
Centre Saint-Laurent
Environnement Canada
Section des apports toxiques et
Section d'écotoxicologie

Analyse et interprétation de
données relatives à la toxicité
d'élutriats de sédiments du
fleuve Saint-Laurent (1985-88)

Volume 1 : rapport préliminaire

Environnement Canada / Environment Canada
Bibliothèque Montréal Library
105, rue McGill
Montréal (Québec) H2Y 2E7
Tél. / Tel. (514) 283-9503



G.R.E.B.E. inc. 1134, rue Sainte-Catherine Ouest, Montréal (Québec) H3B 1H4

TABLE DES MATIÈRES

	Page
LISTE DES TABLEAUX (Volume 2)	iii
LISTE DES FIGURES (Volume 2)	viii
LISTE DES ANNEXES (Volume 2)	xi
LISTE DES PARTICIPANTS	xiv
SOMMAIRE	1
1. INTRODUCTION	4
1.1. Problématique	4
1.2. Les objectifs du mandat	9
2. MÉTHODOLOGIE	11
2.1. Constitution des matrices de données	11
2.1.1. Les bioessais	12
2.1.2. Choix des variables indicatrices de toxicité	16
2.1.3. Données physico-chimiques	20
2.2. Traitement statistique des données	23
2.2.1. Relations entre les résultats des bioessais et la physico-chimie des éluutriats	23
2.2.2. Effet de la congélation	24
2.2.3. Transfert d'éléments chimiques des sédiments aux éluutriats	25
3. RÉSULTATS ET DISCUSSION	26
3.1. Validation des analyses chimiques	26
3.2. Estimation des données manquantes	27

TABLE DES MATIÈRES (suite)

	Page
3.3. Relation entre la réponse des bioessais et la physico-chimie des éluutriats	28
3.3.1. Le test Microtox	28
3.3.2. Le test d'inhibition de la photosynthèse	56
3.3.3. Le test des nématodes	68
3.4. Relation entre la réponse des divers biotests	78
3.5. Effet de la congélation	82
3.5.1. La composition chimique des éluutriats	82
3.5.2. La toxicité des éluutriats	85
3.6. Relations entre la physico-chimie des eaux de dilution, des sédiments et des éluutriats	90
3.6.1. Relation entre la physico-chimie des sédiments et des éluutriats	90
3.6.2. Relation entre la physico-chimie des eaux de brassage et des éluutriats	92
3.7. Impact de la technique d'élutriation sur la physico-chimie des éluutriats	96
BIBLIOGRAPHIE	97
Volume 2: Tableaux, figures et annexes	

LISTE DES TABLEAUX

1. Test de comparaison de moyennes pour échantillons appariés entre: 1° la conductivité spécifique et la conductivité théorique, 2° la dureté totale et la dureté calculée, 3° les anions et les cations.
2. Test de comparaison de moyennes vérifiant si les bilans de la conductivité, de la dureté et ionique sont, en moyenne, égale à zéro.
3. Corrélation de Pearson et de Kendall entre les indicateurs de la toxicité pour le test Microtox.
4. Coefficient de saturation entre chaque axe-descripteur et les axes principaux d'une analyse en composantes principales (A.C.P.) sur les données des stations pour lesquels un test d'inhibition de bioluminescence a été effectué.
5. Cosinus carrés entre les axes-descripteurs et les axes principaux d'une analyse factorielle des correspondances (A.F.C.) sur les données des stations pour lesquels un test d'inhibition de bioluminescence a été effectué.
6. Coefficient de corrélation partielle entre MIR5 et chaque variable physico-chimique, ainsi que sa probabilité, pour chaque pas de la régression multiple.
7. Résumé du processus de sélection des variables indépendantes pour la régression multiple entre MIR5 et les éléments physico-chimiques.
8. Coefficient de corrélation partielle entre MIP5L et chaque variable physico-chimique, ainsi que sa probabilité, pour chaque pas de la régression multiple.
9. Résumé du processus de sélection des variables indépendantes pour la régression multiple entre MIP5L et les éléments physico-chimiques.

LISTE DES TABLEAUX (suite)

10. Coefficient de corrélation partielle entre MIR15 et chaque variable physico-chimique, ainsi que sa probabilité, pour chaque pas de la régression multiple.
11. Résumé du processus de sélection des variables indépendantes pour la régression multiple entre MIR15 et les éléments physico-chimiques.
12. Coefficient de corrélation partielle entre MIP5L et chaque variable physico-chimique, ainsi que sa probabilité, pour chaque pas de la régression multiple.
13. Résumé du processus de sélection des variables indépendantes pour la régression multiple entre MIP15L et les éléments physico-chimiques.
14. Cosinus carrés entre les axes-descripteurs et les axes principaux d'une analyse factorielle des correspondances (A.F.C.) sur les données des stations pour lesquelles un test d'inhibition de photosynthèse a été effectué.
15. Coefficient de corrélation partielle entre C14PL et chaque variable physico-chimique, ainsi que sa probabilité, pour chaque pas de la régression multiple.
16. Résumé du processus de sélection des variables indépendantes pour la régression multiple entre C14PL et les éléments physico-chimiques.
17. Coefficient de corrélation partielle entre C14R87 et chaque variable physico-chimique, ainsi que sa probabilité, pour chaque pas de la régression multiple.
18. Résumé du processus de sélection des variables indépendantes pour la régression multiple entre C14R87 et les éléments physico-chimiques.

LISTE DES TABLEAUX (suite)

19. Coefficient de saturation entre chaque axe-descripteur et les axes principaux d'une analyse en composantes principales (A.C.P.) sur les données des stations pour lesquelles un test d'inhibition du «fitness» des nématodes a été effectué.
20. Cosinus carrés entre les axes-descripteurs et les axes principaux d'une analyse factorielle des correspondances (A.F.C.) sur les données des stations pour lesquelles un test d'inhibition du «fitness» des nématodes a été effectué.
21. Coefficient de corrélation partielle entre le «fitness» des nématodes et chaque variable physico-chimique, ainsi que sa probabilité, pour chaque pas de la régression multiple.
22. Résumé du processus de sélection des variables indépendantes pour la régression multiple entre le «fitness» des nématodes et les éléments physico-chimiques.
23. Corrélation de Pearson entre les bioessais.
24. Corrélation de Kendall entre les bioessais.
25. Moyenne des différences entre les concentrations des éluviats frais et celles des éluviats qui ont été congelés ainsi que la probabilité que cette moyenne des différences soit nulle (test t pour échantillons appariés).
26. Effet de la congélation sur les résultats de MIR5 selon l'analyse de variance à mesures répétées avec contraste entre les éluviats frais et ceux de chaque période de congélation.
27. Moyenne et écart type des indicateurs de toxicité du test Microtox pour les échantillons frais et congelés de 1986 et 1987.

LISTE DES TABLEAUX (suite)

28. Effet de la congélation sur les résultats de MIR5 selon l'analyse de variance à mesures répétées avec contrastes polynomiaux en fonction du temps de congélation.
29. Moyenne et écart type des indicateurs de toxicité des tests Microtox et algal pour les échantillons frais et congelés de 1987.
30. Effet de la congélation sur les résultats de MIP5L selon l'analyse de variance à mesures répétées avec contraste entre les éluutriats frais et ceux de chaque période de congélation.
31. Effet de la congélation sur les résultats de MIP5L selon l'analyse de variance à mesures répétées avec contrastes polynomiaux en fonction du temps de congélation.
32. Effet de la congélation sur les résultats de C14R87 selon l'analyse de variance à mesures répétées avec contraste entre les éluutriats frais et ceux de chaque période de congélation.
33. Effet de la congélation sur les résultats de C14PL selon l'analyse de variance à mesures répétées avec contraste entre les éluutriats frais et ceux de chaque période de congélation.
34. Effet de la congélation sur les résultats de C14R87 selon l'analyse de variance à mesures répétées avec contrastes polynomiaux en fonction du temps de congélation.
35. Effet de la congélation sur les résultats de C14PL selon l'analyse de variance à mesures répétées avec contrastes polynomiaux en fonction du temps de congélation.

LISTE DES TABLEAUX (suite)

36. Corrélation de Pearson et de Kendall entre les concentrations dans les sédiments et celles des éluutriats.
37. Moyenne et écart type des éléments physico-chimiques présents dans les échantillons d'élutriat et dans les eaux de dilution ainsi que le pourcentage moyen d'enrichissement et les résultats des analyses statistiques comparant les moyennes des éluutriats à celles des eaux de dilution.
38. Comparaison de moyennes pour échantillons appariés comparant les analyses physico-chimiques d'échantillon avant et après avoir subi le processus d'élutriation.

LISTE DES FIGURES

1. Réponses obtenues sur une courbe théorique de toxicité pour trois éluviats (A, B et C) de concentrations initiales différentes (X_a , X_b et X_c).
2. Représentation schématique des corrélations de Pearson significatives ($P < 0,05$) existant entre les variables physico-chimiques qui sont corrélées avec MIR5 du test Microtox.
3. Représentation schématique des corrélations de Kendall significatives ($P < 0,05$) existant entre les variables physico-chimiques qui sont corrélées avec MIR5 du test Microtox.
4. Représentation schématique des corrélations de Pearson significatives ($P < 0,05$) existant entre les variables physico-chimiques qui sont corrélées avec MIP5L du test Microtox.
5. Représentation schématique des corrélations de Kendall significatives ($P < 0,05$) existant entre les variables physico-chimiques qui sont corrélées avec MIP5L du test Microtox.
6. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 1 et 3 de l'analyse en composantes principales (A.C.P.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test Microtox.
7. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 2 et 3 de l'analyse en composantes principales (A.C.P.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test Microtox.
8. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 1 et 2 de l'analyse en composantes principales (A.C.P.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test Microtox.
9. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 3 et 4 de l'analyse en composantes principales (A.C.P.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test Microtox.

LISTE DES FIGURES (suite)

10. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 1 et 3 de l'analyse factorielle des correspondances (A.F.C.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test Microtox.
11. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 2 et 3 de l'analyse factorielle des correspondances (A.F.C.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test Microtox.
12. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 1 et 2 de l'analyse factorielle des correspondances (A.F.C.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test Microtox.
13. Représentation schématique des corrélations de Kendall significatives ($P < 0,05$) existant entre les variables physico-chimiques qui sont corrélées avec C14PL du test algal.
14. Représentation schématique des corrélations de Kendall significatives ($P < 0,05$) existant entre les variables physico-chimiques qui sont corrélées avec C14R87 du test algal.
15. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 1 et 2 de l'analyse factorielle des correspondances (A.F.C.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test d'inhibition de la photosynthèse.
16. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 2 et 3 de l'analyse factorielle des correspondances (A.F.C.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test d'inhibition de la photosynthèse.
17. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 1 et 3 de l'analyse factorielle des correspondances (A.F.C.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test d'inhibition de la photosynthèse.

LISTE DES FIGURES (suite)

18. Représentation schématique des corrélations de Pearson significatives ($P < 0,05$) existant entre les variables physico-chimiques qui sont corrélées avec le "fitness" des nématodes.
19. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 1 et 4 de l'analyse en composantes principales (A.C.P.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test d'inhibition du «fitness» des nématodes.
20. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 2 et 4 de l'analyse en composantes principales (A.C.P.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test d'inhibition du «fitness» des nématodes.
21. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 3 et 4 de l'analyse en composantes principales (A.C.P.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test d'inhibition du «fitness» des nématodes.
22. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 1 et 4 de l'analyse factorielle des correspondances (A.F.C.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test d'inhibition du «fitness» des nématodes.
23. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 2 et 4 de l'analyse factorielle des correspondances (A.F.C.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test d'inhibition du «fitness» des nématodes.
24. Position des axes-descripteurs par rapport aux axes 3 et 4 de l'analyse factorielle des correspondances (A.F.C.) sur les données des stations pour lesquelles a été effectué le test d'inhibition du «fitness» des nématodes.
25. Représentation schématique de la multicollinéarité existant entre les concentrations d'azote et de plomb, et les résultats d'inhibition de la bioluminescence et de la photosynthèse.

LISTE DES ANNEXES

- 1a. Résultat des analyses physico-chimiques.
- 1b. Statistique sur les variables physico-chimiques des stations pour lesquelles le biotest Microtox a été effectué.
- 1c. Statistique sur les variables physico-chimiques des stations pour lesquelles le test d'inhibition de la photosynthèse a été effectué.
- 1d. Statistique sur les variables physico-chimiques des stations pour lesquelles le biotest sur les nématodes a été effectué.
2. Résultat des analyses physico-chimiques permettant de vérifier l'effet de la congélation des sédiments.
3. Protocole et exemple de calcul pour le biotest Microtox.
4. Protocole et exemple de calcul pour le biotest d'inhibition de la photosynthèse.
5. Protocole du biotest sur les nématodes.
6. Paramètres estimés à partir de régressions linéaires entre les dilutions d'élutriat et les réponses d'inhibition de la bioluminescence pour le test Microtox à 5 min. de lecture.
7. Paramètres pour le test Microtox à 5 min. de lecture, estimés à partir du meilleur modèle de régression entre les dilutions d'élutriat et les réponses d'inhibition de la bioluminescence.
8. Paramètres estimés à partir de régressions linéaires entre les dilutions d'élutriat et les réponses d'inhibition de la bioluminescence pour le test Microtox à 15 min. de lecture.

LISTE DES ANNEXES (suite)

9. Paramètres pour le test Microtox à 15 min. de lecture, estimés à partir du meilleur modèle de régression entre les dilutions d'élutriat et les réponses d'inhibition de la bioluminescence.
10. Corrélations de Pearson entre la réponse du test Microtox et les paramètres physico-chimiques des élutriats.
11. Corrélations de Kendall (Tau) entre la réponse du test Microtox et les paramètres physico-chimiques des élutriats.
12. Paramètres estimés à partir de régressions linéaires entre les dilutions d'élutriat et les réponses d'inhibition de la photosynthèse chez Selenastrum capricornutum.
13. Paramètres concernant la réponse de Selenastrum capricornutum, estimés à partir du meilleur modèle de régression entre les dilutions d'élutriat et les réponses d'inhibition de la photosynthèse.
14. Corrélations de Pearson entre les paramètres physico-chimiques des élutriats et les réponses du test algal.
15. Corrélations (Tau de Kendall) entre les paramètres physico-chimiques des élutriats et les réponses du test algal.
16. Résultats du biotest d'inhibition du «fitness» des nématodes.
17. Corrélations de Pearson entre les paramètres physico-chimiques des élutriats et la réponse des nématodes.
18. Corrélations (Tau de Kendall) entre les paramètres physico-chimiques des élutriats et la réponse des nématodes.
19. Résultats du test de comparaison de moyennes pour échantillons appariés vérifiant l'effet de différentes périodes de congélation sur la physico-chimie des échantillons.

LISTE DES ANNEXES (suite)

20. Paramètres servant à vérifier l'effet de la congélation sur la réponse du test Microtox à 5 min. de lecture, estimés à partir de régressions linéaires entre les dilutions d'élutriat et les réponses d'inhibition de la bioluminescence.
21. Paramètres servant à vérifier l'effet de la congélation sur la réponse du test Microtox à 5 min. de lecture, estimés à partir du meilleur modèle de régression entre les dilutions d'élutriat et les réponses d'inhibition de la bioluminescence.
22. Paramètres servant à vérifier l'effet de la congélation sur la réponse de Selenastrum capricornutum, estimés à partir de régressions linéaires entre les dilutions d'élutriat et les réponses d'inhibition de la photosynthèse.
23. Paramètres servant à vérifier l'effet de la congélation sur la réponse de Selenastrum capricornutum, estimés à partir du meilleur modèle de régression entre les dilutions d'élutriat et les réponses d'inhibition de la photosynthèse.

LISTE DES PARTICIPANTS

Roger Lemire,	chargé de projet
Robert Décarie,	co-chargé de projet
Daniel Lambert,	biologiste statisticien coordonnateur de projet
Robert Langevin,	biologiste
Bruno Scherrer,	statisticien expert
Micheline Gauvreau,	secrétaire
Francine Romanelli,	secrétaire

Avant-propos

L'assimilation de carbone-14 est mesurée à partir de l'introduction de bicarbonate de sodium radioactif dans les échantillons d'éluviats. Les différentes teneurs en bicarbonates déjà présentes dans les divers échantillons ont introduit des erreurs non-quantifiées. Les calculs de l'inhibition photosynthétique algale nécessitent donc un facteur de correction par rapport aux teneurs de carbonates et bicarbonates non-radioactifs dans l'éluviat. Ce problème était inconnu lors de l'exécution du contrat.

SOMMAIRE

Cette étude vise à analyser et à interpréter l'ensemble des données récoltées par la Direction des Eaux Intérieures d'Environnement Canada, région Québec (DEIQ), concernant la physico-chimie et la toxicité d'élutriats de sédiments échantillonnés sur le tronçon Cornwall-Trois-Rivières du fleuve Saint-Laurent, au cours des années 1985-88.

Les trois bioessais qui ont été utilisés pour évaluer la toxicité des élutriats sont le test d'inhibition de la bioluminescence chez la bactérie Photobacterium phosphoreum (Microtox), le test d'inhibition de la photosynthèse algale chez Selenastrum capricornutum et le test de phénotoxicité et de toxicité au niveau du développement larvaire du nématode Panagrellus redivivus. Les relations existant entre la réponse des bioessais et la physico-chimie des élutriats ont été établies statistiquement à l'aide de corrélations de Pearson et de Kendall, d'analyses en composantes principales, d'analyses factorielles des correspondances et de régressions multiples.

La toxicité des élutriats telle que révélée par le Microtox est principalement expliquée par la présence simultanée de cadmium, de plomb, d'arsenic, de zinc et par la couleur apparente des élutriats. Cette dernière n'est vraisemblablement que le reflet de la présence dans les élutriats des colorants que sont les métaux ci-haut mentionnés. La stimulation de la bioluminescence est corrélée de façon positive aux variables qui se rapportent à l'alcalinité des élutriats ainsi qu'au phosphore, au nickel et au cuivre. Les éléments reliés à l'alcalinité, tels le manganèse et le magnésium s'approprient les sites d'attachement des métaux sur

la membrane cellulaire de la bactérie alors que les carbonates coprécipitent les métaux toxiques. L'inhibition de la photosynthèse algale est exclusivement associée à l'alcalinité des éluutriats et aux variables qui s'y rapportent. Cette relation est fallacieuse et s'explique par l'absence dans le protocole expérimental d'un facteur de correction des comptes de scintillation pour la présence dans les éluutriats de carbone non radioactif, assimilable par les algues. L'azote ressort comme principal stimulateur de la photosynthèse. Quant à la toxicité des éluutriats envers les nématodes, elle est reliée de très près à la présence de mercure, et à celle du sélénium. L'azote améliore la condition physique de ces organismes.

Il ne paraît pas y avoir de relation entre les réponses associées au Microtox et au test des nématodes qui apparaissent donc comme complémentaires.

Les résultats qui concernent l'effet de la congélation des sédiments sur la physico-chimie des éluutriats correspondants indiquent que les nitrates, les nitrites et les sulfates diminuent en fonction de la longueur de la période de congélation, alors que le carbone organique dissout, le potassium et le phosphore augmentent. La présence accrue de ces derniers éléments dans les éluutriats à base de sédiment congelé pourrait s'expliquer par le bris de cellules animales ou végétales lors de la congélation et leur relâchement subséquent. Quant à l'effet de la congélation sur la toxicité des éluutriats, il n'est pas démontré clairement, possiblement en raison du faible effectif d'éluutriats étudiés.

Enfin, seules les concentrations de calcium, de manganèse, de cadmium et de sélénium du sédiment sont corrélées à celles des éluutriats, ce qui s'explique sans doute par l'inaptitude des

analyses chimiques à mesurer les formes chimiques solubles ainsi que par la complexité des interactions qui sévissent entre les divers éléments présents dans l'eau de brassage et le sédiment. Pour tous les éléments chimiques, à l'exception de l'azote, du cadmium, des sulfates et du mercure, la concentration dans les éluviats est significativement supérieure à la concentration initiale de l'eau de brassage. Les manipulations et l'équipement associés à la technique d'éluviation ne semblent pas altérer la composition physico-chimique des éluviats.

1. INTRODUCTION

1.1. Problématique

Au cours des dernières décennies, la production et l'utilisation croissante de sources d'énergie et de composés chimiques, alliées au développement accéléré de l'agriculture, ont contribué grandement à la contamination de l'environnement aquatique. Ce phénomène n'a certes pas épargné le réseau hydrologique Saint-Laurent-Grands Lacs, considéré comme l'un des plus importants centres urbano-industriels au monde (Germain et Janson, 1984). Pendant de nombreuses années, l'évaluation de la contamination environnementale s'est appuyée exclusivement sur les résultats d'analyses chimiques effectuées sur l'eau ou sur le sédiment. Il était pourtant clair que pour obtenir un portrait complet de l'état de contamination environnementale, il fallait étendre l'étude aux composantes biologiques de l'écosystème aquatique. De là est née une nouvelle science, l'écotoxicologie.

Cette science pluridisciplinaire consiste à identifier les causes, mécanismes et l'impact écologique d'une contamination dont nous commençons à peine à soupçonner l'ampleur. Elle se fonde avant tout sur l'utilisation des organismes vivants exposés aux effets combinés de l'écotoxicité comme outils essentiels de l'évaluation de l'état de santé écosystémique. Ces organismes apparaissent en effet comme les meilleurs indicateurs d'une perturbation potentielle ou effective de l'écosystème. Jusqu'à la fin des années soixante-dix, la science écotoxicologique se borna le plus souvent à établir les seuils de toxicité aigue de contaminants individuels à l'aide de bioessais sur un nombre restreint d'organismes aquatiques (bioindicateurs), sinon uniquement sur la

truite arc-en-ciel (Dafoe et al., 1987). C'est à partir de ce genre d'information qu'ont été établis les seuils de tolérance appliqués au Canada (CCMRE, 1987).

