

UNIVERSITE DE LA MEDITERRANEE
AIX - MARSEILLE II

RAPPORT DE STAGE

présenté par Hélène Viret

MAITRISE DE SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT MARIN
« Option océanographie biologique »

Juin 2001

**Etude des niveaux de concentration en métaux
dans trois espèces d'algues macrobenthiques
du lagon sud-ouest de la Nouvelle-Calédonie :**

- *Halimeda macroloba* Decaisne 1841,
- *Halimeda incrassata* (Ellis) Lamouroux 1816,
- *Lobophora variegata* (Lamouroux) Womersley 1967.

Responsable de stage : **Renaud FICHEZ**
Encadrement scientifique et technique : **Ludovic BREAU**



Halimeda incrassata (photographie : P.Laboute)



Institut de Recherches pour le
Développement

Centre de Nouméa,
Nouvelle-Calédonie



Centre d'océanologie
de Marseille

Université de la Méditerranée

REMERCIEMENTS

Je remercie vivement Renaud Fichez, Directeur de l'Unité de Recherche CAMELIA, d'avoir accepté la responsabilité de ce stage et de m'avoir accueillie, avec sympathie, au sein de son équipe.

Un immense merci à Ludovic Breau pour son encadrement scientifique (que son précédent stagiaire a qualifié de " champion du monde ", je confirme c'est vrai)...mais aussi pour sa patience extrême, ses précieux conseils, son soutien... et toute l'aide qu'il m'a apportée lors de la rédaction de ce rapport.

Je remercie également Jean-Louis Duprey, Patricia Moulin et Léocadie Jamet du Laboratoire Commun de Chimie du Centre IRD de Nouméa pour la réalisation des analyses.

Je souhaiterais également remercier Jean-Fred Moulin et Philippe Gérard, Techniciens de Recherche au Laboratoire de Chimie Marine de l'UR CAMELIA pour leur aide technique, leur immense patience et leur sympathie.

Merci également à Pierre Laboute, Assistant Ingénieur, d'avoir bien voulu mettre à ma disposition ses photos des espèces d'algues étudiées dans ce rapport. Merci aussi à Pascal Douillet, chargé de Recherche à l'UR CAMELIA, pour ses explications sur la courantologie du lagon sud-ouest.

Enfin, merci à tout les membres de l'équipe CAMELIA de l'IRD pour leur sympathie...

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
1. CADRE GENERAL DE L'ETUDE	2
1.1. Le contexte régional	2
1.2. Présentation de l'Unité de Recherche CAMELIA	2
1.3. La notion de bioindicateur	3
1.3.1. Définition d'un bioindicateur quantitatif	3
1.3.2. Intérêt des bioindicateurs	3
1.4. Sélection des espèces	4
1.5. Eléments de biologie et d'écologie des espèces étudiées	4
1.5.1. <i>Les Halimeda</i>	4
1.5.2. <i>Les Lobophora variegata</i>	5
2. CADRE ENVIRONNEMENTAL DE L'ETUDE	6
2.1. Présentation géographique de la Nouvelle-calédonie	6
2.1. Caractéristiques géologiques de la Nouvelle-Calédonie	6
3. MATERIELS ET METHODES	8
3.1. Localisation des différents sites d'études	8
3.2. Stratégie de prélèvement	8
3.3. Protocole de récolte	10
3.4. Préparation des échantillons pour l'analyse	11
3.4.1. Phase de lyophilisation	11
3.4.2. Phase de broyage	11
3.4.3. Phase de minéralisation	11
3.4.3.1. Intérêts et principe de la minéralisation par micro-ondes	12
3.4.3.2. Avantages et inconvénients de la méthode	12
3.4.3.3. Procédure de nettoyage du matériel utilisé pour les digestions acides	12
3.4.4. Dosages des éléments traces par ICP – OES	14
3.4.4.1. Principes et intérêts	14
3.4.4.2. Description de l'appareil	14
3.4.4.3. Avantages et limites de l'appareil	14
3.4.4.4. Les métaux à doser	14
3.4.4.5. Calcul des concentrations	14
3.4.4.6. Limite de détection et limite de quantification	14
3.5. Validité des méthodes	15
3.6. Traitements statistiques des résultats	15
4. RESULTATS	17
5. DISCUSSION	20
5.1. Niveaux de concentration	20
5.1.1. <i>Halimeda macroloba</i> et <i>Halimeda incrassata</i>	20
5.1.2. <i>Lobophora variegata</i>	21
5.2. Variabilité interindividuelle intrasite chez les <i>Halimeda</i>	22
5.3. Variabilité intersite	22
5.3.1. <i>Halimeda macroloba</i> et <i>Halimeda incrassata</i>	22
5.3.1.1. <i>Halimeda macroloba</i>	24
5.3.1.2. <i>Halimeda incrassata</i>	24
5.3.2. <i>Lobophora variegata</i>	24
5.4. Synthèse générale	24
5.4.1. Comparaisons des capacités de bioconcentration entre les trois espèces	24
5.4.2. Comparaisons des différentes baies	25
CONCLUSION	28

INTRODUCTION

Le rapport présenté a été réalisé suite à un stage d'un mois et demi effectué à l'Unité de Recherche CAMELIA (CAractérisation et Modélisation des Echanges dans les Lagons soumis aux Influences Anthropiques et terrigènes) du Centre IRD de Nouméa (Nouvelle Calédonie) dans le cadre de la Maîtrise de Sciences de l'Environnement marin de l'Université de la Méditerranée.

Ce programme pluridisciplinaire, dont l'objectif est de déterminer les effets des activités humaines et des apports terrigènes sur les écosystèmes littoraux du Pacifique, doit permettre de fournir des outils scientifiques d'aide à l'aménagement et à la gestion rationnelle du milieu côtier. Dans cette optique, celui-ci intègre plusieurs actions de recherche concernant les biotopes et les biocénoses pélagiques et benthiques. Parmi ces thèmes de recherche, le devenir des métaux dans les sédiments puis les organismes benthiques lagonaires est actuellement étudié. En effet, de part la nature de ces sols, particulièrement riches en métaux, et son extraordinaire biodiversité marine, la Nouvelle-Calédonie constitue un site exceptionnel pour l'étude des mécanismes de transfert des métaux dans les organismes marins.

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la recherche et de l'étude d'espèces pouvant présenter un intérêt en tant que bioindicateurs de contamination du milieu côtier par les métaux. Après avoir présenté plus précisément le cadre général et environnemental de l'étude, puis le matériel utilisé et les méthodes mises en œuvre, les résultats concernant les niveaux de concentrations en Al, Co, Cr, Fe, Mn, Ni, V et Zn, ainsi que leur variabilité entre des sites soumis à des apports en métaux divers seront exposés puis discutés.

1. CADRE GENERAL DE L'ETUDE

1.1. Le contexte régional

Les états insulaires du Pacifique présentent généralement une croissance démographique importante et sont soumis pour la plupart à de profondes mutations économiques. Le développement récent de l'agriculture, de l'industrie, du tourisme, de l'exploitation des ressources naturelles et surtout la forte augmentation de l'urbanisation se traduisent par des dégradations importantes et durables, voire irréversibles, des écosystèmes récifo-lagonaires (Hutchings, 1994). Or ces derniers sont à l'origine des principales ressources naturelles vivantes et minérales de ces états. Il apparaît donc primordial de concilier le développement socio-économique avec la préservation de la qualité du milieu marin côtier dans ces régions, en mettant en œuvre un mode de gestion rationnelle de l'environnement.

En Nouvelle-Calédonie, le développement urbain et les activités minières (exploitation à ciel ouvert), constituent les deux principales sources de perturbation et d'altération du milieu lagunaire. Celles-ci se traduisent par une hypersédimentation de matériel particulaire responsable de l'envasement de certaines zones côtières, par des apports de matières organique et inorganique dissoutes responsables de l'eutrophisation du milieu, ainsi que par des apports d'agents potentiellement toxiques pour les organismes (homme inclus), notamment les métaux.

1.2. Présentation de l'Unité de Recherche CAMELIA

C'est dans ce contexte que s'inscrit la nouvelle Unité de Recherche CAMELIA (CAractérisation et Modélisation des Echanges dans les Lagons soumis aux Influences Anthropiques et terrigènes) qui succède au programme ECOTROPE développé au Centre IRD de Nouméa, en Nouvelle-Calédonie. Celle-ci a pour objectif de fournir les bases scientifiques qui doivent permettre aux autorités locales de mettre en place des modes de gestion de l'environnement cohérents. Pour cela, l'UR CAMELIA se propose de répondre aux problématiques suivantes :

- Comment identifier les mécanismes de transport et de transformation des principaux agents d'influences terrigènes et anthropiques au niveau de la zone côtière tropicale ?
- Quels sont les effets des apports terrigènes et anthropiques en terme d'eutrophisation des systèmes et de bioaccumulation des métaux dans les organismes ?
- Dans quelle mesure la modélisation permet-elle de rendre compte de ces mécanismes de transport et de transformation ?

Ces questions générales sont abordées sur les sites de Nouvelle-Calédonie (lagon sud-ouest), de Fidji et de Polynésie Française dans le cadre de cinq opérations de recherche :

- I. Organisation des caractéristiques physico-chimiques des eaux et mécanismes de transport ;
- II. Dynamique des échanges à l'interface eau-sédiment et influence des apports ;
- III. Réponses des biocénoses pélagiques ;
- IV. Transferts des métaux dans les organismes et recherche de bioindicateurs de contamination ;
- V. Modélisation de la circulation, du transport et du fonctionnement biogéochimique.

Le stage réalisé et le présent rapport s'inscrivent dans le quatrième thème de recherche portant sur l'étude des mécanismes de transferts des métaux dans le compartiment vivant. Cet axe de recherche revêt une importance toute particulière en Nouvelle-Calédonie, où l'exploitation minière à ciel ouvert du nickel et dans une moindre mesure du cobalt constitue la première ressource économique du Territoire (Labrosse *et al.*, 2000). Or très peu d'études se sont penchées sur le devenir des métaux dans les lagons de Nouvelle-Calédonie (Bird *et al.*, 1984) et un gros effort de recherche est nécessaire dans ce domaine (Labrosse *et al.*, 2000). Les récentes études géochimiques, menées dans le cadre du programme ECOTROPE, ont fourni des données sur la nature et l'origine des apports métalliques particuliers ainsi que leurs répartitions spatiales dans les sédiments de surface du lagon sud-ouest (Magand, 1999 ; Fichez, *comm. pers.*). L'évolution temporelle de ces apports a également pu être déterminée grâce à l'étude des archives sédimentaires sur la base de protocoles d'extractions séquentielles (Breau, 1998).

Cependant ces travaux ne permettent pas de déterminer dans quelle mesure ces métaux sont transférés vers les organismes marins et donc d'estimer leurs effets biologiques. Dans ce domaine, seuls quelques travaux sous forme de rapports non publiés (Chave & Buddmeier, 1977 ; Rooney *et al.*, 1989 ; Duhet, 1992 ; Breau, 1999) ont été réalisés en ce qui concerne les lagons calédoniens. L'objectif de ce thème de recherche est donc de déterminer les capacités de bioaccumulation des métaux de différentes espèces benthiques côtières, animales et végétales, ainsi que la ou les fraction(s) métallique(s) qui leur sont biologiquement disponibles et les cinétiques de transfert des métaux chez ces organismes. Ces recherches devraient à terme permettre d'identifier une ou plusieurs espèces bioindicatrices de la contamination côtière par les métaux d'origine terrigène et anthropique. Celles-ci pourront alors être proposées en tant qu'outil d'aide à la décision en terme de gestion environnementale des rejets urbains, industriels ou miniers dans le cadre d'un éventuel réseau de surveillance biologique de la qualité du milieu côtier.

1.3. La notion de “ bioindicateur de contamination ”

1.3.1. Définition d'un bioindicateur quantitatif

Un bioindicateur quantitatif est une espèce animale ou végétale dont l'analyse permet d'obtenir des informations intégrées dans le temps sur les conditions environnementales et sur la biodisponibilité spécifique de contaminants présents dans le milieu ambiant, qui ne peuvent pas être fournies par de simples analyses chimiques d'eau de mer ou de sédiments (Rainbow, 1995). Sa principale qualité est donc sa capacité à accumuler fortement dans ses tissus un ou plusieurs contaminants. Une espèce est bioaccumulatrice lorsque l'efficacité et/ou la cinétique de l'ensemble des processus d'absorption d'un contaminant sont supérieures à celle(s) de l'ensemble des processus d'élimination. La bioaccumulation dépend de plusieurs facteurs et plus particulièrement de la biodisponibilité du contaminant vis-à-vis de l'espèce étudiée. En effet, le transfert d'un contaminant d'un biotope vers la biocénose qui lui est associée dépend :

- de l'espèce animale ou végétale considérée
- de la forme chimique du contaminant considéré et des caractéristiques physiques du vecteur de contamination auquel il peut être associé (particules en suspension, sédiment)
- des variations physico-chimiques du milieu (température, salinité, pH, carbone organique total, Eh, sulfures volatils, etc.), qui influent sur les formes physico-chimiques du contaminant et de son vecteur (réactions de complexation, d'adsorption, de précipitation, etc.).

Les organismes susceptibles de présenter un intérêt en tant que bioindicateur de contamination doivent répondre en principe aux critères suivants (Cossa, 1989 ; Rainbow, 1995) :

- **Etre un bon bioaccumulateur des métaux étudiés**, ce que l'on se propose de déterminer ;
- **Etre identifiable facilement et sans ambiguïté au rang de l'espèce** ;
- **Etre abondant**, pour autoriser des prélèvements réguliers et en quantité suffisante pour être statistiquement exploitables, sans causer de préjudices à la population totale ;
- **Etre cosmopolite** pour permettre des comparaisons intraspécifiques entre différents sites ;
- **Avoir une durée de vie suffisamment longue et pouvoir être prélevé toute l'année** afin de pouvoir assurer un suivi dans le temps et prendre en compte la variabilité saisonnière ;
- **Etre suffisamment gros** pour fournir la quantité de tissus nécessaire pour les analyses individuelles ;
- **Etre résistant au stress** dû aux manipulations au cours de la récolte, en laboratoire ou lors de transplantations ;
- **Etre tolérant par rapport aux variations des conditions environnementales naturelles** ;
- **Etre sédentaire** afin d'intégrer les caractéristiques environnementales d'un site précis, les concentrations en métaux mesurées dans l'animal devant être étroitement liées à celles du site (eau ou sédiment) ;
- **Etre une espèce dont la biologie et l'écologie sont bien connues**

1.3.2. Intérêt des bioindicateurs

A la fin des années 1970 s'est développé le concept des bioindicateurs quantitatifs (“ biomonitors ” en anglais) de contamination chimique du milieu marin. Celui-ci est basé sur l'utilisation de la capacité d'accumulation des contaminants par certains organismes pour la surveillance de la qualité du milieu (“ biomonitoring ”). Depuis, dans le cadre du projet américain devenu international, le “ Mussel Watch ”,

des scientifiques de nombreux pays utilisent les bivalves (huîtres et moules) afin d'évaluer la contamination chimique des eaux côtières pouvant menacer les écosystèmes littoraux, donc indirectement la santé humaine. (Farrington & Tripp, 1993). En France, dès 1979, le RNO (Réseau National d'Observation de la qualité du milieu marin) a intégré ce type de surveillance biologique sur tout le littoral métropolitain. Aujourd'hui, l'utilisation de plusieurs espèces représentant différents niveaux trophiques ou différentes stratégies de nutrition est considéré comme absolument nécessaire pour une meilleure évaluation de l'impact des contaminants sur l'environnement. Pour obtenir une image globale de la contamination d'un écosystème, il faut s'intéresser à un ensemble d'indicateurs comprenant au moins (Rainbow, 1995 ; Perez *et al* ; 2000) :

- **un végétal aquatique** répondant essentiellement aux sources dissoutes de contaminants ;
- **un animal filtreur** , qui intégrerait les fractions particulaires et dissoutes ;
- **un détritivore** pouvant atteindre les contaminants qui ont abouti à la surface du sédiment.

