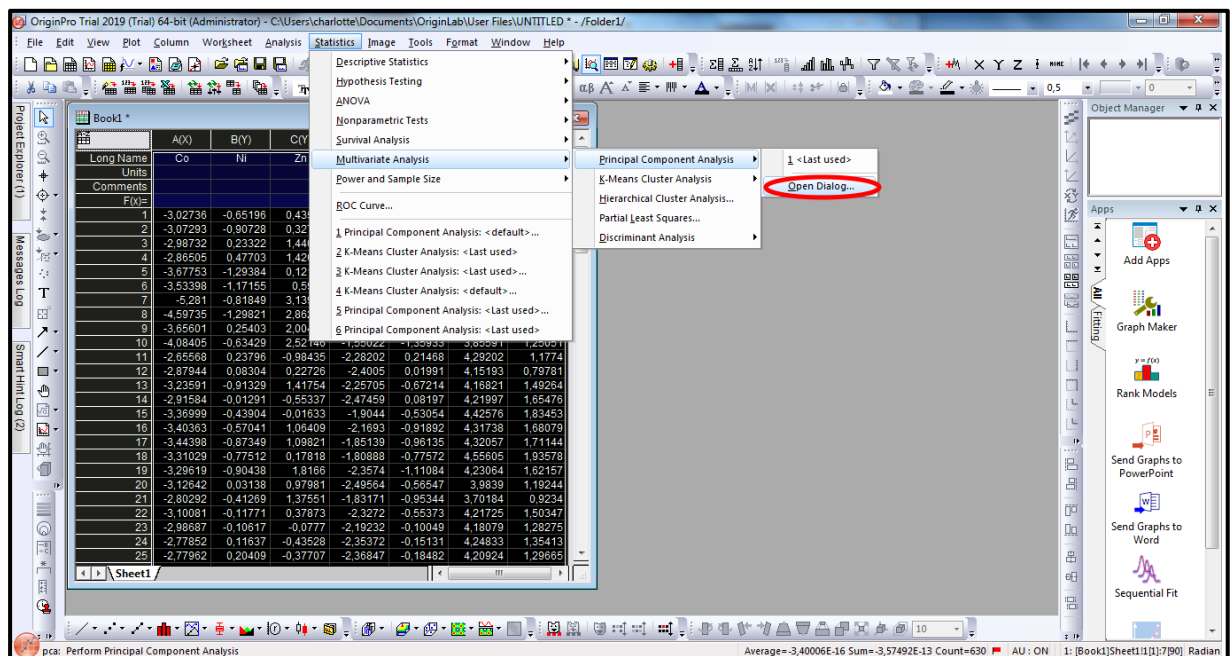
1. Importer dans OriginPro les données transformées par "centered log-ratio".

The image shows two windows from the OriginPro software. The left window, titled 'Book1', displays a data table with columns labeled A(X) through G(Y) corresponding to elements Co, Ni, Zn, Cu, Cr, Fe, and Ti. The rows represent individual samples, numbered 1 to 25. The right window, titled 'ACP VIDE - Microsoft Excel', shows a table of transformed data with columns for the elements and rows for samples. A red arrow points from the transformed data in the right window to the original data in the left window. A text box with the text 'Copier-coller' is overlaid on the right window, indicating the data transfer process.

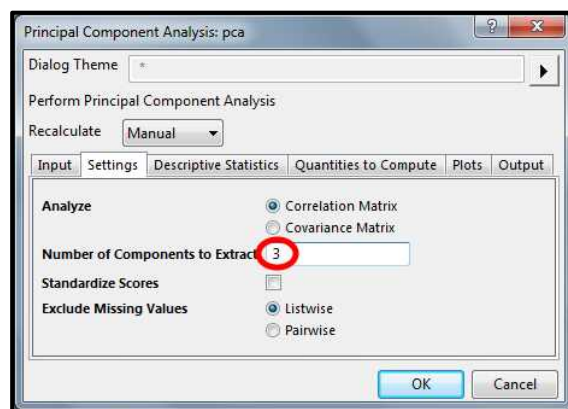
- Sélectionner toutes les données en cliquant dans la case en haut à gauche du tableau.

	A(X)	B(Y)	C(Y)	D(Y)	E(Y)	F(Y)	G(Y)
Units							
Comments							
F(X)							
1	-3.02736	-0.65196	0.43519	-2.178	-0.9774	4.46766	1.93187
2	-3.07293	-0.90728	0.32732	-2.00801	-0.86898	4.62034	1.90954
3	-2.98732	0.23322	1.44053	-1.89045	-0.92567	3.72979	0.3999
4	-2.86505	0.47703	1.42656	-2.28689	-0.31036	3.5539	0.0046
5	-3.07753	-1.29384	0.12115	-1.55639	-1.22006	4.99854	2.83713
6	-3.53398	-1.17155	0.5988	-1.50652	-1.33034	4.70644	2.23614
7	-5.281	-0.81849	3.13991	-0.60294	-1.50899	3.78456	1.30485
8	-4.59735	-1.29821	2.86221	-1.19019	-1.48887	4.01753	1.69188
9	-3.65601	0.25403	2.00423	-2.11298	0.2018	3.10496	0.20397
10	-4.08405	-0.63429	2.52146	-1.55022	-1.35933	3.85591	1.25051
11	-2.85588	0.23796	-0.98435	-2.28202	0.21468	4.29202	1.1774
12	-2.87944	0.08304	0.22726	-2.4005	0.01991	4.15193	0.79781
13	-3.23591	-0.91329	1.41754	-2.25705	-0.67214	4.16821	1.49264
14	-2.91584	-0.01291	-0.55337	-2.47459	0.08197	4.21997	1.65476
15	-3.36999	-0.43904	-0.01633	-1.9044	-0.53054	4.42576	1.83453
16	-3.40363	-0.57041	1.06409	-2.1693	-0.91892	4.31738	1.68079
17	-3.44398	-0.87349	1.09821	-1.85139	-0.95135	4.32057	1.71444
18	-3.31029	-0.77512	0.17818	-1.80888	-0.77572	4.55605	1.93578
19	-3.29619	-0.90438	1.8166	-2.3574	-1.11084	4.23064	1.62157
20	-3.12642	0.03138	0.97981	-2.49564	-0.56547	3.9839	1.19244
21	-2.80292	-0.41269	1.37551	-1.83171	-0.95344	3.70184	0.9234
22	-3.10081	-0.11771	0.37873	-2.3272	-0.55373	4.21725	1.50347
23	-2.98687	-0.10617	-0.0777	-2.19232	-0.10049	4.18079	1.28275
24	-2.77852	0.11637	-0.43528	-2.35372	-0.15131	4.24833	1.35413
25	-2.77962	0.20409	-0.37707	-2.36847	-0.18482	4.20924	1.29665

- Dans l'onglet "Statistics/Multivariate Analysis/Principal Component Analysis" cliquer sur "Open Dialog".



- Dans l'onglet "Settings" définir le nombre de composante principales à extraire (3 dans cette exemple) puis cliquer sur "OK".



ANNEXE 1 suite 2

Les résultats de L'ACP apparaissent alors à l'écran. L'onglet "PCA Report" regroupe les principaux résultats (Biplot en fonction de deux premières composantes principales, valeurs propres, ...). L'onglet "Score Data1" contient les scores de chaque échantillon en fonction du nombre de composantes principales définis à l'étape n°4.

- Si l'on souhaite réaliser un graphique nous permettant de visualiser la répartition des échantillons dans un plan à deux dimensions suivant les scores de 2 des composantes principales. Il est nécessaire de les normaliser.

Pour cela appliquer la formule de normalisation aux valeurs des deux composantes principales souhaitant être utilisé, puis tracer le graphique en fonction des valeurs normalisées.

Concentrations brutes en métaux dans les 34 lichens prélevés à Nouméa (NOU), Poro et sur le transect Nouméa-Poro loin d'influence minière (COUN) pour countryside et valeurs des données transformées

Données brutes (Concentrations en mg/kg)									
n°	ID Ech.	Type Ech.	Co	Ni	Zn	Cu	Cr	Fe	Ti
1	1	COUN	2,1	43,0	74,5	7,0	26,3	1894,0	127,8
2	8	COUN	2,0	26,0	58,6	1,2	17,6	2448,0	180,7
3	9	COUN	2,0	83,0	29,8	2,1	18,9	1742,0	99,0
4	10	COUN	20,6	443,0	91,8	17,3	119,8	21248,0	2044,5
5	11	COUN	11,4	75,0	52,4	20,8	60,6	32884,0	4324,6
6	22	COUN	3,4	32,0	76,1	1,2	19,7	5294,0	470,1
7	23	COUN	1,4	23,0	68,3	7,5	21,0	1561,0	136,4
8	24	COUN	6,6	60,0	20,2	21,7	30,1	7546,0	477,6
9	25	COUN	3,2	54,0	88,5	0,6	28,7	2269,0	171,6
10	26	COUN	5,0	51,0	22,8	6,8	57,6	3713,0	346,4
11	27	COUN	0,9	20,0	19,6	0,6	13,5	985,0	72,2
12	2	NOU	25,7	822,0	87,4	37,0	132,7	7509,0	298,1
13	3	NOU	2,8	64,0	28,0	4,4	14,2	2155,0	194,7
14	4	NOU	0,8	24,0	33,1	0,6	4,8	421,0	31,2
15	5	NOU	3,9	130,0	102,6	2,7	24,2	1669,0	122,1
16	6	NOU	1,8	64,0	29,3	3,6	12,9	762,0	32,1
17	7	NOU	2,4	66,0	66,8	0,6	18,0	1067,0	59,6
18	12	NOU	15,2	238,0	77,3	22,3	50,8	8015,0	799,7
19	13	NOU	53,3	1981,0	933,5	7,7	346,1	20161,0	752,1
20	14	NOU	12,0	429,0	69,2	2,8	60,2	4485,0	187,1
21	15	NOU	100,1	4140,0	153,3	15,3	318,5	21468,0	505,1
22	16	NOU	129,6	4536,0	259,1	36,0	1046,4	46687,0	1137,2
23	17	NOU	15,5	427,0	109,6	13,1	85,7	9232,0	710,6
24	18	NOU	12,5	432,0	62,8	8,7	75,7	4878,0	225,4
25	19	NOU	49,5	1645,0	237,7	110,0	400,1	21594,0	907,6
26	20	NOU	32,8	1344,0	98,8	9,5	156,8	9421,0	200,0
27	28	MINE	175,9	3536,0	147,2	2,7	1612,1	66798,0	63,8
28	29	MINE	13,5	204,0	32,6	0,8	111,4	5265,0	8,9
29	30	MINE	24,1	391,0	36,4	5,6	254,0	13716,0	158,4
30	32bis	MINE	294,0	4725,0	66,9	12,5	1261,9	64790,0	60,8
31	33	MINE	10,5	325,0	29,6	5,8	666,1	18357,0	42,5
32	34	MINE	0,3	12,0	3,5	3,1	11,8	438,0	4,2
33	35	MINE	10,6	191,0	48,9	1,1	118,5	4791,0	27,0
34	36	MINE	63,5	949,0	44,2	13,0	564,9	20159,0	26,8

ANNEXE 1 suite 3

Données transformées par CLR										
n°	ID Ech.	Type Ech.	gmx	Co	Ni	Zn	Cu	Cr	Fe	Ti
1	1	COUN	43,516	-3,046	-0,012	0,538	-1,827	-0,504	3,773	1,077
2	8	COUN	31,240	-2,729	-0,184	0,629	-3,259	-0,574	4,361	1,755
3	9	COUN	31,956	-2,766	0,954	-0,070	-2,722	-0,525	3,998	1,131
4	10	COUN	257,587	-2,528	0,542	-1,032	-2,701	-0,766	4,413	2,072
5	11	COUN	187,092	-2,799	-0,914	-1,273	-2,197	-1,127	5,169	3,140
6	22	COUN	46,776	-2,616	-0,380	0,487	-3,663	-0,865	4,729	2,308
7	23	COUN	35,653	-3,245	-0,438	0,650	-1,559	-0,529	3,779	1,342
8	24	COUN	78,796	-2,478	-0,273	-1,361	-1,290	-0,962	4,562	1,802
9	25	COUN	37,688	-2,463	0,360	0,854	-4,091	-0,272	4,098	1,516
10	26	COUN	60,389	-2,491	-0,169	-0,974	-2,184	-0,047	4,119	1,747
11	27	COUN	15,358	-2,894	0,264	0,244	-3,194	-0,129	4,161	1,548
12	2	NOU	213,644	-2,117	1,347	-0,894	-1,753	-0,476	3,560	0,333
13	3	NOU	38,685	-2,640	0,503	-0,323	-2,174	-1,002	4,020	1,616
14	4	NOU	11,494	-2,616	0,736	1,058	-2,904	-0,873	3,601	0,999
15	5	NOU	49,129	-2,536	0,973	0,736	-2,901	-0,708	3,526	0,910
16	6	NOU	23,394	-2,565	1,006	0,225	-1,872	-0,595	3,483	0,316
17	7	NOU	25,795	-2,379	0,939	0,952	-3,712	-0,360	3,722	0,837
18	12	NOU	153,773	-2,313	0,437	-0,688	-1,931	-1,108	3,954	1,649
19	13	NOU	454,146	-2,142	1,473	0,721	-4,077	-0,272	3,793	0,504
20	14	NOU	90,683	-2,022	1,554	-0,270	-3,478	-0,410	3,901	0,724
21	15	NOU	443,189	-1,487	2,234	-1,062	-3,366	-0,330	3,880	0,131
22	16	NOU	843,838	-1,873	1,682	-1,181	-3,154	0,215	4,013	0,298
23	17	NOU	176,515	-2,433	0,883	-0,477	-2,601	-0,723	3,957	1,393
24	18	NOU	113,668	-2,209	1,335	-0,593	-2,570	-0,407	3,759	0,685
25	19	NOU	557,342	-2,421	1,082	-0,852	-1,623	-0,331	3,657	0,488
26	20	NOU	198,690	-1,801	1,912	-0,699	-3,040	-0,237	3,859	0,007
27	28	MINE	402,052	-0,827	2,174	-1,005	-5,003	1,389	5,113	-1,841
28	29	MINE	45,022	-1,204	1,511	-0,323	-4,030	0,906	4,762	-1,621
29	30	MINE	140,119	-1,760	1,026	-1,348	-3,220	0,595	4,584	0,123
30	32bis	MINE	478,863	-0,488	2,289	-1,968	-3,646	0,969	4,907	-2,064
31	33	MINE	117,240	-2,413	1,020	-1,376	-3,006	1,737	5,054	-1,015
32	34	MINE	7,062	-3,126	0,530	-0,702	-0,823	0,513	4,127	-0,520
33	35	MINE	55,691	-1,664	1,232	-0,130	-3,925	0,755	4,455	-0,724
34	36	MINE	194,599	-1,120	1,584	-1,482	-2,706	1,066	4,640	-1,983

ANNEXE 2

Poids secs et MSSC (Matière sèche Sans Cendre) des biofilms (missions de mai et novembre 2016)