Alors que cette approche s'avère encore utile, on comprit rapidement qu'elle n'était pas sans faille. D'une part, l'émergence constante et la multiplicité des substances toxiques à tester (environ 80 000) rendaient la tâche irréalisable en termes de coût, de temps et d'efforts investis. D'autre part, cette approche n'a jamais fait l'objet d'une validation chez les organismes aquatiques qui sont réellement exposés aux produits toxiques. Elle fait abstraction des effets sous-léthaux et de phénomènes tels la diminution de croissance et du potentiel reproducteur des organismes exposés. Enfin, cette approche ne tient pas compte du cheminement et de la transformation du potentiel toxique des contaminants à travers les divers compartiments de l'écosystème aquatique. Ce cheminement sera en outre fortement influencé par la biodisponibilité du contaminant, le potentiel de bioaccumulation et de biodégradation des organismes, les caractéristiques de la chaîne alimentaire ainsi que le volume et le type des eaux réceptrices. La transformation du potentiel toxique des contaminants se fera par interactions avec les organismes ou d'autres contaminants ou encore selon la physico-chimie du milieu récepteur (Cairns, 1986; Kimerle, 1986).

Ces observations entraînèrent donc une évolution rapide de l'écotoxicologie. Au cours des quinze dernières années tout particulièrement, le nombre, la diversité ainsi que la complexité des bioessais et bioindicateurs aquatiques se sont considérablement multipliés (Maciorowski et al., 1983; SOMER, 1990). A l'heure actuelle, ces outils nous permettent d'évaluer

les toxicités aigüe et chronique ainsi que leurs effets léthaux et sous-léthaux sur quatre niveaux trophiques, soit:

- les décomposeurs (bactéries);
- les producteurs (phytoplancton);
- les consommateurs primaires (zooplancton et autres);
- les consommateurs secondaires (poissons et autres), (Sergy, 1987).

De façon générale, ces outils nous permettent d'évaluer l'impact de la toxicité d'échantillons environnementaux aux niveaux d'organisation biologique suivants: macromoléculaire, cellulaire, des tissus, des organes, des systèmes d'organes, ainsi que de l'organisme aquatique entier et de son comportement (Sheehan et al., 1984).

L'évolution des outils bioanalytiques a été particulièrement marquée par une transition passant des macrobiotests (poisson) vers les microbiotests utilisant des organismes unicellulaires ou de petits organismes pluricellulaires (Levin et al., 1984). Ces derniers, s'avérant plus rapide, économiques et se prêtant mieux à l'analyse statistique, devenaient donc des outils idéaux pour le dépistage.

L'ensemble des macro et microbiotests a déjà été largement utilisé pour évaluer la toxicité caractérisant les contaminants présents dans la colonne d'eau, à partir d'échantillons d'eau brute ou d'extraits (Buikema et al., 1982). En comparaison, peu de bioessais ont été développés spécifiquement pour tester la toxicité du sédiment (Lamberson and Swartz, 1988). Leur utilisation a pourtant été maintes fois recommandée, en raison du

réservoir toxique que constitue ce compartiment de l'écosystème aquatique (Chapman, 1986; Long, 1983).

En effet, les sédiments contaminés peuvent abriter des communautés benthiques dégradées même lorsque l'eau qui les recouvre est de bonne qualité (Laskowski-Hoke and Prater, 1984). Entre autres, des processus de diffusion, de perturbation physique et biologique peuvent engendrer le transfert de contaminants associés aux sédiments vers la couche d'eau adjacente (Swartz and Lee, 1980). Les substances toxiques associées aux sédiments peuvent donc non seulement être ingérées par les organismes benthiques à même le sédiment, mais dissoutes dans l'eau interstitielle ou la colonne d'eau, elles peuvent être assimilées selon divers processus. En conséquence, de nombreuses études ont porté sur les circonstances et les mécanismes reliés au relargage des contaminants associés aux sédiments ainsi qu'à l'impact de ce dernier sur le biota (Mac et al. 1984).

La technique d'élutriation a été développée dans le but de déterminer la solubilité de contaminants sujets à un relargage lors d'opérations de dragage en eau libre ou de la resuspension des sédiments suite à une perturbation physique ou biologique de ceux-ci (Keely and Engler, 1974; USEPA, 1977). Elle consiste à mélanger une quantité prédéterminée d'eau au sédiment et à en récupérer la phase aqueuse après centrifugation du mélange. Elle a été utilisée de paire avec les biotests, de façon à déterminer la toxicité des éluutriats envers le biota.

Pour sa part, la Direction des Eaux Intérieures (Région du Québec) a effectué, depuis 1984, de nombreux tests écotoxicologiques sur des éluutriats de sédiments du Saint-Laurent. Elle a entre autres utilisé les tests:

- d'inhibition de la photosynthèse sur Selenastrum capricornutum;
- d'inhibition de la bioluminescence sur Photobactérium phosphoreum;
- de toxicité létale et sous-létale sur cladocères;
- de toxicité létale sur rotifères;
- de toxicité au niveau développemental et phénotypique sur nématodes;
- de tératogénicité sur chironomidés;
- et de génotoxicité sur E. coli.

A l'instar de l'ensemble des agences de protection environnementale, la D.E.I.Q. reconnaît clairement aujourd'hui que le contrôle de la toxicité du milieu aquatique doit inévitablement passer par l'intégration et l'application de techniques bioanalytiques et chimiques (Blaise, 1988; OECD, 1987; USEPA, 1985). Cependant, de nombreuses questions demandent encore à être éclaircies avant qu'une telle approche écotoxicologique puisse révéler tout son potentiel. Jusqu'à présent, peu d'études ont porté sur la relation existant entre la toxicité révélée par un bioessai et les résultats d'analyses physico-chimiques effectuées sur des échantillons environnementaux. De plus, l'impact des conditions d'expérimentation propres à chaque bioessai ainsi que des techniques de préservation des échantillons environnemetaux sur la mesure de leur toxicité est encore mal connu. Il en va de même pour la dynamique qui caractérise l'échange de contaminants entre les phases particulaire et aqueuse et l'impact des manipulations impliquées dans les techniques de simulation de relargage de contaminants à partir du sédiment sur la toxicité de l'élutriat.

Une meilleure compréhension de ces phénomènes est donc d'une importance primordiale dans l'accomplissement du mandat que s'est

fixé le Plan d'Action Saint-Laurent, soit: l'identification des problèmes de contamination (identification des sources, des mécanismes d'action et des effets de substances toxiques sur l'écosystème aquatique du Saint-Laurent); l'évaluation de ces problèmes; le contrôle de la contamination et l'évaluation des contrôles.

1.2. Les objectifs du mandat

Les objectifs spécifiques du mandat se décrivent comme suit:

1. Rassembler les documents existants et les données à traiter concernant: 1) les caractéristiques physico-chimiques des sédiments, eaux de dilution et éutriats ayant servi à l'étude de la contamination du lac Saint-Louis (1985), du lac Saint-Pierre (1986), du Petit Bassin Laprairie (1987) et du fleuve Saint-Laurent (tronçon Cornwall-Québec) (1988); 2) la toxicité des eaux de dilution et éutriats ci-haut mentionnés, telle que révélée par les biotests d'inhibition de la photosynthèse chez l'algue Selenastrum capricornutum, d'inhibition de la bioluminescence chez la bactérie Photobacterium phosphoreum et de toxicité au niveau développemental et phénotoxicité chez le nématode Panagrellus redivivus.
2. Valider et vérifier les données chimiques et biologiques rassemblées en 1. et compléter les banques de données sur ordinateur.
3. Préparer et appliquer un plan d'analyse statistique des données afin de déterminer: 1) les relations existant entre les caractéristiques physico-chimiques des éutriats et leur

toxicité telle que révélée par différents bioessais; 2) les relations existant entre la toxicité des éluviats telle que révélée par les différents bioessais; 3) l'effet de la congélation des éluviats sur leur toxicité et 4) l'enrichissement des éluviats en contaminants et substances nutritives provenant du sédiment.

4. Faire l'interprétation statistique et écotoxicologique des résultats obtenus en 3.

2. MÉTHODOLOGIE

2.1. Constitution des matrices de données

Les données qui ont servi aux analyses statistiques ont été recueillies au cours de campagnes d'échantillonnage effectuées par les équipes de chercheurs de la Direction des Eaux Intérieures et Terres d'Environnement Canada, région du Québec (Deit-Q), de 1984 à 1988.

Au cours de ces quatre années, des sédiments provenant de plus de 90 sites ont été soumis à la technique d'élutriation en se servant de l'eau du milieu d'où proviennent les sédiments comme milieu de resuspension (Champoux et al., 1988; Lee and Plumb, 1974). En 1985, 19 stations ont été échantillonnées dans le lac Saint-Louis. En 1986, 14 échantillons ont été prélevés dans le delta de Sorel et 8 dans le lac Saint-Pierre. En 1987, 4 stations ont été échantillonnées dans le Petit Bassin La Prairie. Les 27 stations qui ont fait l'objet d'échantillonnage en 1988 étaient réparties sur le tronçon Cornwall-Trois-Rivières du fleuve Saint-Laurent de la façon suivante: lac Des Deux Montagnes (1 station), lac Saint-François (4 stations), lac Saint-Louis (4 stations), Contrecoeur (2 stations), lac Saint-Pierre (3 stations), Petit Bassin La Prairie (1 station), rivière l'Assomption (2 stations), rivière Saint-François (2 stations) et autres rivières (7 stations) (Annexe 1a).

Les élutriats ont fait l'objet d'analyses chimiques en plus d'être soumis à trois bioessais. De plus, des échantillons de sédiments provenant de deux des 22 stations étudiées en 1986 et de trois des 4 stations de 1987, ont été congelés d'une à quatre semaines afin de vérifier l'effet de la congélation sur la physico-chimie des

élutriats et sur la réponse des bioessais. Des analyses physico-chimiques ont été effectuées sur certains des échantillons de sédiments qui ont été éluutriés et des eaux de brassage correspondantes, dans le but de comparer la composition chimique des sédiments à celle des éluutriats ainsi que d'évaluer l'enrichissement en éléments chimiques qu'occasionne le processus d'éluutriation. Tous les résultats provenant des éluutriats qui n'ont pas été congelés furent traités de façon indépendante des éluutriats qui l'ont été afin d'éviter la pseudo-réplication des résultats.

2.1.1. Les bioessais

Les trois bioessais utilisés sont 1) le test d'inhibition de la bioluminescence sur la bactérie Photobacterium phosphoreum ou Microtox, 2) le test d'inhibition de la photosynthèse sur l'algue Selenastrum capricornutum et 3) le test de phénotoxicité et de toxicité au niveau du développement larvaire sur le nématode Panagrellus redivivus. Le test Microtox a été effectué sur les éluutriats des quatre années concernées. Le test algal a été effectué sur 18 des 22 éluutriats de 1986, sur les trois éluutriats de 1987 et sur les 10 éluutriats de 1988. En ce qui concerne le test des nématodes, il a été effectué sur les éluutriats de 1985 et 1986.

2.1.1.1. Microtox

Le test Microtox consiste à estimer la condition des bactéries par la mesure du taux d'inhibition de leur bioluminescence lorsque les bactéries sont soumises à différentes concentrations d'éluutriats.

Par la suite, on effectue une régression entre les concentrations d'élutriats et les taux d'inhibition. A partir des résultats de la régression, on peut déterminer le degré de toxicité de l'élutriat (Microbics, 1987)(annexe 3).

Nous avons calculé les taux d'inhibition de la bioluminescence des bactéries pour les élutriats de 1986, 1987 et 1988 à partir des valeurs de bioluminescence obtenues sur l'appareil Microtox (Microtox Toxicity Analyser Model 2055). Ces dernières ont été compilées par les chercheurs d'Environnement Canada. Les taux d'inhibition reliés aux élutriats de 1985 ont été fournis par Environnement Canada. Les données de 1985 comportent quatre répliqués par concentration alors que les données de 1986, 1987 et 1988 comportent trois répliqués par concentration d'élutriat.

Deux raisons nous ont amené à utiliser la régression pondérée par l'inverse de la variance du degré d'inhibition de la bioluminescence pour chaque concentration d'élutriat. La première s'appuie sur le fait que lorsqu'on travaille avec du matériel vivant, on observe souvent une très grande variabilité dans les résultats. Dans ce cas, l'utilisation de la régression pondérée permettra de donner plus de poids aux résultats dont la variance pour une concentration donnée d'élutriat est plus faible. Nous supposons ici que, plus la variance est faible, meilleure est l'estimation du pourcentage d'inhibition de la bioluminescence. Deuxièmement, les résultats qui semblent aberrants posent toujours un dilemme. Si on élimine ces résultats, on risque du même coup d'éliminer des résultats qui sont parfaitement normaux. Par contre, si on les conserve, on risque d'inclure des résultats qui sont le fruit d'une erreur de manipulation. La régression pondérée permettra d'accorder moins de poids à ces données tout en les conservant dans le modèle.

Suite à l'analyse des diagrammes de dispersion des données, nous avons décidé d'utiliser, en plus de la régression linéaire, deux fonctions non linéaires soit la courbe semi-logarithmique (pourcentage d'inhibition vs $\log(\text{concentration})$) et la courbe du second degré (pourcentage d'inhibition vs concentration^2). Le modèle qui s'ajustera le mieux à la courbe concentration-réponse sera choisi et ce en fonction de deux critères. Le premier de ces critères est la normalité des résidus couplé à un examen visuel des diagrammes de dispersion de ces résidus. Si tous les points (résidus) sont presque parfaitement alignés sur la droite de Henry ou si un ou deux points s'écartent de façon très marquée, la distribution des résidus ne sera pas normale. L'utilisation du test de normalité des résidus pour vérifier la justesse du modèle n'est cependant pas infaillible en soi. C'est pourquoi, l'analyse de la normalité des résidus couplée à un examen visuel des diagrammes de dispersion entre les résidus et les valeurs prédites donne une bonne idée de la justesse du modèle. Le second critère est la qualité de la relation entre les pourcentages de bioluminescence et les concentrations d'élutriat. Cette qualité de la relation est déterminée par le coefficient de détermination R^2 qui lui est associé.

2.1.1.2. Le test algal

Le test de toxicité sur algues consiste à soumettre celles-ci à diverses concentrations d'un élément potentiellement toxique et à mesurer le taux de photosynthèse algale. Les algues sont mélangées à différentes concentrations d'élutriat auxquelles on a ajouté du carbone radioactif C_{14} . Après un temps déterminé, on mesure le taux d'assimilation de carbone radioactif des algues. On détermine leur pourcentage de photosynthèse par rapport à celui d'une population-contrôle. On calcule par la suite le pourcentage

d'inhibition de la photosynthèse et on effectue une régression entre les concentrations d'élutriats et les pourcentages d'inhibition afin de déterminer le degré de toxicité de l'élutriat (annexe 4).

Nous avons calculé les pourcentages d'inhibition reliés aux échantillons de 1987 et 1988 à partir des comptes de scintillation fournis par Environnement Canada. Les pourcentages d'inhibition reliés aux échantillons de 1986 nous ont été fournis directement par Environnement Canada. Les données comportent quatre répliquats par concentration sauf pour 1986, année pour laquelle six répliquats pour le blanc (0% d'élutriat) et deux répliquats pour les autres concentrations ont été testés.

Puisque le principe du test est le même que celui du Microtox, nous avons procédé à des régressions pondérées par l'inverse de la variance du pourcentage d'inhibition de la photosynthèse pour chaque concentration. Nous avons également utilisé les courbes semi-logarithmiques et du second degré en plus de la régression linéaire. Cependant, la concentration a été incrémentée de un lors de la transformation logarithmique étant donné qu'il existe pour ce test des concentrations de 0%. Les règles de décision mentionnées précédemment ont été appliquées afin de déterminer le meilleur modèle de régression représentant la courbe concentration-réponse.

2.1.1.3. Le test des nématodes

Ce test consiste à faire croître dans une solution contenant 10% de l'échantillon aqueux à analyser, une centaine de nématodes de stade de développement J2. En comparant les résultats obtenus à ceux d'une population-contrôle, on calcule le taux de survie, le

taux de croissance, le taux de maturation et la condition physique globale (fitness) de la population testée (annexe 5).

Les résultats des analyses nous proviennent de Bioquest International, Inc. (Winipeg, Manitoba).

2.1.2. Choix des variables indicatrices de toxicité

2.1.2.1. Tests Microtox et algal

Un des indices de toxicité relié aux éluutriats qui sont soumis aux tests Microtox et algal est obtenu à partir du meilleur modèle de régression représentant l'équation de la courbe concentration-réponse. Plusieurs des paramètres composants cette équation peuvent être utilisés directement ou indirectement comme de tels indicateurs, soit: 1) la pente et l'ordonnée à l'origine de la courbe, 2) la valeur estimée, à partir de l'équation de la courbe, de la réponse du test à une concentration prédéterminée d'élutriat (ex. pourcentage estimé de l'inhibition de la bioluminescence des bactéries à la concentration 0,75 d'élutriat), ou, à l'inverse, la valeur estimée de la concentration d'élutriat nécessaire à l'obtention d'une réponse prédéterminée (ex. concentration d'élutriat estimée nécessaire à l'obtention d'un pourcentage d'inhibition de la photosynthèse algale de 0,50).

L'indice le plus souvent utilisé en toxicologie est la concentration qui induit chez la population testée 50% de mortalité (CL_{50}) ou d'inhibition métabolique spécifique (CI_{50}), par rapport à la population-contrôle. Dans le cadre de cette étude, ce paramètre ne peut être retenu. En effet, l'élutriat de sédiment provenant du milieu dilué est souvent peu ou non toxique,

lorsqu'il ne stimule pas la bioluminescence des bactéries ou la photosynthèse des algues. De tels échantillons n'induisent que très rarement 50% de mortalité chez la population testée.

Le niveau de la réponse provoqué par une concentration prédéterminée de contaminant s'avère un choix intéressant comme indicateur de toxicité. En effet, quelque soit la concentration choisie, il y aura toujours une réponse associée. Cette réponse sera positive (ex: inhibition de la bioluminescence), nulle (ex: absence d'inhibition ou de stimulation de la bioluminescence) ou négative (ex: stimulation de la bioluminescence). La réponse correspondant à une concentration prédéterminée d'élutriat a donc été choisie comme variable indicatrice de la toxicité de ce dernier. La concentration équivalente à 100% d'élutriat n'étant pas testée selon les protocoles expérimentaux standards utilisés par Environnement Canada, nous avons choisi d'utiliser les réponses associées à une concentration d'élutriat de 75% dans le cas du test Microtox et à une concentration d'élutriat de 87% dans le cas du test algal, comme indicateurs de toxicité des échantillons, de façon à éviter toute extrapolation hasardeuse des résultats. Ces réponses ont été calculées à partir de l'équation correspondant au meilleur modèle de régression (linéaire, semi-logarithmique ou du second degré) représentant la courbe concentration-réponse associée à chaque élutriat. L'ordonnée à l'origine, qui représente le pourcentage d'inhibition (de la bioluminescence ou de la photosynthèse) à une concentration d'élutriat de 0%, est à exclure puisqu'à cette concentration la réponse devrait, en principe, être nulle. Si tel n'est pas le cas, on doit en conclure que le modèle de la régression manque d'ajustement ou qu'il y a eu une erreur de manipulation lors de l'exécution du biotest.

Le choix de la pente comme variable indicatrice de la toxicité est plus problématique. De façon courante en toxicologie, lorsque la toxicité d'un produit est testée envers un organisme, nous obtenons une courbe à l'allure sigmoïdale. Analysons trois types de courbe représentant les réponses associées à trois élutriats distincts A, B et C ayant au départ des concentrations différentes d'un élément toxique X_a , X_b et X_c (Figure 1, voir Volume 2). Compte tenu des divers éventails de concentrations testées, nous obtenons pour l'élutriat A une droite, pour l'élutriat B une courbe de puissance et pour l'élutriat C une courbe de type semi-logarithmique. On ne peut utiliser différents types de transformation pour linéariser chacune des droites puisque nous voulons comparer les pentes et que ces dernières, après transformation, n'auront plus les mêmes échelles de mesure. Il faut donc choisir un type de courbe de référence malgré le manque d'ajustement qui en résultera. La courbe intermédiaire la plus simple étant la droite, nous optons pour celle-ci. Pour l'élutriat A, nous obtenons une pente relativement faible, pour B une pente forte et pour C nous obtenons une pente intermédiaire. Tant que le point de la courbe associé à la concentration maximum d'élutriat testée ne dépasse pas le point d'inflexion de cette courbe, il y aura une forte corrélation entre la pente de la courbe concentration-réponse et la toxicité de l'élutriat. Par contre, plus le point de la courbe associé à la concentration maximum d'élutriat testée dépasse ce point d'inflexion, moins il existe de relation entre les deux paramètres. En effet, la pente de C, qui correspond à l'élutriat le plus toxique, se trouve inférieur à celle de B. Cependant, dans le cadre de notre étude, les concentrations d'éléments potentiellement toxiques présents dans des élutriats étant faibles, le point de la courbe associé à la concentration maximum d'élutriat testée ne dépasse jamais le point d'inflexion de cette courbe. Nous avons donc décidé de

retenir, en plus du pourcentage d'inhibition de la bioluminescence ou de la photosynthèse à une concentration prédéterminée d'élutriat, la pente de la courbe concentration-réponse estimée à partir d'une régression linéaire, comme indice de toxicité de l'élutriat.