1.4. Sélection des espèces potentiellement bioindicatrices dans le lagon sud-ouest de la Nouvelle-Calédonie

Sur la base des critères de choix des bioindicateurs, les organismes marins benthiques pouvant présenter un intérêt ont été sélectionnés à partir de l'étude d'une base de données de la flore et de la faune marine littorale de la Nouvelle-Calédonie (Richer de Forges, 1991 ; Richer de Forges & Hoffschir, 2000) et d'une compilation des observations précédemment réalisées en plongée sous-marine sur certains des sites étudiés (Garrigue & Laboute, *comm. pers.*). Une phase de prospection *in situ* effectuée en plongée sous-marine sur 80 stations plus précisément définies a ensuite permis de compléter ces données. Quatorze espèces, exposées dans le tableau I, ont ainsi été retenues.

Tableau I : Liste des espèces benthiques sélectionnées pour l'étude de la bioaccumulation des métaux, classées par groupes zoologiques ou botaniques :

Algues	<i>Halimeda macroloba</i> , <i>Halimeda incrassata</i> , <i>Caulerpa taxifolia</i> , <i>Caulerpa sertularioides</i> , <i>Lobophora variegata</i>
Bivalves	<i>Isognomon isognomon</i> , <i>Gafrarium tumidum</i> , <i>Hytissa hyotis</i>
Echinodermes	<i>Holothuria edulis</i> , <i>Diadema setosum</i>
Alcyonaires	<i>Sinularia leptoclados</i> , <i>Sarcophyton</i> sp.
Gastéropodes	<i>Strombus canarium</i>
Eponges	<i>Sphaciospongia vagabunda</i>

Pour chacune de ces espèces, les niveaux de concentrations en métaux sont actuellement étudiés ainsi que les variabilités de ces concentrations entre plusieurs sites soumis à des apports divers. Ces analyses devraient alors permettre d'identifier une éventuelle capacité des organismes à absorber certains métaux et à en stocker une partie dans leurs tissus à partir des teneurs métalliques environnantes de l'eau (bioconcentration), des particules en suspension ou déposées et/ou par voie trophique (bioaccumulation). Le travail présenté porte spécifiquement sur l'étude des capacités de bioconcentration des métaux chez trois espèces d'algues macrobenthiques : *Halimeda macroloba* Descaigne 1841 et *Halimeda incrassata* (Ellis) Lamouroux 1816 (Chlorophycées) ainsi que *Lobophora variegata* (Lamouroux) Womersley 1967 (Fucophycées).

1.5. Eléments de biologie et d'écologie des espèces étudiées

1.5.1. Les *Halimeda*

Le genre *Halimeda* appartient à l'ordre des Bryopsidales, famille des Halimedaceae. Les Bryopsidales représentent l'ordre le plus important des Chlorophycées marines macroscopiques. Les études précédemment réalisées ont estimé qu'environ 80 % des fonds meubles du lagon sud-ouest de Nouvelle-Calédonie étaient recouverts par de véritables prairies d'algues vertes appartenant à cet ordre (Garrigue, 1985).

Le thalle des *Halimeda* est divisé en trois parties (Garrigue, 1985) :

- la base : constituée de rhizoïdes très ramifiés emprisonnant une grande quantité de particules sédimentaires, elle assure la fixation dans le substrat. Elle se différencie morphologiquement en fonction des substrats dans lesquels le pied se forme.
- le stipe : il est non différencié et correspond à l'article basal.
- la fronde : elle est formée de deux parties : les articles successifs intermédiaires calcifiés (croissance terminée) et les articles en cours de calcification (jeunes articles se développant à l'extrémité des frondes). La calcification intervient quand l'article a pratiquement atteint sa taille maximale (soit environ 24 h après son apparition) et ne varie pas en fonction du temps ni du lieu. Selon les espèces, la forme et la taille des articles sont variables et leur enchaînement constitue des axes ramifiés dans un seul ou plusieurs plans. Ils montrent une croissance apparemment indéfinie qui assure le développement horizontal et vertical de l'algue.

Lors de la reproduction sexuée des *Halimeda*, les gamètes se développent à l'intérieur de vésicules gamétogènes portées par des ramifications de filaments médullaires situés sur les articles. La fécondation s'effectue dans l'eau de mer après rupture des vésicules et libération des gamètes. Cette forme de reproduction entraîne la mort du pied et sa désagrégation en 24 à 72 h selon l'espèce. La reproduction sexuée est généralement observée après un stress climatique, souvent en été ; le phénomène commence le matin et s'accroît pendant la journée (Garrigue, 1985). La partie rhizoïdale d'un pied d'*Halimeda* émet des rhizoïdes très fins à croissance horizontale qui bourgeonnent et forment un autre pied. Plusieurs pieds proches peuvent donc être issus du même individu.

Tableau II : Caractéristiques biologiques et écologiques de *Halimeda incrassata* et *Halimeda macroloba*

	Morphologie	Reproduction	Habitat	Biogéographie
<i>Halimeda incrassata</i>	-Thalle dressé pouvant atteindre 30 cm de haut. -Premiers segments de forme cylindrique, tous les autres sont de formes variables trilobées à réniformes. -Taux de calcification de 72 % du poids sec.	-Structures de reproduction présentes sur les surfaces planes ainsi que sur les tranches des articles de la partie supérieure du thalle.	-Espèce présente sur tous les substrats meubles juste au dessous de la limite inférieure de la zone intertidale et jusqu'à 65 m.	-Espèce répandue dans toute la zone tropicale (espèce pantropicale).
<i>Halimeda macroloba</i>	-Thalle érigé pouvant atteindre 20 cm de haut. -Port buissonnant. -Taux de calcification pouvant aller jusqu'à 84% du poids sec chez les adultes.	-Organes de reproduction présents sur la tranche des articles supérieurs du thalle ainsi qu'à la jonction des filaments médullaires.	-Espèce présente sur le substrats meubles (sable, vase) du bas de la zone intertidale jusqu'à 25 m de profondeur.	-Espèce tropicale à large répartition.

1.5.2. *Lobophora variegata*

Cette espèce d'algue appartient à la classe des Fucophycées, ordre des Dictyotales, famille des Dictyotaceae. Elle est généralement de couleur brun jaunâtre à brun foncé. Le thalle est formé de lames flabellées discoïdes à ovales, peu à fortement adhérentes au substrat ; elle peut atteindre 10,5 cm de haut et 9,5 mm de large. *Lobophora variegata* est commune sur les rochers et sur les Corallinacées dans les lagons et sur les pentes de récifs, de la surface à dix mètres de profondeur (Payri *et al.*, 2000). On la trouve également dans les baies, même relativement envasées, où elle colonise les substrats rocheux ou coralliens morts.

2. CADRE ENVIRONNEMENTAL DE L'ETUDE

2.1. Présentation géographique de la Nouvelle-Calédonie

La Nouvelle-Calédonie est un archipel de 18 575 km² qui se situe dans le sud-ouest du Pacifique à 1 500 km à l'est de la côte australienne, juste au-dessus du Tropique du Capricorne. Ce pays d'outre-mer fait partie de la Mélanésie, sous-groupe qui, avec la Polynésie et la Micronésie, constitue le continent océanien. L'île principale de la Nouvelle-Calédonie, appelée *Grande Terre*, est longue de 450 km pour une largeur de 50 km et est entourée d'un récif barrière de 1 600 km de long qui délimite un lagon d'une superficie de 23 400 km². La Nouvelle-Calédonie, située entre 19° et 23° de latitude sud, jouit d'un climat subtropical tempéré par l'océan qui la baigne et les alizés du sud-est. La température annuelle s'établit autour de 22°C avec des extrêmes peu marqués et les précipitations moyennes annuelles varient de 1 000 à 1 500 mm à l'ouest et de 1 500 à 3 500 mm à l'est.

2.2. Caractéristiques géologiques de la Nouvelle-Calédonie

La Nouvelle-Calédonie, telle qu'elle se présente actuellement, n'est pas une terre particulièrement ancienne. Le fait le plus marquant de son histoire géologique est la surrection des péridotites qui a eu lieu au Tertiaire (Oligocène et Miocène) et dont les affleurements occupent le tiers du Territoire. L'importance du rôle des péridotites s'explique par leur composition chimique très spéciale : ce sont des roches ultrabasiques très riches en métaux et presque complètement dépourvues de phosphore, de potassium et de calcium.

Soumises à l'action des facteurs climatiques sur les plateaux et les terrasses, les péridotites ont été lessivées en profondeur avec les dépôts conjugués des alcalins et alcalino-terreux, puis d'une partie de la silice. Ces transformations s'accompagnent d'une migration de métaux de transition suite à la formation de gels silico-ferrugineux. Il en résulte une concentration exceptionnellement forte de ces éléments de transition (Ni, Cr, Mn, Fe, Co, etc.) dans une partie du profil d'altération. Cette dégradation de la roche-mère (péridotite) s'effectue en deux étapes distinctes représentées à la figure 1 :

- *Formation de saprolites* : ce sont des péridotites partiellement altérées dans lesquelles la structure de la roche mère est parfaitement reconnaissable. L'altération se traduit par le départ de la magnésie et l'enrichissement résiduel en fer décrit précédemment.
- *Formation des latérites* : elles correspondent à une altération plus avancée des péridotites. La structure de la roche mère n'est plus visible. Les teneurs en magnésie et en silice sont très basses et les constituants principaux sont des hydroxydes ferriques plus ou moins largement cristallisés en goethite.

Cette richesse exceptionnelle en métaux des sols, notamment en nickel, a entraîné le développement d'une intense exploitation minière dans de nombreux sites du Territoire (figure 2). En effet, la Nouvelle-Calédonie renfermerait le quart des ressources mondiales de nickel. Depuis 1 876, plus de 130 millions de tonnes de minerai ont été extraits, plaçant la Nouvelle-Calédonie au troisième rang des producteurs mondiaux (Breau, 1998). On estime en outre à 300.10⁶ m³ le volume de sols déplacés ou remaniés par l'extraction directe depuis le début des activités minières (Labrosse *et al.*, 2000).

Le profil théorique d'altération des péridotites

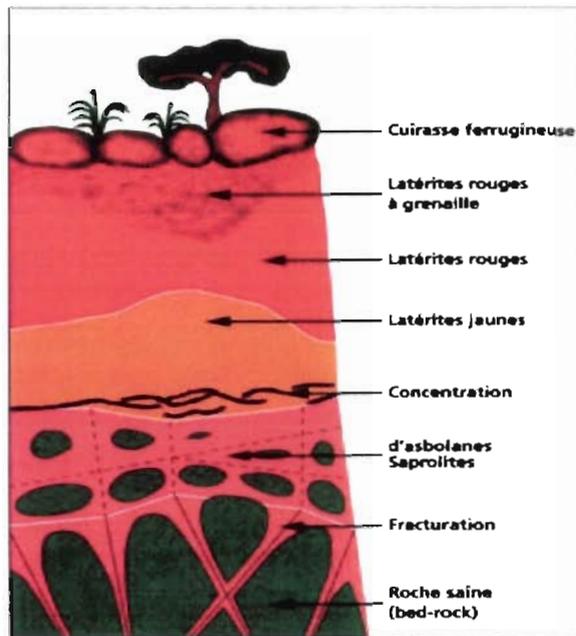


Figure 1 : Profil type d'altération des péridotites en Nouvelle-Calédonie

L'industrie minière et métallurgique depuis les origines



Figure 2 : Carte de la Nouvelle Calédonie montrant les différents sites d'exploitation minière anciens et actuels ainsi que les sites métallurgiques.

3. MATERIELS ET METHODES

3.1. Localisation des différents sites d'études

La bioconcentration des métaux dans les algues est étudiée en comparant les résultats obtenus pour quatre baies soumises à différentes sources d'apports en métaux (figure 3) :

- la baie de Boulari (sud-est de Nouméa), alimentée en apports fluviaux par la rivière La Coulée est sous influence terrigène naturelle et induite. En effet, plusieurs anciens sites d'exploitation minière ont entraîné un remaniement important des sols. Selon les sociétés d'exploitation, l'extraction du minerai s'effectue à différentes profondeurs : la SLN (Société Le Nickel) procède à l'extraction des saprolites nécessitant l'élimination de la croûte ferrugineuse et des latérites. A l'inverse, ces dernières constituent le minerai recherché par la compagnie INCO – Goro Nickel, qui extrait les métaux par un procédé de lixiviation par l'acide sulfurique. Quels que soient les procédés utilisés et bien que des dispositifs de rétention et de stockage du matériel latéritique déplacé aient été récemment mis en place, ils conduisent à une forte instabilité des sols qui, par l'intermédiaire des rivières, est à l'origine d'apports terrigènes additionnels significatifs dans le lagon. Ce phénomène de transport est accru par la déforestation et plus particulièrement lors des fortes précipitations durant les périodes cycloniques (été austral), pendant lesquelles d'importantes quantités de matériel particulaire terrigène sont injectées dans le lagon en un temps extrêmement bref par l'intermédiaire des rivières La Coulée et Les Pirogues dans le sud-ouest du Territoire.
- la baie de Sainte-Marie (Nouméa) qui est sous influence urbaine et indirectement terrigène. Les apports dus à l'urbanisation peuvent être causés par l'érosion engendrée par les constructions établies en bordure de baie et les rejets urbains arrivant en fond de baie, dus à l'insuffisance des équipements d'assainissement. De plus, les alizés de sud-est, créant des courants longeant la côte, permettent ainsi le transport jusque dans la baie de particules terrigènes provenant des rivières La Coulée et Les Pirogues.
- la baie de la Grande Rade (Nouméa) qui est sous influence industrielle. L'usine de traitement du minerai de la SLN (usine de Doniambo) se situe en bordure de la baie et produit, lors de la pyrolyse, de nombreux résidus (scories, aérosols, etc.) contenant encore certains métaux susceptibles de se déposer dans la baie.
- la baie de Dumbéa (nord-ouest de Nouméa) qui est sous influence terrigène principalement naturelle. En effet, la rivière La Dumbéa se jette dans cette baie et y déverse du matériel issu du lessivage des sols par les pluies (sols *a priori* peu remaniés comparés à ceux du bassin versant de La Coulée).