Date prélèvement	Cours d'eau	Station	Substrat	Rep	Biofilm après 48h à 45°C (mg)	poids de la fraction organique ou MSSC (mg)	poids de la fraction inorganique (mg)	fraction organique ou MSSC (%)	fraction inorganique (%)
23/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	galets	1	12,004	4,366	7,638	36,37	63,63
23/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	galets	1	15,914	4,069	11,845	25,57	74,43
24/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	galets	2	15,6	5,467	10,133	35,04	64,96
24/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	galets	2	20,098	7,232	12,866	35,98	64,02
24/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	galets	3	19,946	6,137	13,809	30,77	69,23
24/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	galets	3	15,196	4,530	10,666	29,81	70,19
26/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	lame verre	1	40,326	5,472	34,854	13,57	86,43
26/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	lame verre	2	56,422	7,096	49,326	12,58	87,42
26/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	lame verre	3	107,504	14,143	93,361	13,16	86,84
24/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D	galets	1	33,114	15,901	17,213	48,02	51,98
24/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D	galets	1	29,208	13,841	15,367	47,39	52,61
24/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D	galets	2	25,922	9,719	16,203	37,49	62,51
24/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D	galets	2	24,648	9,410	15,238	38,18	61,82
24/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D	galets	3	21,882	8,980	12,902	41,04	58,96
24/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D	galets	3	28,806	11,515	17,291	39,97	60,03
27/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D	lame verre	1	13,12	4,643	8,477	35,39	64,61
27/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D	lame verre	2	13,018	5,780	7,238	44,40	55,60
27/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D	lame verre	3	14,708	6,808	7,900	46,29	53,71
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	galets	1	9,422	3,142	6,280	33,35	66,65
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	galets	1	13,892	4,605	9,287	33,15	66,85
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	galets	2	24,638	11,230	13,408	45,58	54,42
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	galets	2	23,016	11,473	11,543	49,85	50,15
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	galets	3	34,482	11,850	22,632	34,36	65,64
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	galets	3	33,334	11,846	21,488	35,54	64,46
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	lame verre	1	7,52	2,393	5,127	31,82	68,18
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	lame verre	1	7,826	2,750	5,076	35,14	64,86
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	lame verre	2	5,972	2,450	3,522	41,03	58,97
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	lame verre	2	4,886	1,779	3,107	36,40	63,60
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	lame verre	3	12,694	4,399	8,295	34,66	65,34
25/05/2016	Riv Tivoli	Amont	galets	1	50,674	7,239	43,435	14,29	85,71
25/05/2016	Riv Tivoli	Amont	galets	2	34,474	8,731	25,743	25,33	74,67
25/05/2016	Riv Tivoli	Amont	galets	3	52,232	10,563	41,669	20,22	79,78
25/05/2016	Riv Tivoli	Amont	lame verre	1	15,598	4,365	11,233	27,98	72,02
25/05/2016	Riv Tivoli	Amont	lame verre	2	15,396	3,494	11,902	22,69	77,31
25/05/2016	Riv Tivoli	Amont	lame verre	3	10,95	3,634	7,316	33,18	66,82
26/05/2016	Riv Tivoli	Aval	galets	1	19,956	6,357	13,599	31,85	68,15
26/05/2016	Riv Tivoli	Aval	galets	2	16,48	5,918	10,562	35,91	64,09
26/05/2016	Riv Tivoli	Aval	galets	3	33,95	11,189	22,761	32,96	67,04
26/05/2016	Riv Tivoli	Aval	lame verre	1	60,034	24,363	35,671	40,58	59,42
26/05/2016	Riv Tivoli	Aval	lame verre	2	37,66	15,412	22,248	40,93	59,07
26/05/2016	Riv Tivoli	Aval	lame verre	3	78,226	33,395	44,831	42,69	57,31

Poids secs et MSSC des biofilms (missions de mai et novembre 2016)

Date prélèvement	Cours d'eau	Station	substrat	Rep	Biofilm après 48 à 45°C (mg)	poids de la fraction organique ou MSSC (mg)	poids de la fraction inorganique (mg)	fraction organique ou MSSC (%)	fraction inorganique (%)
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	galets	1	236,768	58,490	178,278	24,70	75,30
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	galets	1	220,935	54,408	166,527	24,63	75,37
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	galets	2	279,594	64,830	214,764	23,19	76,81
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	galets	2	216,906	54,374	162,532	25,07	74,93
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	galets	3	196,744	46,360	150,384	23,56	76,44
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	galets	3	220,537	55,468	165,069	25,15	74,85
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	lame verre	1	41,314	12,038	29,276	29,14	70,86
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	lame verre	1	39,929	10,112	29,817	25,33	74,67
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	lame verre	2	55,412	12,522	42,890	22,60	77,40
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	lame verre	2	62,252	14,010	48,242	22,51	77,49
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	lame verre	3	85,528	17,758	67,770	20,76	79,24
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	lame verre	3	48,964	9,642	39,322	19,69	80,31
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	galets	1	104,736	47,032	57,704	44,91	55,09
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	galets	1	80,385	33,616	46,769	41,82	58,18
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	galets	2	119,353	51,804	67,549	43,40	56,60
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	galets	2	75,663	31,824	43,839	42,06	57,94
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	galets	3	155,682	62,180	93,502	39,94	60,06
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	galets	3	182,744	70,630	112,114	38,65	61,35
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	lame verre	1	70,682	28,012	42,670	39,63	60,37
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	lame verre	1	75,697	30,260	45,437	39,98	60,02
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	lame verre	2	19,791	8,038	11,753	40,62	59,38
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	lame verre	2	32,121	10,646	21,475	33,14	66,86
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	lame verre	3	95,452	44,282	51,170	46,39	53,61
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	lame verre	3	65,003	23,146	41,857	35,61	64,39
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	galets	1	756,553	118,914	637,639	15,72	84,28
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	galets	1	703,821	126,924	576,897	18,03	81,97
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	galets	2	139,962	38,776	101,186	27,70	72,30
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	galets	2	110,207	30,648	79,559	27,81	72,19
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	galets	3	494,645	78,968	415,677	15,96	84,04
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	galets	3	528,209	80,692	447,517	15,28	84,72
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	lame verre	1	104,184	32,608	71,576	31,30	68,70
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	lame verre	1	66,761	21,258	45,503	31,84	68,16
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	lame verre	2	54,012	16,836	37,176	31,17	68,83
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	lame verre	2	65,163	20,456	44,707	31,39	68,61
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	lame verre	3	66,830	18,844	47,986	28,20	71,80
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	lame verre	3	72,476	20,936	51,540	28,89	71,11
10/11/2016	Riv Tivoli	Amont	galets	1	172,137	62,962	109,175	36,58	63,42
10/11/2016	Riv Tivoli	Amont	galets	1	200,743	71,896	128,847	35,81	64,19
10/11/2016	Riv Tivoli	Aval	galets	1	47,618	16,886	30,732	35,46	64,54
10/11/2016	Riv Tivoli	Aval	galets	2	33,745	12,452	21,293	36,90	63,10
10/11/2016	Riv Tivoli	Aval	galets	2	31,610	12,722	18,888	40,25	59,75
10/11/2016	Riv Tivoli	Aval	galets	3	89,852	37,192	52,660	41,39	58,61
10/11/2016	Riv Tivoli	Aval	galets	3	89,567	36,722	52,845	41,00	59,00
10/11/2016	Riv Tivoli	Amont	lame verre	1	20,376	8,640	11,736	42,40	57,60
10/11/2016	Riv Tivoli	Amont	lame verre	1	22,445	9,350	13,095	41,66	58,34
10/11/2016	Riv Tivoli	Amont	lame verre	2	17,271	7,444	9,827	43,10	56,90

Données de de bioaccumulation métallique dans les biofilms sur galets et lames de verre (missions de mai et novembre 2016)

GALETS

Date de prélèvement	cours d'eau	station	Rep	[Co] (mg/kg)	[Cr] (mg/kg)	[Fe] (mg/kg)	[Mn] (mg/kg)	[Ni] (mg/kg)
24/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D	1	108,7	388,3	37619,9	1199,1	2674,7
24/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D	2	115,8	423,3	46892,5	1256,2	3601,5
24/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D	3	96,4	408,2	41062,1	1038,4	4073,2
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	1	145,9	486,5	44879,8	2770,8	4542,6
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	2	113,3	514,2	38108,6	1846,5	2530,1
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	3	155,3	475,0	49415,3	2065,1	4655,3
24/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	3	359,5	1209,0	94126,2	4555,8	8153,7
23/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	1	434,0	768,9	64698,9	6965,3	9014,7
23/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	1 bis	451,6	836,3	71980,6	7446,9	9605,9
24/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	2	374,3	863,1	70520,4	6325,5	6766,2
25/05/2016	Tivoli	Amont	1	121,6	327,3	46664,3	1910,3	3683,7
25/05/2016	Tivoli	Amont	2	101,8	346,7	43770,5	1219,0	2489,5
25/05/2016	Tivoli	Amont	3	98,5	261,9	49375,8	1184,7	2754,0
26/05/2016	Tivoli	Aval	1	92,3	265,5	36498,6	3276,5	2276,2
26/05/2016	Tivoli	Aval	2	104,0	252,4	33384,0	5641,7	2219,7
26/05/2016	Tivoli	Aval	3	105,0	228,1	34065,7	5708,8	2082,9

Date de prélèvement	cours d'eau	station	Rep	[Co] (mg/kg)	[Cr] (mg/kg)	[Fe] (mg/kg)	[Mn] (mg/kg)	[Ni] (mg/kg)
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	1	307,2	1078,9	44378,8	1819,0	5538,7
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	2	299,8	1192,7	51367,6	2068,8	5993,3
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	3	283,8	1099,5	47117,7	1953,2	5692,7
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	1	125,8	641,4	40342,2	1140,8	3579,8
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	2	139,6	683,9	43076,1	1402,1	3871,6
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	3	144,9	736,0	41186,4	1389,7	3460,0
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	1	361,8	1471,0	32876,7	2109,0	6676,3
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	2	319,0	1322,4	57120,7	2222,2	6623,7
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	3	397,3	1443,4	49404,3	2274,9	7023,5
10/11/2016	Tivoli	Amont	1	107,6	474,1	38719,9	1562,9	3341,6
10/11/2016	Tivoli	Amont	2	90,9	367,5	34094,6	1820,0	2784,5
10/11/2016	Tivoli	Amont	3	142,8	420,1	39933,5	1254,6	3205,3
10/11/2016	Tivoli	Aval	1	108,4	322,5	32209,1	3855,0	1718,0
10/11/2016	Tivoli	Aval	2	98,7	338,5	36922,1	3909,6	1658,1
10/11/2016	Tivoli	Aval	3	105,6	303,7	30126,6	4489,6	1568,3

Données de de bioaccumulation métallique dans les biofilms sur galets et lames de verre (missions de mai et novembre 2016)

LAMES DE VERRE

Date de prélèvement	cours d'eau	station	Rep	[Co] (mg/kg)	[Cr] (mg/kg)	[Fe] (mg/kg)	[Mn] (mg/kg)	[Ni] (mg/kg)
27/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D	1	/	/	/	/	/
27/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D	2	144,8	1189,7	69929,5	1275,2	2665,7
27/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D	3	156,5	1319,9	74781,0	1470,3	2768,8
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	1	310,1	1065,8	75767,6	3045,1	3509,1
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	2	293,3	1404,1	86753,7	2853,1	3628,3
25/05/2016	Riv Talea Coco	Bras D-Pont	3	285,2	1049,6	74518,4	2841,3	3452,6
26/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	1	542,8	<LD	237880,4	3245,8	16537,3
26/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	2	516,4	<LD	236904,4	3240,3	16316,8
26/05/2016	Riv Talea Coco	Bras G	3	519,9	<LD	220993,3	3172,7	15465,6
25/05/2016	Tivoli	Amont	1	169,2	583,8	58791,1	3327,9	3290,8
25/05/2016	Tivoli	Amont	2	171,8	560,5	61999,2	2686,1	3418,6
25/05/2016	Tivoli	Amont	3	149,8	412,4	47908,7	2837,6	2735,3
26/05/2016	Tivoli	Aval	1	122,9	320,5	41826,3	8886,0	1719,0
26/05/2016	Tivoli	Aval	2	129,0	352,7	43678,8	9445,0	1756,5
26/05/2016	Tivoli	Aval	3	119,7	306,0	38480,3	8326,6	1678,3

Date de prélèvement	cours d'eau	station	Rep	[Co] (mg/kg)	[Cr] (mg/kg)	[Fe] (mg/kg)	[Mn] (mg/kg)	[Ni] (mg/kg)
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	1	365,3	1468,5	59675,2	2595,4	7539,2
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	2	394,9	1600,1	73184,9	2878,6	8319,1
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras G	3	321,6	1256,1	50160,0	2105,0	6719,9
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	1	188,3	913,8	51256,7	1859,4	3795,8
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	2	239,0	1465,7	86526,8	2394,2	5628,9
08/11/2016	Riv Talea Coco	Bras D	3	407,3	2381,6	119193,7	4397,3	9242,7
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	1	244,5	770,0	40369,7	1687,6	4758,6
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	2	294,2	1228,8	58109,5	1988,3	6127,4
07/11/2016	Riv Talea Coco	Aval	3	318,8	1158,3	53455,0	2115,2	6448,2
10/11/2016	Tivoli	Amont	1	125,9	537,5	43296,7	3367,2	3250,7
10/11/2016	Tivoli	Amont	2	127,7	581,3	45385,8	3146,1	3395,6
10/11/2016	Tivoli	Amont	3	121,8	468,8	33690,4	3478,8	2259,7
10/11/2016	Tivoli	Aval	1	119,9	325,4	31984,0	6083,4	1607,8
10/11/2016	Tivoli	Aval	2	124,7	332,0	33205,4	6277,6	1658,8
10/11/2016	Tivoli	Aval	3	125,2	340,4	34136,0	6537,6	1684,9

Concentrations en chlorophylle a et phaeopigments des biofilms collectés sur les 5 stations des rivières Taléa-Coco et Tivoli (mission de mai 2016)