Après avoir choisi les indicateurs de la toxicité des élutriats, il faut s'assurer que ces indicateurs reflètent bien les niveaux de toxicité. Nous avons donc comparé à l'aide d'un test de Wilcoxon-Mann-Whitney, les valeurs absolues des pentes et des pourcentages d'inhibition à une concentration d'élutriat prédéterminée provenant de régressions significatives à celles calculées à partir des régressions non significatives. Pour les fins de cette analyse, un taux d'inhibition négatif (stimulation) a été considéré comme le reflet d'une toxicité au même titre qu'un taux d'inhibition positif, c'est pourquoi nous utilisons la valeur absolue des réponses. Nous considérons qu'un élutriat est toxique lorsque la régression entre les concentrations testées de ce dernier et les taux d'inhibition de bioluminescence ou de photosynthèse correspondants est significative ($P < 0,05$). S'il existe une différence entre les indicateurs obtenus à partir des régressions significatives et ceux obtenus à partir des régressions non-significatives c'est que les indicateurs reflètent clairement la toxicité des élutriats.

2.1.2.2. Test des nématodes

Pour les fins de l'analyse statistique, nous n'avons retenu que l'indice de condition physique des nématodes comme indicateur quantitatif de la toxicité des élutriats envers ceux-ci, puisque ce paramètre exprime de façon globale l'état de santé des

nématodes, suite à la contamination de leur environnement (Samoiloff, 1990).

2.1.3. Données physico-chimiques

Les matrices de données concernant la physico-chimie des éluviats à base de sédiment frais (Annexe 1a, voir Volume 2) et congelés (Annexe 2), des sédiments et des eaux de dilution ont été élaborées à partir des données fournies par Environnement Canada.

2.1.3.1. Validation des analyses chimiques

L'un des principes élémentaires en chimie des solutions est que le nombre d'anions doit être équivalent au nombre de cations. Nous avons utilisé ce principe afin de quantifier la justesse des résultats des analyses chimiques en comparant, pour chaque éluviat, la somme des anions majeurs à celle des cations majeurs. Une autre façon de valider les analyses chimiques est de comparer la conductivité spécifique, ainsi que la dureté totale, à une conductivité théorique et une dureté calculée.

Nous avons utilisé un test t pour échantillons appariés afin de comparer: 1) la somme des anions à la somme des cations, 2) la conductivité théorique à la conductivité spécifique et finalement, 3) la dureté calculée à la dureté totale. La somme des anions et des cations ainsi que la conductivité théorique et la dureté calculée ont été estimées à partir des formules suivantes (NAQUADAT, 1988):

$$\text{Anions} = (0,01998 * \text{Alcalinité}) + (0,02082 * \text{Sulfates}) + (0,02821 * \text{Chlorures}) + (0,0714 * \text{Azote})$$

$$\begin{aligned} \text{Cations} = & (0,0499 * \text{Calcium}) + (0,0823 * \text{Magnésium}) + \\ & (0,0435 * \text{Sodium}) + (0,0557 * \text{Potassium}) + \\ & (992,09 / 10^{\text{pH}}) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Conduc. théo.} = & (2,98 * \text{Calcium}) + (4,35 * \text{Magnésium}) + \\ & (2,21 * \text{Sodium}) + (1,88 * \text{Potassium}) + \\ & (0,73 * \text{Alcalinité}) + (1,67 * \text{Sulfates}) + \\ & (2,15 * \text{Chlorures}) \end{aligned}$$

$$\text{Dureté calc.} = (2,497 * \text{Calcium}) + (4,116 * \text{Magnésium})$$

Nous avons également vérifié, par un test t, si le bilan ionique ainsi que celui de la conductivité et de la dureté sont, en moyenne, égale à 0. Les formules utilisées pour calculer les bilans sont les suivantes (NAQUADAT, 1988):

$$\text{Bilan ionique} = 100 * \frac{(\text{Cations} - \text{Anions})}{(\text{Cations} + \text{Anions})}$$

$$\text{Bil. de la conduc.} = 100 * \frac{(\text{Conduc. speci.} - \text{Conduc. théo.})}{\text{Conduc. théo.}}$$

$$\text{Bilan de la dureté} = 100 * \frac{(\text{Dureté totale} - \text{Dureté calc.})}{\text{Dureté calc.}}$$

2.1.3.2. Les données manquantes ou sous le seuil de détection

Plusieurs éluutriats à base de sédiment frais comportaient des données manquantes quant à leur physico-chimie. C'était tout particulièrement le cas pour 2 échantillons de 1987 et pour 15 échantillons de 1988 pour lesquels les données sur l'ensemble des métaux étaient inexistantes. L'ensemble des données reliées à ces éluutriats a donc été écarté des analyses. Plusieurs variables physico-chimiques reliées aux mêmes éluutriats, dont les organo-

chlorés, présentait des valeurs inférieures aux seuils de détection et/ou des données manquantes. Toutes les variables contenant plus de 10% de données manquantes pour l'ensemble des stations ont également été retirées de la matrice. En ce qui concerne les résultats sous le seuil de détection, nous leur avons attribué la demi valeur du seuil, sauf pour la variable "matières solides en suspensions" qui a été éliminée puisque plus de 70% des résultats étaient égaux ou inférieurs au seuil. La matrice finale (Annexe 1a) ne contient que trois variables comportant des données manquantes. Il s'agit du carbone organique dissous (4 données manquantes), de la dureté totale (1 donnée manquante) et du phosphore (5 données manquantes). La donnée manquante pour la dureté totale a été remplacée par la dureté calculée. Dans les cas du carbone et du phosphore, nous avons eu recours à la régression multiple avec, comme variables indépendantes, l'ensemble des variables de la matrice finale pour estimer les données manquantes.

2.1.3.3. Le pH

Le pH n'a pas été retenu dans les analyses comme variable physico-chimique susceptible d'expliquer la réponse toxique des différents bioessais. Ce choix a été effectué étant donné que le pH est modifié au cours de l'expérimentation pour deux des trois bioessais. En effet, conformément au protocole expérimental du test Microtox, le pH de certains échantillons a été ajusté aux environs de 7,0 par l'ajout de HCL ou de NaOH. De même, pour le test des nématodes, on utilise une solution tampon phosphate contenant 10% d'élutriat.

2.2. Traitement statistique des données

2.2.1. Relations entre les résultats des bioessais et la physico-chimie des éluviats

Afin de déterminer s'il existe une relation entre les résultats des bioessais et la composition chimique des éluviats, nous avons eu recours à trois types d'analyses soit la corrélation, l'ordination en espace réduit et la régression multiple.

La corrélation nous permettra d'établir les relations existant entre les résultats des bioessais et chacune des variables physico-chimiques, ainsi qu'entre ces dernières. Nous avons utilisé deux types de corrélations soit la corrélation paramétrique de Pearson basée sur une relation linéaire entre deux variables, et la corrélation non-paramétrique de Kendall calculée à partir du nombre de rangs d'ordre supérieur et inférieur entre deux séries à comparer (Legendre et Legendre 1984).

L'ordination en espace réduit permet de représenter dans un système d'axes l'ensemble de la variabilité de la matrice de données. Cette méthode permet d'obtenir des informations quantitatives sur la valeur des projections dans le plan retenu, ainsi que de dégager des relations entre les descripteurs (Legendre et Legendre 1984). Deux méthodes d'ordination ont été utilisées: l'analyse en composantes principales (A.C.P.) basée sur une rotation d'axes maximisant l'explication de la variance totale et l'analyse factorielle de correspondances (A.F.C.) élaborée à partir de tableaux de contingence qui maximise l'explication des écarts à l'indépendance. Les deux méthodes d'ordination font usage d'une matrice de dispersion dont l'interprétation n'est valable que si le nombre des observations qui y figurent est

supérieur au nombre de variables qui y sont représentées. Pour ce qui est du test algal, un problème se pose car le nombre des observations figurant sur la matrice de dispersion est inférieur au nombre des variables. Nous ne pouvons donc utiliser l'A.C.P. dans ce cas. Cependant, étant donné que l'A.F.C. est une analyse non-paramétrique - donc plus robuste que l'A.C.P. - et que l'interprétation se fera à l'aide des premiers axes, nous l'avons quand même utilisée en ne cherchant à interpréter que ces premiers axes.

Finalement, nous avons effectué une régression multiple de type pas à pas entre la réponse de chaque bioessai et l'ensemble des variables physico-chimiques. La régression permettra, d'une part, d'établir un modèle de prédiction des résultats des bioessais à partir de la composition physico-chimique des éluviats, et d'autre part, de mieux comprendre la complexité des interrelations entre les variables physico-chimiques en examinant le processus de sélection des variables à chaque pas de la régression.

2.2.2. Effet de la congélation

Afin de vérifier si la congélation des sédiments avant éluvation peut avoir un effet sur la toxicité des éluviats, nous avons utilisé une analyse de variance à mesures répétées avec contrastes polynomiaux (SAS, 1988; Wiener, 1971). En ce qui concerne l'effet de la congélation des sédiments sur la physico-chimie des éluviats, nous ne pouvions utiliser le même type d'analyse puisque l'analyse de variance à mesures répétées ne tolère aucune valeur manquante. Pour pallier à ce problème, nous avons effectué, pour chaque variable, un test t de comparaison de

moyennes pour échantillons appariés (Scherrer, 1984; Sokal and Rohlf, 1981) entre les résultats des éutriats frais et ceux de chaque temps de congélation. Ainsi, à l'aide d'un tableau récapitulatif contenant la valeur à divers temps de congélation des variables présentant des différences significatives, il sera possible d'en dégager les grandes tendances.

2.2.3. Transfert d'éléments chimiques des sédiments aux éutriats

Nous avons voulu vérifier la relation existant entre la physico-chimie des éutriats et celle des sédiments ayant servi au processus d'éutriation. Pour ce faire, nous disposons des résultats d'analyse chimique des sédiments de 58 stations. Les analyses statistiques que nous avons utilisées sont les corrélations de Pearson et de Kendall.

De plus, nous voulions évaluer l'enrichissement de l'eau de dilution en éléments chimiques au cours du processus d'éutriation. Les cinq échantillons d'eau de brassage utilisés pour l'éutriation de 21 échantillons de sédiment ont été analysés au préalable. Les résultats obtenus pour chaque variable physico-chimique ont été comparés à ceux des éutriats par le biais du test t de comparaison de moyennes ainsi que du test de Wilcoxon-Mann-Withney (Sokal and Rohlf, 1981).

Finalement, 4 échantillons d'eau de dilution ayant servi de blanc lors du processus d'éutriation sans sédiment ont fait l'objet d'analyses physico-chimiques. En comparant chaque élément physico-chimique de l'eau avant et après éutriation sans sédiment par un test t pour échantillons appariés, il sera possible de vérifier si le processus d'éutriation en soi a un effet sur la composition de cette eau de brassage.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1. Validation des analyses chimiques

Trois critères ont été utilisés afin de valider les résultats des analyses chimiques. Ces trois critères sont 1) la somme des anions vs la somme des cations, 2) la conductivité spécifique vs la conductivité théorique et 3) la dureté totale vs la dureté calculée.

Le tableau 1 (voir Volume 2) nous présente les résultats du test de comparaison de moyennes pour échantillons appariés. Ce test consiste à calculer la moyenne des différences observées entre chaque paire d'éléments et de vérifier si cette moyenne est nulle. Les résultats indiquent qu'il existe, en moyenne, un biais significatif ($P < 0,05$) entre la conductivité spécifique et la conductivité théorique ainsi qu'entre la dureté totale et la dureté calculée. Etant donné qu'on observe uniquement une différence au niveau de la conductivité et de la dureté, on peut expliquer ces observations selon deux hypothèses: 1) il existe un biais au niveau de l'ensemble des analyses chimiques, 2) les mesures de la conductivité spécifique et de la dureté totale sont biaisées.

Cependant, ce test nous renseigne sur la moyenne des différences mais non sur l'importance de ces différences. Pour obtenir cette information, nous avons calculé, pour chaque échantillon, un bilan ionique ainsi qu'un bilan pour la conductivité et la dureté. Le tableau 2 nous présente les résultats du test de comparaison de moyenne pour chaque bilan. Conformément aux résultats du test précédent, la conductivité et la dureté ont, en moyenne, un bilan

significativement différent de zéro. Ces différences sont, en moyenne, inférieures à 4% pour la conductivité et à 2% pour la dureté. Ainsi, même s'il semble exister une erreur au niveau des analyses chimiques, ce biais est inférieur à 4%.

3.2. Estimation des données manquantes

Après avoir épuré la matrice des éluviats à base de sédiment frais des éléments chimiques contenant un pourcentage élevé de données manquantes (et/ou de données sous le seuil de détection pour les éléments chimiques), nous avons estimé les données manquantes pour le carbone organique dissout, la dureté totale et le phosphore. La valeur manquante pour la dureté totale a été remplacée par la dureté calculée. Pour le carbone organique dissout l'équation obtenue à partir de la régression multiple est la suivante:

$$\begin{aligned} \text{Car. org. diss.} = & (-1,3416 * \text{Chlore}) + \\ & (0,1908 * \text{Conduc. spéci.}) + \\ & (-0,2453 * \text{Dureté tot.}) + \\ & (4,1030 * \text{Potassium}) + 8,2914 \end{aligned}$$

Le coefficient de corrélation multiple du modèle (R^2) est de 0,6627 et la probabilité associée au modèle est de 0,0001.

Pour le phosphore, nous avons obtenu l'équation suivante:

$$\begin{aligned} \text{Phosphore} = & (0,0041 * \text{Alcalinité}) + (-0,0038 * \text{Dureté tot.}) + \\ & (0,00003 * \text{Fer}) + (0,0095 * \text{Nickel}) + \\ & (0,0145 * \text{Potassium}) + (-0,0068 * \text{Sodium}) + \\ & (0,0038 * \text{Sulfates}) + 0,0764 \end{aligned}$$

Le coefficient de corrélation multiple est de 0,9276 et la probabilité du modèle est de 0,0001.

3.3. Relation entre la réponse des bioessais et la physico-chimie des éluutriats

3.3.1. Le test Microtox

3.3.1.1. Les variables indicatrices de la toxicité

Les résultats des régressions entre la concentration des éluutriats et le pourcentage d'inhibition de la bioluminescence sont présentés en annexe. L'annexe 6 présente les paramètres des régressions linéaires pour chaque station après cinq minutes d'exposition à l'éluutriat. On obtient 37 régressions significatives ($P < 0,05$) sur un total de 55 stations. Parmi ces 37 régressions, 25 correspondent à une inhibition (pente positive) et 12 dénotent une stimulation (pente négative). Les paramètres des régressions obtenus à partir du meilleur modèle pour chaque station après cinq minutes d'exposition ainsi que l'estimation du taux d'inhibition pour une concentration de 75% d'éluutriat sont présentés à l'annexe 7. On obtient des régressions significatives pour 39 des 55 stations. Si on prend comme référence le signe du pourcentage d'inhibition, on observe que 28 des 39 régressions significatives montrent une inhibition de la bioluminescence alors que 11 stations montrent une stimulation.

Les résultats des régressions linéaires pour le test microtox après 15 minutes d'exposition à l'éluutriat sont présentés à l'annexe 8. On dénote que, sur les 16 régressions, 10 sont

significatives dont 3 avec une pente positive et 7 avec une pente négative. L'annexe 9 présente les résultats des régressions selon le meilleur modèle après une exposition de 15 minutes à l'élutriat. Sur les 16 stations, 10 régressions sont significatives et le signe de la réponse pour une concentration de 75% d'élutriat indique une inhibition dans 4 des 10 régressions significatives et une stimulation dans les 6 autres.

Afin de vérifier si les valeurs associées aux indicateurs de la toxicité reflètent bien une toxicité réelle, nous avons comparé les valeurs absolues des indicateurs calculées à partir des régressions significatives à celles calculées à partir des régressions non significatives. Etant donné que la condition d'homogénéité des variances n'est pas respectée, nous avons utilisé un test de Wilcoxon-Mann-Whitney plutôt qu'une analyse de variance. Les résultats des analyses, pour le test correspondant à 5 minutes d'exposition, indiquent que les pentes obtenues à partir des régressions linéaires significatives ainsi que les réponses estimées à partir du meilleur modèle de régression significative sont effectivement différentes de celles obtenues à partir des régressions non significatives. La probabilité est inférieure à 0,0001 pour l'analyse statistique concernant les pentes alors qu'elle est de 0,0022 pour celle des réponses. Cependant, pour ce qui est des réponses estimées et des pentes associées au test Microtox avec 15 minutes d'exposition, les résultats du test de Wilcoxon-Mann-Whitney démontrent qu'il n'y a pas de différence entre les réponses estimées à partir des régressions significatives et celles estimées à partir des régressions non-significatives ($P= 0,1158$), mais qu'il y en a une en ce qui concerne les pentes ($P= 0,0108$).

3.3.1.2. Corrélation entre les réponses du test Microtox et la physico-chimie des éluviats

Les résultats des corrélations de Pearson entre MIR5 (pourcentage d'inhibition estimé à partir du meilleur modèle de régression pour une concentration d'éluviat de 0,75 après cinq minutes d'exposition) et les variables physico-chimiques des éluviats (Annexe 10) sont schématisés à la figure 2. Les variables qui y sont présentées, sont celles qui ont un coefficient de corrélation significativement différent de zéro. Elles sont classées selon la valeur absolue du coefficient de corrélation avec MIR5 qui figure sous chacune d'elle. Une accolade représente une relation significative entre deux variables et le coefficient de corrélation qui y est associé.

De prime abord, on observe que MIR5 est corrélé de façon positive avec le plomb, l'arsenic et la couleur apparente. Cependant, les relations significatives observées entre MIR5 et certaines variables peuvent être le fruit d'une multicolinéarité entre les variables physico-chimiques et non pas d'une relation de cause à effet. Prenons le cas de la couleur apparente. Cette dernière, en plus d'être corrélée à MIR5, l'est au plomb et à l'arsenic. La couleur apparente a des coefficients plus élevés avec le plomb et l'arsenic qu'avec MIR5. Ainsi, la corrélation observée entre MIR5 et la couleur apparente pourrait être une corrélation fallacieuse induite par les corrélations existant entre le plomb, l'arsenic et MIR5 de même qu'entre le plomb, l'arsenic et la couleur apparente.

Si on analyse les relations entre le plomb, l'arsenic et MIR5, on observe que le plomb et l'arsenic ont le même coefficient de corrélation avec MIR5. Même s'il existe une corrélation relativement forte entre le plomb et l'arsenic, on peut conclure que ces

deux variables ont une relation directe et complémentaire avec MIR5 puisque la corrélation entre le plomb et l'arsenic est inférieure à 1. Cette conclusion s'appuie sur les règles de base suivante: 1) plus une variable possède un coefficient de corrélation élevé avec le résultat du bioessai, plus cette variable peut expliquer le résultat du bioessai et 2) plus une variable est corrélée avec une autre variable est elle-même plus fortement corrélée au résultat du bioessai, plus on considère la corrélation entre cette première variable et le résultat du bioessai comme fallacieuse. Ces règles de conduite sont introduites pour faciliter l'interprétation des analyses statistiques, mais elle ne sont en aucun cas infaillibles. L'ordination en espace réduit nous permettra plus tard de mieux visualiser les interrelations entre les variables.

La synthèse des résultats qui concernent les corrélations de Kendall avec MIR5 (Figure 3) ajoute aux variables déjà identifiées par les corrélations de Pearson - et dans un ordre décroissant de signification - l'alcalinité (corrélation négative), le fer (corr. positive) et le magnésium (corr. négative).

Les deux types de corrélation (Pearson et Kendall) nous suggère que le plomb et l'arsenic jouent un rôle important dans l'inhibition de la bioluminescence.

Les résultats des corrélations des variables physico-chimiques avec MIP5L (pente de la courbe concentration-réponse obtenue à partir de la régression linéaire entre les taux d'inhibition de la bioluminescence et les concentrations d'élutriat, après 5 minutes d'exposition) sont présentés à la figure 4 (corrélations de Pearson) et à la figure 5 (corrélations de Kendall). Les deux analyses font ressortir le cadmium comme variable explicative de

la toxicité alors que l'arsenic vient en second lieu selon la méthode de Kendall et en troisième lieu, après le zinc, dans le cas des corrélations de Pearson. La position du zinc entre le cadmium et l'arsenic peut s'expliquer, en partie, par la corrélation non négligeable qui existe entre le zinc et le cadmium.

L'intérêt des résultats des corrélations de Kendall pour MIP5L est qu'il existe très peu de multicollinéarité entre les variables sélectionnées. Il est donc tout à fait plausible que le cadmium, l'arsenic et le plomb inhibent la bioluminescence alors que le manganèse la stimule.

Peu de variables physico-chimiques sont associées significativement aux résultats des variables indicatrices de la toxicité pour le test Microtox après 15 minutes d'exposition à l'élutriat. Ceci s'explique par le fait que l'effectif des échantillons est plus faible. Les corrélations de Pearson et de Kendall nous indiquent qu'aucune variable n'est associée à la réponse d'inhibition (MIR15) associée à une concentration d'élutriat de 75%. La variable qui se trouve le plus près du seuil de signification est, pour les corrélations de Pearson, le cuivre avec un coefficient de $-0,4844$ ($P= 0,0573$) et, pour les corrélations de Kendall, le phosphore avec un Tau de $-0,3431$ ($P=0,0646$). Par contre, selon la méthode de Pearson, le cuivre est corrélé de façon négative avec MIP15L (pente de la courbe concentration-réponse associée à une exposition à l'élutriat de 15 min.) ($R= -0,5243$ et $P= 0,0371$). Les corrélations de Kendall nous montrent que non seulement il existe une relation entre MIP15L et le cuivre ($T= -0,3833$ et $P= 0,0384$) mais également entre MIP15L et le nickel ($T= -0,4101$ et $P= 0,0272$). Le cuivre et le nickel sont d'ailleurs corrélés entre eux avec un tau de $0,4538$ ($P= 0,0001$).