Une cinquième baie sera également prise en compte en tant que site de référence, même si la totalité des espèces n'y est pas représentée :

- la baie Maa située dans une zone *a priori* exempte d'influences terrigène ou anthropique directes (c'est à dire qu'elle ne reçoit pas ou peu les apports dus à la courantomie dominante forcée par les alizés de sud-est) au nord-ouest de Nouméa et adjacente à la baie de Dumbéa.

Les localisations respectives (coordonnées GPS) des stations de récolte des trois espèces étudiées sont indiquées dans le tableau III.

3.2. Stratégie de prélèvement

L'obtention d'un nombre suffisant de spécimens est nécessaire pour pouvoir évaluer la variabilité interindividuelle des concentrations de chaque métal chez une même espèce en une station donnée. Cette variabilité interindividuelle conditionne en effet les résultats des tests statistiques de comparaison des moyennes des concentrations de métaux des populations de chaque espèce échantillonnées sur les

différentes stations étudiées. Celle-ci, évaluée sur une station donnée, peut dépendre de différentes variables biotiques individuelles telles que l'âge, le stade du cycle de vie et l'état physiologique général. Les récoltes des spécimens d'une station sont nécessairement effectuées le même jour. De même, les algues de toutes les stations ont été prélevées sur la période de temps la plus courte possible afin de minimiser d'une part l'éventuelle variabilité saisonnière des concentrations en métaux dans le milieu et d'autre part afin de collecter des organismes présentant si possible le même état physiologique (tableau III).

Dans la mesure du possible, une vingtaine de spécimens de chaque espèce d'*Halimeda* a été récoltée sur chaque station de manière aléatoire. Les jeunes pousses dont la biomasse estimée était insuffisante pour effectuer une analyse n'ont cependant pas été prélevées. Sur ces vingt individus, seule la moitié a été analysée dans un premier temps. En fonction des résultats obtenus en terme de variabilité ou en cas de perte d'échantillons lors des préparations, les autres spécimens restant peuvent être utilisés. Une récolte supplémentaire d'*Halimeda macroloba* a en outre été réalisée sur la station de référence M23 (baie Maa) afin de constituer un pool de plusieurs spécimens qui servira de témoin interne pour contrôler la répétabilité de la méthode. Dans certains cas, la présence d'une espèce sur deux stations dans un même site permettra d'étudier une éventuelle variabilité intrasite pouvant être due aux différences de conditions environnementales en termes d'apports régnant dans chaque site (distance de l'émissaire, localisation en fonction de la courantologie, nature des substrats et caractéristiques des sédiments de surface). Pour les *Lobophora variegata*, la taille des frondes étant insuffisante pour effectuer une analyse individuelle, les algues ont été regroupées pendant la récolte dans un sachet unique pour chaque station (cela représentait plusieurs grammes de poids frais)

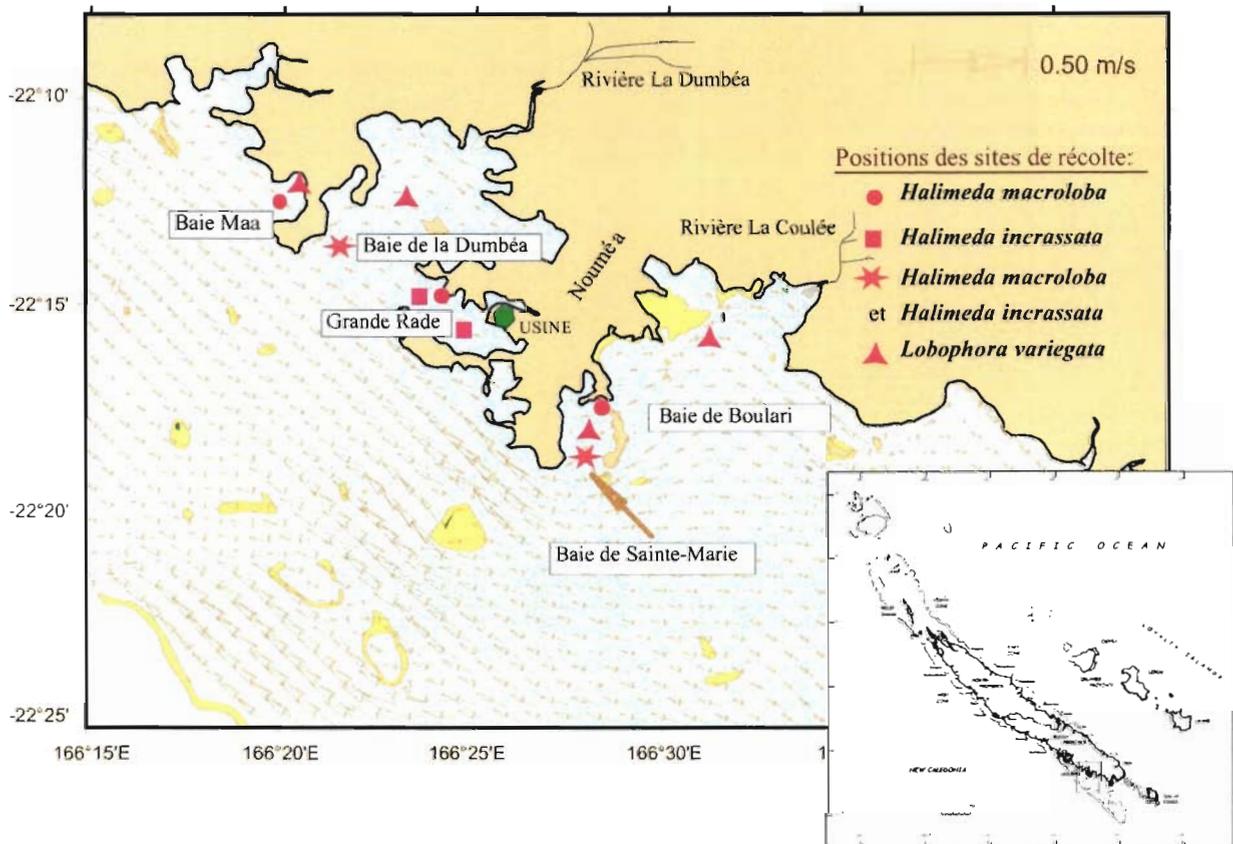


Figure 3 : Carte représentant les stations de récolte des *Halimeda macroloba*, *Halimeda incrassata* et *Lobophora variegata* dans les différentes baies étudiées (Maa, Dumbéa, Grande Rade, Sainte-Marie, Boulari) du lagon sud-ouest de la Nouvelle-Calédonie. La carte est orientée selon une direction verticale nord-sud. La direction et le sens des courants de surface pour un alizé moyen (8 m/s) obtenus par modélisation sont également indiqués (carte courantologique de Pascal Douillet).

Tableau III : Localisation (coordonnées GPS, nom de la baie), profondeur des différentes stations et dates de récolte pour les trois espèces d'algues étudiées.

Espèce	Baies	Stations	Profondeur	Coordonnées GPS		Date de la récolte
				Latitude	Longitude	
<i>Halimeda macroloba</i>	Sainte-Marie	N 08	13 m	22°17'28	166°18'58	10/07/00
	Sainte-Marie	N 27	13 m	22°18'38	166°28'17	19/04/00
	Dumbéa	D 43	14,4 m	22°13'22	166°21'49	16/06/00
	Grande Rade	D 20	15,7 m	22°14'59	166°24'43	13/07/00
	Maa	M 23	12,7 m	22°12'33	166°20'00	15/06/00
<i>Halimeda incrassata</i>	Sainte-Marie	N 27	13 m	22°17'38	166°24'98	19/04/00
	Grande Rade	D 12	14,4 m	22°15'24	166°23'79	24/05/00
	Grande Rade	D 22	19,6 m	22°14'42	166°23'79	02/05/00
	Dumbéa	D 43	15,7 m	22°13'22	166°21'49	16/06/00
<i>Lobophora variegata</i>	Dumbéa	D47	10,9 m	22°11'92	166°23'53	12/01/00
	Sainte-Marie	N 19	14 m	22°17'85	166°28'14	22/12/00
	Maa	M 26	4,9 m	22°11'83	166°20'64	31/01/00
	Boulari	B 31	12,2 m	22°15'48	166°31'24	18/02/00

3.3. Protocole de récolte et de traitement des échantillons

La récolte et le traitement des échantillons se sont déroulés en plusieurs étapes et ont été réalisés avant le début du stage. Ils incluent :

- le prélèvement en plongée ;
- le rinçage des échantillons au laboratoire ;
- le conditionnement des échantillons dans des sachets référencés avant leur stockage en chambre froide.

Les prélèvements des macroalgues ont été effectués en plongée sous-marine en zone subtidale uniquement. Chaque macroalgue a été prélevée en entier en la dégageant délicatement des sédiments. Les spécimens récoltés doivent être en bonne santé (pas de lésions observables, thalles ou feuilles bien vertes, absence de signes de reproduction en cours) et de taille suffisante. Dans le cas des *Halimeda*, qui sont reliées entre elles par un réseau souterrain de rhizoïdes et peuvent de ce fait être génétiquement identiques, les prélèvements effectués sur une station ont été espacés. Les échantillons ont été immédiatement placés dans des sachets en plastique précédemment rincés avec HCl 5 % (avant la première utilisation) puis à l'eau déminéralisée ultra-pure ($R=17,7 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-2}$) ; l'ensemble des sachets a été conservé dans un filet en nylon pendant toute la durée de la récolte. Dès la fin de la récolte, les sachets ouverts ont été placés dans un bac contenant de l'eau de mer prélevée sur le site entre 3 et 7 m de profondeur, jusqu'au retour au laboratoire, relativement bref. Un prélèvement de 20 l d'eau de mer a été également réalisé à l'aide d'une pompe à membrane manuelle installée sur le bateau. Celle-ci est reliée à un tuyau d'aspiration d'une longueur de 7 mètres et lesté à son extrémité afin de pouvoir prélever sous une éventuelle couche néphéloïde de surface ou sous la hyalocline en cas de précipitations récentes.

Au laboratoire, chaque spécimen d'*Halimeda* a été débarrassé de son éventuelle épibiose et de ses rhizoïdes puis rincé soigneusement dans différents bains d'eau de mer du site, puis d'eau de mer prélevée hors du lagon (à l'extérieur du récif barrière, à 7 m de profondeur) et précédemment filtrée à $0,45 \mu\text{m}$. Ce rinçage est destiné à éliminer les particules sédimentaires adhérentes.

Pour les Halimeda, la hauteur maximale du spécimen (fronde la plus longue depuis l'article basal), le poids sec et le nombre d'articles en croissance non calcifiés ont ensuite été mesurés ou comptés ; d'éventuelles remarques concernant certains individus ont en outre été notées.

Chaque algue a été ensuite transférée dans un sachet de type Fisherbrand précédemment référencé (code incluant l'espèce, l'identification individuelle et la station de prélèvement), puis stocké en chambre froide à -25°C . Pour les *Lobophora variegata*, chaque spécimen a été rincé comme précédemment avec de l'eau de mer, puis chaque pool récolté a été séparé en trois réplicats.

3.4. Préparation des échantillons pour l'analyse

Les échantillons ainsi conservés subissent trois étapes successives avant de pouvoir être analysés : la lyophilisation destinée à déshydrater l'échantillon ; le broyage permettant d'obtenir une poudre fine homogène ; la minéralisation, pendant laquelle les métaux sont libérés de la matrice organique et mis en solution. Ces trois phases ont été réalisées pendant le stage.

3.4.1. Phase de lyophilisation

La lyophilisation est un processus durant lequel une substance passe directement de l'état solide à l'état gazeux. Ce procédé de déshydratation permet d'éliminer l'eau des tissus biologiques par sublimation tout en préservant les structures de la matrice organique, donc la qualité des échantillons traités. Dans un premier temps, les échantillons sont retirés de la chambre à -25°C , puis :

- les sachets sont ouverts puis disposés dans quatre plateaux en acier inoxydable dans le lyophilisateur FTS Systems (Fisher Bioblock Scientifics) ;
- après environ 65 h de lyophilisation, les sachets contenant les échantillons sont rapidement refermés dès leur sortie de l'appareil et placés dans un sac en polyéthylène soudé afin d'éviter leur réhydratation ;
- les échantillons sont ensuite pesés afin de déterminer leur poids sec puis replacés dans leur sachet et leur sac respectifs. Ces pesées sont réalisées à l'aide d'un verre de montre en téflon décontaminé plusieurs heures dans un bain d'acide nitrique 10 % puis rincé avec de l'eau ultra-pure. La balance utilisée permet des pesées au dixième de milligramme (marque Ohaus Explorer, d : 0,1 mg).

Après la pesée, les échantillons sont stockés dans un dessiccateur sous vide afin de limiter au maximum leur réhydratation jusqu'au broyage.

3.4.2. Phase de broyage

Les broyages des échantillons lyophilisés sont effectués en parallèle à l'aide d'un broyeur mécanique à mortier (mortier RM 100, RETSCH) et d'un broyeur à mortier manuel. Les mortiers et les pilons ont été choisis en agate d'une part pour sa dureté relativement faible mais suffisante pour le broyage de matrices biologiques (dureté de 7,0 sur l'échelle de Mohs) et d'autre part pour sa composition en matériau inerte (exempte des métaux étudiés) afin d'éviter toute contamination (99,91 % en SiO_2) consécutive à une éventuelle abrasion.

Avant l'étape de broyage, les bols et les pilons sont décontaminés en séjournant une nuit dans un bain de détergent de type Count-Off™ (2 %). Un rinçage à l'eau ultra-pure et à l'éthanol absolu (qualité Pour Analyse, Merck) précède chaque broyage. L'échantillon broyé est replacé dans son sachet à l'aide d'un entonnoir en plastique préalablement nettoyé à l'éthanol absolu. L'entonnoir et le pilon en agate sont séchés entre les broyages en quelques minutes dans une étuve Memmert à 60°C . Les échantillons ainsi préparés sont stockés dans un sac soudé conservé dans un dessiccateur sous-vide jusqu'à leur minéralisation. Les échantillons sont ensuite placés au moins douze heures à l'étuve à 60°C juste avant leur minéralisation afin d'obtenir une poudre d'échantillon totalement sèche.

3.4.3. Phase de minéralisation

Afin de procéder à l'extraction des métaux dans les organismes étudiés, on effectue une digestion acide complète ou partielle de la matrice biologique. Deux techniques de digestion à haute température existent :

- *La méthode de chauffage dite “classique”* avec bain de sable chaud ou plaque chauffante ($T^{\circ} \approx 70-120^{\circ}\text{C}$),
- *Le four à micro-ondes* ($T^{\circ} \approx 250^{\circ}\text{C}$), une technique plus récente et d'utilisation croissante en recherche.