N° échantillon	Date prélèvement	cours d'eau	station	substrat	Volume filtré pour dosage Chlorophylle / phaeopigments (ml)	No de filtres pour dosage Chlorophylle / phaeopigments (1 lorsque 2 réplicats ont été mesurés, c'est la valeur moyenne qui est citée)	valeurs mesurées par filtre			valeurs mesurées rapportées au volume filtré (par ml de volume filtré)			valeurs mesurées rapportées au volume filtre et à la surface échantillonnée (µg/L/cm de surface échantillonnée)			Remarques
							[Chl] (µg/l)	[Phae] (µg/l)	[NPhae]	[Chl] (µg/l)	[Phae] (µg/l)	[NPhae]	[Chl] (µg/l)	[Phae] (µg/l)	[NPhae]	
483	26/05/2016		Bras D 1	lame verre	10	1	644,75	336,51	34,22	64,68	33,65	3,42	1,47	0,02	0,08	algues vertes filamenteuses/capettes bien exposées
484	26/05/2016		Bras D 2	lame verre	10	1	681,93	324,17	32,22	66,19	32,42	3,22	1,57	0,02	0,07	algues vertes filamenteuses/capettes bien exposées
485	26/05/2016		Bras D 3	lame verre	20	1	397,72	208,28	34,37	19,89	10,41	1,72	0,75	0,04	0,06	algues vertes filamenteuses/capettes bien exposées
486	23/05/2016		Bras D 1	galets	6	2	1216,12	286,45	19,29	202,52	47,74	3,21	2,44	0,04	0,07	algues vertes filamenteuses/capettes bien exposées
487	24/05/2016		Bras D 2	galets	6,5	2	608,24	107,89	24,84	78,19	25,83	3,82	2,44	0,04	0,07	
488	24/05/2016		Bras D 3	galets	5	2	728,46	297,79	29,13	145,89	59,56	5,83	2,90	0,01	0,11	
489	27/05/2016		Aval confluence 1	lame verre	5	1	974,72	581,96	36,15	184,94	110,39	7,23	2,90	0,01	0,12	
490	27/05/2016		Aval confluence 2	lame verre	5	1	795,48	592,50	40,99	189,10	110,50	8,20	2,33	0,01	0,12	
491	27/05/2016	Riv Taléa	Aval confluence 3	lame verre	5	1	971,82	621,66	39,01	194,38	124,31	7,80	2,67	0,01	0,11	
492	24/05/2016	Coco	Aval confluence 1	galets	6	2	293,22	118,55	20,79	48,87	19,76	4,80	2,44	0,03	0,05	
493	24/05/2016		Aval confluence 2	galets	6	2	1058,65	326,54	22,76	175,98	54,42	3,96	2,44	0,03	0,04	
494	24/05/2016		Aval confluence 3	galets	6	2	732,16	291,43	28,68	122,19	48,57	4,78	2,44	0,04	0,07	laetéria +++
495	24/05/2016		Bras G 1	lame verre	10	1	605,07	117,26	16,23	60,51	11,73	1,62	2,44	0,04	0,05	laetéria +++
496	24/05/2016		Bras G 2	lame verre	10	1	772,82	195,34	16,93	77,28	15,63	1,68	2,44	0,03	0,05	laetéria +++
497	24/05/2016		Bras G 3	lame verre	10	1	920,40	114,50	11,06	92,04	11,45	1,11	2,92	0,03	0,04	laetéria +++
498	25/05/2016		Bras G 1	galets	16	2	207,35	77,85	27,40	12,96	4,87	1,71	2,44	0,03	0,04	laetéria +++
499	25/05/2016		Bras G 2	galets	6	2	610,96	191,39	23,48	101,83	30,23	3,91	2,44	0,03	0,04	
500	25/05/2016		Bras G 3	galets	6,5	2	691,92	191,13	25,21	82,48	29,41	4,03	2,44	0,03	0,04	
513	25/05/2016	Riv Tivoli	amont 1	galets	10	2	1653,69	14,85	0,90	165,37	1,49	0,09	2,44	0,03	0,04	
514	25/05/2016	Riv Tivoli	amont 2	galets	10	2	709,41	89,45	11,86	70,84	9,84	1,20	2,44	0,03	0,04	
515	25/05/2016	Riv Tivoli	amont 3	galets	10	2	1495,85	44,10	2,85	145,59	4,41	0,29	2,44	0,03	0,04	
516	25/05/2016		amont 1	lame verre	10	1	87,66	89,16	80,68	9,76	9,92	5,07	0,12	0,02	0,11	
517	25/05/2016		amont 2	lame verre	10	1	47,25	62,38	62,68	4,22	6,24	6,26	0,10	0,02	0,11	
518	25/05/2016	Riv Tivoli	amont 3	lame verre	10	1	32,34	43,51	56,91	3,29	4,35	6,69	0,08	0,02	0,13	1 capette un peu exondée => nb de faces préférentes
519	26/05/2016		aval 1	lame verre	5	1	1320,38	171,37	11,52	264,08	34,39	2,30	6,35	0,02	0,06	1 capette un peu exondée => nb de faces préférentes
520	26/05/2016		aval 2	lame verre	5	1	754,55	600,18	39,86	160,91	100,04	7,97	3,65	0,02	0,19	1 capette un peu exondée => nb de faces préférentes
521	26/05/2016		aval 3	lame verre	5	1	687,98	638,88	45,03	131,60	107,80	9,01	3,19	0,02	0,22	1 capette un peu exondée => nb de faces préférentes
522	26/05/2016	Riv Tivoli	aval 1	galets	5	2	2207,95	214,77	8,85	441,42	42,95	1,77	43,53	0,10	0,17	
523	26/05/2016	Riv Tivoli	aval 2	galets	10	1	1899,90	61,38	3,11	189,90	5,14	0,31	16,49	0,10	0,03	
524	26/05/2016	Riv Tivoli	aval 3	galets	10	1	1644,48	6,76	0,41	164,45	0,68	0,04	17,50	0,11	0,00	

Densités cellulaires de diatomées dénombrées dans les biofilms collectés sur les 5 stations des rivières Taléa-Coco et Tivoli (mission de mai 2016)

N° échantillon (année entrée)	code EPOC (filtres GH PP, filtre pour bioac; filtres GF C; filtre pour MISC)	Date	Heure début	cours d'eau	station	substrat	Nb de cailloux/ nb faces (30*8=240 cm2)	Surface totale échantillonnée (cm ²)	Type d'échantillons Ascomit	Volumen pour numération (lugol)	Volume total de l'échantillon (en ml)	Echantillon compté	Dilution effectuée pour le comptage	
		prélèvement	prélèvement											
20160483	filtres GH PP (75,76) + filtres GF C (36)	26/05/2016	15h30	Riv Taléa Coco	Bras G 1	lame verre	18	4320	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	40	132	Lugol	1	
20160484	filtres GH PP (77,78) + filtres GF C (37)	26/05/2016	15h30		Bras G 2	lame verre	18	4320	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	40	89	Formol	6	
20160485	filtres GH PP (79,80) + filtres GF C (38)	26/05/2016	15h30		Bras G 3	lame verre	18	4320	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	40	92	Formol	1	
20160486	filtres GH PP (1,2,3,4,5,6,7,8) + filtres GF C (1,2)	23/05/2016	16h		Bras G 1	galets	32		Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	592	Lugol	1	
20160487	filtres GH PP (20,21) + filtres GF C (9,10)	24/05/2016	14h		Bras G 2	galets	16		Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	258,5	Lugol	1	
20160488	filtres GH PP (22,23) + filtres GF C (11,12)	24/05/2016	14h		Bras G 3	galets	16		Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	289	Lugol	1	
20160489	filtres GH PP (81,82) + filtres GF C (39)	27/05/2016	8h30		Bras D 1	lame verre	30	7200	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	40	104	Lugol	4	
20160490	filtres GH PP (83,84) + filtres GF C (40)	27/05/2016	8h30		Bras D 2	lame verre	30	7200	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	40	106	Lugol	6	
20160491	filtres GH PP (85,86) + filtres GF C (41)	27/05/2016	8h30		Bras D 3	lame verre	30	7200	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	212	Lugol	2	
20160492	filtres GH PP (9,10,11,12) + filtres GF C (3,4)	24/05/2016	8h30		Bras D 1	galets	16		Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	270	Lugol	4	
20160493	filtres GH PP (13,14,15,16) + filtres GF C (5,6)	24/05/2016	8h30		Bras D 2	galets	15		Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	244,5	Lugol	2	
20160494	filtres GH PP (17,18,19) + filtres GF C (7,8)	24/05/2016	8h30		Bras D 3	galets	17		Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	242	Lugol	2	
20160495	filtres GH PP (30,31,32,33) + filtres GF C (19,20)	24/05/2016	11h		Taléa droite-point	lame verre	28	6720	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	30	70	Lugol	4	
20160496	filtres GH PP (34,35,36) + filtres GF C (21,22)	24/05/2016	11h		Taléa droite-point	lame verre	30	7200	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	40	75	Lugol	4	
20160497	filtres GH PP (37,38) + filtres GF C (23)	24/05/2016	11h		Taléa droite-point	lame verre	32	7680	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	40	75	Lugol	4	
20160498	filtres GH PP (24,25) + filtres GF C (13,14)	25/05/2016	8h45		Taléa droite-point	galets	16		Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	347	Lugol	1	
20160499	filtres GH PP (26,27) + filtres GF C (15,16)	25/05/2016	8h45		Taléa droite-point	galets	16		Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	254,5	Lugol	2	
20160500	filtres GH PP (28,29) + filtres GF C (17,18)	25/05/2016	8h45		Taléa droite-point	galets	16		Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	337	Lugol	4	
20160513	filtres GH PP (39,40,41,42) + filtres GF C (24)	25/05/2016	15h		Riv Tivoli	amont 1	galets	20		Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	339	Lugol	1
20160514	filtres GH PP (43,44) + filtres GF C (25)	25/05/2016	15h	Riv Tivoli	amont 2	galets	20		Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	295	Lugol	1	
20160515	filtres GH PP (45,46) + filtres GF C (26)	25/05/2016	15h	Riv Tivoli	amont 3	galets	20		Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	258	Lugol	1	
20160516	filtres GH PP (47,48) + filtres GF C (27)	25/05/2016	18h	Riv Tivoli	amont 1	lame verre	30	7200	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	40	100	Lugol	1	
20160517	filtres GH PP (49,50) + filtres GF C (28)	25/05/2016	18h		amont 2	lame verre	30	7200	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	40	96	Lugol	1	
20160518	filtres GH PP (51,52) + filtres GF C (29)	25/05/2016	18h		amont 3	lame verre	30	7200	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	40	106	Lugol	1	
20160519	filtres GH PP (63,64,65,66) + filtres GF C (33)	26/05/2016	11h		aval 1	lame verre	28	6720	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	40	111,5	Lugol	4	
20160520	filtres GH PP (67,68,69,70) + filtres GF C (34)	26/05/2016	11h		aval 2	lame verre	28	6720	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	40	108	Lugol	4	
20160521	filtres GH PP (71,72,73,74) + filtres GF C (35)	26/05/2016	11h		aval 3	lame verre	28	6720	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	40	108	Lugol	4	
20160522	filtres GH PP (53,54,55) + filtres GF C (30)	26/05/2016	9h		Riv Tivoli	aval 1	galets	12	2880	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	239	Lugol	1
20160523	filtres GH PP (56,57,58) + filtres GF C (31)	26/05/2016	9h		Riv Tivoli	aval 2	galets	12	2880	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	252	Lugol	1
20160524	filtres GH PP (59,60,61) + filtres GF C (32)	26/05/2016	9h		Riv Tivoli	aval 3	galets	12	2880	Peuplement Nu mération dosage chlorophy lle	80	256,5	Lugol	1

ANNEXE 5 suite

Densités cellulaires de diatomées dénombrées dans les biofilms collectés sur les 5 stations des rivières Taléa-Coco et Tivoli (mission de mai 2016)

cours d'eau	station	Vaires vides	Vaires pleines	Nb total de vaires	Nb colonnes	Nb cellules vivantes	% de cellules vivantes	Vol colonne (en µL)	densité cellulaire dans échantillon compté (cellules vivantes/mL)	densité cellulaire dans échantillon initial (cellules vivantes/mL)	Nombre de cellules vivantes échantillonnées	Nombre de cellules vivantes par cm ²
Riv Taléa Coco	Bras G 1	77	163	240	6	82	67,92	1,25	10867	10867	1434400	332
	Bras G 2	120	213	333	3	107	63,96	1,25	28400	170400	15165600	3511
	Bras G 3	102	160	262	3	80	61,07	1,25	21333	21333	1962667	454
	Bras G 1	81	120	201	13	60	59,70	1,25	3692	3692	2185846	
	Bras G 2	90	114	204	7	57	55,88	1,25	6514	6514	1683943	
	Bras G 3	87	128	215	5	64	59,53	1,25	10240	10240	2959360	
	Bras D 1	109	142	251	3	71	56,57	1,25	18933	75733	7876267	1094
	Bras D 2	262	370	632	3	185	58,54	1,25	49333	296000	31376000	4358
	Bras D 3	178	73	251	5	37	29,08	1,25	5840	11680	2476160	344
	Bras D 1	190	102	292	3	51	34,93	1,25	13600	54400	14688000	
	Bras D 2	74	142	216	4	71	65,74	1,25	14200	28400	6943800	
	Bras D 3	100	126	226	4	63	55,75	1,25	12600	25200	6098400	
	Taléa droite-pont	189	581	770	3	291	75,45	1,25	77467	309867	21690667	3228
	Taléa droite-pont	96	370	466	3	185	79,40	1,25	49333	197333	14800000	2056
	Taléa droite-pont	132	238	370	3	119	64,32	1,25	31733	126933	9520000	1240
	Taléa droite-pont	85	126	211	6	63	59,72	1,25	8400	8400	2914800	
	Taléa droite-pont	65	146	211	6	73	69,19	1,25	9733	19467	4954267	
	Taléa droite-pont	128	176	304	3	88	57,89	1,25	23467	93867	31633067	
Riv Tivoli	amont 1	101	108	209	13	54	51,67	1,25	3323	3323	1126523	
Riv Tivoli	amont 2	107	122	229	5	61	53,28	1,25	9760	9760	2879200	
Riv Tivoli	amont 3	95	124	219	8	62	56,62	1,25	6200	6200	1599600	
Riv Tivoli	amont 1	97	116	213	8	58	54,46	1,25	5800	5800	580000	81
	amont 2	83	138	221	8	69	62,44	1,25	6900	6900	662400	92
	amont 3	82	122	204	17	61	59,80	1,25	2871	2871	304282	42
	aval 1	127	166	293	3	83	56,66	1,25	22133	88533	9871467	1469
	aval 2	113	196	309	3	98	63,43	1,25	26133	104533	11289600	1680
	aval 3	108	132	240	4	66	55,00	1,25	13200	52800	5702400	849
Riv Tivoli	aval 1	123	108	231	8	54	46,75	1,25	5400	5400	1290600	448
Riv Tivoli	aval 2	118	114	232	6	57	49,14	1,25	7600	7600	1915200	665
Riv Tivoli	aval 3	216	138	354	5	69	38,98	1,25	11040	11040	2831760	983

Inventaires diatomiques des biofilms collectés sur les 5 stations des rivières Taléa-Coco et Tivoli (mission de mai 2016)

	Riv Taléa Coco	Riv Taléa Coco	Riv Taléa Coco	Riv Taléa Coco	Riv Taléa Coco	Riv Taléa Coco	Riv Taléa Coco	Riv Taléa Coco	Riv Taléa Coco	Riv Taléa Coco	Riv Taléa Coco	Riv Taléa Coco	Riv Taléa Coco
	Bras G 1	Bras G 2	Bras G 3	Bras G 1	Bras G 2	Bras G 3	Bras D 1	Bras D 2	Bras D 3	Bras D 1	Bras D 2	Bras D 3	Taléa droite-pont 1
Adiantum (Huissein) Lange-Bertalot													
Adiantum (Huissein) Lange-Bertalot													
Achnanthes sp. 1													
Achnanthes sp. 2													
Achnanthes sp. 3													
Achnanthes sp. 4													
Achnanthes sp. 5													
Achnanthes sp. 6													
Achnanthes sp. 7													
Achnanthes sp. 8													
Achnanthes sp. 9													
Achnanthes sp. 10													
Achnanthes sp. 11													
Achnanthes sp. 12													
Achnanthes sp. 13													
Achnanthes sp. 14													
Achnanthes sp. 15													
Achnanthes sp. 16													
Achnanthes sp. 17													
Achnanthes sp. 18													
Achnanthes sp. 19													
Achnanthes sp. 20													
Achnanthes sp. 21													
Achnanthes sp. 22													
Achnanthes sp. 23													
Achnanthes sp. 24													
Achnanthes sp. 25													
Achnanthes sp. 26													
Achnanthes sp. 27													
Achnanthes sp. 28													
Achnanthes sp. 29													
Achnanthes sp. 30													
Achnanthes sp. 31													
Achnanthes sp. 32													
Achnanthes sp. 33													
Achnanthes sp. 34													
Achnanthes sp. 35													
Achnanthes sp. 36													
Achnanthes sp. 37													
Achnanthes sp. 38													
Achnanthes sp. 39													
Achnanthes sp. 40													
Achnanthes sp. 41													
Achnanthes sp. 42													
Achnanthes sp. 43													
Achnanthes sp. 44													
Achnanthes sp. 45													
Achnanthes sp. 46													
Achnanthes sp. 47													
Achnanthes sp. 48													
Achnanthes sp. 49													
Achnanthes sp. 50													
Achnanthes sp. 51													
Achnanthes sp. 52													
Achnanthes sp. 53													
Achnanthes sp. 54													
Achnanthes sp. 55													
Achnanthes sp. 56													
Achnanthes sp. 57													
Achnanthes sp. 58													
Achnanthes sp. 59													
Achnanthes sp. 60													
Achnanthes sp. 61													
Achnanthes sp. 62													
Achnanthes sp. 63													
Achnanthes sp. 64													
Achnanthes sp. 65													
Achnanthes sp. 66													
Achnanthes sp. 67													
Achnanthes sp. 68													
Achnanthes sp. 69													
Achnanthes sp. 70													
Achnanthes sp. 71													
Achnanthes sp. 72													
Achnanthes sp. 73													
Achnanthes sp. 74													
Achnanthes sp. 75													
Achnanthes sp. 76													
Achnanthes sp. 77													
Achnanthes sp. 78													
Achnanthes sp. 79													
Achnanthes sp. 80													
Achnanthes sp. 81													
Achnanthes sp. 82													
Achnanthes sp. 83													
Achnanthes sp. 84													
Achnanthes sp. 85													
Achnanthes sp. 86													
Achnanthes sp. 87													
Achnanthes sp. 88													
Achnanthes sp. 89													
Achnanthes sp. 90													
Achnanthes sp. 91													
Achnanthes sp. 92													
Achnanthes sp. 93													
Achnanthes sp. 94													
Achnanthes sp. 95													
Achnanthes sp. 96													
Achnanthes sp. 97													
Achnanthes sp. 98													
Achnanthes sp. 99													
Achnanthes sp. 100													