Mentionnons pour terminer que MIP5L, MIR5, MIP15L et MIR15 ont, entre eux, des coefficients de corrélation de Pearson supérieurs à 0,88 et des taux de Kendall supérieurs à 0,65 (Tableau 3).

L'ensemble des résultats concernant les corrélations entre les résultats du test Microtox et la physico-chimie des éluviats nous suggèrent que l'arsenic, le cadmium et le plomb sont associés à une inhibition de la bioluminescence alors que le magnésium, ainsi qu'un ensemble de métaux de transition légers tels le cuivre, le manganèse et le nickel, semblent plutôt être associés à une stimulation.

3.3.1.3. L'ordination en espace réduit

Le premier axe des ordinations en espace réduit représente le maximum de la variation de l'ensemble des données pouvant être expliquée sur une seule dimension. Les axes subséquents représentent, à tour de rôle, le maximum de variation qui n'a pas déjà été expliquée par les axes antérieurs (variation résiduelle). Pour établir la relation la plus claire possible entre les réponses des bioessais et la physico-chimie des éluviats, nous avons donc décidé d'analyser principalement les trois premiers axes, puisque c'est sur ces axes que l'on retrouve les relations les plus évidentes entre les descripteurs. Les axes subséquents seront analysés si besoin est.

L'exercice qui consiste à effectuer un lien entre les descripteurs (variables physico-chimiques et indicateurs de toxicité) et les objets (stations d'échantillonnage) ne sera pas fait ici puisqu'il n'apporterait aucun renseignement pertinent dans le cadre de notre objectif principal.

L'analyse en composantes principales (A.C.P.)

Les statistiques concernant les valeurs propres de la matrice de corrélation nous indiquent que les trois premiers axes expliquent 61,6% de la variance totale dont 29,0% pour le premier axe, 21,4% pour le deuxième et 11,2% pour le troisième. Les coefficients de saturation ("standardized scoring coefficients") nous indiquent que les variables MIR5 et MIP5L contribuent principalement à la formation de l'axe trois (Tableau 4). Nous allons donc nous concentrer sur les plans formés par cet axe en association avec les deux axes précédents.

Si l'on retient les variables dont la valeur absolue des coefficients est supérieure à 0,1 sur le troisième axe, on identifie, en ordre décroissant, le cadmium, le zinc et le chrome comme variables ayant un coefficient de corrélation positif. Pour ce qui est des variables ayant un coefficient de corrélation négatif, on identifie, par ordre décroissant d'importance, le carbone organique dissout, le nickel, le sélénium et le potassium. Une attention particulière devra donc être portée sur le positionnement des axes-descripteurs associés à ces variables.

En espace réduit, la corrélation entre les variables est proportionnelle à l'angle observé entre les axes-descripteurs et non à la proximité entre les extrémités des vecteurs variables (Legendre et Legendre 1984). Ainsi, on cherche les variables qui forment des angles aigus (corrélation positive) avec MIR5 et MIP5L ou encore des angles obtus de près de 180° (corrélation négative) avec MIR5 et MIP5L.

Si l'on examine la position des descripteurs dans le plan formé par les axes 1 et 3 (Figure 6), on observe que les variables qui représentent la réponse du test Microtox, sont situées dans la

portion supérieure gauche du premier quadrant. Il est normal et souhaitable que l'angle entre MIR5 et MIP5L soit petit. Les variables qui démontrent, dans ce plan, une corrélation positive avec MIR5 et MIP5L sont le cadmium et le chlore. Par contre, on n'observe aucune variable en opposition directe. Les variables les plus rapprochées d'un angle de 180° sont le carbone organique dissout et la conductivité spécifique. La réponse toxique serait donc d'autant plus forte que les valeurs de ces deux variables sont faibles. Mentionnons que le plomb et l'arsenic forment avec MIR5 et MIP5L des angles variant entre 45° et 75°.

Dans le plan des axes 2 et 3 (Figure 7), on retrouve les variables représentant la toxicité dans la région supérieure gauche du premier quadrant. Les variables qui leur sont associées de façon positive sont le zinc et le cadmium. Sur ce plan, le nickel et le carbone organique dissout sont corrélés négativement à la toxicité. Les axes-descripteurs du plomb et de l'arsenic forment des angles de 50° à 70° avec ceux de MIR5 et MIP5L.

Si on compare les résultats de l'A.C.P. avec ceux des corrélations de Pearson (ces deux analyses étant de type paramétrique), il n'y a que le cadmium, le nickel et le zinc qui sont communs aux deux. Qu'advient-il de l'arsenic, de la couleur apparente et du plomb, qui semblaient jouer un rôle majeur dans l'inhibition de la bioluminescence? Il faut d'abord mentionner qu'une projection d'angles de corrélation dans un espace réduit ne rend pas compte de la totalité de la corrélation entre variables (Legendre et Legendre 1984). De plus, nous n'avons pas analysé le premier plan formé par l'axe 1 et 2 puisque, dans ce plan, les axes-descripteurs des variables MIR5 et MIP5L sont relativement courts (Figure 8). Un axe-descripteur près de l'origine (axe court) indique que la variance observée pour cette variable n'est que

marginale ment expliquée par ce plan, ce dernier n'exprimant qu'une fraction de la variance totale. Cependant, c'est dans ce premier plan que l'on retrouve les principales relations entre les variables physico-chimiques concordant avec les résultats des corrélations de Pearson. Si les variables indicatrices de la toxicité ne sont pas mises en évidence dans ce plan, c'est tout simplement dû au fait que la toxicité n'est pas reliée à une seule variable mais à un ensemble de variables et que MIR5 et MIP5L ne peuvent se positionner dans ce plan tout en respectant les relations avec et entre les autres variables. Les deux variables indicatrices de la toxicité vont donc se positionner sur un autre plan qui expliquera mieux leur variance.

Le plan qui représente le plus fidèlement les relations décrites par les corrélations de Pearson et de Kendall, est celui formé par les axes 3 et 4 (Figure 9). Sur ce plan, MIR5 et MIP5L sont corrélés positivement avec le cadmium, le zinc, l'arsenic et la couleur apparente alors que le nickel, le magnésium, l'alcalinité, la dureté totale, le cuivre et la conductivité spécifique leur sont corrélés de façon négative.

L'analyse factorielle des correspondances (A.F.C.)

Les statistiques concernant l'inertie principale, nous indiquent que les trois premiers axes expliquent 61,1% de l'inertie totale soit 38,8% pour le premier axe, 12,9% pour le deuxième axe et 9,4% pour le troisième. Les cosinus carrés entre les axes-descripteurs et les axes factoriels nous indiquent que MIR5 et MIP5L sont en association avec le troisième axe (Tableau 5). Les variables qui ont un coefficient supérieur à 0,1 avec ce même axe sont, par ordre décroissant d'importance, le carbone organique dissout, le cadmium, le manganèse, le nickel, le zinc, le plomb, les sulfates,

l'azote, le phosphore et l'alcalinité. Nous allons donc examiner les plans formés par l'axe 3 et les deux premiers axes.

On interprète les relations entre les variables de la même façon que dans le cas de l'A.C.P.: plus l'angle entre deux variables se rapproche de 0° ou de 180° , plus la corrélation entre ces variables est importante (respectivement positive et négative). Le plan formé par les axes 1 et 3 nous révèle que MIP5L et MIR5 sont reliés positivement avec le sélénium, le cadmium, l'azote, le zinc, les sulfates et le plomb, et négativement avec le manganèse, le carbone organique dissout, le nickel, le potassium, le phosphore et l'alcalinité (Figure 10). Sur le deuxième plan formé par les axes 2 et 3 (Figure 11), on observe que les sulfates, l'azote, le plomb, la couleur apparente, le chlore, le fer, le sélénium, le cadmium, et le cobalt sont en association positive avec les indicateurs de toxicité alors que le nickel, le phosphore, l'alcalinité, la dureté totale, le manganèse, le carbone organique dissout, le magnésium et la conductivité spécifique se trouvent en corrélation négative. On retrouve sur ces deux derniers plans de l'A.F.C. l'ensemble des relations observées par les analyses de corrélation à l'exception de la relation impliquant l'arsenic.

L'association entre les deux variables indicatrices de la toxicité pour le test Microtox d'une part et l'arsenic d'autre part apparaît dans plan formé par les axes 1 et 2 (Figure 12). Cependant, sur ce plan MIP5L et MIR5 sont relativement près de l'origine, ce qui indique que la variance observée pour ces deux variables n'est que marginalement expliquée par le plan.

Même si les ordinations en espace réduit nous aident à mieux visualiser les interrelations existant entre les variables, ces

méthodes d'analyse ne sont pas de type probabiliste et permettent difficilement la distinction entre les variables qui contribuent réellement à la toxicité de celles qui sont le fruit de multicolinéarité. La régression multiple de type pas à pas permettra de faire la lumière sur ces questions.

3.3.1.4. La régression multiple de type pas à pas

La régression multiple vise, entre autres, à évaluer le degré de dépendance entre une variable dite dépendante et un ensemble d'autres variables qualifiées d'indépendantes. Comme le mentionne Scherrer (1984, p.690), avec ce type d'analyse,

"...on pourra tester si une variable indépendante a un effet significatif sur la variable dépendante; si 2 ou 3 variables ont une contribution additive dans l'explication de la variation de la variable dépendante; si la relation entre une variable indépendante et une dépendante est masquée par l'influence d'une autre variable indépendante agissant de façon inverse; si un ensemble de variables n'est pas linéairement relié à une variable dépendante."

Le processus de sélection pas à pas des variables indépendantes s'effectue comme suit. En premier lieu, la variable qui présente le coefficient de corrélation multiple (R^2) le plus élevé avec la variable dépendante est sélectionnée. A l'étape suivante, un coefficient de corrélation partielle (r^2) est calculé pour les variables qui n'ont pas été incluses dans le modèle. Ce coefficient représente la contribution directe que peut apporter une variable indépendante à l'explication de la variance résiduelle (variance de la variable dépendante qui n'est pas expliquée par la ou les variables qui font déjà partie du modèle). La variable qui a le coefficient de corrélation partielle le plus élevé, tout en étant significatif, entre à son tour dans

l'équation. Lorsqu'une troisième variable entre dans le modèle selon le même processus, la contribution des variables choisies antérieurement est réexaminée en les considérant à tour de rôle comme si chacune d'elles était la dernière entrée dans le modèle. Ainsi, la première variable qui est entrée dans l'équation sera exclue de celui-ci si la contribution des deux dernières variables à l'explication de la variance de la variable dépendante inclut la contribution apportée par la première. Ce processus de vérification est effectué à chaque fois qu'une nouvelle variable est sélectionnée. L'analyse se termine lorsqu'il ne reste plus de variable possédant un coefficient de corrélation partielle significatif.

Le tableau 6 nous présente, pour chaque pas de l'analyse concernant MIR5, les coefficients de corrélation partielle ainsi que la probabilité associée à chaque variable indépendante qui ne fait pas encore partie du modèle. Les variables candidates ayant au premier pas une probabilité inférieure à 0,05 sont, par ordre d'importance de la corrélation, le plomb, suivi de très près par l'arsenic et la couleur apparente. Mentionnons que le coefficient de corrélation multiple est égal au carré du coefficient de corrélation de Pearson. Le plomb est donc sélectionné et à l'étape suivante, c'est le nickel et le cuivre qui deviennent les prochaines variables susceptibles d'entrer dans le modèle. L'arsenic et la couleur apparente se retrouvent ici avec une probabilité nettement supérieure au seuil de signification. Ainsi, l'arsenic et la couleur apparente n'apportent aucune explication supplémentaire à celle du plomb. Après avoir inclus le nickel dans l'équation, aucune variable restante ne possède de probabilité au dessous du seuil de 0,05. La variable qui s'en rapproche le plus est le magnésium avec une probabilité de 0,0598.

Le résumé du processus de sélection de la régression multiple avec MIR5 ainsi que les coefficients de régression associés à chacune des variables indépendantes du modèle, sont présentés au tableau 7. Le R^2 du dernier pas indique le pourcentage de la variance de la variable dépendante expliqué par l'équation. Cette valeur est de 23,8% pour MIR5 et ce, de façon très hautement significative. On remarque dans ce tableau que le coefficient de régression du plomb est positif, ce qui suggère que cette variable inhibe la bioluminescence. On devait s'attendre à un tel résultat puisque le signe du coefficient de corrélation de Pearson est également positif. De son côté, le nickel qui a un coefficient négatif, stimule la bioluminescence. Ainsi, après avoir expliqué une partie de la variation de la réponse du test Microtox par le plomb, associé à une inhibition de la bioluminescence, une deuxième variable est considérée pour expliquer une portion de la variation reliée à une stimulation. Ceci ne pouvait être mis en évidence par les résultats des corrélations ni par ceux des ordinations en espace réduit puisque les relations identifiées le sont sur des résultats exprimant l'effet combiné des variables inhibitrices et stimulatrices.

Le tableau 8 nous présente, pour chaque pas de la régression multiple entre MIP5L et les variables physico-chimiques, le processus de sélection des variables indépendantes. A la première étape, nous retrouvons les mêmes variables candidates au modèle que celles qui étaient significatives avec l'analyse de Pearson. Ces variables suivent également le même ordre d'importance soit le cadmium, le zinc, suivies de très près par l'arsenic, le nickel et finalement les sulfates. Le cadmium est donc sélectionné et au pas suivant, le nickel reste significatif avec une nouvelle variable candidate qui est le cuivre et c'est cette dernière qui entre dans le modèle. Etant donné que le signe du coefficient de

régression du cuivre est négatif (Tableau 9) et, qu'à l'étape suivante, le coefficient de corrélation partiel du nickel n'est plus significatif, on peut affirmer qu'au deuxième pas, le nickel est associé à une stimulation. A l'étape de sélection suivante, nous avons, par ordre décroissant des coefficients significatifs, la couleur apparente, le plomb, l'arsenic, le fer et le cobalt. L'inhibition associée à chacun des éléments chimiques précédents est expliquée par la couleur apparente puisque, celle-ci choisie, aucune de ces variables ne reste significative à l'étape suivante. Au quatrième pas, le zinc redevient significatif et entre dans le modèle puisque c'est le seul candidat. A l'étape suivante, un phénomène intéressant se produit. Après l'entrée du zinc dans l'équation, le cadmium en est retiré et le processus de sélection des variables se termine au sixième pas. Le cadmium a été retiré du modèle puisque l'explication qu'apporte cette variable à l'inhibition de la bioluminescence s'est trouvée inférieure à ce qu'explique l'association de la couleur apparente et du zinc (le cuivre étant associé à une stimulation). L'équation finale explique, de façon très hautement significative, 47,4% de la variance de MIP5L.

Au premier pas de la régression multiple avec la variable dépendante MIR15, aucune variable physico-chimique ne possède de coefficient de corrélation multiple significatif (Tableau 10). Etant donné que la probabilité du coefficient du cuivre est de 0,0573, nous avons décidé d'augmenter le seuil d'acceptation à 0,06. Après avoir forcé l'entrée du cuivre dans le modèle, on se retrouve au deuxième pas avec quatre variables candidates significatives soit le plomb, l'azote, la couleur apparente et le mercure. Au troisième pas, plus aucune variable n'a de coefficient de corrélation partiel significatif. En provoquant la sélection du cuivre à la première étape, nous avons pu identifier

des variables associées à l'inhibition de la bioluminescence. Nous nous retrouvons avec une équation expliquant 53,8% de la variance de MIR15 (Tableau 11).

Seul le cuivre possède un coefficient significatif à la première étape de la régression multiple avec MIP15L, comme variable dépendante (Tableau 12). Après avoir inclus le cuivre dans le modèle, six variables deviennent candidates au deuxième pas. Toujours selon le même classement, ces variables sont la couleur apparente, le cobalt suivi de très près par le cadmium, le plomb, le zinc et le fer. Toutes ces variables sont associées à l'inhibition de la bioluminescence puisque le coefficient de régression de la couleur apparente est positif (Tableau 13) et, qu'à l'étape suivante, aucune variable ne contribue significativement à l'explication de la variance résiduelle. Le coefficient de corrélation multiple de l'équation finale nous indique que 69,0% de la variance de MIP15L est expliquée par ce modèle.

La régression multiple nous permet d'identifier la meilleure combinaison de variables expliquant le maximum de la variance de la variable dépendante, tout en minimisant la redondance dans l'information. A partir des résultats précédents, nous pouvons conclure que le cadmium, la couleur apparente, le plomb et le zinc jouent un rôle important dans l'inhibition de la bioluminescence, alors qu'en ce qui concerne la stimulation, les variables déterminantes sont le cuivre et le nickel.

Si on récapitule les résultats obtenus pour l'ensemble des analyses, le cadmium serait le principal élément chimique qui inhibe la bioluminescence. En ce qui concerne le plomb, le zinc et l'arsenic, la relation est moins évidente. Le zinc est corrélé

au cadmium et son association avec la toxicité est généralement moins importante que celle du cadmium. Le plomb et l'arsenic sont fortement corrélés à la couleur apparente. De plus, il n'y a que les analyses de corrélation qui établissent un lien évident entre la présence d'arsenic et la toxicité. Le phénomène de stimulation de la bioluminescence semble être associé aux métaux de transition légers et, plus particulièrement, au cuivre et/ou au nickel, ces deux éléments étant corrélés.

3.3.1.5. Interprétation écotoxicologique

Les variables physico-chimiques associées significativement aux variables indicatrices de toxicité du test Microtox ressortent davantage à travers les résultats reliés à une exposition de 5 minutes qu'à travers les résultats reliés à une exposition de 15 minutes. Ceci s'explique par l'importance des effectifs d'échantillons en jeu (N = 55, exposition de 5 min; N = 16, exposition de 15 min). L'analyse qui suit se concentrera donc sur les résultats se rapportant à l'exposition de 5 min.

Eléments toxiques

Le cadmium ressort comme principal inhibiteur de la bioluminescence chez Photobacterium phosphoreum. Les principales sources anthropiques de cadmium dans l'environnement sont: 1) le rejet de Cd dans l'atmosphère et dans l'eau au cours de l'exploitation minière, par les fonderies de zinc, de plomb et de cuivre et par les industries fabriquant des alliages, des peintures, des accumulateurs et des matières plastiques; 2) l'utilisation agricole de boues, d'engrais et de pesticides

renfermant du cadmium; et 3) l'utilisation de combustibles fossiles. Une grande partie du cadmium dissout dans l'eau est présent sous forme du cation divalent libre ainsi que de chlorure et de carbonate de cadmium. Les facteurs de bioconcentration reliés au cadmium sont de l'ordre de 10^2 - 10^5 (CCMRE, 1987).

La concentration moyenne de cadmium des 55 éluviers étudiés est de $0,37 \mu\text{g/l}$. Elle se situe donc parmi les concentrations naturelles de cadmium retrouvées en milieu aquatique, qui sont de l'ordre de $0,1$ à $10 \mu\text{g/l}$. Selon Elder (1989), des concentrations chroniques légèrement supérieures à $1,0 \mu\text{g/l}$ peuvent être nocives pour la vie aquatique. Par ailleurs, des études de De Zwart and Sloof (1983) démontrent que la CL_{50} du cadmium sur Photobacterium phosphoreum est de 218 mg/l , après 15 minutes d'exposition.

Le plomb est un constituant majeur de plus de 200 minéraux présents dans les roches ignées, métamorphiques et sédimentaires. La principale voie naturelle par laquelle le plomb est libéré dans l'environnement est l'altération des minerais sulfurés et en particulier de la galène. Les apports anthropiques de plomb dépassent de beaucoup ceux provenant de toutes les sources naturelles. L'extraction, le traitement et la fusion du plomb et des métaux associés, comme le zinc, l'arsenic, l'argent et l'antimoine, ainsi que la combustion de combustibles fossiles rejettent du plomb dans les écosystèmes aquatiques à un taux supérieur au taux normal attribuable à l'altération des minerais. Plusieurs formes de plomb se retrouvent dans le milieu aquatique. Ces formes sont caractérisées par les degrés d'oxydation suivants: 0, +1, +2, et +4. Le plomb peut en outre former de nombreux composés avec une vaste gamme d'éléments. En milieu aquatique, l'espèce bivalente, Pb(II) est l'espèce ionique stable. Les

facteurs de bioconcentration en poids humide associés au plomb varient de 20 à 360 (CCMRE, 1987).

Dans le cadre de notre étude, la concentration moyenne en plomb des éluviats est de $5,8 \mu\text{g/l}$. Elder (1989) estime que la concentration chronique nocive se situe autour de $50 \mu\text{g/l}$. Par ailleurs, Dutka and Kwan (1981) ont démontré que la CL_{50} du plomb sur Photobacterium phosphoreum est de 30 mg/l , après 15 minutes d'exposition.

Les minéraux contenant de l'arsenic sont très répandus, les plus communs étant ceux dans lesquels l'arsenic est combiné à du soufre, du fer ou du nickel. Les rejets d'arsenic dans l'environnement proviennent de l'altération climatique des roches arsénifères et de l'activité volcanique. La quantité d'arsenic rejetée annuellement dans l'environnement par suite d'activités anthropiques, telles le traitement des minéraux sulfurés et la combustion du charbon, est égale à deux fois celle qui pénètre par suite d'altérations climatiques. Une fois rejetée dans l'environnement, la plus grande partie de cet élément est sorbée par les sols et les sédiments. En milieu aquatique, l'arsenic peut prendre les degrés d'oxydation -3, +3 et +5. Il peut former un grand nombre de composés avec une vaste gamme d'éléments. Dans l'eau, la plus grande partie de l'arsenic se trouve sous forme soluble qui peut être coprécipitée avec les oxydes de fer et d'aluminium hydratés. L'As (III) et l'As (V) forment des liaisons stables avec le carbone pour donner de nombreux composés organo-arsénicaux dont certains sont très toxiques. Les facteurs de bioconcentration associés à l'arsenic en milieu aquatique sont généralement inférieurs à 10^3 (CCMRE, 1987).