Dans le cadre de cette étude, le four à micro-ondes a été utilisé pour la minéralisation des algues en suivant le programme USER 018 mis au point par Magand (2000) : montée de 100 à 1000 W en 5 min, puis 1000 W pendant 10 min et enfin 0 W pendant 10 min pour le refroidissement des bombes. L'ensemble de la méthode de minéralisation utilisée est présenté à la figure 4.

3.4.3.1. Intérêts et principe de la minéralisation par micro-ondes.

Par rapport à la méthode classique dite “du bain de sable” (plaque chauffante), la technologie proposée par le chauffage micro-ondes sous conditions hyperbares offre de nombreuses possibilités techniques et expérimentales. Concernant la minéralisation des échantillons, cette technique permet le maintien sous pression des solutions d'attaque, ce qui induit une augmentation de la température d'ébullition des acides employés, limitant ainsi leur vaporisation et assurant un meilleur rendement d'extraction.

3.4.3.2. Avantages et inconvénients de la méthode (Magand, 2000)

La procédure de digestion par chauffage présente de nombreux avantages :

- la réduction considérable des durées de mises en solution : entre 5 et 20 min sont nécessaires au four micro-ondes comparé à plusieurs heures voire plusieurs jours pour la minéralisation sur plaque chauffante (minéralisation par voie humide) ;
- la reproductibilité de la puissance de chauffage (puissance facilement contrôlable) ;
- la diminution sensible des quantités d'acides mises en jeu (pas de pertes par évaporation car système fermé) ;
- l'absence d'inertie thermique à l'arrêt de l'appareil ;
- la réduction (processus rapide) voire la suppression (système fermé) des risques de pollution de l'échantillon ;
- l'automatisation de la surveillance des montées en température et pression : suppression du risque d'explosion par un contrôle continu de la pression et de la température dans chaque bombe en téflon ;
- l'insertion possible d'une telle opération dans une chaîne automatique d'analyse.

Cependant, le carroussel employé dans cette étude ne permettait de traiter que six échantillons à la fois (certains systèmes peuvent traiter douze échantillons par carroussel). Le procédé de minéralisation sur plaque chauffante permet de traiter un plus grand nombre d'échantillons simultanément, bien que cette technique ne permette pas de s'assurer de la distribution homogène de la température sur tous les échantillons et qu'elle présente des risques de contamination. Il faut également noter que la durée de digestion sur plaque chauffante est de l'ordre de plusieurs heures à plusieurs jours selon les matrices et accroît par conséquent les inconvénients cités précédemment.

3.4.3.3. Procédure de décontamination du matériel utilisé pour les digestions acides

Un soin particulier doit être apporté à la décontamination du matériel en polyéthylène ou en téflon utilisé (bombes, coupelles et béchers en téflon, fioles jaugées, etc.) pour assurer la validité des résultats. Immédiatement après leur utilisation, la vaisselle est soigneusement rincée à l'eau déminéralisée ($R=0,2$ à $0,5 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-2}$), puis immergée dans un bain d'acide nitrique 10 % pendant 24 h. Un nouveau rinçage à l'eau ultra-pure (Barnstead, résistivité $17,7 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$) est effectué. La vaisselle est ensuite mise à sécher soit sous hotte soit à l'étuve (60°C), puis stockée à l'abri de poussière pour éviter toute contamination éventuelle. Une procédure de décontamination particulière des bombes en téflon avec le four micro-ondes est également utilisée. Après rinçage à l'eau ultra-pure (Barnstead, $R=17,7 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-2}$), 5 ml d' HNO_3 70 % (Aristar) sont versés dans chaque bombe. Le programme de nettoyage PAAR 007H (1000 W pendant 20 min) est alors appliqué. Après un nouveau rinçage à l'eau ultra-pure, les bombes sont mises à sécher puis stockées à l'abri de la poussière pour éviter toute contamination éventuelle.

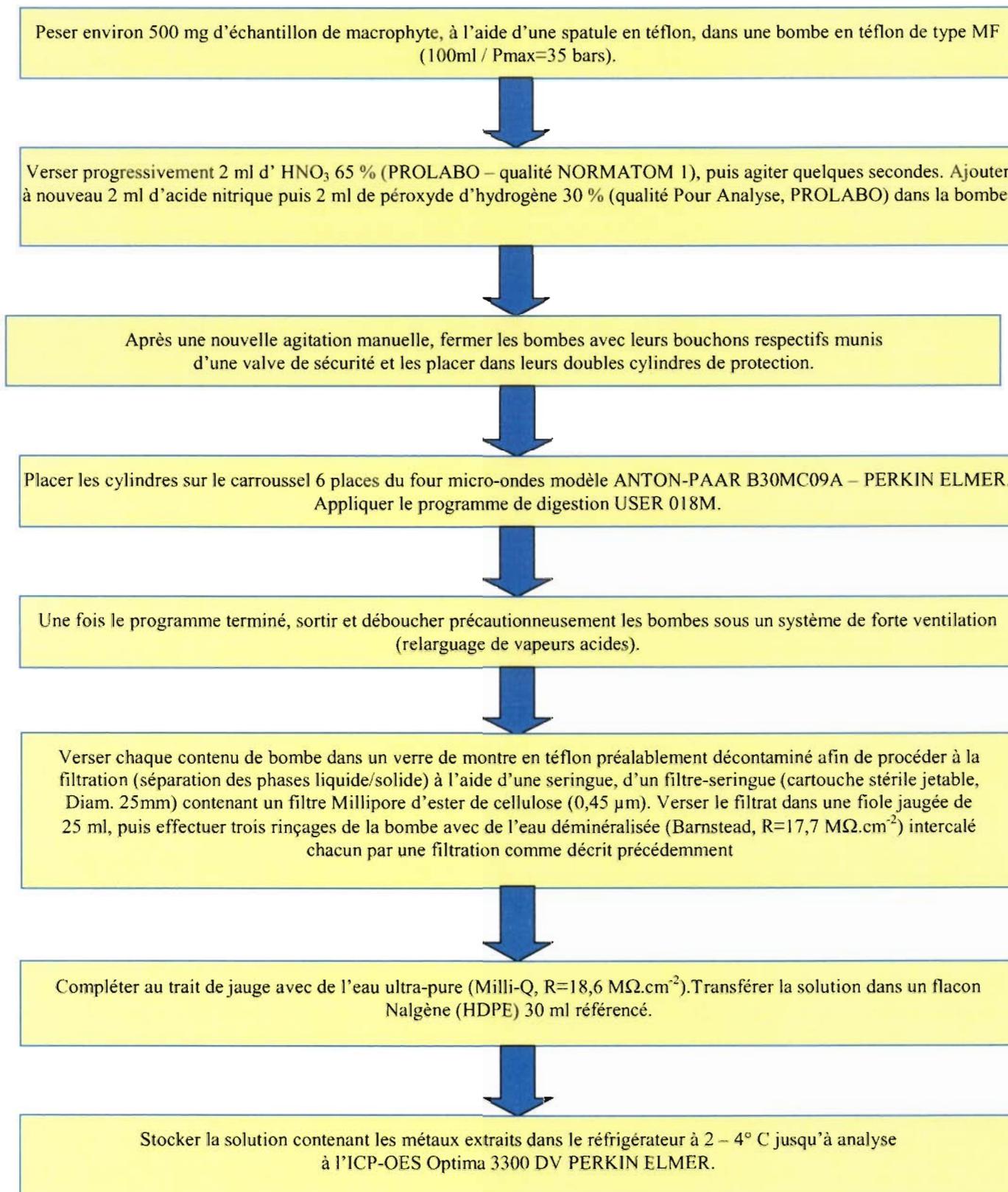


Figure 4 : Protocole de minéralisation mis en œuvre pour les algues.

3.4.4 Dosage des éléments traces par ICP – OES.

3.4.4.1. Principes et intérêts

Les techniques couramment utilisées pour la détermination des éléments traces sont axées sur la spectrométrie atomique. Ces techniques sont basées sur l'absorption ou l'émission de radiations électromagnétiques par les atomes ou formes ioniques d'un élément chimique, et ce à la suite d'un changement de niveau dans le cortège électronique. L'ICP-OES utilise le principe de la spectrométrie optique d'émission (OES). L'échantillon est soumis à des températures élevées (jusqu'à 10 000 °K) pour provoquer la dissociation des atomes et leur ionisation (excitation par collision et chauffage). De l'état excité, les ions de chaque élément présent dans la solution retournent à l'état fondamental par émission thermique ou radiative dans les longueurs d'onde spécifiques à l'élément considéré.

3.4.4.2. Description de l'appareil

L'ICP-OES est constituée d'un système d'introduction de l'échantillon, d'une source thermique par décharge (système d'atomisation et d'ionisation), d'un système optique de transmission des radiations émises, d'un détecteur et d'un système d'enregistrement. L'appareil utilisé dans le cadre de cette étude est de type PERKIN-ELMER Optima 3300DV. Les calibrations et les dosages proprement dits ont été réalisés par les techniciens du laboratoire commun de chimie du Centre IRD.

3.4.4.3. Avantages et limites de l'appareil.

L'ICP-OES est un système d'analyse spectroscopique qui présente de nombreux avantages par rapport au spectromètre classiquement employé. Il permet la réalisation d'analyses multi-élémentaires instantanées avec une sensibilité de détection accrue. La température élevée et la haute stabilité du plasma permettent l'excitation et l'ionisation de la majorité des éléments de la table périodique de Mendeleiev, parfois difficilement dissociés avec les systèmes d'analyse conventionnels. Les interférences chimiques se trouvent réduites, voire éliminées. Le temps de résidence important (2 ms) de l'échantillon dans la torche permet également de réduire les effets de matrice et accroît la sensibilité de l'appareil. Cependant, le système d'analyse multi-élémentaire induit parfois d'importantes interférences spectrales qui nécessitent l'application de modèles mathématiques de déconvolution du signal, appelées MSF (Multicomponent Spectral Fitting) permettant d'estimer et de corriger ces interférences

3.4.4.4. Les métaux analysés

Neuf éléments métalliques (Al, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn et V) ont été ainsi analysés par ICP-OES dans les solutions d'extraction.

3.4.4.5. Calcul des concentrations

Les concentrations de l'élément chimique contenu dans la solution d'extraction données par l'ICP-OES sont exprimées en mg/L. La conversion suivante est nécessaire pour exprimer la teneur réelle (ou concentration totale) de cet élément dans l'échantillon sec (en µg/g de poids sec) :

$$C_{\text{totale}} = ([C_{\text{ICP}} * \text{FD} * V] / m_{\text{echan}}) * 1000$$

C_{totale} = concentration totale de l'élément dans l'échantillon sec (µg/g)

C_{ICP} = concentration de l'élément dans la solution d'extraction (mg/L)

FD = facteur de dilution

V = volume de la solution d'extraction (0,025 L dans notre cas)

m_{echan} = masse de l'échantillon

3.4.4.6. Limite de détection et limite de quantification

Lors du calcul des concentrations, ne sont pris en compte que les valeurs qui sont supérieures à la limite de quantification. Empiriquement, on admet que la limite de détection (LD) instrumentale correspond à la concentration qui conduit à un signal dont l'intensité relative est le triple de l'écart-type

calculé à partir des valeurs obtenues sur un grand nombre de réplicats de blancs analytiques (dans notre cas onze) (niveau de confiance de 95 %). Lors de l'analyse, plus la valeur obtenue se rapproche de LD, plus l'incertitude entourant cette valeur augmente. Il est donc souhaitable d'utiliser une limite supérieure à LD afin d'obtenir des résultats fiables et exploitables. Cette limite, dite de quantification (LQ), est fixée par l'opérateur et varie donc selon les auteurs. Dans le cadre de cette étude, elle correspond à dix fois la valeur de l'écart-type.

3.5. Validité des méthodes

La détermination de la justesse d'une méthode est essentielle en vue de la validation et de l'interprétation des données obtenues ; elle est ici effectuée grâce à un matériel de référence (DORM-1 : muscle de chien de mer, National Research Council Canada). Ce matériel est caractérisé par des valeurs certifiées (en $\mu\text{g/g}$ de poids sec) et par des intervalles de confiance pour quelques éléments métalliques (Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn).

Nous avons donc minéralisé et analysé selon la méthode précédemment décrite quatre échantillons de DORM-1 intercalés régulièrement dans les séries d'échantillons afin de tester la validité de la méthode. Pour chaque métal, la moyenne des quatre concentrations obtenues est comparée à la valeur certifiée afin de vérifier si la valeur mesurée se situe dans l'intervalle de confiance définie par le fabricant. Les résultats sont présentés dans le tableau IV. Pour tous les métaux analysés contenus dans les échantillons de macroalgues, la moyenne obtenue est bien comprise entre la limite inférieure et la limite supérieure ; les résultats concernant les macroalgues seront donc interprétables, la méthode étant validée.

La répétabilité de la méthode a en outre été évaluée en intercalant également régulièrement dans les séries un même échantillon servant de témoin interne. Celui-ci correspond au pool d'*Halimeda macroloba* prélevées sur la station M23, puis broyées et homogénéisées ensemble. Onze réplicats de ce pool sont minéralisés séparément puis analysés. Pour chaque métal, la moyenne et le coefficient de variation ont été calculés (tableau V).

- Pour Al, Cr, Fe, Mn et Ni, les CV sont faibles (inférieurs à 5 %) traduisant une très bonne répétabilité de la méthode utilisée ;
- Zn et V présentent toutefois des CV relativement élevés : 14,5 % et 20,6 %. Cependant, cette dernière valeur est réduite à 11,9 % en enlevant la valeur 3,1 qui semble aberrante et accidentelle ;
- Les concentrations du cuivre et du cobalt sont inférieures à la limite de quantification, donc les CV ne peuvent pas être calculés.

3.6. Traitements statistiques des résultats

Les comparaisons des concentrations moyennes de chaque métal entre les différentes stations ont été étudiées par analyse de variance (ANOVA) à un facteur de classification, avec un risque $\alpha = 0,05$. Une transformation des données $\log(x)$ ou $\log(x+1)$ pour V et Co a préalablement été effectuée afin de se rapprocher des conditions d'application de l'ANOVA. Pour les métaux présentant des différences significatives, un test de Tuckey pour échantillons d'effectifs inégaux (test de Spjøtvoll et Staline) a ensuite été réalisé afin d'identifier les moyennes différant significativement. Ces tests ont été menés avec le logiciel STATISTICA.

Tableau IV : Validité de la méthode : comparaison des valeurs certifiées DORM-1 (muscle de chien de mer, NRCC) avec les valeurs mesurées dans la présente étude (n = 4), exprimées en $\mu\text{g/g}$ P.S.

Avec limite inf. et limite sup. : intervalle de confiance fixé par le fabricant pour chaque élément ; s : écart-type et moy : moyenne des concentrations mesurées ; CV : coefficient de variation, correspondant à l'écart-type exprimé en pourcentage de la moyenne ($\text{CV} = 100 \cdot (\text{s}/\text{moy})$).