Inventaires diatomiques des biofilms collectés sur les 5 stations des rivières Taléa-Coco et Tivoli (mission de mai 2016)

coups d'eau	Riv Taléa Coco Taléa droite-pont 2	Riv Taléa Coco Taléa droite-pont 3	Riv Taléa Coco Taléa droite-pont 1	Riv Taléa Coco Taléa droite-pont 2	Riv Taléa Coco Taléa droite-pont 3	Riv Tivoli amont 1 lame verre	Riv Tivoli amont 2 lame verre	Riv Tivoli amont 3 galéts	Riv Tivoli amont 1 galéts	Riv Tivoli amont 2 galéts	Riv Tivoli amont 3 galéts	Riv Tivoli aval 1 lame verre	Riv Tivoli aval 2 lame verre	Riv Tivoli aval 3 lame verre	Riv Tivoli aval 1 galéts	Riv Tivoli aval 2 galéts	Riv Tivoli aval 3 galéts	
<i>Navicula eschigae</i> Lange-Bertalot in Krammer & Lange-Bertalot																		
<i>Navicula eschigae</i> (Patrick) Metzeltin & Lange-Bertalot																		
<i>Navicula gregaria</i> Doobin						1	2											
<i>Nitzschia ingenua</i> Hustedt																		
<i>Nitzschia intermedia</i> Hantzsch ex Cleve & Grunow																		
<i>Navicula lehrmanniae</i> Lange-Bertalot & Steindorf						1												
<i>Navicula melanesica</i> Lange-Bertalot & Steindorf				1		3	7	10	5	3	3	4	2	2	4	3	5	
<i>Navicula melanesica</i> Lange-Bertalot & Steindorf inoprobops minor																		
<i>Nitzschia palaua</i> (Kützing) W. Smith var. <i>delibata</i> (Kützing) Grunow in Cl. &																		
<i>Nitzschia palaua</i> (Grunow) Grunow in van Heurck																		
<i>Nitzschia palaua</i> (Kützing) W. Smith var. <i>palaua</i>						2	1	2										
<i>Nitzschia palaua</i> (Kützing) W. Smith var. <i>leimiroensis</i> Grunow in V. Heurck																		
<i>Navicula quasidijuncta</i> Lange-Bertalot & Rühmlich								1										
<i>Navicula rostellata</i> Kützing																		
<i>Navicula sp. n. n. 1</i> Moser Lange-Bertalot & Metzeltin						9	10	12	9	4	4	18	9	16	1	2	1	
<i>Nitzschia b. axata</i> Hustedt																		
<i>Pseudofallica tenera</i> (Hustedt) Lin. Koccolak & Wang																		
<i>Pirulina stonatorophora</i> (Grunow) Cleve var. <i>stonatorophora</i>																		
<i>Sellaphora arvensis</i> (Hustedt) Witzel et Ester																		
<i>Sellaphora girvanica</i> Witzel								2										
<i>Sellaphora inopropicia</i> (Moser, Lange-Bertalot & Metzeltin) Witzel, Ester, Van de Vijver, Compère et Mann																		
<i>Sellaphora japonica</i> (Kobayasi) H. Kobayasi in Miyama & Karashima																		
<i>Stauronatis koniamboensis</i> (Mang) Moser Lange-Bertalot & Metzeltin						1	4	2	4			12	7	5	5	4	5	
<i>Stauronatis neocaledonica</i> fo. <i>punctata</i> (Mallard) Lange-Bertalot & Stein												2	3	3	1	1		
<i>Sellaphora pupula</i> (Kützing) Moser & Grunow												1		2				
<i>Stauronatis resobata</i> Moser Lange-Bertalot & Metzeltin							1					13	10	9	2	2		
<i>Sellaphora nitens</i> (Hustedt) Witzel																		
<i>Sellaphora semibrevi</i> (Grunow) D.G. Mann							4	3	2	1	7	7	4	4				
<i>Sellaphora stromenti</i> (Hustedt) Kobayasi in Miyama, Imai, Otsuka & Nagumo						2												
<i>Stauronatis neocaledonica</i> Mang in ex Koccolak & Raviers																		
<i>Ulvecia n. n. (Nitzsch)</i> Compère						1						2						
DIACTIONE NON IDENTIFIÉE (indéterminés)																		
TOTAL	510	526	505	505	501	504	509	515	508	512	500	522	508	505	505	516	504	

Données de bioaccumulation métallique dans les crustacés

Site de prélèvement	n° crustacé	nom du crustacé	poids (g)	long. Céphalo avec rostre (cm)	long. Céphalo sans rostre (cm)	Largeur (crabe) (cm) ou longueur totale	PF Hépaté (g)
Estuaire Taléa (coco)	C33	Crabes de palétuvier	451			16	
Estuaire Taléa (coco)	C34	Crabes de palétuvier	706,2			14,5	
Estuaire Taléa (coco)	C35	Crabes de palétuvier	503			14	
Estuaire Taléa (coco)	C36	Crabes de palétuvier	558			14,5	
Estuaire Taléa (coco)	C37	Crabes de palétuvier	494,4			14	
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	C1	Macrobrachium amelum	5	3	2	7,5	0,0567
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	C2	Macrobrachium amelum	4	2,8	2,3	7,2	0,0762
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	C3	Macrobrachium amelum	2,1	2	1,5	5,5	0,0217
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	C4	Macrobrachium amelum	2,4	2	1,5	5,5	0,0059
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	C5	Macrobrachium amelum	1,7	2	1,5	5,5	0,0803
Taléa gauche (24/05/2016, 10h00)	C6	Macrobrachium amelum	2,1	2	1	5,6	0,038
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	C7	Macrobrachium amelum	1,5	2,5	1,8	6,5	0,08
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	C8	Macrobrachium amelum	3,8	2,8	2,1	7,2	0,0947
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	C9	Macrobrachium amelum	3	2,5	1,7	6,1	0,0908
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	C10	Macrobrachium amelum	1,6	2,3	1,6	5,5	0,0368
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	C19	Macrobrachium amelum	7,3	3	2,5	8	0,0307
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	C20	Macrobrachium amelum	8	3,5	2,5	8,3	0,1528
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	C21	Macrobrachium amelum	8,4	3	2,4	8	0,3297
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	C22	Macrobrachium amelum	8,3	3,5	2,5	8	0,1001
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	C23	Macrobrachium amelum	5,1	2,6	2	7	0,0256
Taléa aval (27/05/2016, 10h00)	C24	Macrobrachium amelum	4,3	3	2	6,5	0,0692
Taléa aval (27/05/2016, 10h00)	C25	Macrobrachium amelum	3	2,5	2	6	0,1797
Taléa aval (27/05/2016, 10h00)	C26	Macrobrachium amelum	1,9	2	1,5	5,5	0,1132
Taléa aval (27/05/2016, 10h00)	C27	Macrobrachium amelum	2,3	2	1,7	5,4	0,0479
Taléa aval (27/05/2016, (15h00)	C28	Macrobrachium amelum	3,9	2,3	2	6,5	0,0873
Taléa aval (27/05/2016, (15h00)	C29	Macrobrachium amelum	2,9	2,5	1,8	6,2	0,078
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	C11	Macrobrachium caledonicum	2,7	2,8	1,9	6,8	0,1415
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	C12	Macrobrachium caledonicum	1,5	2,2	1,4	5	0,0057
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	C13	Macrobrachium caledonicum	2,9	2,2	1,9	6,6	0,0606
Taléa aval (27/05/2016, (15h00)	C30	Macrobrachium caledonicum	3,9	3	2,5	7	0,1351
Taléa aval (27/05/2016, (15h00)	C31	Macrobrachium caledonicum	4,7	3	2,5	7	0,1734
Taléa aval (27/05/2016, (15h00)	C32	Macrobrachium caledonicum	4,8	3	2	7,5	0,2482
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	C14	Macrobrachium lar	36,3	6	4	14	1,5219
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	C15	Macrobrachium lar	9,8	4	2,7	9,5	0,1053
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	C16	Macrobrachium lar	28,6	6,5	4	14	1,0034
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	C17	Macrobrachium lar	21,4	5	3,5	12,5	0,0239
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	C18	Macrobrachium lar	18,5	4,7	3,3	11,7	0,4406

Données de bioaccumulation métallique dans les crustacés

n° crustacé	PS Hépaté minéralisé (g)	[Co] hépaté (mg/kg)	[Cr] hépaté (mg/kg)	[Fe] hépaté (mg/kg)	[Mn] hépaté (mg/kg)	[Ni] hépaté (mg/kg)
C33	0,105	2,546324464	0,673381684	195,0835446	11,2598813	9,624413486
C34	0,0715	7,949935685	1,265541504	471,1246213	12,46580651	83,35853395
C35	0,0398	71,81267258	301,8886437	22704,72015	789,3901326	423,4802937
C36	0,0779	21,28912954	12,6815651	1608,638303	175,4282201	61,33512721
C37	0,1523	12,14061749	1,701971652	6155,430107	45,29529704	11,27042562
C1	0,0247	11,68721887	17,72641874	105,4681289	60,69103217	20,18745634
C2	0,036	10,30168047	25,55068316	381,3627239	92,72562333	50,574283
C3	0,0092	12,62728577	42,67460064	160,1627398	110,8632959	37,32219579
C4	0,0022	50,04330482	271,3227577	7566,383838	809,8292654	717,2562764
C5	0,0421	27,35641816	64,75602539	<LD	105,1260951	245,769486
C6	0,0169	1,902374052	8,270867681	32,01349185	28,67133977	4,813360765
C7	0,0379	18,30780009	80,3965166	<LD	136,4047202	187,5825784
C8	0,0353	1,265946804	4,951998806	27,43175118	59,45818802	3,930923776
C9	0,0378	2,395866075	3,048697107	25,54835479	25,27641383	4,163204334
C10	0,0179	4,26466713	24,82000839	460,6045363	51,27852695	38,78289967
C19	0,0112	10,99756445	12,05281161	475,4094954	405,8730813	60,74181747
C20	0,0713	0,765678115	2,384723998	39,49655151	26,96232145	4,223009472
C21	0,1555	1,342368186	1,055559276	22,42478718	8,255269412	4,27791255
C22	0,0294	1,081003381	3,5238822	113,8237403	39,39798717	3,495125088
C23	0,0204	<LD	1,120092927	23,66691846	13,20535745	<LD
C24	0,0194	3,240857379	5,032825283	74,67346545	37,08339824	6,551840727
C25	0,1022	3,684903653	8,701652868	22,02145113	10,13650347	7,050363759
C26	0,0615	3,777692015	3,138204231	57,68750803	12,52341597	5,645995022
C27	0,0242	6,094136862	4,687271197	30,74892881	25,71047257	10,33687037
C28	0,0384	18,72364091	16,92169053	34,8841033	14,31783828	21,94096194
C29	0,031	14,83292019	14,90885192	24,92843252	10,64342543	8,247061382
C11	0,0724	3,564725886	13,94990825	549,9036157	23,37758279	29,73039119
C12	0,0021	22,72539044	65,25468038	3028,711775	132,1145774	204,5536221
C13	0,0217	4,589029866	26,81409251	690,7608891	44,17756051	26,45526397
C30	0,0701	19,46187905	9,47918171	69,40635841	4,687893098	9,915392308
C31	0,0898	16,22146992	56,69566877	<LD	112,4090143	140,5932989
C32	0,1214	2,11267365	5,071330922	60,77252787	7,249484913	0,858171239
C14	0,2107	0,497189536	3,304754785	35,30083306	7,054334448	2,24961616
C15	0,0538	<LD	3,277180332	51,76399989	9,592287658	0,665594066
C16	0,215	0,321192782	1,280470575	50,47787623	10,51977734	1,7491984
C17	0,0134	<LD	4,691804425	131,7724121	30,79740643	5,144288406
C18	0,2458	0,433518077	1,294659683	61,30468318	12,69668753	2,884802029

Données de bioaccumulation métallique dans les crustacés

n° crustacé	PS Branchies minéralisé (g)	[Co] Branchies (mg/kg)	[Cr] Branchies (mg/kg)	[Fe] Branchies (mg/kg)	[Mn] Branchies (mg/kg)	[Ni] Branchies (mg/kg)
C33	0,0508	1,786112808	4,727169411	2142,446733	67,72760576	17,2159537
C34	0,0209	4,837884887	33,61386013	6157,944422	102,6192429	90,7092959
C35	0,0289	1,870109249	4,92814972	2487,920449	95,80208527	15,77005111
C36	0,0294	1,179041129	2,201007469	1489,703236	51,92347392	7,514659034
C37	0,017	5,253521393	25,47247496	4866,098441	98,78880807	75,58626673
C1	0,0128	10,05552876	248,0923443	6984,892409	93,02556449	306,5144754
C2	0,0093	8,78550339	360,7053132	3922,786588	107,6564965	150,4050196
C3	0,0017	6,887697962	751,6255305	585,4292525	115,8568326	49,7325377
C4	0,0022	7,585651873	344,8199796	1089,633614	101,297271	76,80210986
C5	0,0013	15,70215228	625,0338652	5566,557039	127,1007421	170,1769371
C6	-	-	-	-	-	-
C7	0,0061	1,53660237	46,68017315	195,2098292	43,0988981	17,27046708
C8	0,0094	2,839852955	62,27984213	1324,054243	110,7286628	62,39154032
C9	0,0021	<LD	84,28131047	583,3404369	101,8035653	38,52938852
C10	0,0028	<LD	33,2010864	398,7419275	30,24775845	23,52284926
C19	-	-	-	-	-	-
C20	-	-	-	-	-	-
C21	-	-	-	-	-	-
C22	-	-	-	-	-	-
C23	-	-	-	-	-	-
C24	0,0057	13,64131173	680,8978951	3140,709454	191,9874932	156,7346291
C25	0,0038	5,416015844	72,36515872	1636,079606	74,61847932	63,69099228
C26	0,0018	6,369468281	127,3750637	987,0256671	79,26939455	57,98255415
C27	0,003	3,799364887	65,47533526	910,144511	49,16214308	44,8859302
C28	0,004	4,291255146	71,22084536	1299,036239	78,02102685	61,98885516
C29	0,0039	14,30418382	285,6491258	3949,090191	106,3125215	216,2937449
C11	0,0081	1,724752765	85,51565948	622,0802299	37,02481912	34,0360364
C12	-	-	-	-	-	-
C13	0,0034	3,909976183	143,6002377	3120,196739	64,41262379	56,57786108
C30	0,0073	2,903314439	115,4872687	538,6686807	30,83815585	39,23557479
C31	0,0118	3,133483458	138,3492616	368,0456674	27,6548573	23,38634948
C32	0,011	9,908162648	356,4771686	8823,198035	97,67056011	169,949798
C14	-	-	-	-	-	-
C15	-	-	-	-	-	-
C16	-	-	-	-	-	-
C17	-	-	-	-	-	-
C18	-	-	-	-	-	-