La concentration moyenne des éluviats en arsenic est de 1,18 $\mu\text{g/l}$. Qureshi *et al.* (1982) ont évalué la CL_{50} de l'arsenic de sodium sur Photobacterium phosphoreum à 35 mg/l, après 5 minutes d'exposition.

Enfin, les principaux minerais de zinc sont des sulfures. Dans les sulfures, le zinc est souvent combiné à d'autres éléments, en particulier le fer, le cuivre et le plomb. En solution aqueuse, le zinc existe principalement sous forme de cation bivalent. Le zinc peut aussi donner des composés et des complexes organozinciques avec des ligands anioniques, cationiques et neutres, ou avec des ligands plus complexes. Comme le zinc est un élément essentiel à la survie des organismes aquatiques, il est rapidement bioaccumulé.

La concentration moyenne des éluviats en zinc se situe à 114,7 $\mu\text{g/l}$. Elder (1989) estime la concentration chronique nocive à la vie aquatique à environ 100 $\mu\text{g/l}$. Bulich *et al.* (1981) ont évalué la CL_{50} du zinc sur Photobacterium phosphoreum à 2,5 mg/l, après exposition de 5 minutes.

D'une façon générale, nous observons donc que les quatre éléments qui se sont avérés le plus souvent corrélés de façon significative aux indicateurs de toxicité du test Microtox, soit le cadmium, le plomb, l'arsenic et le zinc, 1) sont présents en concentrations nettement inférieures à leur CL_{50} sur Photobacterium phosphoreum et rarement supérieure à la concentration chronique estimée comme étant nocive à la vie aquatique et 2) semblent souvent intimement liés en milieu naturel ou parmi les rejets industriels. Les tests de Pearson et Kendall démontrent d'ailleurs de fortes corrélations entre le plomb et l'arsenic, l'arsenic et le cadmium et le zinc et le cadmium. Dans ces conditions, il est difficile d'attribuer la

responsabilité de la toxicité globale des éluutriats à un seul ou certains de ces quatre éléments. Nous pouvons plutôt assumer que l'effet toxique global de faibles concentrations de ces éléments soit le résultat et la somme d'interactions synergétiques et antagonistiques entre eux et d'autres éléments ou facteurs physico-chimiques caractérisants le milieu étudié. Bien que la complexité des interactions qui sévissent entre les nombreux éléments qui composent un mélange complexe environnemental soit encore très mal connue, des études de laboratoire supportent notre postulat. A titre d'exemple, Babich et Slotzky (1986) mentionnent avoir observé des effets toxiques synergétiques sur les bactéries mise en présence des combinaisons suivantes de métaux lourds: Cd/Co, Cd/Ni, Cd/Pb et Cu/Ni. Lors de ces études la concentration de chaque métal faisant partie du mélange était non toxique lorsque testée individuellement. Par contre le zinc est reconnu comme étant un antagoniste métabolique du cadmium (Underwood, 1977).

Pour ce qui est de la relation existant entre la couleur apparente des éluutriats et leur toxicité, telle qu'exprimée par les tests de Pearson et de Kendall, elle semble être tout au moins partiellement fallacieuse. Selon le CCMRE (1987), il existe un lien entre la couleur de l'eau et son contenu en plomb, fer et arsenic. Par conséquent, le plomb et l'arsenic ayant été identifiés comme des éléments toxiques, il en ressort que toute toxicité risque fortement d'être corrélée à la couleur apparente de l'éluutriat de façon fallacieuse. Par contre, la couleur d'un éluutriat peut être fortement liée à son contenu en substances humiques (acides humiques et fulviques) (Reid and Wood, 1976). Ces substances contiennent une quantité importante de produits dérivés de la lignine, tels les phénols et les tannins, qui se sont avérées fortement toxiques sur Photobacterium phosphoreum

(Ribo and Kaiser, 1983). Par ailleurs, il est clair que la couleur apparente d'un échantillon testé sur le Microtox aura pour conséquence d'affecter et de diminuer la mesure de bioluminescence des bactéries, créant une fausse impression de toxicité. A prime abord, il peut donc paraître difficile de discerner la part de toxicité réelle due à la présence de contaminants tels le plomb, l'arsenic, le zinc et le cadmium, de la part de toxicité réelle due à la présence hypothétique de phénols et de la part de toxicité artificielle due à la couleur apparente des échantillons testés. Cependant, selon Microbics (1987), seuls des boues provenant de puits de forage et quelques échantillons d'eau usée présentent une coloration telle qu'ils nécessitent qu'une correction soit apportée aux mesures de bioluminescence qui sont effectuées lors d'une analyse de toxicité au Microtox. Par conséquent, nous sommes d'avis que la corrélation observée entre les quatre métaux précités et la toxicité des éluviats demeurent fortement valable, si ce n'est qu'elle pourrait être renforcée par la présence de substances humiques.

Éléments inhibiteurs de la toxicité

Il est intéressant de noter que la majorité des facteurs ou des éléments qui se sont avérés inversement reliés à la toxicité de façon significative sont associés directement à la présence de cations bivalents dissout dans l'éluviat, ou plus précisément à l'alcalinité et à la dureté de l'éluviat testé. Ces facteurs et éléments sont donc l'alcalinité, la dureté, la conductivité, le magnésium et le manganèse. On exprime généralement l'alcalinité et la dureté en terme de carbonate de calcium CaCO_3 , puisque les carbonates sont les principaux anions à s'associer aux cations en

solution telles le calcium, le magnésium et le manganèse, pour n'en nommer que quelques uns.

L'alcalinité et la dureté de l'eau peuvent entre autres influencer d'une manière importante la spéciation et, par conséquent, la toxicité d'un grand nombre de métaux lourds (Stumm and Morgan, 1970). Les exemples concernant le rôle inhibiteur de la dureté et de l'alcalinité de l'eau sur la toxicité des métaux lourds envers divers organismes, dont le microbiota, sont extrêmement nombreux (Babich and Slotzky, 1986). On a, par exemple, observé que les concentrations tissulaires de cadmium des organismes aquatiques diminuent à mesure que la dureté de l'eau augmente (Kinkade and Erdman, 1975). Davies et al. (1976) ont démontré que la toxicité du plomb sur la truite arc-en-ciel est inversement reliée à la dureté de l'eau et que le plomb dissout présent dans les eaux non alcalines est de loin la forme la plus toxique de cet élément. Ce phénomène s'explique du fait qu'en eau alcaline les carbonates s'allient au plomb pour former des composés insolubles (Hem and Durum, 1973) dont la biodisponibilité est extrêmement diminuée (Rand and Petrocelli, 1985). De façon semblable, la concentration de zinc dans l'eau douce est minimale lorsque l'alcalinité est forte (Hem, 1972). Le zinc et le nickel en solution dans les eaux de surface aérobies peuvent être coprécipités et sorbés par les oxydes de manganèse, diminuant du même coup leur toxicité (Lee, 1975; Richter and Theiss, 1980). Le manganèse est pour sa part un oligo-élément essentiel pour les microorganismes. Il se peut donc que la présence de cet élément dans l'élutriat ne se borne pas simplement à complexer les métaux, mais qu'elle stimule la croissance de la population bactérienne si cet élément n'est pas présent en quantité suffisante dans le milieu original de culture des bactéries. Pour sa part, le magnésium a été reconnu par de nombreux chercheurs comme un inhibiteur de la toxicité du nickel,

du cadmium, du zinc et du plomb sur la croissance bactérienne (Babich and Stotzky, 1986).

De façon générale, il semble donc que les composants majeurs de la dureté et de l'alcalinité de l'eau, tels le Mg^{2+} et le Ca^{2+} entrent en compétition avec les cations divalents de métaux lourds afin de se trouver un site sur la surface cellulaire de l'organisme, alors que le CO_3^{2-} forme un précipité insoluble avec le métal. Selon Vasseur et al. (1986), qui a étudié l'influence de divers facteurs physico-chimiques sur la réponse du Microtox, des conditions alcalines entraînent aussi la complexation des ions métalliques aux hydroxides, ce qui diminue leur biodisponibilité envers la bactérie.

Ajoutons enfin que les eaux alcalines sont généralement moins colorées, ce qui est confirmé par les tests de Pearson et de Kendall et qui renforce l'opposition alcalinité-inhibition de toxicité/couleur apparente-toxicité.

Le contenu des éluviats en carbone organique dissout s'est également avéré être significativement associé à une diminution de leur toxicité. De nombreuses études ont démontré que la plupart des métaux lourds sont fréquemment liés ou coprecipités aux composés organiques solubles ou particuliers du milieu. Ils sont alors généralement moins toxiques envers le microbiota que lorsqu'ils sont présents sous forme d'ions libres (Babich and Slotzky, 1983; Brown et al., 1984). La formation de complexes peut en effet modifier radicalement la solubilité des métaux et par conséquent leur toxicité. La stabilité des complexes humates-métaux augmente à mesure qu'augmente le PH, et diminue à mesure qu'augmente la force ionique du milieu (Shapiro, 1964). Plus précisément, il est prouvé que les acides humiques réduisent la

toxicité du cuivre envers E. coli et la toxicité du plomb et du mercure envers divers microorganismes.

Éléments stimulateurs de la bioluminescence

Comme il a déjà été mentionné, lorsqu'on se réfère au signe du pourcentage d'inhibition de la bioluminescence associé à une dilution de 0,75 % de l'élutriat, on observe que 12 des 55 élutriats testés pour une période de 5 minutes et 7 des 13 élutriats testés pour une période de 15 minutes ont induit une stimulation de la bioluminescence des bactéries. Ces chiffres sont en accord avec des études similaires effectuées par Kaiser et al. (1988). Ce phénomène est fréquent en ce qui concerne les échantillons environnementaux et il n'indique pas nécessairement une absence de substances toxiques, puisque la toxicité peut être partiellement ou totalement masquée par la présence de composés qui stimulent le métabolisme bactérien (Krebs, 1983).

La stimulation du métabolisme bactérien peut être induite par divers types d'éléments. L'explication la plus logique est que des éléments nutritifs présents dans l'élutriat permettent à l'organisme de croître plus rapidement que dans son milieu de culture original, c'est -à-dire dans le milieu de culture où baigne la population-contrôle. Les résultats de nos analyses démontrent dans certains cas que le phosphore et le potassium, qui constituent des éléments nutritifs, sont négativement corrélés à la toxicité des élutriats. En ce qui concerne le phosphore, Vasseur et al. (1986) démontre de plus qu'il peut complexer le zinc et le cadmium et en diminuer leur toxicité sur Photobacterium phosphoreum. Par contre, l'azote est positivement corrélé à la toxicité des élutriats, mais de façon peu convaincante.

Mentionnons à cet effet que Morosi and Cenci (1979) ont démontré que la toxicité du cadmium envers la communauté bactériologique de boues activées augmentait en présence d'azote. D'ailleurs, en général, l'azote n'est pas un élément nutritif limitant.

La seconde explication de la stimulation du métabolisme bactérien par les substances chimiques réside dans le fait que de très nombreuses substances, qui inhibent les processus biologiques lorsque elles sont présentes en forte concentration ont la propriété de stimuler ces mêmes processus à des concentrations plus faibles. Le nom d'"Hormesis" est donné à cet effet stimulateur. Cet effet a été associé à la gamme presque complète des métaux lourds, dont le nickel, sur la croissance de cultures bactériennes (Stebbing, 1982). A l'heure actuelle, l'explication la plus répandue et acceptée concernant l'effet "Hormesis" réside dans le fait que confronté à une agression toxique de faible envergure, l'organisme, en voulant neutraliser les effets de l'agression, réagira en activant de façon disproportionnée ses mécanismes régulateurs de la biosynthèse. Une telle réponse apparaît non-spécifique et surviendra quelle que soit la cause originale de l'inhibition métabolique chez l'organisme.

Dans le cadre de notre étude, nous serions tenté d'expliquer la corrélation négative qui existe entre les concentrations de nickel et de cuivre des éluviats et la toxicité de ces derniers, en fonction de l'effet "Hormesis". Il est cependant difficile d'adhérer pleinement à cette hypothèse, compte tenu du fait que même si les concentrations des éluviats en nickel et en cuivre étaient faibles, la présence simultanée de divers autres éléments toxiques même en faible concentration dans l'éluviat aurait probablement pour résultat d'engendrer une toxicité envers les bactéries. Il serait donc intéressant de vérifier si de façon

générale les éluviats contenant du cuivre et/ou du nickel ne sont pas exempts de tout autre métal. Nous devons aussi noter que mis à part les régressions multiples de type pas à pas, les différents tests statistiques démontrent l'existence de corrélations positives et significatives entre les concentrations de nickel, de cuivre, de phosphate et de potassium des éluviats. Dans ces conditions, l'association nickel et/ou cuivre-stimulation de bioluminescence ne pourrait être qu'une illusion provoquée par la colinéarité existant entre d'une part les deux métaux et d'autre part les deux éléments nutritifs à qui serait réellement attribué l'effet stimulateur. Enfin, une dernière explication concernant l'association nickel et/ou cuivre-stimulation voudrait que ces deux métaux agissent comme antagonistes de la toxicité des autres métaux présents dans les éluviats envers Photobacterium phosphoreum. Ce sujet n'est cependant pas documenté.

Biais introduits par les protocoles expérimentaux

Il est clair que la toxicité des éluviats est le reflet global du réseau extrêmement complexe d'interactions qui ont lieu entre les diverses et nombreuses composantes qui caractérisent ces éluviats. Le niveau actuel de compréhension de ces interactions est d'ailleurs très limité. Il n'en demeure pas moins que pour comprendre les mécanismes de la toxicité environnementale, il est important de se doter d'outils de mesure qui reflètent de la façon la plus fidèle la réalité du milieu.

A cet égard, la mesure que nous faisons des concentrations chimiques présentes dans le milieu pose certains problèmes. Les concentrations de métaux présents dans l'eau sont fréquemment mesurées par absorption atomique, ce qui inclut toutes les

configurations du métal. De telles mesures ne sont pas nécessairement reliées aux réponses observées lors de tests biologiques. En effet, comme il a été mentionné plus haut, la toxicité d'un métal variera énormément en fonction de l'espèce ou la forme sous laquelle il sera présent. Il peut être justifié de croire que toutes les formes d'un métal doivent être considérées lors d'une évaluation de la toxicité, puisque des formes non toxiques peuvent devenir toxiques, selon les conditions du milieu. Cependant, à tout le moins en ce qui concerne certains métaux, les connaissances sont maintenant suffisantes pour que les mesures chimiques se fassent sur les formes actives. Par exemple, des études de Brungs et al. (1976) sur la toxicité du cuivre ont démontré que la mortalité des ménés têtes-de-boule vivant dans certains cours d'eau de l'Ohio était uniquement reliée à la concentration de cuivre dissout dans l'eau. Par conséquent, il serait certes utile de considérer l'utilisation de techniques à base d'électrodes sensibles aux ions ou de la polarographie à impulsions différentielles qui mesure les formes labiles (Chau and Lum-Shue-Chan, 1974; McCrady and Chapman, 1979), afin d'ajuster nos mesures aux formes réellement toxiques.

Par ailleurs, selon Daniels et al. (1989), la technique d'élutriation des sédiments par barbotage à air comprimé n'est pas la plus appropriée pour simuler les conditions réelles de resuspension des sédiments en milieu aquatique. En effet, la technique semble transformer les cations Ca^{2+} et Mg^{2+} en oxides insolubles et en carbonates, ce qui interférera assurément avec la toxicité de l'élutriat. Après avoir comparé diverses techniques d'élutriation, l'auteur conclue que la technique de la bascule rotative (rotary tumbling) ressort comme la plus réaliste.

Quant au test Microtox proprement dit, de nombreux auteurs dont Qureshi et al. (1984) recommandent que l'on évalue la toxicité des métaux au pH propre de l'échantillon de façon à préserver l'intégrité et la stabilité de ce dernier. On connaît, en effet, l'influence que peut avoir le pH sur la spéciation et la précipitation des métaux. Dans le cadre de notre étude, il ne semble pas, cependant, que l'ajustement occasionnel et relativement modéré du pH des éluviats, tel que requis par le protocole standard du test Microtox, ait entraîné une transformation importante des espèces métalliques, par rapport à leur état original dans l'éluviat. La salinité et tout particulièrement le contenu de l'échantillon en ions chlorures capables de complexer certains cations, dont le cadmium, peuvent réduire la toxicité envers les organismes aquatiques (Vasseur et al., 1986). Klapow and Lewis (1979) concluent cependant que l'influence de la salinité sur la toxicité ne peut être considérée comme un facteur important susceptible d'expliquer la variation des résultats d'un bioessai. Il n'est donc pas évident que le milieu salin dans lequel baignent les bactéries lors du test Microtox puisse interférer avec la toxicité réelle d'un échantillon d'eau douce. Enfin, les avis sont partagés quant il s'agit d'identifier la période idéale d'exposition des bactéries à un mélange complexe de métaux. Après avoir fait la revue de la littérature scientifique reliée à l'utilisation du Microtox, E.V.S. Consultants (1989) recommandent une période d'exposition de 15 minutes. Cependant, Ankley et al. (1989) et Ribo and Kaiser (1987) rapportent avoir obtenu des résultats similaires en ce qui a trait à la toxicité de sédiments marins et de nombreuses substances pures après des périodes d'exposition variant de 5 à 30 minutes. Pour sa part, Vasseur et al. (1986) rapportent que les EC_{50} du zinc et du cadmium se stabilisent uniquement après 30 minutes d'exposition. En ce qui concerne notre étude, il ressort

que les valeurs moyennes des deux indicateurs de toxicité reliés au Microtox sur l'ensemble des élutriats ne varient pas de façon significative en fonction du temps d'exposition des bactéries.

3.3.2. Le test d'inhibition de la photosynthèse

3.3.2.1. Les variables indicatrices de la toxicité

Les résultats des régressions entre les concentrations des élutriat et les pourcentages d'inhibition de la photosynthèse sont présentés en annexe. L'annexe 12 présente les paramètres des régressions linéaires pour chacune des stations échantillonnées. On obtient 20 régressions significatives ($P < 0,05$) sur un total de 28. Parmi ces 20 régressions, 14 correspondent à une inhibition (pente positive) et 6 à une stimulation (pente négative) de la photosynthèse. Les paramètres associés au meilleur modèle de régression pour chaque station ainsi que l'estimation du taux d'inhibition de la photosynthèse correspondant à une concentration de 87% d'élutriat sont présentés à l'annexe 13. On obtient des régressions significatives pour 20 des 28 stations. En prenant comme référence le signe du taux d'inhibition de la photosynthèse, on observe que 14 des 20 régressions significatives montrent une inhibition de la photosynthèse alors que 6 stations montrent une stimulation.

Afin de vérifier si les indicateurs de la toxicité associés aux régressions significatives reflètent une toxicité réelle, nous avons comparé leurs valeurs absolues à celles des indicateurs de toxicité associés aux régressions non significatives. Etant donné que la condition d'homogénéité des variances n'est pas respectée, nous avons utilisé un test de Wilcoxon-Mann-Withney plutôt qu'une

analyse de variance. Les résultats des analyses indiquent que les pentes des courbes concentration-réponse associées à des régressions significatives ainsi que les réponses estimées à partir des régressions significatives sont effectivement différentes de celles qui se rapportent aux régressions non significatives (la probabilité est de 0,0001 pour le test concernant les pentes et de 0,0088 pour celui des réponses).

3.3.2.2. Corrélation entre les réponses du test d'inhibition de la photosynthèse et la physico-chimie des éluutriats

Les résultats des corrélations de Pearson, entre les indicateurs de toxicité et les éléments physico-chimiques des éluutriats (Annexe 14) nous indiquent que l'alcalinité est la seule variable qui soit reliée de façon significative avec C14PL (pente des courbes concentration-réponse calculée à partir d'une régression linéaire entre les concentrations des éluutriats et les pourcentages d'inhibition de la photosynthèse) et C14R87 (pourcentage d'inhibition de la photosynthèse estimé à partir du meilleur modèle de régression pour une concentration de 87% d'éluatriat). Cette corrélation étant positive, l'alcalinité serait donc responsable de l'inhibition de la photosynthèse alors qu'aucune variable n'expliquerait le phénomène de stimulation.

Par contre, les résultats des corrélations de Kendall nous montrent qu'il existe également d'autres variables susceptibles d'expliquer les résultats du biotest. La figure 13 présente, de façon schématique, les variables qui sont corrélées significativement avec C14PL selon les tau de Kendall (Annexe 15). On y retrouve, par ordre décroissant d'importance des coefficients de corrélation, l'alcalinité, le magnésium, la conductivité

spécifique, la dureté totale, le sodium et la calcium. Les accolades qui représentent les liaisons significatives entre les variables, nous indiquent que toutes ces variables sont interreliées entre elles. De plus, les coefficients de corrélation avec C14PL (présentés sous chacune des variables) sont tous du même ordre de grandeur et sont, en général, moins importants que ceux qui existent entre les variables physico-chimiques. On se retrouve ici avec un problème de multicolinéarité plus aigu que celui observé dans les résultats du test Microtox. Si on analyse, selon le même principe, les tau de Kendall significatifs obtenus entre C14R87 et les variables physico-chimiques (Figure 14), nous observons que l'azote vient s'ajouter aux variables de l'analyse précédente comme stimulateur de la photosynthèse et que l'ordre de ces dernières a été modifié. A l'exception de l'azote, nous retrouvons ici le même problème de multicolinéarité entre les variables et les liens unissant chacune d'elles à C14R87 sont également inférieurs à ceux unissant les variables entre elles.