Elem	Conc certif.	Limite inf.	Limite sup.	DORM-1 a	DORM-1 b	DORM-1 c	DORM 2	moy	s	C.V (%)
				C. mes.	C. mes.	C. mes.	C. mes.			
Co	0,049	0,035	0,063	0,046	0,049	0,033		0,043	0,01	19,8
Cr	3,6	3,2	4,0	3,24	3,74	3,49	3,17	3,41	0,26	7,7
Cu	5,22	4,89	5,55	5,43	5,40	5,43	5,27	5,38	0,08	1,4
Fe	63,6	58,7	68,9	67,35	67,68	62,03	66,4	65,85	2,61	4,0
Mn	1,32	1,06	1,58	1,20	1,20	1,19	1,15	1,19	0,02	2,0
Ni	1,2	0,9	1,5	0,96	1,01	0,98	0,93	0,97	0,04	3,8
Zn	21,3	20,3	22,3	20,38	20,75	20,32	20,20	20,41	0,24	1,2

Tableau V : Répétabilité de la méthode : résultats d'analyses de onze réplicats du pool d'*Halimeda macroloba* (station M23) minéralisés séparément.

Avec s : écart-type et moy : moyenne des concentrations mesurées ; CV : coefficient de variation, exprimé en pourcentage.

Nom éch.	Al ($\mu\text{g/g}$)	Co ($\mu\text{g/g}$)	Cr ($\mu\text{g/g}$)	Cu ($\mu\text{g/g}$)	Fe ($\mu\text{g/g}$)	Mn ($\mu\text{g/g}$)	Ni ($\mu\text{g/g}$)	V ($\mu\text{g/g}$)	Zn ($\mu\text{g/g}$)	Zn ($\mu\text{g/g}$)
HM POOL 1A	299,9	-0,031	2,85	-2,278	431,1	4,64	4,67	0,34	2,0	2,0
HM POOL 2A	294,9	-0,038	2,85	-2,277	427,8	4,60	4,78	0,41	2,1	2,1
HM POOL 1B	297,5	0,020	2,93	-2,205	438,1	4,71	4,80	0,34	1,9	1,9
HM POOL 2B	294,4	0,007	2,88	-2,202	431,5	4,62	4,81	0,35	2,0	2,0
HM POOL 3	297,5	0,010	2,90	-2,189	434,9	4,68	4,79	0,37	2,3	2,3
HM POOL 4	296,5	-0,054	2,81	-2,206	429,4	4,59	4,84	0,28	2,0	2,0
HM POOL 5	297,0	-0,039	2,93	-2,186	428,0	4,69	4,79	0,31	3,1	1,8
HM POOL 6	290,6	-0,038	2,83	-2,195	429,0	4,73	4,80	0,31	1,8	1,8
HM POOL 7	304,2	-0,032	2,92	-2,113	447,3	4,70	4,90	0,33	1,8	1,8
HM POOL 8	296,1	0,001	2,78	-2,220	425,9	4,62	4,65	0,29	1,8	1,5
HM POOL 9	296,1	-0,016	2,84	-2,196	430,5	4,66	4,81	0,24	1,5	1,6
HM POOL 10	298,7	0,008	2,83	-2,256	425,0	4,66	4,74	0,28	1,6	1,6
HMPOOL11	297,4	0,016	2,87	-2,255	438,0	4,69	4,82	0,26	1,6	
moy	297,0		2,86	-2,2	432,0	4,66	4,79	0,32	1,97	1,88
s	3,13		0,05	0,04	6,16	0,05	0,07	0,05	0,41	0,22
C.V (%)	1,1		1,7	-2,0	1,4	1,0	1,4	14,5	20,6	11,9

4. RESULTATS

Les concentrations (moyenne \pm écart-type) de chaque métal pour chaque station chez les *Halimeda macroloba*, les *Halimeda incrassata* et les *Lobophora variegata* sont représentées respectivement par les figures 5, 6 et 7. Les concentrations non quantifiables selon la définition qui en a été donnée (cf. § 3.4.4.6) n'ont pas été prises en compte, induisant des effectifs parfois inégaux dans le calcul des moyennes de certains métaux, voire l'absence totale de données ; c'est le cas du cuivre chez les *Halimeda* et du vanadium à la station N08 chez *Halimeda macroloba*.

Ces résultats laissent apparaître une forte variabilité interindividuelle des concentrations de la plupart des métaux à certaines stations chez les espèces *Halimeda macroloba* et *H. incrassata*. Une relative variabilité intersite des concentrations en certains métaux peut en outre être observée chez ces deux espèces. Cette variabilité intersite est relativement marquée pour pratiquement tous les métaux chez *Lobophora variegata*.

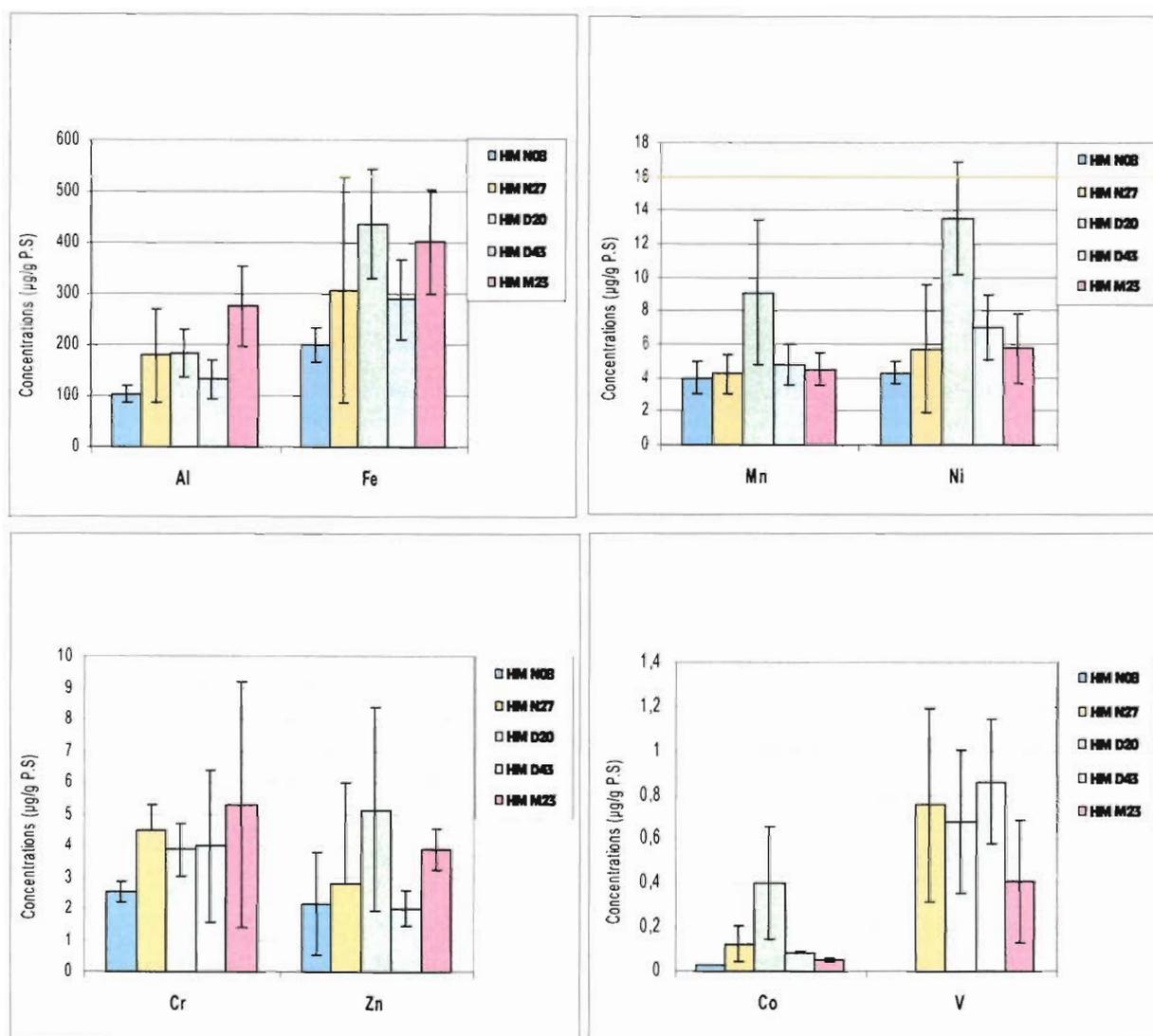


Figure 5 : Moyennes \pm écart-type des concentrations (exprimées en $\mu\text{g/g P.S.}$) en Al, Fe, Mn, Ni, Cr, Zn, Co et V mesurées dans les spécimens de l'espèce *Halimeda macroloba* récoltées aux stations N08, N27, D20, D43 et M23. Les effectifs des concentrations pris en compte sont de dix pour chaque station et chaque métal sauf pour Co ($n=1$; $n=4$; $n=10$; $n=5$ et $n=2$ respectivement pour N08, N27, D20, D43, et M23) et V ($n=5$; $n=7$; $n=5$; $n=8$ respectivement pour N27, D20, D43 et M23).

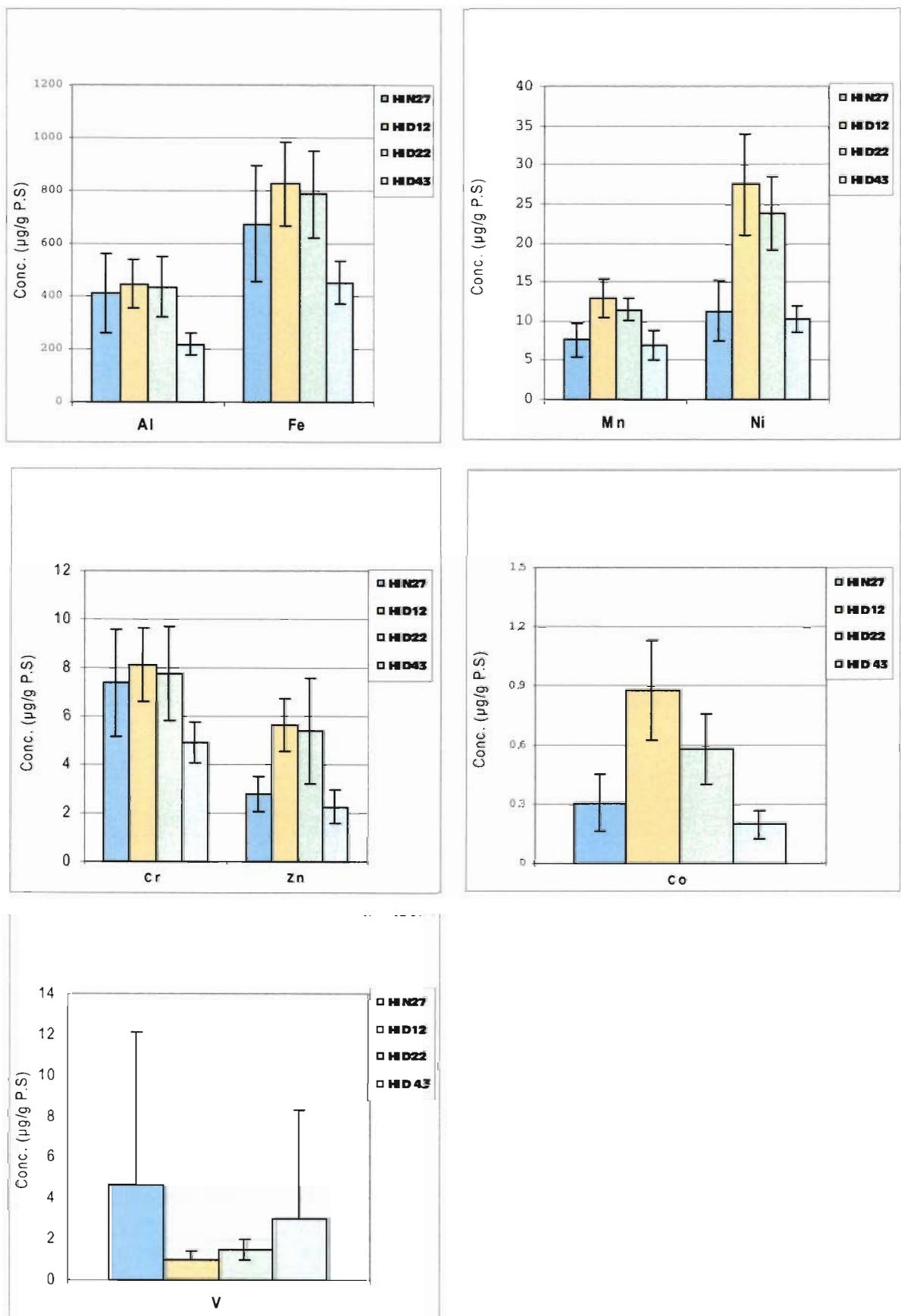


Figure 6 : Moyennes \pm écart-type des concentrations (exprimées en $\mu\text{g/g P.S}$) en Al, Fe, Mn, Ni, Cr, Zn, Co et V mesurées dans les spécimens de l'espèce *Halimeda incrassata* récoltées aux stations D12, D22, N27 et D43. Les effectifs des concentrations pris en compte sont de dix pour les stations D43, D12 et N27 et de six pour D22 pour chaque métal.