Données de bioaccumulation métallique dans les crustacés

n° crustacé	PS Muscle minéralisé (g)	[Co] Muscle (mg/kg)	[Cr] Muscle (mg/kg)	[Fe] Muscle (mg/kg)	[Mn] Muscle (mg/kg)	[Ni] Muscle (mg/kg)
C33	0,0658	0,680454822	2,143841453	186,3403268	5,800414265	5,24836248
C34	0,0287	0,898743557	4,329004414	374,6864172	28,34510624	7,811994926
C35	0,0361	2,064808796	12,83449329	1000,931764	35,85184269	22,56096927
C36	0,0804	0,902075259	4,492624342	307,0183485	26,84632783	6,920279284
C37	0,0429	0,772210273	2,081434391	175,2625504	13,48520814	5,552155613
C1	0,1442	1,214469795	6,898882193	271,4208806	10,20410198	13,4600465
C2	0,0611	0,551019305	7,956922424	109,6168557	9,601251067	7,062111425
C3	0,0872	0,722940658	12,19686147	17,95880825	6,694186121	2,287539467
C4	0,0849	0,871713514	7,849221694	37,34212957	14,39425929	3,585574504
C5	0,0644	0,405932132	4,472178747	16,90416116	5,713920935	0,943570416
C6	0,1122	<LD	0,905429808	7,157902315	4,989751509	0,350166283
C7	0,0796	0,296599043	1,430242743	22,32290833	7,040248794	1,32747659
C8	0,1058	<LD	1,216132236	18,77556245	13,33241517	0,993521548
C9	0,0511	<LD	0,755958496	7,10630766	14,96041979	0,478498791
C10	0,0478	<LD	1,719140214	42,57509048	4,46013623	1,960275295
C19	-	-	-	-	-	-
C20	-	-	-	-	-	-
C21	-	-	-	-	-	-
C22	-	-	-	-	-	-
C23	-	-	-	-	-	-
C24	0,0853	<LD	0,789242998	17,96517936	2,37293736	1,169236353
C25	0,1078	0,242868456	0,78691156	7,723702845	2,194879939	0,439219951
C26	0,0202	1,679765602	4,933434901	207,0100445	16,02974719	6,693680996
C27	0,1104	0,303289991	0,799151333	14,19427561	2,765619758	0,578609807
C28	0,132	0,256050409	2,285140044	28,20777083	2,575879483	1,062325225
C29	0,1065	0,365427363	2,174736038	34,06055021	5,078702036	2,01174934
C11	0,0705	<LD	1,302151587	8,763946664	5,604039559	0,469199067
C12	0,0352	0,314065488	1,753797318	37,41505609	5,657036828	2,630714193
C13	0,1325	0,204208059	1,550069598	20,5718756	5,301714991	1,185309148
C30	0,1398	0,1953361	1,172592938	30,23037234	2,111569796	1,612449626
C31	0,1197	<LD	1,822482601	30,74813921	9,11661366	0,889046217
C32	0,0553	0,380955586	3,040678153	72,83128858	4,00009313	2,253079222
C14	-	-	-	-	-	-
C15	-	-	-	-	-	-
C16	-	-	-	-	-	-
C17	-	-	-	-	-	-
C18	-	-	-	-	-	-

Données de bioaccumulation métallique dans les poissons

Site de prélèvement	n° poisson	nom du poisson	poids (g)	Longueur totale (cm)	Longueur standard (cm) ou dorsale-anus (anguilles)	Poids frais Foie (g)	Poids sec Foie minéralisé (g)
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	P6	Anguilla marmorata	162,6	46	7	0,7034	0,0767
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	P7	Anguilla marmorata	64,9	34	5	0,2237	0,0374
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	P8	Anguilla marmorata	69	32	5	0,2642	0,0397
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	P9	Anguilla marmorata	25,5	23,5	4	0,1297	0,0343
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	P10	Anguilla marmorata	14,4	19,6	3,5	0,065	0,0192
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	P21	Anguilla marmorata	17,2	23,4	4	0,0468	0,0162
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	P22	Anguilla marmorata	14,2	21	3,5	0,0371	0,0125
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	P23	Anguilla marmorata	8,1	17,6	3,2	0,0318	0,0096
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	P30	Anguilla marmorata	593,5	63	11,5	3,6094	0,0911
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	P31	Anguilla marmorata	214,9	43,5	7,5	1,072	0,117
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	P32	Anguilla marmorata	126,6	39	4	0,6103	0,0874
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	P33	Anguilla marmorata	276,6	46	8,5	1,7223	0,1368
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	P34	Anguilla marmorata	178,7	43,7	6,5	1,0921	0,147
Taléa aval (27/05/2016, 10h00)	P42	Anguilla marmorata	178,1	42	8	0,6502	0,0841
Taléa aval (27/05/2016, 10h00)	P43	Anguilla marmorata	32,1	25	4	0,1057	0,0331
Taléa aval (27/05/2016, 15h00, SW216)	P49	Anguilla marmorata	48,7	28,5	5	0,2857	0,0727
Taléa aval (27/05/2016, 15h00, SW216)	P50	Anguilla marmorata	160	41	7	0,6111	0,0649
Taléa aval (27/05/2016, 15h00, SW216)	P51	Anguilla marmorata	153	42	7,5	0,5289	0,0882
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	P24	Awaous guanensis (lochon blanc)	10,6	10,8	8,8	0,3877	0,1312
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	P25	Awaous guanensis (lochon blanc)	19	16	13,5	2,19	0,4134
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	P26	Awaous guanensis (lochon blanc)	15,3	15,5	13	2,6551	0,337
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	P27	Awaous guanensis (lochon blanc)	88,4	18,4	15,5	4,84	0,2419
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	P28	Awaous guanensis (lochon blanc)	25,7	14,2	11,6	1,7434	0,4722
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	P29	Awaous guanensis (lochon blanc)	67,6	18	13,8	1,6765	0,2144
Taléa aval (27/05/2016, 10h00)	P44	Awaous guanensis (lochon blanc)	18,9	12,8	11	0,8086	0,1967
Taléa aval (27/05/2016, 15h00, SW216)	P48	Awaous guanensis (lochon blanc)	26,9	14	11,5	0,8636	0,3276
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	P1	Khulia rupestris (carpe)	376,7	29	26	5,0149	0,2667
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	P2	Khulia rupestris (carpe)	227,2	24	20	1,2619	0,2037
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	P3	Khulia rupestris (carpe)	98,2	19	15	0,5363	0,1748
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	P4	Khulia rupestris (carpe)	48,8	15	12	0,3239	0,1049
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	P5	Khulia rupestris (carpe)	44,6	14,5	12	0,2292	0,07
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	P16	Khulia rupestris (carpe)	87,8	19	16	0,5432	0,091
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	P17	Khulia rupestris (carpe)	65	17	14	0,1814	0,0722
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	P18	Khulia rupestris (carpe)	268,9	26	22	1,175	0,1808
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	P19	Khulia rupestris (carpe)	202,3	24	20,5	0,7478	0,1584
Taléa droite (24/05/2016, 10h00)	P20	Khulia rupestris (carpe)	126,6	21	17,5	0,5088	0,0993
Taléa aval (27/05/2016, 10h00)	P40	Khulia rupestris (carpe)	91,1	18	14,7	0,4285	0,141
Taléa aval (27/05/2016, 10h00)	P41	Oreochromis mossambicus (Tilapia)	12,7	9	8	0,0678	0,0287
Taléa aval (27/05/2016, 15h00, SW216)	P45	Oreochromis mossambicus (Tilapia)	27,7	12	9,5	0,2537	0,0814
Taléa aval (27/05/2016, 15h00, SW216)	P46	Oreochromis mossambicus (Tilapia)	48,7	14	11,6	0,3201	0,1175
Taléa aval (27/05/2016, 15h00, SW216)	P47	Oreochromis mossambicus (Tilapia)	8,1	7,8	6,1	0,0916	0,0425
Taléa aval (27/05/2016, 15h00, SW216)	P52	Oreochromis mossambicus (Tilapia)	4,1	6	4,8	0,0338	0,0152
Taléa aval (27/05/2016, 15h00, SW216)	P53	Oreochromis mossambicus (Tilapia)	1,7	4,5	3,5	Absent poche	/
Taléa aval (27/05/2016, 15h00, SW216)	P54	Oreochromis mossambicus (Tilapia)	1,5	4,2	3,4	0,0149	0,0064
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	P11	Sicyopterus lagocephalus (lochon noir)	3,1	6,6	5,6	/	/
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	P12	Sicyopterus lagocephalus (lochon noir)	2,6	6,3	5,3	/	/
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	P13	Sicyopterus lagocephalus (lochon noir)	1,5	5,5	4,5	dretement tro	/
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	P14	Sicyopterus lagocephalus (lochon noir)	2,1	6	4,8	0,0044	0,00249
Taléa gauche (23/05/2016, 17h00)	P15	Sicyopterus lagocephalus (lochon noir)	1,4	5	4	0,003	0,00139
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	P35	Sicyopterus lagocephalus (lochon noir)	6,9	9	7,5	0,2672	0,1503
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	P36	Sicyopterus lagocephalus (lochon noir)	6,6	8,2	7	0,254	0,1519
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	P37	Sicyopterus lagocephalus (lochon noir)	4,4	7,5	6,5	0,1182	0,0475
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	P38	Sicyopterus lagocephalus (lochon noir)	7,9	9,3	8	0,1266	0,0698
Tivoli aval (26/05/2016, 9h45)	P39	Sicyopterus lagocephalus (lochon noir)	5,3	8	7	0,0797	0,0442

Données de bioaccumulation métallique dans les poissons

n° poisson	[Co] Foie (mg/kg)	[Cr] Foie (mg/kg)	[Fe] Foie (mg/kg)	[Mn] Foie (mg/kg)	[Ni] Foie (mg/kg)	Poids sec Branchies minéralisé (g)	[Co] Branchies (mg/kg)	[Cr] Branchies (mg/kg)	[Fe] Branchies (mg/kg)	[Mn] Branchies (mg/kg)	[Ni] Branchies (mg/kg)
P6	4,43103422	2,141017	4085,80213	8,04363231	6,22352938	0,0702	4,13239322	7,94506216	821,136057	7,02704663	24,6158569
P7	12,3181748	4,77530511	8151,78549	7,68983305	11,3731462	0,0253	2,31770597	9,07568435	564,279802	5,31869332	17,134372
P8	5,89428242	2,12886882	2852,38749	10,6016561	4,27255019	0,0203	1,94894857	4,8514918	372,37488	4,72089205	13,485603
P9	12,2238188	2,21660906	2782,14635	9,53169577	4,20660178	0,0068	3,89745136	5,18252663	451,952	70,161589	10,0991966
P10	8,0798154	2,03932318	2220,93695	16,6846157	4,79925645	0,0102	4,76326353	35,849896	1717,96572	101,637958	76,3989897
P21	6,44891548	1,9138226	4650,9538	10,1570454	3,05529811	0,0342	3,23971773	2,09836039	311,579315	33,6440819	4,43468809
P22	7,78163615	2,55051567	3950,17518	8,51173661	4,42727862	0,0235	3,8666971	10,2129223	647,454436	41,9477697	26,764776
P23	10,0255158	0,89428443	2753,08957	9,40911579	2,33138054	0,0654	2,20461959	3,88337005	224,53545	62,6847173	10,0005559
P30	2,92386132	0,87670578	3812,2065	8,75789766	2,15400316	0,1452	1,76245539	1,53953181	687,06072	30,2232109	5,30277511
P31	2,01368541	0,41088281	1288,95014	10,1582062	1,62565303	0,0604	1,28035646	2,11044236	608,630744	14,1276996	4,51677092
P32	2,96949883	0,35529189	1344,33527	10,8426306	1,11085145	0,0315	1,79180492	1,84034242	559,633138	6,80762701	2,11602341
P33	1,4322151	0,26025662	1103,31975	7,26297569	1,11106633	0,0496	2,22085153	4,12102136	772,800264	32,2666692	12,9084771
P34	3,41078303	0,4163143	1223,29579	8,38709056	0,91827521	0,0308	2,84280525	2,13131317	738,472456	9,64925335	3,80403055
P42	2,86388291	0,78711526	2053,52478	8,92283217	2,33381949	0,0639	1,86315248	1,22108688	480,254179	3,640441	2,38370931
P43	9,01493333	1,38809513	3973,18428	10,0879703	2,19186602	0,0112	5,43766401	3,36323402	573,083363	4,810993	3,5860059
P49	11,1389778	1,39540852	1866,40127	19,5476197	1,1350798	0,0239	9,33245632	7,01753651	683,373695	19,354451	30,0869092
P50	11,4228567	1,6863732	2179,36588	11,1467909	1,73104371	0,0715	10,1513515	5,904436	778,711003	8,07930467	20,8569568
P51	5,13337349	1,17437491	1564,89824	8,34937937	1,60949363	0,0592	7,40804563	2,63578168	643,024799	4,45836714	6,91455584
P24	2,09034064	0,57143675	71,2495383	2,49976242	2,11185834	0,0121	2,57332282	2,81661051	282,476366	40,8189794	5,51109177
P25	1,10565241	0,0659886	60,8891358	0,69305579	0,07481099	0,0914	2,17451767	3,7746537	524,447797	181,366369	10,2889592
P26	0,60423598	0,1977065	53,2904344	2,27263692	0,49987831	0,0893	3,25066388	4,70531831	921,674334	223,109749	10,9292074
P27	0,95263942	0,10212164	59,5712822	1,24995985	0,11002336	0,0751	3,10014388	4,45184283	748,347726	231,53196	9,89123345
P28	1,006217	0,07136425	68,9540146	1,312614	0,17868272	0,0863	2,09916403	3,86657291	500,606089	176,560976	8,92197049
P29	1,57533466	0,09557027	68,3162103	1,95708558	0,29040347	0,0908	2,19273698	3,78918414	486,500094	183,776841	12,5332288
P44	1,95031497	0,172608	77,7722097	1,25590284	0,14718807	0,0308	3,29812991	3,50395834	293,067562	92,9646986	7,63247224
P48	2,87592667	0,34416003	36,8321399	1,96675839	0,42415291	0,0202	23,5835392	72,0564739	5847,43957	74,0172813	324,04877
P1	2,17757151	0,82574477	799,001298	3,48220916	3,01408183	0,2046	1,63397747	7,50302974	498,597598	18,1613511	29,7309537
P2	2,89054443	1,22242305	1506,8762	3,30172881	4,70107114	0,0991	3,7016626	17,8456548	1154,80751	19,9701762	45,1024754
P3	3,4192816	1,82243965	1427,7224	5,51317205	4,01897595	0,0371	4,6485152	27,7264158	1454,87423	59,7016852	66,6371422
P4	3,62879571	1,45019546	1077,23707	4,29073643	3,68363354	0,0218	6,63052593	46,9508507	2319,37021	54,7636607	126,219386
P5	3,56987054	1,82779238	2086,09865	5,76969793	3,56384169	0,0152	10,9108288	89,6627658	4465,91082	89,5859628	246,89523
P16	2,56801293	1,54687793	1051,64867	4,20036706	4,27132976	0,0427	3,27560487	11,5579557	897,315192	28,8203605	30,882366
P17	3,74965177	1,70647067	1213,23635	4,7716017	4,55538784	0,0398	2,84769664	8,03624291	654,189672	28,6356317	22,5454571
P18	2,41015834	0,87452235	1380,26823	2,83565922	3,92524551	0,0925	1,30930341	4,31550902	417,337778	7,91660152	10,8737139
P19	2,74983762	0,97762498	1226,04749	3,91984729	4,08988566	0,0686	0,70905054	2,25292409	172,946584	14,786461	2,90879205
P20	4,452775	1,46747209	1829,60052	4,58547045	5,06215769	0,0771	2,12764275	4,81641898	348,887203	10,4596941	12,5613393
P40	4,55130437	1,12427222	2228,09057	4,32146246	3,09642457	0,0626	8,63615392	25,1856231	2042,35474	71,6324026	82,158914
P41	9,38568529	3,16308108	165,755006	6,07086926	2,98388458	0,0543	4,90640331	11,1810892	1347,43637	68,4815775	36,9973811
P45	12,6078238	1,52008302	181,072261	4,47765408	3,97647319	0,05259	6,48025304	11,8332015	829,787009	96,2077744	38,3223663
P46	11,053713	1,59321971	200,918944	4,97495525	2,32646842	0,1209	9,96094726	24,3675815	1905,63726	109,468139	87,6776329
P47	6,85957083	1,88340251	57,9793125	3,30107722	2,20275602	0,0189	9,46630192	16,8454876	1323,75628	53,97594	84,3089899
P52	8,65088515	1,78966675	69,667627	6,12631093	2,28350108	0,0143	3,90572894	3,22319173	308,015556	31,0322515	12,6969105
P53	/	/	/	/	/	0,006144	4,49442522	6,68018351	402,650792	46,624937	41,4066361
P54	9,92755777	2,1674538	68,6438419	8,82777771	5,59451122	0,0043	4,98545672	6,87082651	415,69393	55,4289985	21,2682597
P11	/	/	/	/	/	0,0071	2,83547372	45,4522392	638,82459	106,888909	21,6790481
P12	/	/	/	/	/	0,0094	8,16368908	138,807535	1672,95577	206,438213	62,7429792
P13	/	/	/	/	/	0,0028	14,956854	119,138482	3706,41926	239,314378	200,6942
P14	5,5375542	18,000612	483,642804	16,1788197	34,0648124	0,0060	10,879832	96,7960456	2615,44676	201,139127	130,770607
P15	9,23212644	34,4693917	428,895236	121,448614	41,0250542	0,0023	12,7146225	333,169532	7938,31856	240,843839	149,813196
P35	1,2064631	0,15739749	152,159313	3,54520035	0,75858544	0,0123	5,8693065	20,5602376	2102,66156	289,897149	54,9979822
P36	1,47801623	0,39552859	105,233793	9,28807057	1,46687234	0,0084	5,6864973	10,5944585	1097,54747	424,918864	25,0144111
P37	4,73142077	2,6341288	471,055114	38,5498844	13,2922275	0,0078	14,7009663	40,2614227	3670,3473	466,906998	111,445001
P38	4,54745531	1,32056347	253,719908	24,5924001	8,49291621	0,0106	7,89641773	12,7787733	1195,85328	332,409033	24,5731933
P39	3,67085423	1,35846999	295,427058	22,046015	6,14507743	0,0081	10,191754	23,269801	2606,19926	532,88886	52,1100936