3.3.2.3. L'ordination en espace réduit

Comme il a été mentionné dans la méthodologie, nous allons nous limiter à une analyse factorielle des correspondances pour le test algal étant donné que le nombre de descripteurs est supérieur au nombre de stations. De plus, nous n'analyserons que les trois premiers axes de la matrice de dispersion des données.

L'analyse factorielle des correspondances

Les statistiques se rapportant à l'inertie principale indiquent que 62,4% de l'inertie totale est expliquée par les trois premiers

axes soit 33,6% pour le premier axe, 18,9% pour le second et 10,1% pour le troisième. Selon les cosinus carrés entre les axes-descripteurs et les axes principaux, C14PL et C14R87 sont principalement associés au deuxième axe (Tableau 14). Une attention particulière sera donc portée sur les plans formés par cet axe en association avec les deux autres. Les variables dont le coefficient est supérieur à 0,15 avec l'axe 2 sont, par ordre décroissant d'importance le mercure, le chrome, le manganèse, la couleur apparente, le cuivre, le potassium, le nickel, le fer, le plomb et le carbone organique dissout. Ainsi, aucune des variables corrélées avec C14PL et C14R87 selon les tau de Kendall, ne se retrouvent parmi ces variables. On peut donc appréhender qu'il sera difficile de faire le parallèle entre les résultats de ces deux types d'analyse.

Le plan formé par les axes 1 et 2 montre que les deux variables indicatrices de la toxicité sont corrélées (Figure 15). Cependant, C14R87 est située près de l'origine, ce qui indique que la variance de cette variable n'est que marginalement expliquée par ce plan contrairement à C14PL qui a un axe-descripteur beaucoup plus long. On remarque également que ces deux variables sont positionnées entre deux groupes d'éléments physico-chimiques. Du côté correspondant au quatrième quadrant, on retrouve cinq des six variables des corrélations de Kendall soit, par ordre décroissant d'importance le sodium, l'alcalinité, le calcium, la dureté totale et le magnésium. Du côté correspondant au troisième quadrant, nous avons le chrome, le manganèse, le nickel et le cuivre. Ce résultat semble indiquer que le pourcentage d'inhibition de la photosynthèse n'est pas relié uniquement à une ou plusieurs variables du premier groupe mais également à une ou plusieurs variables du deuxième groupe. En ce qui concerne les axes-descripteurs de l'azote, du potassium, de l'arsenic, du carbone

organique dissout, de la couleur apparente, du plomb, du fer et des sulfates, ils forment des angles de près de 180° avec C14PL et C14R87.

La figure 16 représente le plan formé par le deuxième et le troisième axe. Comme dans le plan précédent, les deux variables indicatrices de la toxicité sont corrélées et l'axe-descripteur de C14R87 est très court. Etant donné qu'un axe-descripteur court indique que la variable qui lui est associée participe de façon marginale au positionnement de l'ensemble des autres axes-descripteurs, il est donc plus intéressant d'analyser les résultats en fonction de C14PL plutôt qu'en fonction de C14R87. Sur ce plan, le cuivre, l'alcalinité et le manganèse sont les principales variables qui sont liées positivement avec la pente des courbes concentration-réponse. Les variables qui lui sont corrélées négativement sont le chlore, le cobalt et le cadmium, en plus des éléments déjà identifiés dans le plan précédent à l'exception du carbone organique dissout.

Sur le plan formé par les axes 1 et 3 (Figure 17), l'estimation de la réponse du taux d'inhibition de la photosynthèse pour une concentration d'élutriat de 87% se retrouve à l'origine alors que C14PL est corrélé de façon négative avec le cadmium, l'arsenic, le cobalt, la couleur apparente, le fer, l'azote, le plomb, le potassium, le chrome et le zinc. Les variables qui sont positivement associées à C14PL sont le mercure, le sélénium, l'alcalinité et à un degré moindre le carbone organique dissout et la conductivité spécifique.

L'alcalinité semble effectivement être un élément déterminant dans l'explication des résultats de toxicité puisque cette variable est corrélée de façon positive avec C14PL dans les trois plans

analysés. D'autres variables telles que le cuivre et le manganèse semblent également influencer sur la toxicité des éluviats. En ce qui concerne le phénomène de stimulation de la photosynthèse, il n'est pas possible de l'attribuer à un ou deux éléments physico-chimiques en particulier. Ce résultat peut s'expliquer, d'une part, par le problème de multicollinéarité existant entre les variables, et d'autre part, par le fait que nos analyses sont basées sur un indice de toxicité qui représente le résultat final des phénomènes d'inhibition et de stimulation. La régression multiple de type pas à pas nous permettra probablement d'éclaircir ce point.

3.3.2.4. Régression multiple de type pas à pas

Le tableau 15 nous présente, pour chaque pas de l'analyse concernant C14PL, les coefficients de corrélation partielle ainsi que la probabilité associée à chaque variable indépendante qui ne fait pas encore partie du modèle.

Comme nous l'avons déjà observé avec les corrélations de Pearson, la seule variable candidate qui possède, au premier pas, une probabilité inférieure à 0,05 est l'alcalinité. Au deuxième pas, aucune variable ne possède de probabilité au-dessous du seuil de signification. La variable qui s'en rapproche le plus est le nickel avec une probabilité de 0,1055. Ainsi, aucune variable ne peut apporter plus d'explication aux résultats de C14PL que celle déjà apportée par l'alcalinité. Le résumé du processus de sélection ainsi que les coefficients de la régression sont présentés au tableau 16. Le coefficient de corrélation multiple (R^2) indique que le modèle explique 17,3% de la variance de C14PL.

Le résultat de la régression pour C14R87 est analogue à celui de C14PL. Les coefficients de corrélation partielle des variables indépendantes et leur probabilité pour chaque pas de l'analyse sont présentés au tableau 17. Au premier pas, l'alcalinité est la seule variable candidate avec une probabilité inférieure au seuil de signification alors qu'au deuxième pas, aucune variable physico-chimique ne répond au critère de sélection. Le coefficient de corrélation multiple (Tableau 18) indique que 17,4% de la variance de C14R87 est expliquée par le modèle.

Selon les résultats des analyses paramétriques (corrélations de Pearson et régression multiple), la toxicité des éluviats ne peut être associée qu'à leur alcalinité. Selon les résultats des analyses non-paramétriques (tau de Kendall et A.F.C.), on peut effectuer un lien entre la toxicité et d'autres variables physico-chimiques que l'alcalinité, soit . Par contre, il est très difficile d'identifier le ou les éléments vraiment responsables de l'inhibition de la photosynthèse étant donné que les corrélations de Kendall montrent qu'il existe une multicollinéarité importante entre les variables susceptibles d'expliquer ce phénomène. En ce qui concerne la stimulation, les résultats des régressions entre les concentrations des éluviats et les taux d'inhibition montrent clairement qu'un tel phénomène existe effectivement. Les résultats des analyses paramétriques n'ont pu mettre en relief ne serait-ce qu'une seule variable associée à la stimulation. Par contre, les corrélations de Kendall montrent qu'il existe un lien négatif entre C14R87 et l'azote et que ce dernier élément n'est corrélé avec aucune des autres variables qui sont associées significativement avec C14R87. Mentionnons également que la corrélation de Kendall existant entre l'azote et C14PL est très près du seuil de signification avec une probabilité de 0,0683 et un tau de -0,2229. De plus, l'azote est associé positivement et

de façon significative, avec la couleur apparente ($T= 0,3844$), le cobalt ($T= 0,3356$), le fer ($T= 0,3397$) et le plomb ($T= 0,3320$) et il possède certaine affinité avec le cadmium ($T= 0,2511$, $P=0,0919$) et le potassium ($T= 0,2426$, $P=0,0745$). Ceci peut expliquer le fait qu'on retrouve toujours ce groupe d'éléments opposé à C14PL sur les plans de l'A.F.C.

3.3.2.5. Interprétation écotoxicologique

L'état actuel de nos connaissances en toxicologie aquatique démontre que de façon générale l'inhibition et la stimulation de la photosynthèse chez l'algue sont respectivement associés aux mêmes facteurs physico-chimiques qui gouvernent l'inhibition et la stimulation de la bioluminescence chez la bactérie.

Cependant, les résultats des analyses statistiques présentés ci-haut sont de toute autre nature. En effet, l'alcalinité et les variables qui lui sont associées telles la conductivité, la dureté, le magnésium, le sodium, le calcium et le manganèse ressortent clairement comme les principaux éléments qui sont reliés à la toxicité des éluviats. Des résultats similaires avaient été obtenus par Champoux *et al.* (1988). Ceux-ci avaient entre autres relevé l'alcalinité, la dureté et le calcium comme facteurs inhibiteurs de la photosynthèse. Pourtant, tel que décrit plus haut, de nombreuses études démontrent clairement que l'alcalinité réduit la toxicité des métaux lourds envers les organismes aquatiques. Plus particulièrement, le calcium réduit la toxicité du cadmium envers *Chlorella pyrenoidosa* (Gipps and Coler, 1982) et comme le magnésium, il réduit la toxicité du zinc et du mercure envers *Chlorella vulgaris* (Rai *et al.*, 1981). La

dureté réduit la toxicité du zinc envers Chlorella pyrenoidosa (Chapman and Dunlop, 1981).

Nous observons que la mesure de l'inhibition de la photosynthèse chez Selenastrum capricornutum, telle que stipulé par le protocole d'Environnement Canada, est basée uniquement sur la quantité de bicarbonate radioactif qui est assimilée par la population algale lors de l'exposition à l'élutriat. Cette mesure ne tient donc pas compte de toute autre forme de carbone non radioactif et présent dans l'élutriat qui serait également assimilé par la population algale lors du processus photosynthétique. Vollenweider (1974) démontre pourtant qu'en de telles conditions, le carbone assimilé par l'algue lors du processus photosynthétique se compose tout autant de carbone radioactif que du carbone non radioactif disponible:

$$C \text{ assimilé} = (C^{14} \text{ assimilé} / C^{14} \text{ disponible}) * C^{12} \text{ disponible} * 1.06$$

Par conséquent, le carbone radioactif assimilé par la population algale n'est pas représentatif de la totalité du carbone qu'elle assimile lors du processus photosynthétique. Plus il y aura de carbone non radioactif disponible dans l'élutriat, moins il y aura, toute proportion gardée, de carbone radioactif assimilé, ce qui donnera l'impression d'une fausse toxicité. L'alcalinité de l'élutriat étant fortement régie par les carbonates qui y sont présents (Stumm and Morgan, 1981), plus elle sera forte, plus l'élutriat sera considéré comme toxique, et ce de façon fallacieuse. Nous postulons donc que la relation que nos tests statistiques ont fait ressortir entre l'alcalinité de l'élutriat et sa toxicité est fallacieuse, tout comme les pourcentages d'inhibition de la photosynthèse tels que calculés selon le protocole d'Environnement Canada. Nous recommandons que les

mesures de désintégrations par minute associées à chaque éluatriat soient corrigées en fonction de la présence dans chaque éluatriat du carbone non radioactif disponible et assimilable par la population algale lors du processus photosynthétique.

Nous observons aussi que les pourcentages d'inhibition de la photosynthèse algale sont exprimés en fonction de la globalité de la population algale qui a été testée. Pourtant, il se peut que lors d'un test, la biomasse des diverses populations algales qui sont mises en présence de différentes dilutions de l'éluatriat testé varie de façon significative en fonction de différences entre les stades de croissance de chaque population ou de la toxicité des diverses dilutions de l'éluatriat, par exemple. De telles différences de biomasse peuvent souvent fausser les résultats (Jensen, 1984). Nous recommandons donc que les mesures du pourcentage d'inhibition de la photosynthèse algale soient standardisées par unité de biomasse algale.

Les observations qui précèdent indiquent clairement que les pourcentages d'inhibition de la photosynthèse sur lesquels se sont basés nos tests statistiques sont biaisés. L'ampleur de ce biais et l'impact qu'il peut avoir sur les résultats de nos tests statistiques sont certes fonction de la variabilité qui caractérise l'alcalinité des divers éluatriats et la biomasse des diverses populations d'algue qui ont été utilisées pour tester les diverses dilutions d'un même éluatriat. Cette variabilité reste à être évaluée. Il demeure donc difficile dans de telles conditions d'accorder quelque valeur que ce soit aux résultats de nos tests statistiques, mais il nous apparaît cependant important de poursuivre notre discussion sur l'état des connaissances en ce qui concerne l'impact de divers éléments chimiques sur la photosynthèse algale.

Les métaux lourds, tel qu'il ressort de notre analyse, sont tous associés à une stimulation de la photosynthèse, à l'exception du nickel et du cuivre. Ces résultats vont à l'encontre des études qui ont été menées jusqu'à présent dans ce domaine et sont tout à fait opposés aux résultats obtenus avec le test Microtox. En effet, les métaux pénètrent la membrane cellulaire de l'algue principalement par absorption passive, bien que dans certains cas cette absorption puisse être active. Gaechter (1976) a observé que les taux d'inhibition de la photosynthèse d'assemblages naturels de phytoplancton décroît de plus en plus selon que le plomb, le zinc, le cadmium, le cuivre et le mercure est présent dans leur environnement, mais que tous ces éléments sont assurément des inhibiteurs de la photosynthèse, lorsque présents au-dessus d'une certaine concentration. Cette inhibition pourrait être causée par l'habilité que possèdent plusieurs de ces métaux à retarder le flux des électrons lors des réactions de transfert d'électrons qui ont lieu à l'intérieur des chloroplastes (Bazzaz and Govindjee, 1974). Les concentrations moyennes, en $\mu\text{g/l}$, des éluutriats pour ce qui est de chaque métal pris individuellement se situent sous ou légèrement au-dessus des niveaux acceptables de qualité de l'eau recommandés pour les Grands Lacs: Cd, 0.3 ($\mu\text{g/l}$ dans les éluutriats) vs 0.2 ($\mu\text{g/l}$ comme niveau acceptable); As, 1.4 vs 50; Cu, 9.4 vs 5; Pb, 7.9 vs 25; Ni, 8.4 vs 25; Se, 0.4 vs 10 et Zn, 16.2 vs 30). A l'exception du cuivre, lorsque testés individuellement à de telles concentrations, ces métaux ne sont aucunement toxiques envers la croissance, la reproduction ou l'activité enzymatique des algues, cependant lorsque présents ensemble ils le deviennent fortement (Wong et al., 1982).

De façon générale, les effets interactifs des métaux envers l'algue sont mal connus (Munawar, 1988). Hutchinson and Stokes rapportent des effets antagonistes entre le cadmium et le selenium

sur Chlorella sp. Bartlett et al. (1974) rapportent qu'individuellement, le cuivre, le zinc ou le cadmium inhibe complètement la croissance de Selenastrum capricornutum, mais que la combinaison du cuivre et du cadmium résulte en une moindre inhibition de la croissance, suggérant un effet moins qu'additif. Leland and Kuwabara (1985) mentionnent aussi que la combinaison cuivre-zinc est synergétique sur Amphidinium carteri alors qu'elle est antagoniste sur Thalassiosira pseudomona. Quoiqu'il en soit, il est clair que les mécanismes impliqués dans la toxicité de mélanges de métaux lourds sont extrêmement complexes et qu'ils restent à découvrir.

Les conclusions qui ressortent de nos analyses statistiques s'avèrent suffisamment conformes aux données de la littérature en ce qui a trait à trois éléments ou groupes d'éléments, soit le cuivre, les sulfates et le carbone organique dissout. En effet, le cuivre, comme il a été dit précédemment, est identifié comme toxique. Steeman Nielsen and Wium-Andersen (1970) ont démontré qu'il inhibe la photosynthèse algale à des concentrations aussi faibles que 1-2 $\mu\text{g/l}$ de cuivre total. D'après Cedeno-Maldonado (1973), qui ont étudié l'effet de l'ion cuprique sur Chlorella sp., ce dernier agirait tout particulièrement au niveau des réactions oxydatives du photosystème II. Quant aux sulfates, Hendricks (1978) a démontré qu'ils réduisent la toxicité du zinc envers l'activité photosynthétique de Selenastrum capricornutum. Nous avons déjà démontré plus haut que le carbone organique dissout a la propriété de coprécipiter les métaux lourds et par conséquent de diminuer leur toxicité. L'humus réduit la toxicité du cadmium envers la croissance de Selenastrum capricornutum (Gjessing, 1981) et la toxicité du cuivre envers Chlorella sp. (Toledo et al., 1980).

Quant à l'azote et au potassium qui sont négativement corrélés à l'inhibition de la photosynthèse, il est logique de croire que cela s'explique par le fait qu'ils constituent des éléments nutritifs stimulant la croissance de la population algale. Cependant, l'ajout de 1 ml de milieu de culture PAAP dix fois concentré à chaque réplikat testé permet selon Champoux et al. (1988) d'éliminer le risque de stimulation causé par l'enrichissement des éluviats par les éléments nutritifs libérés par les sédiments. Ce principe s'applique d'ailleurs à tous les micro et macro-éléments nécessaires à la croissance des algues, dont le zinc, le cobalt et le fer. Par conséquent, la corrélation positive qui existe entre l'azote et le potassium d'une part et la stimulation de la photosynthèse algale d'autre part, si elle était maintenue après avoir effectué les corrections ci-haut suggérées, ne saurait être due aux propriétés nutritives de ces éléments. Les expériences menées par Munawar et al. (1988), ont d'ailleurs clairement démontré que l'addition de diverses concentrations d'azote et de phosphore à des mélanges de métaux lourds ne modifiait pas la toxicité de ces derniers envers l'activité photosynthétique d'assemblages naturels de phytoplancton mises en culture dans un milieu PAAP.

3.3.3. Le test des nématodes

3.3.3.1. L'indice de toxicité

Le test de toxicité des éluviats sur les nématodes a été effectué par Bioquest International Inc. (Winnipeg, Manitoba) et les résultats concernant l'indice de condition physique des nématodes sont présentés à l'annexe 16. La moyenne de l'indice de la condition physique pour l'ensemble des éluviats est de 96,7 % avec un écart-type de 8,9 %.

3.3.3.2. Corrélation entre la condition physique des nématodes et la physico-chimie des éluviats

Les résultats des corrélations de Pearson qui se sont avérées significatives entre la condition physique des nématodes et les variables physico-chimiques des éluviats ainsi que des corrélations significatives entre ces dernières, sont résumés à la figure 18 et à l'annexe 17. Toute variable physico-chimique qui est corrélée de façon positive avec la condition physique des nématodes indique que cette dernière est améliorée par la présence de l'élément concerné, alors qu'une relation négative signifie que la condition physique des nématodes est diminuée par la présence de l'élément. Les variables qui ont un lien significatif avec l'indice de condition physique sont, par ordre décroissant d'importance, le mercure, le sélénium, le nickel, le phosphore, la couleur apparente et le carbone organique dissout. On remarque également que ces associations sont toutes négatives, que le mercure possède un coefficient qui est, en valeur absolue, plus d'une fois et demi supérieur à celui des autres variables, que le mercure est la seule variable qui ne soit pas corrélée avec les autres variables physico-chimiques, et que les liens existant entre ces dernières sont, en général, plus importants que ceux qui existent entre elles et l'indice de toxicité.

Selon les résultats des corrélations de Kendall (Annexe 18), l'azote est la seule variable qui soit associée à la condition physique des nématodes de façon positive. Ainsi, les deux types de corrélation nous fournissent des résultats différents mais non contradictoires. La première analyse identifie le mercure comme élément inhibiteur et indique qu'il existe au moins une autre variable également responsable de la toxicité. La seconde analyse

associe l'azote à une amélioration de la condition physique des nématodes.

3.3.3.3. L'ordination en espace réduit

L'analyse en composantes principales (A.C.P.)

Les statistiques concernant les valeurs propres de la matrice de corrélation nous indiquent que les trois premiers axes expliquent 66,6% de la variance totale dont 36,4% pour le premier axe, 20,2% pour le second et 10,0% pour le troisième.

Les coefficients de saturation indiquent que, parmi les trois premiers axes, l'indice de la condition physique des nématodes contribue principalement à la formation du troisième (Tableau 19). Cependant, l'indice de toxicité est nettement plus fortement corrélé avec l'axe 4. Malgré le fait que ce dernier n'explique que 6,7% de la variance totale, nous allons analyser les plans formés par la combinaison de cet axe avec les axes précédents en accordant plus d'importance aux interprétations qui seront effectuées sur le plan formé par les axes 3 et 4.

Les variables physico-chimiques qui ont un coefficient de saturation supérieur à 0,15 avec le quatrième axe sont, par ordre décroissant d'importance, l'azote, le manganèse et le potassium. Les variables qui y sont corrélées négativement sont le mercure et les sulfates. Une attention particulière devra être portée à la position des axes-descripteurs associés à ces variables.

Le plan formé par les axes 1 et 4 est présenté à la figure 19. Les variables dont les axes-descripteurs possèdent les angles les

plus aigus avec celui de la réponse des nématodes sont la conductivité spécifique et le magnésium. Par contre, les axes-descripteurs du chrome et du mercure sont ceux qui ont des angles les plus près de 180° avec celui de l'indice de toxicité.

La position des axes-descripteurs sur le plan formé des axes 2 et 4 nous montre que l'amélioration de la condition physique des nématodes est associée au manganèse et à l'azote alors que sa dégradation est liée principalement au mercure et aux sulfates (Figure 20).

Enfin, sur le plan correspondant aux troisième et quatrième axes (Figure 21), la réponse des nématodes est corrélée positivement au manganèse, à l'azote et au sodium alors que le mercure est la seule variable importante qui y soit liée de façon négative.