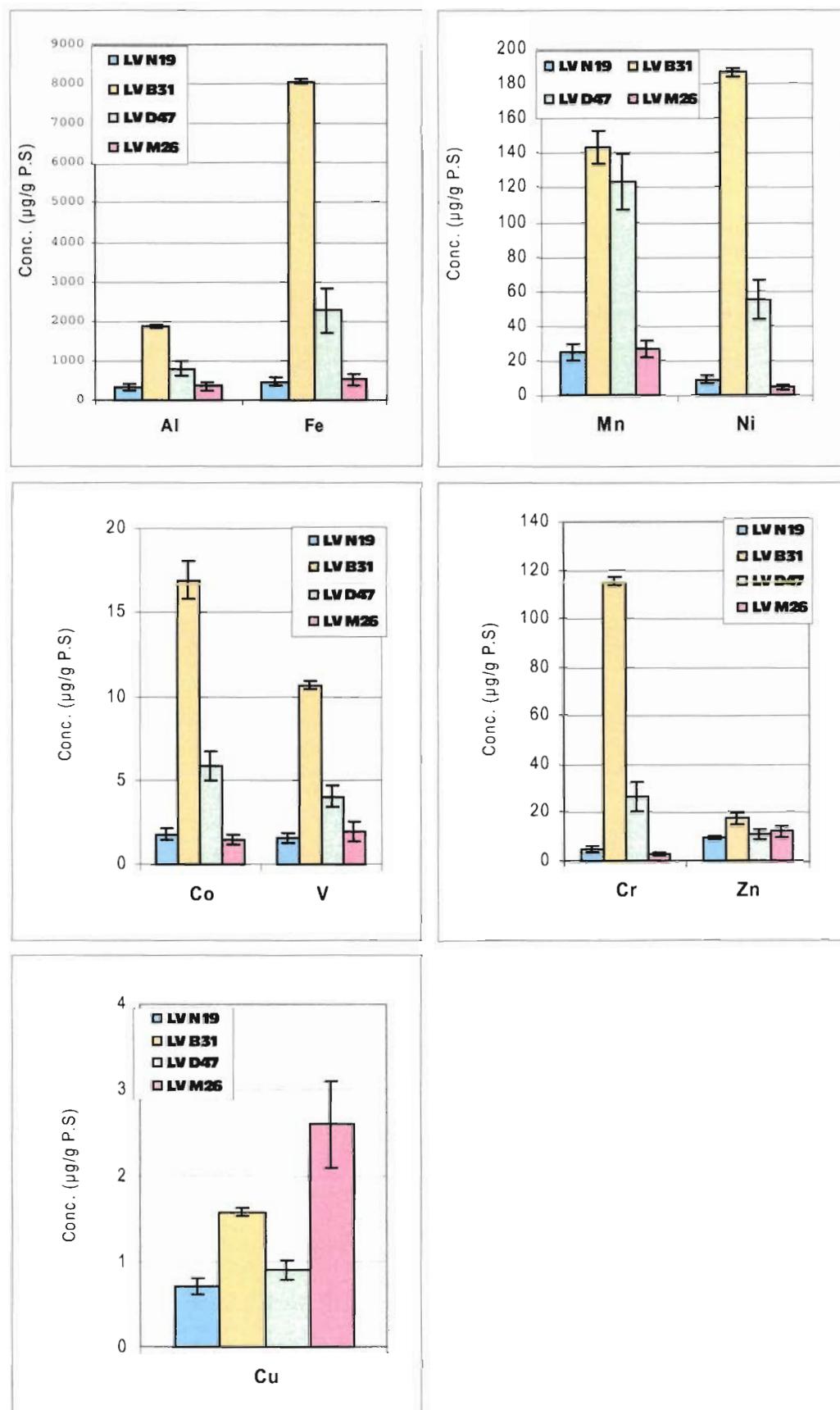


Figure 7 : Moyennes \pm écart-type (triplicat) des concentrations (exprimées en $\mu\text{g/g P.S.}$) en Al, Fe, Mn, Zn, Ni, Cr, Co, v et Cu mesurées sur trois pools de frondes par station de l'espèce *Lobophora variegata* récoltées aux stations N19, B31, D47 et M26.

5. DISCUSSION

5.1. Niveaux de concentrations

Une étude bibliographique sur le thème de la bioconcentration des métaux dans les algues marines a été menée afin de pouvoir évaluer l'importance des niveaux de concentration mesurés. Les données obtenues pour chaque métal dans le cadre de ce travail ont été comparées avec les fourchettes de valeurs rencontrées dans la littérature pour les algues vertes ou brunes.

5.1.1. *Halimeda macroloba* et *Halimeda incrassata*

Aucune étude traitant des niveaux de concentration en métaux dans les *Halimeda* n'ayant été trouvée, les comparaisons avec d'autres espèces de Chlorophycées marines doivent être interprétées avec prudence. Ces comparaisons sont présentées métal par métal par ordre décroissant de leurs niveaux de concentration mesurés, exprimées en $\mu\text{g/g}$ de poids sec (P.S).

- **Fe** : les concentrations moyennes s'échelonnent entre 199,6 et 437,1 $\mu\text{g/g}$ pour les *Halimeda macroloba* et entre 451,5 et 826,2 $\mu\text{g/g}$ pour les *Halimeda incrassata*. Une étude faite sur une autre espèce d'algue tropicale, *Ulva lactuca* (Ho, 1990), montre que les concentrations en fer chez cette espèce peuvent varier selon les sites entre 90 ± 10 et $11\,710 \pm 930$ $\mu\text{g/g}$. L'auteur conclut que l'espèce *Ulva lactuca* est donc un bon bioaccumulateur de fer. D'une manière générale, les moyennes rencontrées dans la littérature pour l'ensemble des algues vertes quels que soient les milieux considérés se situent aux alentours de 600, 800 voire 1 200 $\mu\text{g/g}$. (Reisch *et al.* 1989 ; 1990 ; 1991 ; 1992 ; 1993 ; 1995). Les concentrations obtenues semblent donc assez élevées mais relativement communes.
- **Al** : l'aluminium ne semble pas faire partie des métaux les plus étudiés dans la littérature ; cependant, les concentrations obtenues dans les *Halimeda*, soit 104,3-275,9 $\mu\text{g/g}$ pour les *Halimeda macroloba* et 219,3-445,3 $\mu\text{g/g}$ pour les *Halimeda incrassata*, constituent les concentrations moyennes les plus importantes après le fer. Les intervalles de concentration en aluminium trouvés dans la littérature apparaissent extrêmement variables en fonction des espèces et des sites : 1-5, 1-7 et 735-1 300 $\mu\text{g/g}$ chez les algues vertes (Reisch *et al.* 1989 ; 1990 ; 1991 ; 1992 ; 1993 ; 1994 ; 1995). Les concentrations mesurées apparaissent donc également assez importantes.
- **Ni** : le nickel présente quant à lui des niveaux de concentration relativement élevés, notamment pour *Halimeda incrassata* : 10,3-27,5 $\mu\text{g/g}$, et dans une moindre mesure pour *Halimeda macroloba* : 4,3-13,5 $\mu\text{g/g}$. Chez *Enteromorpha linza*, les concentrations en nickel se situent en effet entre 1,18 et 8,03 $\mu\text{g/g}$ (Haritonidis & Malea, 1994) ; chez *Ulva lactuca*, les concentrations en nickel vont de 6 ± 0 à 27 ± 4 $\mu\text{g/g}$ (Ho, 1990). Les auteurs d'une publication traitant des niveaux de concentration en métaux dans les macroalgues de la Grande Barrière de Corail australienne (Denton *et al.*, 1986) ont compilé les concentrations moyennes de nickel, rencontrées chez certaines algues vertes tropicales ; celles-ci vont de 0,1 à 18,3 $\mu\text{g/g}$.
- **Mn** : les concentrations moyennes s'échelonnent entre 4,0 et 9,1 $\mu\text{g/g}$ pour les *Halimeda macroloba* et entre 6,9 et 13,0 $\mu\text{g/g}$ pour les *Halimeda incrassata*. En les comparant avec les données bibliographiques d'algues vertes tropicales (Ho, 1990 ; Reish *et al.* 1989 ; 1990 ; 1991 ; 1992 ; 1993 ; 1994 ; 1995), les valeurs obtenues apparaissent relativement communes voire faibles et ne semblent donc pas être caractéristiques d'une forte concentration en manganèse.
- **Cr** : les concentrations en chrome obtenues pour les *Halimeda macroloba*, soit 2,6 à 5,3 $\mu\text{g/g}$, et pour les *Halimeda incrassata*, soit 4,9 à 8,1 $\mu\text{g/g}$, paraissent être intéressantes dans le sens où elles sont supérieures aux concentrations moyennes trouvées dans la littérature (Sanchez-Rodriguez *et al.*, 2000) concernant des algues vertes tropicales : selon les sites d'études, les valeurs moyennes relevées sont de 0,99 $\mu\text{g/g}$, 1,73 $\mu\text{g/g}$ et 2,44 $\mu\text{g/g}$.
- **Zn** : les valeurs obtenues chez les *Halimeda macroloba* et les *Halimeda incrassata*, respectivement 2,0 à 5,1 $\mu\text{g/g}$ et 2,2 à 5,6 $\mu\text{g/g}$, semblent nettement inférieures à celles trouvées chez les algues vertes tropicales dans la littérature : 8, 16 et 23 $\mu\text{g/g}$ (Sanchez-Rodriguez *et al.*, 2000) et 15 à 102 $\mu\text{g/g}$ pour *Ulva lactuca* (Ho, 1990). Le zinc ne semble donc pas être concentré par ces deux espèces.

- **V** : les concentrations moyennes s'échelonnent entre 0,41 et 0,86 $\mu\text{g/g}$ pour les *Halimeda macroloba* et entre 1,00 et 4,65 $\mu\text{g/g}$ pour les *Halimeda incrassata*. Peu de données existent dans la littérature en ce qui concerne le vanadium, il est donc difficile d'évaluer l'importance des concentrations obtenues. Nous pouvons simplement noter que les concentrations moyennes dans les *Halimeda incrassata* sont supérieures à celles des *Halimeda macroloba*.
- **Co** : le cobalt apparaît comme étant un élément faiblement concentré par les algues étudiées : 0,15 à 0,88 $\mu\text{g/g}$ pour *Halimeda incrassata* et 0,03 et 0,41 $\mu\text{g/g}$ pour *Halimeda macroloba*. Les valeurs moyennes mesurées chez des algues vertes tropicales (Sanchez-Rodriguez *et al.*, 2000) sont cependant du même ordre de grandeur.

5.1.2. *Lobophora variegata*

Contrairement aux *Halimeda macroloba* et aux *Halimeda incrassata*, des concentrations en Zn, Cu et Ni dans les *Lobophora variegata* ou *Lobophora* sp. sont disponibles dans la littérature (Burdon-Jones *et al.*, 1975, in Denton & Burdon-Jones, 1986 ; Denton & Burdon-Jones, 1986). Pour les autres métaux, les comparaisons ont été faites avec les données concernant les algues brunes.

- **Fe** : les concentrations moyennes s'échelonnent entre 527 et 8 064 $\mu\text{g/g}$. Ces concentrations sont nettement plus élevées que celles mesurées chez les *Halimeda* étudiées lors de ce stage. Dans la littérature, les concentrations en Fe dans les algues brunes peuvent également être relativement importantes, celles-ci s'échelonnant de 300 à 21 400 $\mu\text{g/g}$ (Sanchez-Rodriguez *et al.*, 2001).
- **Al** : Une différence marquée est également observable entre les concentrations chez *Lobophora variegata* et celles observées chez les *Halimeda*. Les teneurs en aluminium dans les *Lobophora variegata* sont comprises entre 333 et 1 856 $\mu\text{g/g}$. L'aluminium semble être également un élément peu étudié, aucune donnée relative aux algues brunes n'ayant été trouvée dans la littérature.
- **Ni** : Les valeurs mesurées dans les *Lobophora variegata* sont comprises entre 4,54 et 186,29 $\mu\text{g/g}$. Les concentrations mentionnées pour cette espèce dans la Grande Barrière de Corail australienne dans la publication de Denton & Burdon-Jones (1986) varient de 0,85 à 1,5 $\mu\text{g/g}$ et sont donc très nettement inférieures à celles mesurées dans le cadre de notre étude. Dans les données bibliographiques compilées par Denton & Burdon-Jones (1986) sur les algues brunes en milieu tropical, les concentrations en nickel ne dépassent pas 32,0 $\mu\text{g/g}$ de poids sec chez *Lobophora* sp.
- **Mn** : les concentrations moyennes mesurées s'échelonnent entre 24,7 et 143,3 $\mu\text{g/g}$. Ces concentrations semblent être assez importantes comparées aux données de la littérature, bien que de telles valeurs aient été plusieurs fois mesurées précédemment (Reish *et al.* 1989 ; 1990 ; 1991 ; 1992 ; 1993 ; 1994 ; 1995).
- **Cr** : les concentrations observées s'échelonnent entre 2,6 et 115 $\mu\text{g/g}$. Il est rare de trouver dans la littérature de telles concentrations en chrome dans une algue brune. Ainsi, Sanchez-Rodriguez *et al.* (2000) rapportent des concentrations variant de 2,75 à 36,2 $\mu\text{g/g}$ chez deux espèces d'algues brunes, *Sargassum sinicola* et *Padina durvillaei*. Cinq autres études plus anciennes présentent des valeurs comprises entre 1,0 et 14,3 $\mu\text{g/g}$ (Reish *et al.* 1989 ; 1990 ; 1991 ; 1992 ; 1993 ; 1994 ; 1995).
- **Zn** : les concentrations en zinc mesurées sont comprises entre 9,4 et 17,4 $\mu\text{g/g}$. Les concentrations présentées par Denton & Burdon-Jones (1986) sont inférieures, celles-ci ne dépassant pas 5,5 $\mu\text{g/g}$. En revanche, les concentrations obtenues sont globalement nettement inférieures à celles rencontrées dans la littérature, qui peuvent atteindre plusieurs centaines voire plusieurs milliers de microgrammes par gramme (Reish *et al.* 1989 ; 1990 ; 1991 ; 1992 ; 1993 ; 1994 ; 1995).
- **Co** : avec des valeurs de 1,5 à 16,9 $\mu\text{g/g}$, les teneurs en Co semblent relativement élevées et sont jusqu'à deux fois supérieures aux concentrations trouvées chez *Sargassum sinicola* et *Padina durvillaei* (Sanchez-Rodriguez *et al.*, 2000).
- **V** : les concentrations moyennes en vanadium s'échelonnent entre 1,5 et 10,7 $\mu\text{g/g}$. Cependant, aucune comparaison n'a été possible par manque de données bibliographiques sur ce métal. Cette dernière valeur semble toutefois relativement élevée.

- **Cu** : contrairement aux *Halimeda*, les concentrations en Cu sont quantifiables et sont comprises entre 0,71 et 2,60 $\mu\text{g/g}$. Ces valeurs sont similaires à celles observées par Denton & Burdon-Jones (1986) chez cette même espèce récoltée sur la Grande Barrière de Corail.

Il est remarquable de constater que chez les trois espèces d'algues étudiées, l'ordre des concentrations moyennes des métaux, en considérant l'ensemble des baies, est pratiquement le même malgré les différences métaboliques importantes existant entre les *Halimeda* (algues vertes) et les *Lobophora* (algues brunes). Il serait intéressant de mesurer les concentrations en métaux dissous dans l'eau de mer sur les différents sites étudiés afin de vérifier si les concentrations moyennes mesurées dans ces algues reflète les teneurs en métaux dissous présents dans la colonne d'eau. Ce travail est actuellement en cours. Globalement, il apparaît que les concentrations en Fe, Al, Ni et Cr semblent assez élevées par rapport aux données rencontrées dans la littérature chez ces trois espèces. Le manganèse, le cobalt et le vanadium présentent des concentrations importantes dans les *Lobophora* mais sont relativement faibles chez les *Halimeda*. Le zinc semble être en revanche peu ou pas concentré chez les *Halimeda* et les *Lobophora*. D'autre part, la capacité de bioconcentration de la plupart des métaux des *Lobophora variegata* est nettement plus efficace que chez les *Halimeda*. Parmi les deux espèces d'*Halimeda*, *H. incrassata* présente en outre des concentrations systématiquement supérieures à celles des *H. macroloba* pour les métaux étudiés. Des explications ou hypothèses relatives à ces différents points seront exposées au paragraphe 5.4.