Données de bioaccumulation métallique dans les poissons (mission de mai 2016)

n° poisson	Poids sec Rein minéralisé (g)	[Co] Rein (mg/kg)	[Cr] Rein (mg/kg)	[Fe] Rein (mg/kg)	[Mn] Rein (mg/kg)	[Ni] Rein (mg/kg)	Poids sec Muscles minéralisé (g)	[Co] Muscles (mg/kg)	[Cr] Muscles (mg/kg)	[Cu] Muscles (mg/kg)	[Fe] Muscles (mg/kg)
P6	0,0168	10,7588309	8,80568395	974,986532	10,8646219	78,4177129	0,1998	0,94561984	0,54541887	0,90342285	27,3359208
P7	0,0086	49,9325131	148,412631	9306,07127	372,159128	813,996746	0,2118	1,39990069	0,9450999	1,18835514	41,8886553
P8	/	/	/	/	/	/	0,2186	1,26628929	1,15271099	1,66910989	50,2636839
P9	/	/	/	/	/	/	0,2414	1,71525965	0,85412032	1,27634293	30,3613599
P10	/	/	/	/	/	/	0,109	1,43861299	0,2683835	1,48273338	15,6242697
P21	/	/	/	/	/	/	0,1204	1,68827752	0,26047233	1,11616783	16,9057237
P22	/	/	/	/	/	/	0,1061	1,27500824	0,3575793	1,24484308	24,1343483
P23	/	/	/	/	/	/	0,0230	1,75055197	0,43302961	1,63623243	26,1113347
P30	0,0925	7,35657394	1,58481247	679,942238	14,0359461	25,5678176	0,0986	0,43717809	0,38225218	0,88388345	15,1515992
P31	0,0241	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,0892	0,39745146	0,36381167	1,10174935	16,8408834
P32	0,0050	4,29492475	1,47700791	854,812069	7,84643872	8,86079357	0,0660	0,61037389	0,22464768	0,93588482	4,92650265
P33	0,0547	2,94571156	1,18335957	1408,00159	13,3073615	7,10995308	0,0733	0,53452497	0,29583294	1,19759044	17,2073816
P34	/	/	/	/	/	/	0,1130	0,83923484	0,36537698	0,93568292	13,750876
P42	0,0437	9,11841241	10,6150973	1101,12917	79,988182	54,0339855	0,2041	0,4755046	0,35348029	<LD	17,7864787
P43	0,001762	19,5258275	3,27396848	348,6367	12,6875063	37,2819605	0,2301	1,58176597	0,32309283	1,00395691	14,8819631
P49	0,007799	77,8546292	3,62229759	408,065685	33,9118097	30,6965576	0,2421	1,81380135	0,4470471	0,810832	16,3453099
P50	0,005156	15,3783801	8,15719691	1337,9708	25,7235692	40,6072381	0,2029	1,68515693	0,5896618	<LD	14,7122003
P51	0,016	11,2735609	1,28787596	959,094005	11,0225991	12,9767305	0,2156	1,33732194	0,47514921	<LD	14,3119877
P24	0,0092	9,53761198	2,18502899	305,732095	6,72052967	6,14442429	0,1590	0,32507263	0,47389447	0,59736561	15,2096764
P25	0,0047	4,45111975	0,7301923	335,726205	12,4353868	4,88536371	0,1280	0,18527195	0,24077765	0,75398253	8,30455567
P26	0,0073	4,00062843	1,65762657	422,323861	20,3818737	5,28041148	0,1904	0,18569336	0,27328777	0,73399346	11,0698782
P27	0,0040	4,21042854	2,35487833	253,105054	8,15792749	3,7961137	0,1226	0,18220037	0,30650998	0,79224555	12,0870342
P28	0,0047	4,10461438	0,57260073	224,716686	9,05900469	6,24267135	0,0958	0,1499165	0,29119154	0,92760898	10,2270933
P29	0,0222	4,75755977	0,46579732	223,561698	16,1592535	3,50070488	0,0925	0,18174879	0,19209372	1,15751644	8,38699093
P44	0,004232	11,4457534	1,6200951	212,948688	8,99164738	3,62001266	0,2029	0,32564333	0,30981543	0,64026236	6,98948722
P48	0,005532	20,2004185	2,45885098	158,1031	9,93689423	5,82791187	0,2864	0,44682512	0,3986385	<LD	16,0885488
P1	0,0520	3,19639012	4,70087145	804,991374	7,10217234	22,5683973	0,2708	<LD	0,15556853	0,86577354	8,17495007
P2	0,0381	2,42318203	2,77861263	447,899281	9,24670427	14,8980473	0,1971	<LD	0,27095249	<LD	11,4800037
P3	0,0110	2,79767342	2,8980645	426,23007	15,3321204	17,1712051	0,2445	0,25225362	0,4204289	0,91982588	17,3999597
P4	0,0148	2,82090412	2,93603598	444,622632	9,70632774	20,5037687	0,2316	0,26371846	0,30329672	<LD	10,6092022
P5	0,0088	3,87381456	3,15773399	510,41144	10,0311683	22,6181083	0,203	0,39909199	0,24597768	0,85130152	12,5607517
P16	/	/	/	/	/	/	0,0960	0,28943833	0,24697474	0,91701741	13,5128776
P17	0,0088	4,21313207	3,97287377	475,124093	6,20131427	15,1748813	0,1068	0,18179249	0,98689175	1,17558543	43,346413
P18	0,0759	1,67071373	1,60981039	395,49925	6,49076836	13,6207214	0,1557	0,15750181	0,23905303	0,66061114	10,5907252
P19	0,0495	2,12030717	1,46910354	531,799232	8,87453649	11,6339115	0,1294	<LD	0,32183591	1,1586687	18,1585164
P20	0,0266	4,57641258	2,50859634	666,726942	8,42717101	20,0474012	0,1249	0,35526195	0,24563075	1,0595034	16,2405734
P40	0,0201	5,62306333	2,78978035	629,567775	10,332571	17,9429401	0,2294	0,44592336	0,2009648	<LD	9,83055351
P41	0,000972	12,6475552	3,52584018	261,096289	7,52470181	57,7392386	0,1796	0,33889705	0,37706057	1,49459007	14,6078628
P45	0,00504	13,3823109	2,11355956	234,354637	4,5631066	29,6852236	0,2345	0,36698881	0,26003156	1,43054046	11,0327641
P46	0,0076	20,6431887	18,0262323	1266,50672	24,9363911	113,872668	0,2448	0,24598258	0,50743518	1,07127001	12,3358243
P47	0,002318	8,0157865	4,69246354	233,580928	6,15726588	28,9865551	0,1268	0,43506197	0,62664571	1,61336944	29,0718707
P52	0,000952	8,66867156	3,42939347	129,674913	7,68911049	10,1410272	0,0556	0,6813902	1,10387769	<LD	54,1117754
P53	0,000582	13,2381021	6,54889961	410,123558	44,8981947	46,8616411	0,0338	1,06457896	3,9956791	2,42031049	235,431899
P54	0,000789	12,8997806	4,28000062	196,948001	30,518256	24,6522353	0,0254	1,63092084	1,94540386	1,58556369	210,329392
P11	/	/	/	/	/	/	0,0492	1,67789962	6,18795121	1,66221795	62,9905707
P12	/	/	/	/	/	/	0,0428	1,38802389	4,24779976	1,568683	37,1985901
P13	/	/	/	/	/	/	0,0334	2,02378395	5,57601049	2,39877289	48,7907836
P14	/	/	/	/	/	/	0,02059	1,95485028	3,12520053	2,58949889	65,4136038
P15	/	/	/	/	/	/	0,0214	1,52312382	5,57233758	<LD	83,1724479
P35	/	/	/	/	/	/	0,0844	0,31460511	0,34285213	1,55001726	16,7080895
P36	0,0017	9,94084703	1,52477839	323,739343	23,2181023	10,2477496	0,1219	0,36051028	0,24426966	1,37320223	14,7626645
P37	/	/	/	/	/	/	0,0538	0,57886105	0,95421911	<LD	54,3523096
P38	/	/	/	/	/	/	0,1227	0,68968876	0,27118679	1,24159026	10,2865338
P39	0,0160	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,0649	0,53315982	0,52924273	0,93691471	30,9869205

Données de bioaccumulation métallique dans les poissons

n° poisson	[Mn] Muscles (mg/kg)	[Ni] Muscles (mg/kg)
P6	1,95072051	1,67425425
P7	2,19888458	1,41694739
P8	3,21340434	2,50707508
P9	2,65687103	0,82244308
P10	3,80171475	0,64931017
P21	2,22000043	0,4926689
P22	2,92882365	0,64025703
P23	4,86529923	0,5897385
P30	1,96253534	0,25899412
P31	2,43101116	0,56509932
P32	1,06094433	0,29571863
P33	1,28341536	0,4034978
P34	1,40622725	0,44761484
P42	1,295423	0,67362057
P43	3,23444947	0,3553173
P49	2,91859081	0,46972152
P50	9,97960139	0,35758503
P51	1,23010467	0,46895336
P24	4,46299476	0,76340441
P25	1,86107335	0,20877764
P26	6,97366258	0,22525704
P27	1,5829915	0,3193337
P28	1,59641017	0,17202557
P29	1,66001553	0,44581687
P44	1,13530383	<LD
P48	5,83812408	0,67973124
P1	0,83355825	0,27066513
P2	1,03570115	0,40358551
P3	1,55105885	0,67414462
P4	2,35931669	0,32256915
P5	1,95661752	0,47998626
P16	1,40089533	0,384882
P17	1,74855873	1,33032375
P18	0,8549967	0,31025234
P19	1,16865689	<LD
P20	1,25169043	0,58900211
P40	1,36299216	0,24938114
P41	1,57050067	0,41335454
P45	1,62478663	0,64826608
P46	1,92385833	0,58355097
P47	2,10870334	1,66472333
P52	2,57433625	2,58313773
P53	4,80387463	3,50635985
P54	5,17893115	3,58885811
P11	15,3738446	7,15845775
P12	9,74829523	5,48865189
P13	20,5485284	10,1360452
P14	7,51456264	8,56810411
P15	15,6180699	7,79045638
P35	4,61736495	0,8585206
P36	4,93108179	0,70145095
P37	7,12410048	1,71098476
P38	4,42205006	0,59369382
P39	8,26894146	0,95198324

Résumé des valeurs moyennes des signatures en $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ (et déviations-standard, SD) des sources de matière organique, des invertébrés et des poissons analysés dans les différents sites d'étude

Espèces / type de source		Taléa gauche				Taléa droite				Taléa aval				Tivoli aval			
		$\delta^{13}\text{C}$	SD	$\delta^{15}\text{N}$	SD	$\delta^{13}\text{C}$	SD	$\delta^{15}\text{N}$	SD	$\delta^{13}\text{C}$	SD	$\delta^{15}\text{N}$	SD	$\delta^{13}\text{C}$	SD	$\delta^{15}\text{N}$	SD
Sources	Végétaux terrestres	-28,71	1,87	-2,16	2,19	-30,09	1,00	2,50	0,81					-31,30	1,93	0,27	1,41
	Biofilm	-30,84	1,18	4,00	0,51	-31,36	0,25	5,29	0,15								
	Matière sédimentaire	-30,46		1,65		-31,06		3,82						-30,77		1,91	
	Détritus (litière, feuilles)	-28,76		-1,08		-28,71		1,27						-30,96		0,65	
Invertébrés	Dasyheleinae					-27,20		1,93									
	Ecnomidae					-28,03		5,63						-27,08		8,65	
	Helicopsychidae					-28,64		3,27						-38,46	0,11	2,49	0,25
	Hydrobiosidae	-30,68	0,27	4,13	0,06	-32,12	0,01	5,35	0,04					-30,05		4,35	
	Hydrophiliidae	-30,30	0,18	3,41	0,85	-31,08	0,57	4,38	0,11								
	Hydropsychidae	-30,67	0,18	3,11	0,08	-32,62	0,06	4,10	0,16					-29,62	0,06	3,90	0,13
	Isostictidae <i>Isosticta</i>					-29,45		4,78									
	Leptoceridae <i>Triplectides</i>					-30,62		0,62									
	Leptophlebiidae <i>Caliphlebia</i>	-37,50		0,79		-41,24		1,87						-38,66		2,82	
	Leptophlebiidae <i>Lepeorus</i>	-39,32	0,21	-0,20	0,08	-39,76	0,12	3,01	0,08					-36,03	0,26	2,58	0,07
	Leptophlebiidae <i>Notachalcus</i>	-28,85		-0,27		-31,70		3,69						-28,24		2,85	
	Leptophlebiidae <i>Oumas</i>	-34,50		1,54		-37,11		3,51									
	Leptophlebiidae <i>Paraluma</i>					-36,87		4,02									
	Leptophlebiidae <i>Simulacala</i>					-30,61		3,75						-27,75		4,28	
	Limoniidae					-32,48		3,72									
	<i>Macrobrachium amelum</i>	-26,54	0,43	7,44	0,21	-30,93	0,88	7,30	0,45								
	<i>Macrobrachium caledonicum</i>					-30,44	1,87	7,16	0,48	-29,90	2,92	7,88	0,77				
	<i>Macrobrachium lar</i>													-24,81	0,62	6,93	0,32
	Philopotamidae	-32,11		3,91		-33,07		4,45									
	Polycentropodidae	-37,96		2,19		-33,98		4,92									
Psychodidae													-27,86		5,83		
<i>Scylla serrata</i>									-22,97	0,18	4,98	1,07					
Simuliidae <i>Simulium sp.</i>	-30,98	0,26	3,27	0,08	-33,20		5,00						-28,51		4,10		
Synthemistidae	-30,68		2,81		-32,81	0,04	3,88	0,34					-31,52	0,23	3,51	0,15	
Tabanidae	-30,38	0,32	4,96	0,22	-31,21	0,15	5,65	0,04					-26,27	0,10	6,21	0,16	
Poissons	<i>Anguilla marmorata</i>	-30,38	1,31	7,32	0,28	-33,41	1,37	7,45	0,47	-30,24	2,46	7,83	0,49	-28,51	2,13	8,26	0,37
	<i>Awaous guamensis</i>									-32,23	0,02	8,33	0,69	-27,27	1,04	8,89	0,57
	<i>Kulia rupestris</i>					-26,28	1,22	8,16	0,28								
	<i>Leiognathus equulus</i>									-19,09	2,22	8,82	0,34				
	<i>Oreochromis mossambicus</i>									-34,93	1,83	7,64	0,71				
	<i>Sicyopterus lagocephalus</i>	-29,90	1,15	7,05	0,13									-33,22	0,74	7,01	0,22

Données de numérations cellulaires de diatomées au cours de l'expérimentation Transfert trophique du nickel. La valeur 0 n'a pas été prise en compte dans le calcul de la moyenne du pourcentage de cellules mortes, les valeurs ainsi déterminées apparaissent en rouge.