Les résultats de l'A.C.P. nous présentent le mercure comme le principal facteur responsable de la dégradation de la condition physique des nématodes, alors que le manganèse et l'azote semblent induire une amélioration de cette dernière. Mentionnons que, selon les corrélations de Pearson et de Kendall, il n'y a pas d'association significative entre l'azote et le manganèse.

L'analyse factorielle des correspondances (A.F.C.)

Les statistiques concernant l'inertie principale indiquent que les trois premiers axes expliquent respectivement 42,4%, 16,7% et 7,2% de l'inertie totale.

L'indice de toxicité est, selon les cosinus carrés entre les axes-descripteurs et les axes principaux, principalement associé au quatrième axe (Tableau 20). Nous allons donc analyser les plans formés par chacun des axes précédents avec l'axe 4. Une attention particulière sera portée à l'interprétation du plan formé par les axes 2 et 4, puisque le deuxième axe possède le coefficient le plus élevé parmi les trois premiers axes.

Les éléments physico-chimiques qui ont un cosinus carré supérieur à 0,1 avec le quatrième axe sont, dans l'ordre habituel, le chlore, le potassium, le manganèse, l'azote et le sélénium. L'établissement des relations entre la réponse des nématodes et la physico-chimie des élutriats se fera principalement avec ces derniers.

A la figure 22 qui représente le plan formé par les axes 1 et 4, on retrouve l'indice de toxicité à proximité de l'origine ce qui indique que sa variance n'est pas bien représentée sur ce plan. On observe également que le sélénium, le cuivre et le potassium sont les principales variables liées à une dégradation de la condition physique des nématodes et qu'il n'y a pas de variable qui soit clairement associée de façon positive à une amélioration de cette dernière. Les variables qui ont les angles les plus aigus sont l'azote et le magnésium.

Le plan formé du deuxième et du quatrième axe n'est pas représentatif de la variance de l'indice de toxicité (Figure 23). Cependant, on peut observer que l'azote et le manganèse présentent une corrélation positive avec ce dernier alors que le potassium, le sélénium, le sodium, le chlore et le nickel démontrent une association négative.

Pour terminer l'analyse des résultats de l'A.F.C., mentionnons que sur le plan formé des axes 3 et 4 (Figure 24), l'azote est l'une des principales variables qui soient liées positivement à l'indice de toxicité. Une dégradation de la condition physique des nématodes est associée, sur ce plan, à la présence du chlore, des sulfates, du potassium ainsi qu'à celle du nickel.

Un survol des résultats de cette analyse nous permet de constater que le potassium est négativement corrélé à l'indice de toxicité sur les trois plans analysés alors que le chlore et le sélénium le sont sur deux de ces plans. En ce qui concerne les associations positives, l'azote et, à un degré moindre, le manganèse semblent induire une amélioration de la condition physique.

3.3.3.4. Régression multiple

Au tableau 21, on peut suivre le processus de sélection des variables indépendantes pour chaque pas de l'analyse de régression multiple entre la condition physique des nématodes et la composition physico-chimique des éluviats. On y présente, pour chaque pas de l'analyse, les coefficients de corrélation partielle ainsi que leur probabilité pour chaque variable indépendante.

Au premier pas, les variables qui ont un coefficient de probabilité inférieur au seuil de signification sont, par ordre décroissant d'importance des coefficients, le mercure, le sélénium, le nickel, le phosphate, la couleur apparente et le carbone organique dissout.

Après avoir introduit le mercure dans le modèle, le coefficient de corrélation partielle de l'azote devient significatif et les

coefficients des variables précédentes demeurent toujours significatifs. L'absence de colinéarité entre le mercure et chacune des variables significatives du premier pas nous est confirmée par le fait que ces variables restent significatives au second pas après la sélection du mercure. L'ordre d'importance des coefficients n'est cependant plus le même. Le coefficient le plus élevé est celui du phosphore suivi par celui du carbone organique dissout, de l'azote, de la couleur apparente, du sélénium et enfin du nickel.

L'introduction du phosphore dans le modèle a pour conséquence, qu'au troisième pas, toutes les variables à l'exception de l'azote possèdent des coefficients de corrélation partielle avec des probabilités supérieures à 0,05. Ceci confirme également qu'il existe une multicolinéarité entre ces variables et que ces dernières n'apportent rien de plus que le phosphore à l'explication de la réponse des nématodes. Mentionnons que le coefficient de régression du phosphore, comme celui du mercure, est négatif (Tableau 22), ce qui indique que ces éléments sont associés à une dégradation de la condition physique des nématodes. L'azote, étant la seule variable à avoir une probabilité inférieure au seuil de signification, entre dans le modèle. On observe au tableau 22 que le signe du coefficient de régression de l'azote est positif indiquant que l'azote est associé à une augmentation du «fitness» des nématodes. Au quatrième pas, aucune variable candidate ne possède de coefficient de corrélation partielle significatif.

Selon les résultats de la régression multiple, les éléments physico-chimiques responsables d'une diminution de la condition physique des nématodes sont le mercure et le phosphore, alors que l'azote est associé à une stimulation. Le coefficient de

corrélation multiple R^2 du dernier pas indique que 66,3% de la variance de l'indice de toxicité est expliquée par le modèle avec une probabilité de 0,0001.

Si on récapitule les résultats pour l'ensemble des analyses, les trois analyses paramétriques (corrélations de Pearson, A.C.P. et régression multiple) identifient le mercure comme principal élément chimique associé à une diminution de la condition physique des nématodes. Le phosphore (corr. de Pearson et régression multiple) et/ou le sélénium (corr. de Pearson et A.F.C.) semblent également jouer un rôle dans l'explication de la toxicité. Par contre, quatre analyses sur cinq identifient clairement l'azote comme variable responsable d'une amélioration de la condition physique. Mentionnons également que les ordinations en espace réduit (A.C.P et A.F.C.) montrent qu'il existe un lien positif entre le manganèse et la l'indice de toxicité, alors que les deux types de corrélation (Pearson et Kendall) n'indiquent aucune relation significative entre le manganèse et l'azote.

3.3.3.5. Interprétation écotoxicologique

Le mercure ressort donc comme le principal élément qui soit associé à la toxicité des élutriats envers Panagrellus redivivus. Les quatre cinquièmes de la quantité annuelle de mercure qui pénètre dans l'écosystème à l'échelle globale sont d'origine naturelle. Ce mercure provient de nombreux types de roches et de l'activité volcanique. Les 20 % de mercure d'origine anthropique sont principalement produits par l'électrolyse industrielle des chlorures alcalins ainsi que par l'industrie de la peinture et des pâtes et papier.

Dans le milieu aquatique, le mercure peut avoir trois degrés d'oxydation correspondants aux états métallique, mercureux et mercurique. L'espèce chimique formée dépend du pH, du potentiel d'oxydoréduction et du type de ligands présents (USEPA, 1979). Le mercure peut former plusieurs espèces d'ions complexes dont certains ont une solubilité appréciable dans l'eau alors que d'autres sont très peu solubles. Dans les eaux naturelles contenant des micro et des macrosolutés susceptibles de servir de ligands au mercure, ce sont les ions mercuriques qui prédominent (Ramamoorthy and Massulski, 1979). Ces ions mercuriques peuvent être alkylés en composés comme le monométhyl et le diméthyl de mercure, par l'action de microorganismes (Mc Neely et al., 1980). Les espèces monométhylées et diméthylées ont une affinité marquée pour les tissus biotiques et sont rapidement absorbées par les organismes (Jensen and Jernelov, 1969).

Des études de Samoiloff et al. (1980) démontrent clairement que parmi 30 substances pures, dont 7 composés métalliques, testées pour leur toxicité envers le nématode Panagrellus redivivus, les composés à base de mercure, soit le chlorure mercurique et le méthyl de mercure, inhibent le plus fortement le développement des larves de 2^{ième}, 3^{ième} et 4^{ième} mue. La plus petite concentration de méthyl de mercure testée, soit 2.15 µg/l, inhibe le développement de 19 % des larves de 2^{ième} mue, de 62 % des larves de 3^{ième} mue et de 49 % des larves de 4^{ième} mue. Ces résultats nous laisse croire qu'il est tout à fait possible que les concentrations de mercure total retrouvées dans les éluviats, dont la moyenne est de 0.16 µg/l ± 0.25, puissent avoir elles aussi un effet toxique sur les larves de nématode.

Afin de s'assurer que le mercure ne ressort pas davantage comme variable associée à la toxicité des éluviats lorsque ceux-ci sont

testés sur Panagrellus redivivus tout simplement parce que cet élément est présent en plus grande quantité et/ou que sa variance est plus grande dans le groupe des élutriats qui ont été testés sur le nématode par rapport aux groupes d'élutriats testés sur l'algue ou la bactérie, nous avons comparé les concentrations moyennes de mercure total des trois groupes d'élutriat, ainsi que leur écart-type. Il s'avère que les concentrations moyennes ainsi que leur écart-type sont semblables pour les trois groupes d'élutriats, soit: $0.16 \mu\text{g/l} \pm 0.25$ pour le groupe d'élutriats testés sur le nématode, $0.16 \mu\text{g/l} \pm 0.10$ pour le groupe des élutriats testés sur l'algue et $0.14 \mu\text{g/l} \pm 0.22$ pour le groupe d'élutriats testés sur la bactérie. Nous serions donc tentés de croire que Panagrellus redivivus est beaucoup plus sensible au mercure que Selenastrum capricornutum ou Photobacterium phosphoreum.

Parmi les nombreuses autres variables qui sont ressorties de l'analyse statistique comme étant positivement corrélées à la toxicité des élutriats envers le nématode, nous retenons principalement le sélénium. Les études de Samoiloff (1980) démontrent que l'oxide de sélénium, bien que moins toxique que les composés à base de mercure, inhibe le développement des larves de nématode à une concentration de 10^{-8} mol/l. Quant à l'oxide de nickel, il apparaît comme moins toxique que l'oxide de sélénium et peut même avoir un effet stimulant sur le développement des larves de 4ième mue. Il est difficile de croire que le phosphore soit toxique pour le nématode. Cet élément fait d'ailleurs partie du milieu nutritif dans lequel baignent les nématodes lors du test et comme tout élément nutritif, il stimulera la croissance des nématodes (Gregor and Munawar, 1989; Samoiloff, 1984). La corrélation entre le phosphore et le nickel d'une part et l'indice de toxicité d'autre part serait donc fausse et elle pourrait être

la conséquence de la colinéarité qui existe entre ces deux contaminants et le sélénium.

Enfin, l'azote et le manganèse étant des éléments essentiels au maintien de la vie en général, il n'est pas surprenant qu'ils soient associés à une stimulation du développement larvaire. Tel que mentionné plus haut, le cation manganèse pourrait aussi se lier aux métaux et en diminuer ainsi leur toxicité envers le nématode.

3.4. Relation entre la réponse des divers biotests

Des corrélations de Pearson et de Kendall ont été effectuées entre les indicateurs de toxicité des différents biotests (Tableaux 23 et 24). Les deux types de corrélation montrent qu'il existe une association très forte entre MIR5 et MIP5L ainsi qu'entre C14R87 et C14PL. Ces résultats indiquent que la pente de la régression linéaire entre la concentration d'élutriat et le pourcentage d'inhibition de la bioluminescence ou de la photosynthèse est un indicateur de toxicité très similaire à celui de la réponse estimée à une concentration d'élutriat prédéterminée. Cette association entre les indicateurs de toxicité MIR5 et MIP5L reliés au Microtox, de même qu'entre les indicateurs de toxicité C14R87 et C14PL reliés au test d'inhibition de la photosynthèse, s'explique facilement. En effet, de façon générale plus un élutriat sera concentré, plus il sera toxique. Graphiquement, la relation entre les différentes concentrations de l'élutriat et la toxicité qu'elles engendrent sera représentée par une courbe de pente positive, passant par l'ordonné à l'origine. De même, toute inhibition de bioluminescence ou de photosynthèse associée à des concentrations respectives d'élutriat de 0,75 et 0,87 sera

positive et ce de façon proportionnelle à la valeur de la pente ci-haut mentionnée. D'autre part, la relation entre les concentrations d'un éluatriat ayant pour effet de stimuler la bioluminescence ou la photosynthèse et le pourcentage d'inhibition de ces dernières sera graphiquement représentée par une courbe de pente négative, passant par l'ordonné à l'origine. Dans ce cas le pourcentage d'inhibition de la bioluminescence ou de la photosynthèse associé à des concentrations respectives d'éluatriat de 0,75 et 0,87 sera négatif et ce de façon proportionnelle à la pente. Seuls quelques éluatriats ayant la propriété de stimuler la bioluminescence ou la photosynthèse à faibles concentrations et d'inhiber ces dernières à plus fortes concentrations pourront engendrer une pente de valeur non proportionnelle et de signe opposé à la valeur et/ou au signe du pourcentage d'inhibition de la bioluminescence ou de la photosynthèse associé respectivement à des concentrations d'éluatriat de 0,75 ou 0,87.

Les corrélations de Kendall nous indiquent qu'il existe une relation inverse entre C14PL et les réponses du test Microtox et les corrélations de Pearson le confirment. Cette relation inverse s'explique sans doute partiellement par le fait que l'alcalinité et les autres variables qui y sont associées sont d'une part corrélées à la stimulation de la bioluminescence chez Photobacterium phosphoreum, alors qu'elles sont fallacieusement corrélées à la toxicité des éluatriat envers Selenastrum capricornutum. Bien que cette relation inverse indique qu'un éluatriat identifié comme inhibiteur de la photosynthèse par la pente de la régression linéaire, stimule la bioluminescence et vice versa, on ne peut affirmer que les éléments chimiques associés à une stimulation ou une inhibition de la photosynthèse induisent, respectivement, une inhibition ou une stimulation de la bioluminescence. En effet, on peut aussi expliquer la relation

inverse qui existe entre les réponses de ces deux biotests par la multicolinéarité qui existe entre les éléments chimiques. Prenons l'exemple du plomb et de l'azote (Figure 25). Le plomb est associé à une inhibition de la bioluminescence alors que l'azote stimule la photosynthèse. Selon les corrélations de Pearson et de Kendall, il existe un lien positif entre la concentration du plomb dans les éluviats et celle de l'azote. Ainsi, un éluviat contenant beaucoup d'azote est également riche en plomb. Cet éluviat, par la présence d'azote, provoque une stimulation de la photosynthèse alors que le plomb inhibe la bioluminescence. Le résultat final de cette colinéarité est donc une association négative entre ces deux biotests.

Nous n'avons relevé aucune étude comparative portant sur la toxicité d'échantillons environnementaux telle que révélée par le test Microtox et le test d'inhibition de la photosynthèse algale, dans la littérature. Cependant, Dutka (1988) et Dutka *et al.* (1989) n'ont pas inclus le Microtox dans leur batterie de biotests, puisqu'entre autre ce test n'apportait aucune information supplémentaire sur la toxicité d'échantillons environnementaux à celle qui avaient déjà été obtenue à l'aide du test de mesure de l'ATP algal. Dans ce cas particulier, les échantillons qui se sont révélés toxiques sur le Microtox l'avaient été également sur le test algal. Cependant, ce dernier s'était révélé sensible à un plus grand nombre d'échantillons que le test Microtox. Bien que Champoux *et al.* (1988) observent une corrélation significative entre les indicateurs de toxicité du Microtox et du test algal sur des éluviats de sédiment du lac Saint-Louis prélevés en 1984, cette corrélation n'est plus significative en ce qui concerne les éluviats de sédiment prélevés en 1985. De plus, lors de ces deux campagnes d'échantillonnage, le Microtox s'est avéré apte à

détecter la toxicité d'un plus grand nombre d'échantillons que le test algal.

Il ne semble pas y avoir de relation entre l'indice de la condition physique des nématodes et les autres indicateurs de toxicité, qu'ils soient associés au Microtox ou au test d'inhibition de la photosynthèse algale. Cette absence de relation semble tout particulièrement s'expliquer par les diverses sensibilités qui caractérisent d'une part Photobacterium phosphoreum dont la réponse est reliée davantage à la présence du cadmium, du zinc et du plomb, et d'autre part Panagrellus redivivus qui répond fortement au mercure. Par contre, l'étude de Gregor and Munawar (1989) sur la toxicité des sédiments du lac Diefenbaker (Saskatchewan) démontre que de façon générale les résultats obtenus avec le test des nématodes sont comparables à ceux obtenus avec le test d'inhibition de la photosynthèse algale. Ces résultats ne sont cependant basés que sur trois échantillons dont la fraction testée diffère d'un bioessai à l'autre.

D'une manière générale, il nous apparaît que l'habilité d'un bioessai à détecter la toxicité d'un échantillon environnemental est fortement fonction de la sensibilité de l'organisme-cible du bioessai comme des contaminants qui sont présents dans cet échantillon. Comme la sensibilité d'un organisme vis-à-vis d'un contaminant particulier varie d'une espèce à l'autre et que la composition chimique des échantillons environnementaux varie tout autant, les résultats de divers bioessais concernant la toxicité d'un même ensemble d'échantillons ne seront corrélés que lorsque la sensibilité des organisme-cibles en présence vis-à-vis de l'ensemble des mélanges de contaminants présents dans les échantillons testés sera semblable.

3.5. Effet de la congélation

Plusieurs échantillons d'eau et de sédiment ont été congelés pendant une période variant d'une à quatre semaines, afin d'évaluer l'impact que peut avoir la congélation sur la composition chimique et, par le fait même, sur la toxicité des élutriats.

3.5.1. La composition chimique des élutriats

L'annexe 2 présente les résultats des analyses physico-chimiques faites soit sur des échantillons d'eau congelée (eau de brassage brute et filtrée servant au processus d'élutriation et blancs d'élutriat), ou sur des élutriats de sédiments qui ont été congelés. Les analyses physico-chimiques ont été effectuées à chaque semaine pendant toute la période de congélation des échantillons.

L'analyse statistique que nous avons utilisée est une comparaison de moyennes pour échantillons appariés, comparant pour chacune des variables physico-chimiques la valeur moyenne associée aux échantillons frais à la valeur moyenne associée aux échantillons congelés, et ce pour diverses périodes de congélation. Les résultats des analyses sont présentés à l'annexe 19. Le tableau 25 fournit les résultats pour les variables physico-chimiques qui présentent une différence significative entre l'échantillon frais et celui d'au moins une des périodes de congélation. On y retrouve, pour chaque élément et période de congélation, la moyenne des différences entre les échantillons congelés et frais ainsi que la probabilité que cette moyenne des différences soit nulle. Une valeur positive et significative indique que les concentrations des échantillons congelés sont, en moyenne, supérieures à celles des échantillons frais. Mentionnons qu'il

aurait été préférable de ne pas regrouper les résultats des éluutriats avec ceux des échantillons d'eau pour les analyses statistiques mais, étant donné le nombre important d'analyses physico-chimiques manquantes ainsi que le faible effectif des éluutriats, nous avons décidé de les traiter ensemble.

Les résultats nous indiquent que les échantillons frais contiennent plus d'azote et de sulfates que les échantillons congelés et que ces différences sont s'accroissent avec la longueur de la période de congélation. Par contre, les concentrations de carbone organique dissout, de phosphore et de potassium sont plus importantes dans les échantillons congelés. Le carbone organique dissout ainsi que le potassium ne montrent aucune tendance ni à la hausse ni à la baisse. Pour le phosphore, les moyennes des différences correspondant à une semaine et deux semaines de congélation sont plus élevées que celles obtenues après trois et quatre semaines de congélation. Cependant, les probabilités associées à ces moyennes nous indiquent que les différences entre les échantillons frais et congelés, en ce qui concerne le phosphore, sont de plus en plus significatives à mesure que le temps de congélation augmente. En ce qui concerne les chlorures, il semble y avoir une augmentation importante de leur concentration après une semaine de congélation. Par contre, cette tendance est progressivement renversée de sorte qu'après quatre semaines de congélation, les échantillons congelés contiennent moins de chlorures que les échantillons frais. Mentionnons, cependant, que les moyennes des différences associées aux chlorures et au potassium ne sont significativement différentes de zéro que pour une seule des quatre périodes de congélation. Si on applique la méthode de Dunnett (SAS, 1988), qui consiste à ajuster les probabilités de façon à tenir compte du fait qu'on effectue de nombreuses comparaisons de moyennes entre des échantillons qui ont

subi une série de traitements d'une part et un seul et même contrôle d'autre part, il n'y a plus aucune moyenne significativement différente de zéro.

Malgré le fait que, selon les probabilités corrigées par la méthode de Dunnett, il n'y ait plus aucune moyenne des différences qui soit différente de zéro, les résultats suggèrent que la congélation des échantillons pourrait avoir une influence sur leur composition physico-chimique et ce, pour deux raisons: 1) les moyennes des différences observées pour chacun des éléments sont, à l'exception de celles des chlorures, soit toujours positives ou soit toujours négatives et 2) les différences entre les échantillons frais et congelés, concernant les concentrations d'azote, de phosphore et de sulfates, sont de plus en plus évidentes à mesure que la période de congélation augmente.

De façon générale, il est difficile de tirer quelque conclusion sérieuse que ce soit concernant l'impact de la congélation des échantillons de sédiment sur la composition physico-chimique des éluviats correspondants. Cette difficulté s'explique, d'une part, du fait que l'effectif des échantillons étudiés est extrêmement faible et d'autre part parce que les résultats des différentes analyses statistiques ne sont pas constants entre eux et à travers les diverses périodes de congélation.