5.2. Variabilité interindividuelle intrasite chez les *Halimeda*

Des écart-types assez importants sont observables pour la plupart des métaux sur la majorité des stations (figures 5 et 6). Seuls les échantillons d'*Halimeda macroloba* prélevés sur la station N08 et les spécimens d'*Halimeda incrassata* récoltés sur la D43 présentent des écart-types relativement faibles. Deux hypothèses peuvent être formulées pour expliquer cette variabilité : (i) présence d'un ou quelques individus "superaccumulateurs" ou existence de données aberrantes sans réalité biologique. Dans ce cas, les moyennes estimées des concentrations en métaux, sur l'effectif échantillonné, s'éloignent probablement de manière importante de la moyenne réelle de la population. (ii) existence d'une hétérogénéité réelle des concentrations induite par l'influence de variables biotiques sur la bioconcentration des métaux.

Afin de vérifier laquelle de ces deux hypothèses explique le plus la variabilité interindividuelle intrasite, des diagrammes de dispersion ont été réalisés pour chaque métal et chacune des stations chez les *Halimeda*. Seuls quelques exemples caractéristiques sont représentés à la figure 8. En étudiant l'ensemble des diagrammes de dispersion pour tous les métaux chez les deux espèces, on constate globalement une relative hétérogénéité des concentrations. Celle-ci pourrait être due à une éventuelle influence de certaines variables biologiques sur l'incorporation et la rétention des métaux dans les algues. Parmi celles-ci, il serait intéressant de rechercher s'il existe des corrélations entre le poids sec total ou la hauteur maximale des algues et les concentrations en métaux. Ces deux variables traduisent en effet l'âge de l'algue donc sa durée d'exposition aux métaux dans le milieu. Cette étude n'a cependant pas pu être réalisée dans le cadre du présent travail.

5.3. Variabilité intersite

5.3.1. *Halimeda macroloba* et *Halimeda incrassata*

La variabilité intersite des concentrations en métaux est étudiée en comparant les moyennes obtenues pour les différentes stations pour une espèce et un métal donné. Des analyses de variance (ANOVA) à un facteur de classification ont donc été réalisées ($\alpha = 0,05$). Les résultats des tests (facteur F du test de Fisher et probabilité p) sont indiqués dans le tableau VI.

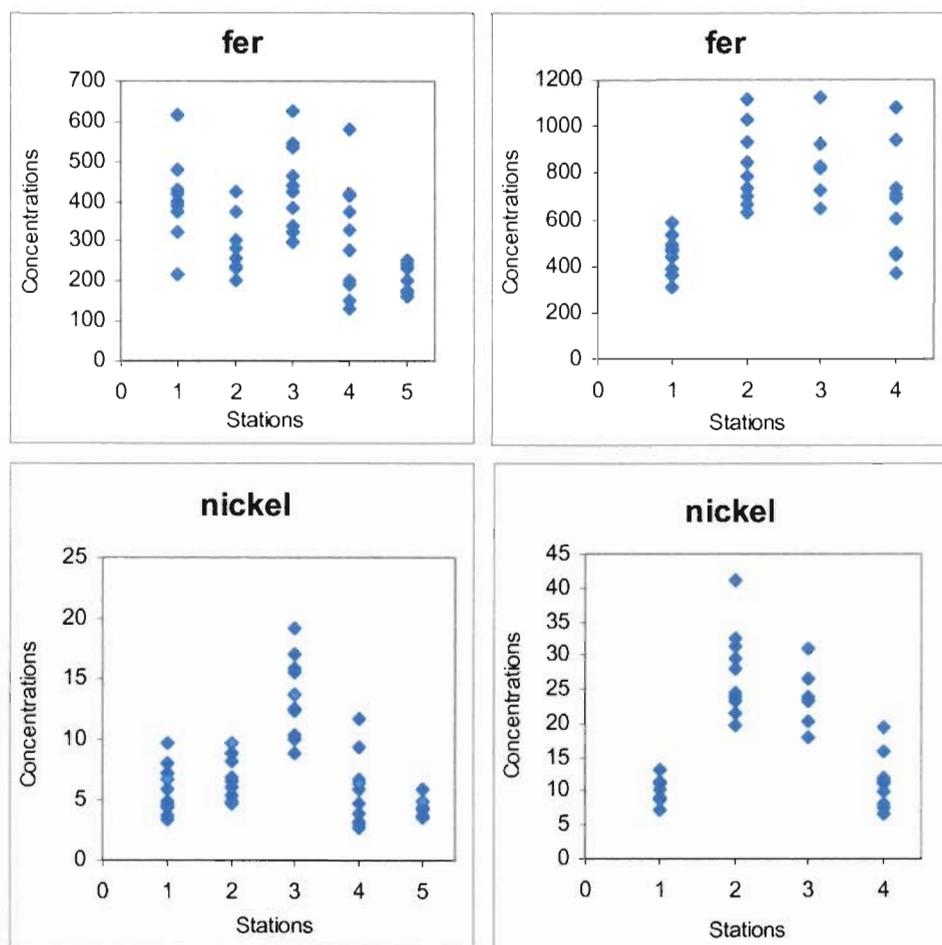


Figure 8 : Exemples de diagrammes de dispersion montrant la variabilité interindividuelle des concentrations en Fe et en Ni exprimées en $\mu\text{g/g P.S}$ chez *Halimeda macroloba* (diagrammes de gauche) et *Halimeda incrassata*. (diagrammes de droite). Les numéros portés en abscisse représentent respectivement les stations M23, D43, D20, N27 et N08 pour *H. macroloba* et D43, D12, D22 et N27 pour *H. incrassata*.

Tableau VI.: Récapitulatif des résultats des analyses de variance effectuées sur les concentrations moyennes en métaux dans *Halimeda incrassata* (HI) et *Halimeda macroloba* (HM) : Avec F : facteur F du test de Fisher et p : probabilité.

	Al	Co	Cr	Fe	Mn	Ni	V	Zn
HI F=	14,88	37,08	10,87	13,50	18,61	41,54	1,64	26,93
HI p=	0,000003	0,000000	0,000044	0,000007	0,000000	0,000000	0,199824	0,000000
HM F=	11,78	5,10	2,29	10,21	8,7	17,47	0,0018	9,43
HM p=	0,000001	0,010636	0,074403	0,000006	0,000027	0,000000	0,999890	0,000013

Des différences hautement significatives ($p < 0,01$) apparaissent entre les concentrations moyennes des différentes baies pour tous les métaux sauf pour le vanadium pour les *Halimeda macroloba* et les *Halimeda incrassata*, et pour le chrome pour les *Halimeda macroloba*. Les résultats des tests de Tuckey pour échantillons de tailles inégales (test de Spjotvoll et Staline) effectués après les ANOVA sont présentés pour les deux espèces.

5.3.1.1. *Halimeda macroloba*

Les différences les plus marquées sont observées entre les concentrations en nickel et en manganèse de la D20 et toutes les autres stations ($p < 0,01$). Pour le fer et le zinc, les différences par rapport à la D20 sont significatives pour toutes les stations ($p < 0,05$) sauf pour la M23. Pour l'aluminium, une seule différence significative apparaît entre la D20 et la N08 ($p < 0,01$). Les conclusions pour le cobalt sont quant à elles hasardeuses du fait de la très forte inégalité des effectifs. Il semblerait cependant que les concentrations de la D20 semblent supérieures à celles des autres stations.

- Comparaison entre les stations N08 et N27 (baie de Sainte-Marie) : seules les concentrations en Al présente des écarts significatifs pour ces deux stations ($p < 0,05$). La N27 présente des concentrations en Al plus importantes que la N08.
- Comparaison entre les stations N08/N27 et D43 (Dumbéa) : pour Al, Fe, Mn et Zn, aucune différence significative entre N08/N27 et D43 n'est observable. Pour le nickel, il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre la D43 et N08/N27 avec des concentrations en nickel en D43 supérieures à celles de N08/N27.

5.3.1.2. *Halimeda incrassata*

- Comparaison entre les stations D12 et D22 (Grande rade) : aucune différence significative n'est apparente entre les deux stations et ce pour tous les métaux. Aucun gradient de distance par rapport à l'usine ne peut donc être mis avec l'échantillonnage réalisé.
- Comparaison entre les stations D12/D22 et D43 : pour Al, Co, Cr, Fe, Mn, Zn, Mn et Ni, aucun écart significatif n'est observable ($p < 0,01$). Le vanadium est le seul métal dont les concentrations ne présentent pas de différence significative pour ces deux groupes de stations.
- Comparaison entre les stations D12/D22 et N27 : des différences significatives sont observables pour Co, Mn, Zn et Ni ($p < 0,01$) ; les concentrations de D12/D22 sont supérieures à celles de la N27. Le test de Tuckey ne laisse pas apparaître d'écart significatif pour Al, Cr, Fe et V.
- Comparaison entre les stations N27 et D43 : des différences significatives sont observées pour Al, Cr et Fe ($p < 0,01$). Le cobalt, le manganèse, le vanadium, le zinc et le nickel ne présentent pas de différences significatives.

5.3.2. *Lobophora variegata*

Contrairement aux *Halimeda*, aucune *Lobophora variegata* n'a pu être trouvée dans la Grande Rade. En revanche, on dispose pour cette espèce d'une station en baie de Boulari (B31). Des écarts très marqués s'observent entre les concentrations moyennes de pratiquement tous les métaux pour cette dernière station et celles étudiées à toutes les autres baies, cette station B31 présentant des concentrations en Al, Fe, Ni, Co, V et Cr très largement supérieures. Seules les concentrations moyennes en manganèse mesurées dans les spécimens récoltés à la D47 se rapprochent de celles obtenues en B31, soit respectivement $123,1 \pm 16,1 \mu\text{g/g P.S}$ et $143,3 \pm 9,7 \mu\text{g/g P.S}$. Pour le cuivre, les concentrations en B31 sont également supérieures à celles des stations N19 et D47, mais sont inférieures à celles de la station M26. Aucun test statistique n'a cependant été réalisé sur cette espèce ; il est donc impossible de conclure pour le zinc, qui présente des écarts moins marqués entre stations. On observe également que les concentrations en Al, Fe, Mn, Ni, Co, V, Cr pour la station D47 sont supérieures à celles de la N19. Pour le cuivre et le zinc, des tests statistiques sur ces stations sont également nécessaires pour conclure.

5.4. Synthèse générale

5.4.1. Comparaison des capacités de bioconcentration entre les trois espèces

L'étude comparée des concentrations en métaux entre les deux espèces d'*Halimeda* montre des valeurs systématiquement supérieures chez *H. incrassata* par rapport à *H. macroloba*, à l'exception du zinc. Plusieurs hypothèses peuvent être formulées pour expliquer cette constatation. (i) la différence intrinsèque de leur métabolisme respectif en terme de rapport absorption/élimination des métaux. (ii) la présence dans le milieu environnant de formes métalliques dissoutes davantage biodisponibles pour *H. incrassata* que pour *H. macroloba*. (iii) l'intervention des mécanismes de calcification dans le processus de bioconcentration des métaux chez les *Halimeda* : les métaux s'accumulent-ils préférentiellement dans la

matrice carbonatée (incorporation des formes métalliques ioniques dissoutes lors de la calcification) ou dans la fraction organique des articles ? Il serait intéressant de rechercher si des corrélations peuvent être mises en évidence entre les concentrations en calcium et celles de chaque métal dans les spécimens des deux espèces. Si des corrélations négatives sont montrées, ce phénomène pourrait expliquer les concentrations en métaux supérieures chez *H. incrassata*, qui présente des taux de calcification inférieurs à *H. macroloba*, respectivement 72 % et 84 % du poids sec (Garrigue, 1985).

D'autre part, la plupart des teneurs en métaux obtenues chez les *Lobophora variegata* sont très nettement supérieures à celles mesurées chez les *Halimeda*. L'importante capacité de bioconcentration de cette espèce pourrait s'expliquer par le fait que les *Lobophora variegata*, comme de nombreuses algues brunes, seraient incapables de réguler leur teneurs internes en métaux du fait de la présence dans leur membrane cellulaire d'un grand nombre de composés comportant des groupes anioniques qui faciliteraient la fixation des métaux (Sanchez-Rodriguez, 2000). D'autre part, s'il est vérifié que les métaux sont préférentiellement liés à la matière organique chez les *Halimeda*, la proportion prédominante du squelette carbonaté des articles chez ce genre induit vraisemblablement une " dilution " des métaux par rapport au poids sec de l'algue, ce qui n'est pas le cas chez les *Lobophora variegata*.

En revanche, le zinc apparaît peu ou pas concentré chez les trois espèces d'algues étudiées, ce qui semblerait indiquer que ces espèces réguleraient au moins partiellement cet élément ou bien que les formes chimiques présentes dans le milieu sont peu biodisponibles pour ces espèces. De telles régulations partielles pourraient également expliquer l'absence de différences significatives observables pour les concentrations en vanadium chez *H. macroloba* et *H. incrassata* entre les différentes stations étudiées ou les faibles teneurs en cobalt mesurées chez ces deux espèces, à moins que ce dernier soit relativement peu biodisponible. Cependant, il faut garder à l'esprit que l'absence de différence observée peut aussi simplement s'expliquer par des considérations statistiques concernant la taille des échantillons : en prenant un effectif plus grand, des écarts significatifs pourraient alors être observables.

5.4.2. Comparaisons des différentes baies

Globalement, les stations situées dans la Grande Rade (D12, D20 et D22) présentent des concentrations en métaux, notamment en nickel, manganèse, zinc et cobalt, souvent significativement supérieures à celles des autres stations (D43, N27, N08, M23) chez les *Halimeda*. Ces teneurs particulièrement élevées reflètent très probablement la contamination du site due aux rejets de l'usine de la SLN (Société Le Nickel) implantée en fond de baie et des zones industrielles et urbaines situées le long de la bordure nord de baie, sur la presqu'île de Ducos. Les très fortes concentrations en Al, Fe, Ni, Co, V et Cr chez les *Lobophora variegata* récoltées dans la baie de Boulari (B31) traduisent quant à elles vraisemblablement l'importance de la fraction métallique dissoute des apports terrigènes naturels et induits provenant de la rivière la Coulée, comparée aux apports terrigènes naturels provenant de la rivière La Dumbéa auxquels la station D47 est exposée.

Il est en revanche plus difficile de comparer les résultats concernant la baie de Sainte-Marie avec les autres baies. On constate cependant que les concentrations en métaux dans les *Lobophora* et les *Halimeda* récoltées respectivement sur les stations N19 et N27 sont très nettement inférieures aux valeurs extrêmes mesurées en baie de Boulari (*Lobophora*) et dans la Grande Rade (*Halimeda*). Or, les précédentes études réalisées en géochimie ont montré que d'importantes teneurs en certains métaux étaient présentes dans la fraction labile (matière organique) des sédiments de surface prélevés en fond de baie (Fichez, *comm. pers.*). Cette phase sédimentaire et les métaux qui lui sont associés étant représentative des apports anthropiques, il est raisonnable de penser que la fraction métallique dissoute des rejets urbains est également assez élevée. Ceci indiquerait donc que les apports métalliques urbains restent confinés dans le fond de la baie et/ou que l'entrée d'eau lagonaire dans la baie par le chenal nord de la Pointe aux longs couds (station N08) assure une dilution rapide et efficace de ces apports.