Stade	Nature de l'échantillon	Condition expérimentale	Réplicat	Volume final de l'échantillon (en ml)	Surface prélevée (en cm ²)	Nombre de colonnes comptées	Nombre de cellules mortes	Nombre de cellules vivantes	Nombre de cellules total	% de cellules mortes	% de cellules vivantes	Densité de cellules/cm ²	Densité de cellules/ml	Moyenne des % de cellules mortes	Moyenne de densité cellulaire/ml		
T14	Bouffin	T Avril	rep-1	0,5	39,52	22	4	0	4	4	100	0	3	267	100	4749	
			rep-2	0,5	39,52	20	32	0	32	32	0	0	0	0	0	0	0
			rep-3	1	39,52	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			rep-4	0,5	39,52	20	525	30	525	505	505	95	5	225	22200	77	7615
		rep-1	0,5	39,52	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		rep-2	0,5	39,52	23	324	23	324	324	324	100	0	324	4371	100	7615	
		rep-3	0,5	39,52	20	128	128	128	128	128	64	36	58	4971	64	7615	
		rep-4	0,5	39,52	20	428	153	428	153	375	36	26	120	11877	36	7615	
	Intactin	C1 Avril	rep-1	0,5	39,52	20	8	9	17	17	47	53	3	9	680	53	4942
			rep-2	0,5	39,52	40	66	38	104	142	208	37	26	208	2080	26	4942
			rep-3	0,5	39,52	27	75	57	132	159	49	43	49	671	3911	43	4942
			rep-4	0,5	39,52	26	81	49	130	162	51	38	51	4000	51	4942	
		rep-1	0,5	39,52	15	150	44	164	164	164	100	0	164	7650	100	16731	
		rep-2	0,5	39,52	15	255	85	340	340	340	22	22	208	36463	22	16731	
		rep-3	0,5	39,52	13	194	110	304	304	304	18	18	139	2507	18	16731	
		rep-4	0,5	39,52	22	4	5	8	8	8	14	56	4	317	56	16731	
Bouffin	C2 Avril	rep-1	0,5	39,52	36	136	60	196	196	68	32	60	4133	68	3104		
		rep-2	0,5	39,52	33	158	104	262	262	60	40	80	8352	40	3104		
		rep-3	0,5	39,52	40	65	45	110	150	59	41	28	2200	59	3104		
		rep-4	0,5	39,52	18	175	39	214	234	120	18	120	9511	18	3104		
	rep-1	0,5	39,52	14	69	45	114	154	61	39	61	6514	39	6702			
	rep-2	0,5	39,52	40	152	132	284	316	94	6	52	4080	6	6702			
	rep-3	0,5	39,52	18	16	29	45	74	20	10	10	1050	10	6702			
	rep-4	0,5	39,52	29	79	44	123	173	50	33	33	2490	33	6702			
T Avril	C1 Avril	rep-1	0,5	39,52	40	146	82	248	248	33	33	63	4960	33	3622		
		rep-2	0,5	39,52	40	10	14	29	29	14	71	4	260	14	3622		
		rep-3	0,5	39,52	20	17	10	27	27	63	37	16	1080	37	3622		
		rep-4	0,5	39,52	38	10	53	141	151	62	38	38	5640	38	3622		
	rep-1	0,5	39,52	40	146	65	296	306	71	29	52	4120	29	3622			
	rep-2	0,5	39,52	38	158	20	178	198	89	11	20	2956	11	3622			
	rep-3	0,5	39,52	20	15	15	30	30	15	48	14	1120	15	3622			
	rep-4	0,5	39,52	38	22	15	37	59	22	41	30	2270	41	3622			
Bouffin	C2 Avril	rep-1	0,5	39,52	38	153	34	187	187	18	22	6	460	18	2227		
		rep-2	0,5	39,52	40	18	5	23	23	76	22	6	460	22	2227		
		rep-3	0,5	39,52	20	171	53	224	277	77	23	112	8880	23	2227		
		rep-4	0,5	39,52	20	21	7	28	28	28	75	25	1120	75	2227		
	rep-1	0,5	39,52	28	121	48	169	169	72	28	61	4820	28	7157			
	rep-2	0,5	39,52	38	935	13	928	991	7	1	247	32495	1	7157			
	rep-3	0,5	39,52	40	64	7	71	78	90	15	10	1460	15	7157			
	rep-4	0,5	39,52	29	182	88	270	358	67	33	134	8113	33	7157			
Intactin	T Avril	rep-1	0,5	39,52	465	112	485	597	597	29	29	40	3140	29	3107		
		rep-2	0,5	39,52	39	139	10	129	139	92	8	38	2646	92	3107		
		rep-3	0,5	39,52	40	1	1	1	1	1	0	0	20	1	3107		
		rep-4	0,5	39,52	18	154	0	154	154	0	0	0	6844	0	3107		
	rep-1	0,5	39,52	28	147	0	147	147	0	0	0	5880	0	3433			
	rep-2	0,5	39,52	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3433		
	rep-3	0,5	39,52	20	228	2	230	230	2	2	36	4020	2	3433			
	rep-4	0,5	39,52	20	1	1	1	1	1	48	1	48	48	1	3433		
rep-1	0,5	39,52	20	240	0	240	240	0	0	0	8000	0	15104				
rep-2	0,5	39,52	20	135	1	136	136	1	136	1	136	5460	1	15104			
rep-3	0,5	39,52	20	137	2	139	139	2	139	2	4760	2	15104				
rep-4	0,5	39,52	20	167	0	167	167	0	0	0	6040	0	15104				
Bouffin	T Avril	rep-1	0,5	39,52	14	493	0	493	493	0	0	0	28171	0	13658		
		rep-2	1	39,52	20	10	0	10	10	0	0	0	400	0	13658		
		rep-3	1	39,52	20	65	0	65	65	0	0	0	2020	0	13658		
		rep-4	0,5	39,52	20	172	6	178	184	6	39	39	1080	6	13658		
	rep-1	0,5	39,52	20	317	0	317	317	0	0	0	2080	0	13658			

Données de numérations cellulaires de diatomées au cours de l'expérimentation Transfert trophique du nickel.

Stade	Nature de l'échantillon	Conditions expérimentales	Replicat	Volumétrie de l'échantillon (en ml)	Surface gelée (en cm²)	Nombre de colonnes complètes	Nombre de cellules mortes	Nombre de cellules vivantes	Nombre de cellules total	% de cellules mortes	% de cellules vivantes	Conc. de cellules (en millions)	Moyenne des % de cellules mortes	Moyenne de densité cellulaire (en millions)		
T16	Eufilm	Cl. AUTE	rep-1	0,5	30,52	23	34	38	122	71	29	401	77	7015		
			rep-2	0,5	30,52	23	34	38	122	71	29	401	77	7015		
			rep-3	0,5	30,52	23	34	38	122	71	29	401	77	7015		
			rep-4	0,5	30,52	23	34	38	122	71	29	401	77	7015		
		Cl. AGNE	rep-1	0,5	30,52	20	78	20	78	20	78	20	2000	50	4042	
			rep-2	0,5	30,52	20	78	20	78	20	78	20	2000	50	4042	
			rep-3	0,5	30,52	20	78	20	78	20	78	20	2000	50	4042	
			rep-4	0,5	30,52	20	78	20	78	20	78	20	2000	50	4042	
	T. AVANT	rep-1	0,5	30,52	18	175	18	175	18	175	18	9111	79	6702		
		rep-2	0,5	30,52	18	175	18	175	18	175	18	9111	79	6702		
		rep-3	0,5	30,52	18	175	18	175	18	175	18	9111	79	6702		
		rep-4	0,5	30,52	18	175	18	175	18	175	18	9111	79	6702		
	T17	Eufilm	Cl. AGNE	rep-1	0,5	30,52	20	85	10	27	103	63	37	1000	70	3085
				rep-2	0,5	30,52	20	85	10	27	103	63	37	1000	70	3085
				rep-3	0,5	30,52	20	85	10	27	103	63	37	1000	70	3085
				rep-4	0,5	30,52	20	85	10	27	103	63	37	1000	70	3085
Cl. AGNE		rep-1	0,5	30,52	38	22	38	41	37	79	59	779	67	2227		
		rep-2	0,5	30,52	38	22	38	41	37	79	59	779	67	2227		
		rep-3	0,5	30,52	38	22	38	41	37	79	59	779	67	2227		
		rep-4	0,5	30,52	38	22	38	41	37	79	59	779	67	2227		
T. AVANT	rep-1	0,5	30,52	20	171	20	171	20	171	20	8000	83	7157			
	rep-2	0,5	30,52	20	171	20	171	20	171	20	8000	83	7157			
	rep-3	0,5	30,52	20	171	20	171	20	171	20	8000	83	7157			
	rep-4	0,5	30,52	20	171	20	171	20	171	20	8000	83	7157			
T. AVANT	rep-1	0,5	30,52	22	182	22	182	22	182	22	9118	80	3197			
	rep-2	0,5	30,52	22	182	22	182	22	182	22	9118	80	3197			
	rep-3	0,5	30,52	22	182	22	182	22	182	22	9118	80	3197			
	rep-4	0,5	30,52	22	182	22	182	22	182	22	9118	80	3197			
Cl. AGNE	rep-1	0,5	30,52	18	154	18	154	18	154	18	6548	100	5433			
	rep-2	0,5	30,52	18	154	18	154	18	154	18	6548	100	5433			
	rep-3	0,5	30,52	18	154	18	154	18	154	18	6548	100	5433			
	rep-4	0,5	30,52	18	154	18	154	18	154	18	6548	100	5433			
Immatin	rep-1	0,5	30,52	20	240	20	240	20	240	20	9000	100	18204			
	rep-2	0,5	30,52	20	240	20	240	20	240	20	9000	100	18204			
	rep-3	0,5	30,52	20	240	20	240	20	240	20	9000	100	18204			
	rep-4	0,5	30,52	20	240	20	240	20	240	20	9000	100	18204			
T. AVANT	rep-1	0,5	30,52	20	10	20	10	10	20	10	400	100	10020			
	rep-2	0,5	30,52	20	10	20	10	10	20	10	400	100	10020			
	rep-3	0,5	30,52	20	10	20	10	10	20	10	400	100	10020			
	rep-4	0,5	30,52	20	10	20	10	10	20	10	400	100	10020			

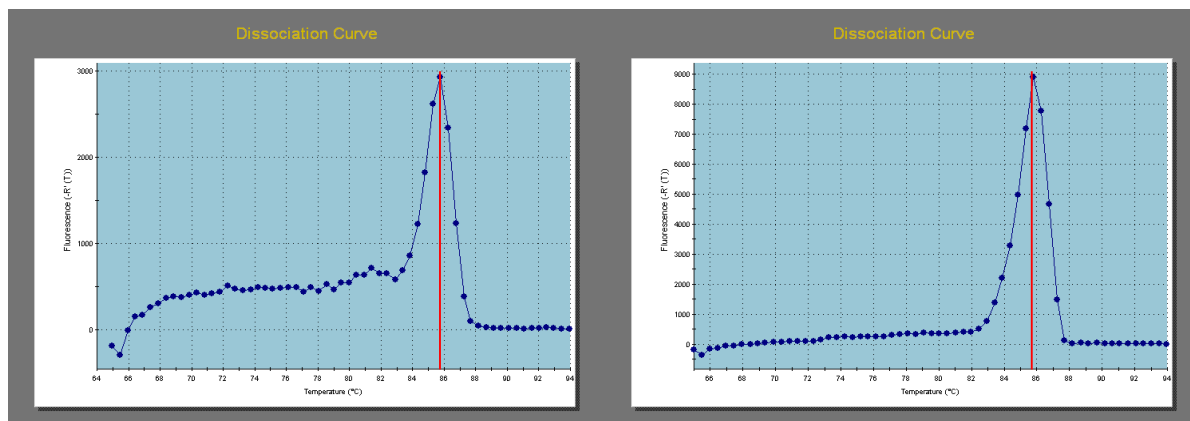
Inventaires floristiques en % de la deuxième expérimentation