CONCLUSION

L'étude réalisée sur les niveaux de concentrations en métaux chez trois espèces d'algues macrobenthiques du lagon sud-ouest de la Nouvelle Calédonie a permis de mettre en évidence la capacité de bioconcentration de certains métaux de deux de ces espèces : *Halimeda incrassata* (Ellis) Lamouroux 1816 et *Lobophora variegata* (Lamouroux) Womersley 1967. Ces deux espèces montrent en effet : (i) des niveaux de concentrations en Al, Fe, Mn, Ni, Cr, Co (pour les deux espèces) ainsi qu'en vanadium (chez *Lobophora variegata* uniquement) importants dans certains sites (Grande Rade et baie de Boulari) (ii) et/ou une variabilité intersite significative de ces concentrations. Ces deux espèces pourraient donc présenter un intérêt en tant que potentiels bioindicateurs de la fraction métallique dissoute dans l'eau de mer.

Les capacités de bioconcentration et/ou de bioaccumulation des contaminants par certains organismes sont couramment utilisés pour la surveillance du milieu marin, ou biomonitoring. Celui-ci peut être passif ou actif. Le biomonitoring passif consiste à analyser les concentrations en contaminants, par exemple les métaux, dans une ou plusieurs espèces naturellement présentes sur le site que l'on souhaite surveiller. Quand les espèces bioindicatrices sont absentes des zones étudiées, on a alors recours au biomonitoring actif, réalisé à partir d'organismes provenant d'un milieu peu ou pas contaminé puis transplantés sur la station à surveiller. Parmi les deux espèces précitées, *Lobophora variegata* apparaît comme une espèce particulièrement intéressante. Cependant, du fait de sa fixation sur le substrat, il semble difficile de la récolter sans dommage et de la transplanter. Cette espèce serait donc plus particulièrement adaptée à un biomonitoring passif ; en cas d'absence de cette espèce, on pourra alors envisager un biomonitoring actif avec *Halimeda incrassata*.

Toutefois, des recherches plus poussées sont nécessaires pour valider leur utilisation en tant que bioindicateur de la fraction métallique dissoute. La réalisation de transplantations expérimentales et le suivi régulier des niveaux de concentrations en fonction du temps dans les algues permettraient notamment de déterminer les cinétiques d'accumulation et d'élimination des métaux chez ces espèces. L'étude en parallèle des variables environnementales telles que les concentrations en métaux dissous, la température, la salinité, la turbidité et la profondeur (conditionnant l'intensité lumineuse reçue) permettrait en outre d'évaluer l'influence de ces variables sur ces mécanismes. Les relations pouvant exister entre certaines variables biotiques (poids sec et stade du cycle de vie de l'algue, mécanisme de calcification des articles, etc.) et la bioconcentration des métaux dans les tissus des algues sont également à rechercher.

Enfin, des coupes histologiques et des analyses de phylogénie moléculaire seraient nécessaires sur les individus prélevés pour confirmer les identifications systématiques, particulièrement hardues en milieu marin tropical. L'absence de différences significatives des concentrations moyennes de certains métaux entre diverses baies chez *Halimeda incrassata* peut provenir de l'effectif insuffisant des échantillons analysés, fixé dans un premier à dix individus. Il faudrait donc augmenter le nombre d'échantillons analysés afin de diminuer la variance interindividuelle intrasite, pour faire éventuellement apparaître de nouvelles différences significatives entre les sites étudiés. L'étude des relations entre la taille de l'échantillon et les fluctuations de la variance induites permettrait d'estimer le nombre optimal d'échantillons à analyser pour chaque métal considéré dans le cadre d'une poursuite d'étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BENCIVENGO Y., 1999. La mine en Nouvelle-Calédonie. *101 mots pour comprendre*, Editions Ile de Lumière, 268 pp.
- BIRD E.C.F., DUBOIS J.P., ILTIS J.A., 1984. The impacts of opencast mining on the rivers and coasts of New Caledonia. *The United Nations university*, 53 pp.
- BREAU L., 1998. Extractions séquentielles et analyses de métaux dans une carotte de sédiments lagunaires datée : mise en évidence de l'évolution des apports terrigènes liée aux activités humaines au cours du dernier siècle. *Rapport de DEA, Université de la Méditerranée* : 50 pp. + Annexes.
- BREAU L., 1999. Etude préliminaire sur la bioaccumulation du nickel, du chrome et du cobalt chez trois espèces lagunaires : *Gafrarium tumidum*, *Hyrtios reticulata* et *Chaetodon speculum*. *Rapport d'activités, programme ECOTROPE 1999*, 40 pp.
- CHAVE K.E., BUDDEMEIER R.W., 1977. A comparative investigation involving Coral Reef Ecosystems in Hawaiï and New-Caledonia. *Report to the National Science Foundation U.S – France Programme*, 21pp.
- COSSA D., A review of the use of *Mytilus* spp. as quantitative indicators of cadmium and mercury contamination in coastal waters. *Centre de Nantes, IFREMER*, **12** (4) : 417-432.
- DUHET D., 1992. Les métaux dans l'environnement marin de la Nouvelle-Calédonie ; Recherche bibliographique, essai de synthèse, perspectives de recherches. *Document de travail ORSTOM*, 128pp.
- DENTON G.R.W., BURDON-JONES C., 1986. Trace metals in algae from the Great Barrier Reef. *Marine Pollution Bulletin*, **17** (3) : 98-107.
- FARRINGTON J.W., TRIPP B.W., 1993. International Mussel Watch. *Oceanus* : 62-64.
- GARRIGUE C., 1985. Répartition et production organique et minérale de macrophytes benthiques du lagon de Nouvelle-Calédonie. *Thèse Université de Montpellier*, 270 pp.
- HARITONIDIS S., MALEA P., 1994. Seasonal and local variation of Cr, Ni and Co concentrations in *Ulva rigida* C. Agardh and *Enteromorpha linza* (Linnaeus) from thermakois gulf, Greece. *Environnemental Pollution*, **89** (3) : 319-327.
- HO Y.B., 1990. Metals in *Ulva lactuca* in Hong-Kong intertidal waters. *Bulletin of Marine science*, **47** : 79-85.
- HUTCHINGS P., 1994. The Pacific Reefs : A paradise lost ? *Marine Pollution Bulletin*, **29** : 140 pp.
- LABROSSE P., FICHEZ R., FARMAN R., ADAMS T., 2000. Tropical South Pacific : New Caledonia oceanic environment, coral reefs and lagoons. *Seas at the millenium, Regional chapters : The Indian Ocean to The Pacific*, **2** : 723-736.
- MAGAND O., 1999. Recherche et définition des signatures géochimiques (métaux lourds) et lanthanides) des sources terrigènes du lagon sud-ouest de Nouvelle-Calédonie. *Rapport de DEA, Université de la Méditerranée*, 43 pp. + Annexes.
- MAGAND O., 2000. Mise au point des protocoles opératoires de minéralisation d'échantillons biologiques par chauffage micro-ondes sous conditions hyperbares : Méthodologie et résultats préliminaires. *Notes techniques Sciences de la Mer, Biologie Marine*, **4**, Centre IRD de Nouméa, 90 p.
- PAYRI C., DE R.N'YEURT A., OREMPULLER J., 2000. Algues de Polynésie française. *Editions Au Vent des Iles, Tahiti*, 320 pp.
- PEREZ T., SARTORETTO S., SOLTAN D., CAPO S., FOURS M., DUTRIEUX E., VACELET J., HARMELIN J.G., REBOUILLON P., 2000. Etude bibliographique sur les bioindicateurs de l'état du milieu marin. *Système d'évaluation de la qualité des milieux littoraux –Volet biologique. Rapport Agences de l'Eau*, 642 p.
- RAINBOW P.S., 1995. Biomonitoring of heavy metals availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, **31** (4-12) : 183-192.

- RAINBOW P.S., PHILLIPS D.J.S, DEPLEDGE M.H, 1990. The significance of trace metal concentration in marine invertebrates : a need for laboratory investigation of accumulation strategies. *Marine Pollution Bulletin*, **31** (7) : 321-324.
- REISH D.J., OSHIDA P.S., MEARNES A.J., GINN T.C., 1989. Effects of pollution on saltwater organisms. *Water Environnement Research*, **61** (6) : 1042-1054.
- REISH D.J., OSHIDA P.S., MEARNES A.J., GINN T.C., 1990. Effects of pollution on saltwater organisms. *Water Environnement Research*, **62** (4) : 577-593.
- REISH D.J., OSHIDA P.S., MEARNES A.J., GINN T.C., 1991. Effects of pollution on saltwater organisms. *Water Environnement Research*, **63** (4) : 696-709.
- REISH D.J., OSHIDA P.S., MEARNES A.J., GINN T.C., 1992. Effects of pollution on saltwater organisms. *Water Environnement Research*, **64** (4) : 599-610.
- REISH D.J., OSHIDA P.S., MEARNES A.J., GINN T.C., 1993. Effects of pollution on saltwater organisms. *Water Environnement Research*, **65** (4) : 573-585.
- REISH D.J., OSHIDA P.S., MEARNES A.J., GINN T.C., 1994. Effects of pollution on saltwater organisms. *Water Environnement Research*, **66** (4) : 623-635.
- REISH D.J., OSHIDA P.S., MEARNES A.J., GINN T.C., 1995. Effects of pollution on saltwater organisms. *Water Environnement Research*, **67** (4) : 718-731.
- R.N.O (Réseau National d'Observation de la qualité du milieu marin), 1999. Actes du colloque. *Centre de Nantes, IFREMER*, 96 pp.
- RICHER DE FORGES B., 1991. Le benthos des fonds meubles des lagons de Nouvelle-Calédonie. *Editions ORSTOM*, **1**, 311 pp.
- RICHER DE FORGES B., HOFFSCHIR C., 2000. Base de données sur la biodiversité marine littorale de Nouvelle-Calédonie. *Catalogues Sciences de la Mer, Biologie Marine*, **2**, 56 pp.
- ROONEY, PRICE, JUDELL, 1989. Investigations into marines sediments, water column and biota in New-Caledonia exposure. *Juin 1989, rapport non publié transmis à l'ORSTOM*, 8 pp.
- SANCHEZ-RODRIGUEZ I., HUERTA-DIAZ M.A., CHOUMILINE E., HOLGUIN-QUINONES O., ZERTUCHE-GONZALES J.A., 2000. Elemental concentrations in different species of seaweeds from Loreto Bay, Baja California Sur, Mexico : implications for the geochemical control of metals in algal tissue. *Environnemental pollution*, **114** : 145-160.
- SAY P.J., BURROWS I.G., WHITTON B.A. 1990. *Entemorpha* as a monitor of heavy metals in estuaries. *Hydrologia*, **195** : 119-126.

RESUME

Ce rapport a été rédigé suite au travail réalisé au sein de l'Unité de Recherche CAMELIA du Centre IRD de Nouméa, en Nouvelle Calédonie. Celui-ci présente les résultats de l'étude des niveaux de concentrations en métaux chez trois espèces d'algues macrobenthiques du lagon sud-ouest de la Nouvelle Calédonie : *Halimeda macroloba* Descaigne 1841, *Halimeda incrassata* (Ellis) Lamouroux 1816, et *Lobophora variegata* (Lamouroux) Womersley 1967.

Les résultats obtenus montrent que ces deux dernières espèces présentent des niveaux de concentration élevés ainsi qu'une variabilité intersite marquée. Les valeurs maximales mesurées chez les *Lobophora variegata* sont observées sur la station B 31 (Baie de Boulari), soit $8\,064 \pm 67$, $1\,856 \pm 44$, $186,3 \pm 2,1$, $143,3 \pm 9,7$, $115,2 \pm 1,5$, $17,4 \pm 2,2$, $16,9 \pm 1,1$, $10,7 \pm 0,2$ et $1,58 \pm 0,05$ $\mu\text{g/g}$ de poids sec (P.S.) respectivement pour Fe, Al, Ni, Mn, Cr, Zn, Co, V et Cu. Les moyennes et écart-types cités ont été obtenus à partir d'un triplicat de frondes. Chez les *Halimeda macroloba*, les plus fortes concentrations moyennes ont été calculées à partir de dix spécimens récoltés à la station D 12 (Baie de la Grande Rade), soit 826 ± 60 , 445 ± 92 , $27,5 \pm 6,4$, $13,0 \pm 2,5$, $8,14 \pm 1,5$, $5,64 \pm 1,1$, $1,0 \pm 0,42$ et $0,88 \pm 0,26$ $\mu\text{g/g}$ P.S. respectivement pour Fe, Al, Ni, Mn, Cr, Zn, V et Co.

Ces deux espèces pourraient donc présenter un intérêt en tant que bioindicateur de la fraction dissoute des apports en métaux d'origine anthropique ou terrigène. Il semble donc nécessaire de poursuivre le travail de recherche sur ces deux espèces afin de valider leur utilisation dans le cadre d'un réseau de surveillance de la qualité du milieu côtier en zone tropicale.

Mots clés : métaux, macroalgues marines, bioconcentration, bioindicateur quantitatif, biomonitoring, environnement côtier tropical, Nouvelle-Calédonie.

ABSTRAC

This report is the result of a research work conducted as part of the CAMELIA Research Unit from the IRD Noumea Centre in New Caledonia. Metal concentrations were studied in three species of macrobenthic algae from the south-west lagoon of New Caledonia: *Halimeda macroloba* Descaigne 1841, *Halimeda incrassata* (Ellis) Lamouroux 1816, and *Lobophora variegata* (Lamouroux) Womersley 1967.

The results show that the two latter species present high metal concentrations together with a significant variability from one site to another. Maximum average values in *Lobophora variegata* were recorded at station B 31 (Boulari Bay): $8\,064 \pm 67$, $1\,856 \pm 44$, 186.3 ± 2.1 , 143.3 ± 9.7 , 115.2 ± 1.5 , 17.4 ± 2.2 , 16.9 ± 1.1 , 10.7 ± 0.2 and 1.58 ± 0.05 $\mu\text{g/g}$ dry weight for Fe, Al, Ni, Mn, Cr, Zn, Co, V and Cu, respectively. Average and standard deviation values were obtained from the analysis of triplicate leaf samples. For *Halimeda macroloba*, the highest average concentrations (analysis of 10 replicates) were obtained at station D 12 (Grande Rade): 826 ± 160 , 445 ± 92 , 27.5 ± 6.4 , 13.0 ± 2.5 , 8.14 ± 1.5 , 5.64 ± 1.1 , 1.0 ± 0.42 and 0.88 ± 0.26 $\mu\text{g/g}$ dry weight for Fe, Al, Ni, Mn, Cr, Zn, V and Co, respectively.

Both species appear of potential interest as bio-indicators of dissolved metal inputs, either of natural (terrigenous) or anthropogenic origin. The preliminary results gained from the present work call for additional research on those two species before they can be integrated as part of an environmental quality network adapted to the tropical coastal zone.

Key words : metals, marine macroalgae, bioconcentration, quantitative bioindicator, biomonitoring, tropical coastal environment, New Caledonia.