Conditions expérimentales	Témoïn		Contaminé	
	T0	T21	T0	T21
Désignation				
<i>Astartiella bahusienoides</i> (Foged) Witkowski, Lange-Bertalot & Metzeltin in Moser & al.	0	0	2	0
<i>Achnanthydium blancheanum</i> (Maillard) Lange-Bertalot	6	0	4	0
<i>Achnanthydium contrarea</i> (Lange-Bertalot & Steindorf) Lange-Bertalot	20	12	10	2
<i>Achnanthydium indicatrix</i> (Lange-Bertalot & Steindorf) Lange-Bertalot	26	0	0	0
<i>Achnanthydium peridotiticum</i> (Moser Lange-Bertalot & Metzeltin) Lange-Bertalot	40	2	0	0
<i>Achnanthydium pirogueanum</i> (Maillard) Lange-Bertalot	14	0	0	0
<i>Amphora dissimilis</i> Metzeltin & Krammer	2	0	0	0
<i>Brachysira angusta</i> (Maillard) Lange-Bertalot & Moser	75	2	8	0
<i>Brachysira irawanoïdes</i> Lange-Bertalot & Moser	6	0	0	0
<i>Brachysira microcephala</i> (Grunow) Compère	0	0	57	2
<i>Brachysira supriniana</i> Moser Lange-Bertalot & Metzeltin	28	2	0	0
<i>Caloneis species</i>	2	0	0	0
<i>Cymbopleura yateana</i> (Maillard) Krammer & Lange-Bertalot	0	0	10	4
<i>Cymbella latarea</i> Maillard	164	2	139	2
<i>Cymbella pernodensis</i> Maillard var. <i>pernodensis</i>	12	0	0	0
<i>Cymbopleura nekliensis</i> (Maillard) Krammer & Lange-Bertalot	0	0	412	0
<i>Delicata costei</i> (Maillard) Krammer & Lange-Bertalot	36	0	0	0
<i>Delicata delicatula</i> (Kützing) Krammer var. <i>delicatula</i>	28	4	10	2
<i>Denticula elegans</i> Kützing var. <i>elegans</i>	263	13	99	2
<i>Delicata gadjana</i> Krammer	26	4	63	0
<i>Delicata neocaledonica</i> Krammer	30	0	6	0
<i>Diatomella ouenkohana</i> Maillard	2	0	8	0
<i>Encyonema blancheanum</i> var. <i>neocaledonicum</i> (Manguin ex Kociolek & de Reviers) Lange-Bertalot Kusber & Metzeltin	2	0	0	0
<i>Eileencoxia guillauminii</i> (Manguin ex Kociolek & Reviers) S.Blanco & C.E.Wetzel	111	2	70	0
<i>Epithemia krammeri</i> Moser Lange-Bertalot & Metzeltin	4	0	0	0
<i>Encyonema</i> sp.2 Atlas Nouvelle-Calédonie	10	2	0	0
<i>Eolimna minima</i> Grunow) Lange-Bertalot	0	0	13	0
<i>Encyanopsis subfonticola</i> Krammer	0	0	0	4
<i>Encyonema silesiacum</i> (Bleisch in Rabh.) D.G. Mann var. <i>silesiacum</i>	0	2	0	0
<i>Encyonema tenuissimum</i> (Hustedt) D.G.Mann	4	0	11	0
<i>Frustulia peridotitica</i> Moser Lange-Bertalot & Metzeltin	26	0	0	0
<i>Frustulia nana</i> Lange-Bertalot	4	0	0	0
<i>Germainiella enigmatica</i> (Germain) Lange-Bertalot & Metzeltin	0	2	0	0
<i>Gomphonema neobourrellyi</i> Moser et Lange-Bertalot in Moser, Steindorf & Lange-Bertalot	34	0	4	0
<i>Gomphonema ricardii</i> Maillard var. <i>ricardii</i>	4	0	0	0
<i>Kobayasiella saxicola</i> (Manguin) Lange-Bertalot	10	0	0	0
<i>Melosira varians</i> Agardh	0	0	4	0
<i>Nitzschia brevior</i> (Mang.) Moser Lange-Bertalot & Metzeltin	0	0	0	4
<i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow var. <i>frustulum</i>	0	0	2	0
<i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow var. <i>frustulum</i>	0	0	0	2
<i>Navicula lehmanniae</i> Lange-Bertalot & Steindorf	8	2	15	0
<i>Navicula melanesica</i> Lange-Bertalot & Steindorf	2	0	0	0
<i>Navicula melanesica</i> morphotype <i>minor</i> Moser & Lange-Bertalot	0	0	8	0
<i>Sellaphora ruttneri</i> (Hustedt) C.E. Wetzel	4	950	40	978
<i>Sellaphora stroemii</i> (Hustedt) Kobayasi in Mayama Idei Osada & Nagumo	2	0	10	0
TOTAL	1000	1000	1000	1000

Courbes de fusion des analyses par PCR quantitative de l'expression des gènes de diatomées lors de l'étude expérimentale

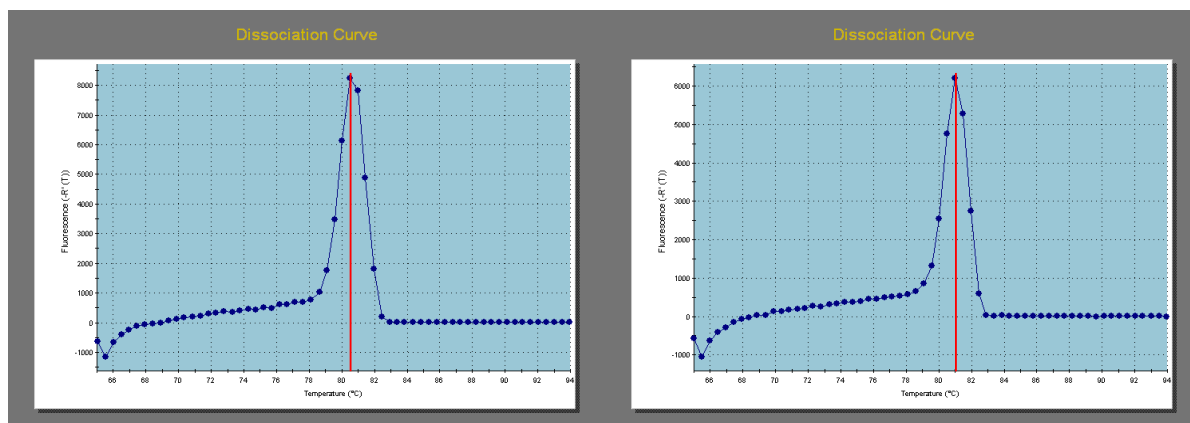
Béta actine

Rpl7



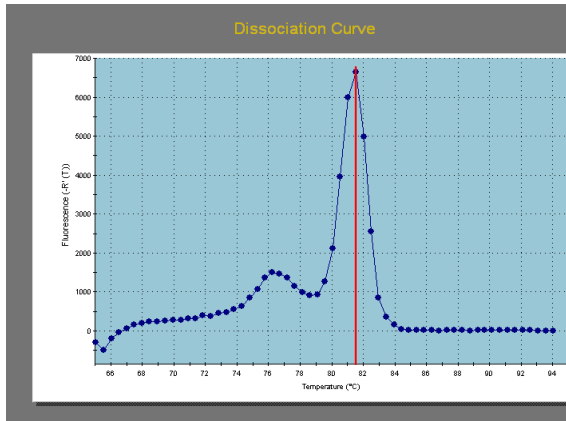
psaA

D1

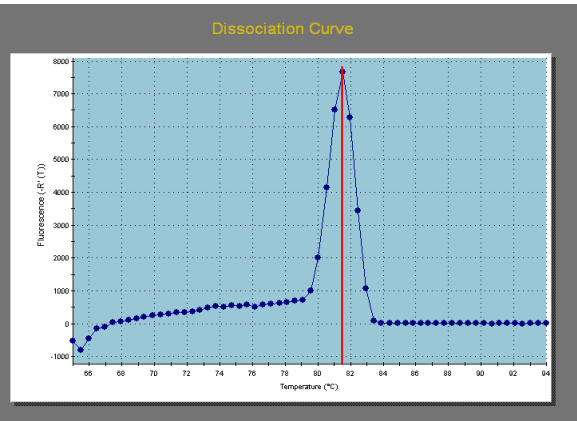


Courbes de fusion des analyses par PCR quantitative de l'expression des gènes de diatomées lors de l'étude expérimentale

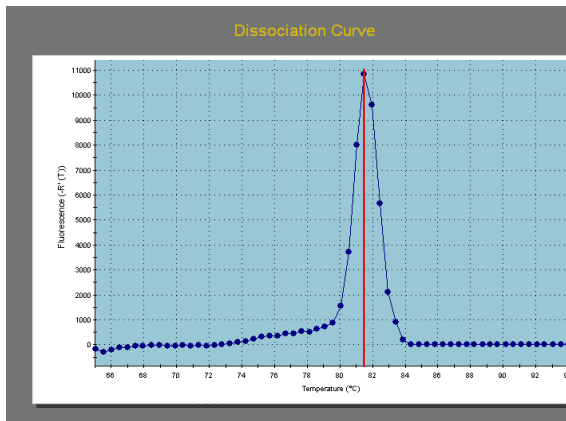
cox1



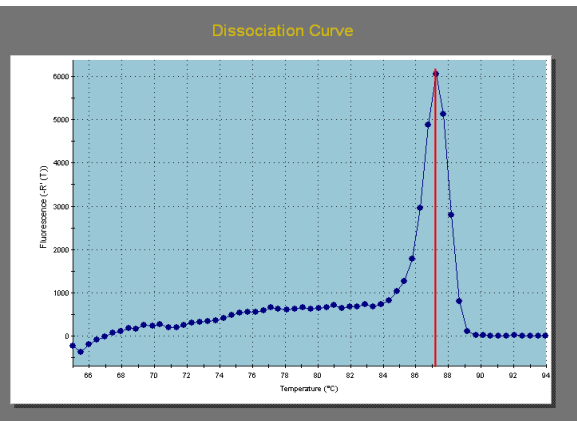
nd5



12S



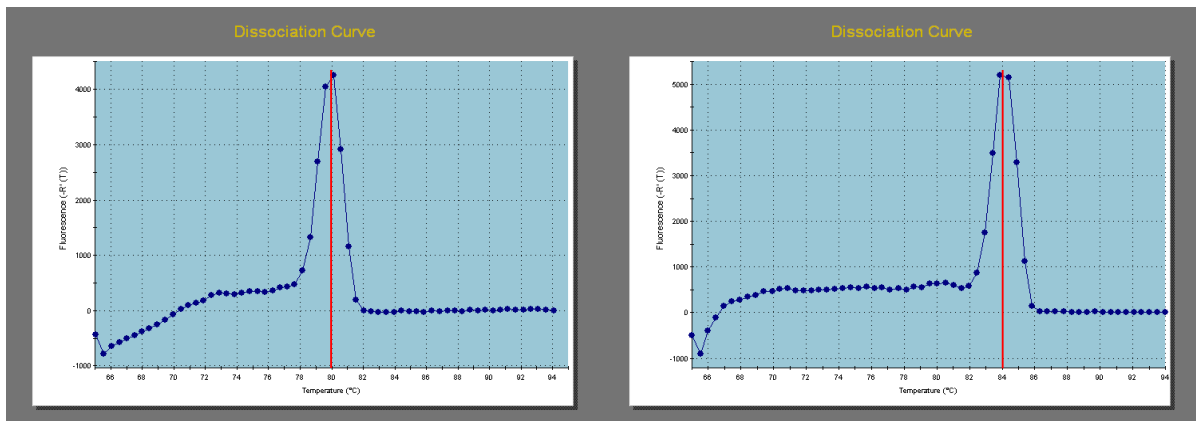
Cat



Courbes de fusion des analyses par PCR quantitative de l'expression des gènes de diatomées lors de l'étude expérimentale

Gpx

sil1



Résultats de PCR quantitative de l'expression relative à l'actine des gènes de diatomées lors de l'expérimentation de laboratoire

48h00						
Témoin	2 ^{^-} -DCt					
	T48h1	T48h2	T48h3	Moyenne	EC	SEM
psa A	0,716977624	0,650670928	0,972654947	0,780	0,170	0,098
D1	33,59093388	81,00842201	44,94223602	53,181	24,759	14,312
cox 1	0,054033577	0,086556663	0,11907975	0,087	0,033	0,019
ND5	0,021944451	0,021050525	0,024860515	0,023	0,002	0,001
12S	16158,43663	52136,279	25355,30485	31216,673	18691,389	10804,271
Cat	0,049036506	0,047038961	0,01135916	0,036	0,021	0,012
Gpx	0,000764241	0,001459814	6,86681E-05	0,001	0,001	0,000
Sil1	0,000734984	0,001324809	0,002879432	0,002	0,001	0,001
48h00						
C1	2 ^{^-} -DCt					
	C148h1	C148h2	C148h3	Moyenne	EC	SEM
psa A	10,12605275	4,112455307	21,85664411	12,03	9,02	5,22
D1	45,88656794	73,00887782	59,44772288	59,45	13,56	7,84
cox 1	0,016176014	0,03983002	0,028003017	0,03	0,01	0,01
ND5	0,055552668	0,01573368	0,035643174	0,04	0,02	0,01
12S	42347,81755	54728,32189	443938,4063	180338,18	228368,40	132004,86
Cat	0,386891248	0,429282718	1,790050142	0,87	0,80	0,46
Gpx	6,56432E-05	4,0322E-06	0,000127254	0,0001	0,0001	0,00004
Sil1	0,003375037	0,002649618	0,004100456	0,0034	0,0007	0,0004
48h00						
C2	2 ^{^-} -DCt					
	C248h1	C248h2	C248h3	Moyenne	EC	SEM
psa A	0,790041312	1,790050142	0,562529242	1,05	0,65	0,38
D1	12,21007367	49,8665331	20,53481436	27,54	19,78	11,43
cox 1	0,009355302	0,012006837	0,01068107	0,01	0,00	0,00
ND5	0,00196671	0,021888473	0,041810236	0,02	0,02	0,01
12S	9946,684493	29944,42896	10660,59248	16850,57	11345,23	6557,94
Cat	0,005410584	0,156041319	0,009820417	0,06	0,09	0,05
Gpx	0,001642376	2,32889E-05	0,000832832	0,0008	0,0008	0,0005
Sil1	1,042465761	0,131214585	0,876605721	0,68	0,49	0,28

ANNEXE 13 suite

Résultats de PCR quantitative de l'expression relative à l'actine des gènes de diatomées lors de l'expérimentation de laboratoire

30j						
Témoin	T T30j1	T T30j2	T T30j3	Moyenne	EC	SEM
psa A	1,515716567	1,494849249	0,747424624	1,253	0,438	0,2530
D1	60,96883187	62,24991663	32	51,740	17,107	9,8884
cox 1	0,005562696	0,009099481	0,00596195	0,007	0,002	0,0011
ND5	0,01573368	0,004677651	0,009752582	0,010	0,006	0,0032
12S	31216,04192	81810,59085	20171,07007	44399,234	32866,473	18997,9613
Cat	0,011048543	0,01135916	0,009618316	0,011	0,001	0,0005
Gpx	1,3101E-05	3,61375E-07	2,58406E-05	0,000013	0,00001	0,00001
Sil1	0,000622433	0,00109869	0,000146177	0,001	0,0005	0,0003
30j						
C1	C1T30j1	C1T30j2	C1T30j3	Moyenne	EC	SEM
psa A	0,503477775	1,647182035	0,858565436	1,0031	0,585	0,3384
D1	21,25897303	53,81737058	24,93326655	33,3365	17,832	10,3074
cox 1	0,003852472	0,006301889	0,008728806	0,0063	0,002	0,0014
ND5	0,009099481	0,036146506	0,008490116	0,0179	0,016	0,0091
12S	16158,43663	84110,59962	27746,1504	42671,7289	36351,806	21012,6045
Cat	0,013508394	0,0078125	0,006172198	0,0092	0,004	0,0022
Gpx	9,67301E-05	5,78973E-07	0,000192881	0,0001	0,0001	0,0001
Sil1	0,000431689	7,3186E-06	0,00085606	0,0004	0,0004	0,0002
30j						
C2	C2T30j1	C2T30j2	C2T30j3	Moyenne	EC	SEM
psa A	0,590496331	0,444421341	0,251738888	0,4289	0,170	0,09822
D1	19,02731384	16,1112888	7,012845771	14,0505	6,267	3,62239
cox 1	0,000281022	0,000335826	0,000226218	0,0003	0,0001	0,00003
ND5	0,009420374	0,006569503	0,004186615	0,0067	0,003	0,00151
12S	19215,72781	17805,06399	7486,10724	14835,6330	6403,838	3701,64041
Cat	0,002371474	0,000326642	0,001553782	0,0014	0,001	0,00059
Gpx	7,4624E-05	1,5406E-07	3,73891E-05	0,00004	0,00004	0,00002
Sil1	6,17261E-05	5,32764E-07	0,000122919	0,0001	0,0001	0,00004