La réduction progressive du contenu en azote, c'est-à-dire en nitrites et nitrates dissouts, des éluviats suite à la congélation des sédiments pourrait s'expliquer par une conversion des nitrites et nitrates en ammonium lors de la période de congélation. Lee *et al.* (1975) ont observé qu'après une période de congélation prolongée, les sédiments relarguaient davantage d'ammonium lors d'une élutriation que lorsqu'ils sont frais. Par

contre, Jones and Lee (1978) ne rapportent aucun effet consistant de la congélation des sédiments avant leur élutriation sur le relargage de substances azotées. Quant à l'augmentation du contenu des éluviats en carbone organique dissout et en phosphore total suite à la congélation des sédiments, il se pourrait qu'elle soit le résultat d'un fractionnement mécanique du carbone organique et du phosphore particulaire initialement présents dans le sédiment frais ou du bris de cellules végétales ou animales par les cristaux de glace, avec libération subséquente de carbone et de phosphore préalablement non disponible à l'élutriat. A titre informatif, Lee et al. (1975) ont observé une augmentation du contenu des éluviats en orthophosphate après congélation des sédiments, sans en donner d'explication. En ce qui concerne les chlorures, les sulfates et le potassium, l'irrégularité avec laquelle les résultats significatifs des analyses statistiques ressortent après diverses périodes de congélation ne permet pas de porter quelque jugement que ce soit concernant l'effet de la congélation sur ces éléments. Enfin, les études de Jones and Lee (1978) ne démontrent aucun effet consistant de la congélation des sédiments avant élutriation sur le contenu en métaux lourds des éluviats, ce qui confirmé par nos analyses.

3.5.2. La toxicité des éluviats

Deux bioessais ont été effectués sur des éluviats provenant de sédiments qui ont été congelés, soit le test Microtox et le test d'inhibition de la photosynthèse algale. Pour les fins de l'analyse statistique, les mêmes indicateurs de toxicité qu'auparavant ont été utilisés. Afin de déterminer si la toxicité des éluviats est influencée par la congélation des sédiments, nous avons utilisé une analyse de variance à mesures

répétées avec contrastes sur les sédiments frais ainsi qu'avec contrastes polynomiaux. Ces analyses permettent, d'une part, de déterminer s'il existe une différence significative entre la toxicité des éluutriats à base de sédiment frais et la toxicité des éluutriats associés aux diverses périodes de congélation de sédiment et, d'autre part, d'établir s'il existe une tendance temporelle dans les différences observées entre les périodes de congélation.

3.5.2.1. Le test Microtox

En 1986 et en 1987, des sédiments provenant respectivement de 2 et 3 stations d'échantillonnage ont été congelés pendant différentes périodes de temps, puis éluutriés. La valeur des indicateurs de toxicité MIP5L et MIR5 associés aux éluutriats provenant de sédiment frais et congelé sont présentés respectivement aux annexes 20 et 21. Selon le principe qu'une régression significative indique que l'éluutriat est toxique, on remarque qu'au temps 0 tous les éluutriats induisent une inhibition de la bioluminescence (pentes et réponses positives).

Les sédiments des stations échantillonnées en 1986 ayant été congelés pour une période maximale de deux semaines alors que ceux de 1987 l'ont été pour une période maximale de quatre semaines et l'analyse de variance à mesures répétées ne tolérant aucune donnée manquante, nous avons dupliqué les analyses pour chaque variable indicatrice de la toxicité. Un premier groupe d'analyses a été effectué sur l'ensemble des résultats concernant les deux premières semaines de congélation alors que le deuxième groupe comprends uniquement les données de 1987 (1 à 4 semaines de congélation).

Le tableau 26 présente tout d'abord, pour MIR5, les résultats de l'analyse avec contraste sur les résultats des éluutriats frais, en ce qui concerne le premier groupe d'analyses. On observe qu'il existe une différence significative entre les pourcentages d'inhibition estimés à partir des éluutriats à base de sédiment frais (temps 0) et les pourcentages reliés aux éluutriats provenant de sédiment ayant été congelé pendant deux semaines (temps 2). Les moyennes observées pour chaque temps de congélation indiquent que la toxicité augmente avec le temps de congélation (Tableau 27). Cette tendance à la hausse est confirmée par l'analyse avec contrastes polynomiaux qui indique que cette tendance correspond à une équation du premier degré (Tableau 28). Par contre, si on effectue les analyses en considérant uniquement les données de 1987, on ne retrouve plus cette différence ainsi que cette tendance (Tableaux 26 et 28), même si les moyennes associées aux différentes périodes de congélation semblent le confirmer (Tableau 29).

Les moyennes de MIP5L, pour les données de 1986 et 1987, semblent indiquer, compte tenu des écarts types, qu'il y a une hausse de toxicité avec le temps de congélation (Tableau 27). Cette observation n'est pas confirmée par les résultats des analyses de variance à mesures répétées avec contrastes au temps 0 (Tableau 30) et avec contrastes polynomiaux (Tableau 31). Si on considère l'ensemble des données de 1987, les moyennes de MIP5L pour chaque période de congélation, semblent également démontrer une augmentation de la toxicité dans le temps (Tableau 29). Les résultats des analyses avec contrastes entre le temps 0 et chaque période de congélation indiquent qu'il existe une différence significative entre la toxicité des éluutriats à base de sédiment frais et de ceux qui proviennent de sédiment congelé sur

l'ensemble de la période de quatre semaines (Tableau 30). Cependant, les analyses de variance avec contrastes polynomiaux n'indiquent aucune tendance en fonction du temps (Tableau 31).

De façon générale donc, l'ensemble des résultats n'établit pas clairement s'il y a augmentation de la toxicité avec le temps de congélation.

3.5.2.2. Le test d'inhibition de la photosynthèse

Le test d'inhibition de la photosynthèse algale a été effectué sur les éluviats des sédiments frais et congelés provenant des 3 stations d'échantillonnage de 1987. Les valeurs des pentes C14PL obtenues à partir des régressions linéaires entre les concentrations d'éluviat et les pourcentages d'inhibition de la photosynthèse, ainsi que les pourcentages d'inhibition de la photosynthèse C14R87 associés à une concentration d'éluviat de 87 % et estimés à partir du meilleur modèle de régression sont présentés respectivement aux annexes 22 et 23. Toujours selon le principe qu'une régression significative indique une réponse toxique, on remarque, d'après les valeurs de C14PL au temps 0, que deux des trois éluviats de départ sont toxiques et induisent une inhibition de la photosynthèse (pente positive), alors que selon C14R87 les trois éluviats induisent une inhibition significative. Mentionnons que les résultats de la station BLA16, au temps 4, semblent tout à fait aberrants. Nous avons donc effectué les analyses avec et sans les données de la dernière période de congélation et nous arrivons aux mêmes conclusions.

Les moyennes de C14R87 et de C14PL pour chaque temps de congélation ne semblent indiquer, compte tenu des écarts types,

aucune variation temporelle de la toxicité (Tableau 29). Les tableaux 32 et 33 présentent, respectivement pour C14R87 et C14PL, les résultats de l'analyse de variance à mesures répétées avec contraste entre le temps 0 et chaque temps de congélation. On n'observe effectivement, pour ces deux indicateurs de toxicité, aucune différence significative entre les pourcentages d'inhibition de la photosynthèse estimés au temps 0 et ceux des autres temps. Les analyses avec contrastes polynomiaux confirment, dans les deux cas, qu'il n'y a aucune tendance temporelle significative en ce qui concerne les pourcentages d'inhibition (Tableaux 34 et 35).

De façon générale, l'ensemble des résultats concernant l'effet de la congélation des sédiments sur le test d'inhibition de la photosynthèse ne révèle donc aucune influence de la congélation sur la toxicité des éluviats. Globalement nos résultats ne nous permettent pas de porter de jugement définitif quant à l'effet de la congélation des sédiments sur la physico-chimie et la toxicité des éluviats qui en découlent. Ceci s'explique en partie par la faiblesse de l'effectif des données sur lequel sont basées nos analyses statistiques. Il est donc recommandé de répéter l'expérience avec un effectif d'échantillons plus important, ce qui donnera plus de poids à la validité des conclusions qui en seront tirées.

Mentionnons cependant que d'autres études ont démontré que la congélation des échantillons environnementaux peut avoir un effet, bien que non consistant, sur leur toxicité (Lee and Plumb, 1974; Lee and Jones, 1982; Dillon, 1983). Swartz *et al.* (1985) et Jones and Lee (1978) recommandent d'ailleurs que les sédiments devant être soumis à un test de toxicité soient gardés à 4°C de façon à minimiser toute activité chimique et biologique.

3.6. Relations entre la physico-chimie des eaux de dilution, des sédiments et des éluutriats

3.6.1. Relation entre la physico-chimie des sédiments et des éluutriats

Dans le but de vérifier s'il existe un lien entre la composition physico-chimique des éluutriats et celle des sédiments, nous avons effectué des corrélations de Pearson et de Kendall entre les concentrations chimiques caractérisant dans les sédiments et les éluutriats correspondants.

Les corrélations de Pearson indiquent qu'il n'existe une relation positive et significative qu'au niveau des concentrations de calcium, de manganèse et de sélénium (Tableau 36). En ce qui concerne les corrélations de Kendall, elles établissent un lien positif et significatif entre les sédiments et les éluutriats au niveau des concentrations du cadmium et du calcium alors que celles du plomb et du sélénium sont près du seuil de signification.

De façon générale, les résultats des corrélations démontrent donc qu'il existe très peu de relation entre la chimie des sédiments et celle des éluutriats. De nombreuses études ont démontré qu'il existe peu ou pas de corrélation entre le contenu chimique des sédiments et le relarguage d'éléments chimiques à partir de ceux-là, lors du processus d'éluutriation (Lee *et al.*, 1975; Lee and Jones, 1978; Munawar *et al.*, 1983). Par conséquent, il est difficile de prédire le contenu physico-chimique d'un éluutriat à partir des teneurs du sédiment correspondant ainsi que la disponibilité des éléments présents dans ce dernier envers les organismes vivants dans la colonne d'eau (Mudroch and Sandilands, 1979).

Ces observations s'expliquent d'une part du fait que les teneurs totales mesurées dans le sédiment ne reflètent pas les différentes formes chimiques sous lesquelles les métaux lourds et éléments majeurs se retrouvent, sachant que seules certaines de ces formes passeront à l'élutriat, en fonction de leur coefficient de partition ou de leur solubilité. D'autre part, il semble que, lors de l'élutriation, le relargage de nombreux éléments chimiques est fonction des caractéristiques physico-chimiques de l'eau qui sert au brassage (Lee and Jones, 1978). Par conséquent, il n'est pas surprenant de constater que le résultats concernant la corrélation existant entre la concentration d'un élément chimique dans l'élutriat et dans le sédiment varient grandement d'une étude à l'autre.

Soulignons aussi que dans toutes les études faites jusqu'à ce jour, les teneurs de l'eau de brassage en contaminants n'ont pas été soustraites des teneurs chimiques de l'élutriat, lors de l'établissement d'une telle corrélation. Cette omission rend d'emblée la corrélation fallacieuse, car de cette manière nous ne comparons plus les teneurs du sédiment à la quantité d'éléments chimiques relargués, mais plutôt les teneurs du sédiment à l'ensemble des éléments chimiques relargués et des teneurs initiales de l'eau de brassage. Nous recommandons donc qu'à l'avenir toute étude de ce type s'applique à soustraire les teneurs de l'eau de brassage des teneurs chimiques de l'élutriat, bien que nous ne saurions affirmer que les échanges eau de brassage-sédiment-élutriat se limitent à de simples additions ou soustractions d'éléments chimiques.

3.6.2. Relation entre la physico-chimie des eaux de brassage et des élutriats

Etant donné qu'il existe très peu de corrélation entre les éléments chimiques des sédiments et ceux des élutriats, nous avons cherché à connaître le niveau d'enrichissement des élutriats par rapport aux eaux de brassage et à savoir si cet enrichissement était significatif. Pour répondre à ces questions nous avons, dans un premier temps, comparé les concentrations de chaque élément physico-chimique présent dans les eaux de brassage aux concentrations de ces mêmes éléments dans les élutriats correspondants, par un test t de comparaison de moyennes (analyse paramétrique) ainsi qu'un test de Wilcoxon-Mann-Withney (analyse non-paramétrique). Dans un deuxième temps, nous avons calculé, pour chaque élément, un pourcentage d'enrichissement moyen à l'aide de la formule suivante:

$$\% \text{ d'enrichissement moyen} = 100 * (A - B) / B$$

où A = moyenne des concentrations dans les élutriats et
B = moyenne des concentrations dans les eaux de brassage.

Le tableau 37 présente, pour chaque élément physico-chimique, les concentrations moyennes dans les eaux de brassage, les concentrations moyennes dans les élutriats correspondants, les pourcentages d'enrichissement moyen ainsi que les résultats des analyses statistiques. Nous avons effectué deux types d'analyse statistique pour la raison suivante. Comme nous l'avons déjà mentionné, une analyse paramétrique est, en général, beaucoup plus sensible pour détecter une différence qu'une analyse non-paramétrique. Cependant, l'une des conditions d'application du test t de comparaison de moyennes est l'homogénéité des variances.

Si on ne respecte pas cette condition, il est possible de corriger le calcul des probabilités en fonction de cette violation mais ce test devient rapidement moins sensible qu'un test non-paramétrique.

Les résultats des analyses statistiques montrent pour l'ensemble des éléments chimiques une différence hautement significative ($P < 0,001$) entre les concentrations des eaux de brassage et celles des éluviats. Les éléments qui ont un pourcentage d'enrichissement supérieur à 1000 sont, par ordre décroissant d'importance, le fer, le manganèse, le phosphore, le plomb et la couleur apparente alors que ceux qui ont un pourcentage supérieur à 100 sont, dans le même ordre, le cuivre, le carbone organique dissout, le cobalt, le zinc, le chrome, le nickel, l'arsenic, le potassium et le sélénium. Les éléments pour lesquels ni l'une ni l'autre des analyses n'indiquent de différence significative sont l'azote, le cadmium, les sulfates et le mercure. Les pourcentages d'enrichissement moyen indiquent qu'il y a un appauvrissement pour certaines variables soit l'alcalinité, le calcium, la conductivité spécifique, la dureté totale et le magnésium.

De façon générale, l'ensemble des études similaires décrites dans la littérature relatent aussi un enrichissement des éluviats par rapport aux eaux de brassage servant à l'éluviation pour ce qui est de la plupart des éléments chimiques, à l'exception de ceux qui sont liés à l'alcalinité. Les résultats de notre étude confirment que le manganèse figure parmi les éléments dont le pourcentage d'enrichissement (5944,7%) est le plus élevé (Lee et al., 1975; Brannon, 1978; Munawar et al., 1983). Par contre, la teneur des éluviats en mercure, qui est pourtant facilement mobilisé en milieu aqueux (De Groot et al., 1971), n'apparaît pas supérieure à la teneur des eaux de brassage. Cela pourrait

s'expliquer par une présence importante de mercure méthylé insoluble dans le sédiment. Quant aux nitrates et aux nitrites pour lesquels les éluviats et eaux de brassage faisant partie de notre étude ont été analysés, il est difficile d'expliquer pourquoi ils ne sont pas relargués vers l'éluviat si ce n'est que ces composés solubles sont peu présents dans le sédiment, ce que nous ne pouvons savoir car ce dernier a été analysé pour son contenu en azote total. Mentionnons que plusieurs études rapportent que l'ammoniaque est libéré en quantité significative dans l'éluviat, en condition aérobie (Lee et al., 1975; Lee and Jones, 1978; Munawar et al., 1983). Contrairement à Lee (1975) qui indique que la teneur en phosphore des éluviats ne change pas significativement par rapport aux concentrations présentes dans l'eau de brassage et à Munawar et al. (1983) qui notent un appauvrissement des éluviats en phosphore par rapport à l'eau de brassage, nos résultats, en accord avec Sly (1977) et Champoux et al. (1986), indiquent un fort enrichissement de cet élément. L'enrichissement des éluviats en potassium pourrait provenir des argiles de type illite composant les sédiments fins du fleuve Sait-Laurent. En effet, lorsque ces argiles sont mises en contact avec de l'eau, les ions compensateurs K disposés sur les faces externes des feuillets peuvent se séparer et passer en solution, tandis que d'autres cations sont fixés par l'illite (Caillère et Hénin, 1963). Enfin, les niveaux élevés de couleur apparente et de carbone organique dissout des éluviats par rapport à l'eau de brassage sont attribués à la présence dans les éluviats de composés organiques tels les acides humiques et fulviques, provenant des sédiments.

Il est intéressant de noter que les analyses de corrélation entre la toxicité et la physico-chimie des éluviats nous avaient permis d'identifier l'azote comme un des éléments associés à la

stimulation de la photosynthèse algale et à l'amélioration de la condition physique des nématodes et le cadmium et le mercure comme éléments associés respectivement à l'inhibition de la bioluminescence des bactéries et à la dégradation de la condition physique des nématodes. Les résultats des analyses actuelles ne démontrant cependant aucun enrichissement des éluviats en ce qui concerne ces trois éléments, il ressort que c'est l'azote, le cadmium et le mercure contenus dans l'eau de brassage et non dans le sédiment qui seraient à l'origine de ces phénomènes.

La réduction de l'alcalinité, de la dureté, de la conductivité et du contenu en calcium, magnésium et sodium des éluviats par rapport à l'eau de brassage a été également observée par Champoux et al. (1986). Ce phénomène s'explique par le remplacement des ions métalliques présents aux sites d'attachement des particules des sédiments par les cations de sels présentes dans l'eau de brassage (Förstner and Wittman, 1981).

Mentionnons pour terminer que l'enrichissement et l'appauvrissement des éluviats par rapport à l'eau de brassage sont des phénomènes complexes qui dépendent fortement des formes chimiques sous lesquelles les éléments sont présents dans le sédiment et l'eau de brassage et des interactions qui prévalent entre l'ensemble des éléments des phases aqueuses et particulaires lors de l'éluviation.

3.7. Impact de la technique d'élutriation sur la physico-chimie des éluutriats

Afin de vérifier si les manipulations et l'équipement qui sont associés à la technique d'élutriation occasionnent une altération de la physico-chimie des éluutriats, on a soumis quatre échantillons d'eau de brassage aux diverses étapes du processus d'élutriation sans ajout de sédiment. Nous avons utilisé une analyse de comparaison de moyennes pour échantillons appariés afin de comparer la physico-chimie de ces eaux de brassage avant et après le traitement. Les résultats sont présentés au tableau 38. Ceux-ci n'indiquent aucune différence significative. Bien que cette conclusion ne soit basée que sur l'analyse de quatre échantillons, il ne semble donc pas y avoir d'interférence due à la technique en soi.

BIBLIOGRAPHIE

- Acosta H. 1984. Communication personnelle avec H. Sloterdijk.
Ankley G.T., Hoke R.A., Giesy J.P. and Winger P.V. 1989.
Evaluation of the Toxicity of Marine Sediments and Dredged
Spoils with the Microtox Bioassay. *Chemosphere* 18(9/10):
2069-2075.
- Babich H. and Slotzky G. 1986. Environmental Factors that Affect
the Utility of Microbial Assays for the Toxicity and
Mutagenicity of Chemical Pollutants. In: *Toxicity Testing
Using Microorganisms, Vol II*, Dutka B.J. and Bitton G.
Eds., CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 9-42.
- Babich H. and Slotzky G. 1983. Further Studies on Environmental
Factors that Modify the Toxicity of Nickel to Microbes.
Reg. Toxicol. Pharmacol. 3: 82.
- Bazzaz M. and Govindjee B. 1974. Effects of Lead Chloride on
Chloroplast Reactions. *Environ, Lett.* 6 : 175-191.
- Blaise C., Bermingham N. and Van Coillie R. 1988. Biological
Testing - Development, Application and Trends in Canadian
Environmental Protection Laboratories. *Toxicity Assessment*
3: 385-406.
- Brannon J.M. 1978. Evaluation of Dredged Material Pollution
Potential. Dredged Material Research Program, U.S. Army
Engineer, W.E.St, Technical Report DS-78-6, 39 p.
- Brown V.M., Shaw T.L. and Shurben D.G. 1974. Aspects of Water
Quality and the Toxicity of Copper to Rainbow Trout. *Water
Res.* 8: 797-803.
- Brungs W.A., Geckler J.R. and Gast M. 1976. Acute and Chronic
Toxicity of Copper to the Minnow in a Surface Water of
Variable Quality. *Water Res.* 10: 37-43.
- Buikema A.L. Jr., Niederlehner B.R. and Cairns J. Jr. 1982.
Biological Monitoring. Part IV. Toxicity Testing. *Water
Res.* 16: 239-262.

- Bulich A.A., Greene M.W. and Isenberg D.L. 1981. Reliability of the Bacterial Luminescence Assay for Determination of the Toxicity of Pure Compounds and Complex Effluents. In: Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Philadelphia, Fourth Conference, Branson D.R. and Dickson K.L. Eds., American Society for Testing Materials, Special Technical Publication 737, Philadelphia, pp. 338-347.
- Caillère S. et Hélin S. 1963. Minéralogie des argiles. Masson et Cie., Paris, 355 p.
- Cairns J. Jr. and Pratt J.R. 1986. Ecological Consequences Assessment: Effects of Bio-engineered Organisms. Water Res. Bull. 22: 171-182.
- CCMRE (Conseil canadien des ministres des ressources et de l'environnement). 1987. Recommendations pour la qualité des eaux au Canada. Groupe de travail sur les recommandations pour la qualité des eaux, Ottawa, Canada.
- Cedeno-Maldonado A. 1973. Studies on the Mechanism of Copper Toxicity in Chlorella. Ph. D. Thesis, Dept. of Biology, Univ. of California, Riverside.
- Champoux L., Sloterdijk H., Couillard Y., Jarry V. et Ross P. 1988. Étude de la qualité des sédiments du lac Saint-Louis (Fleuve Saint-Laurent) 1984-1985. Rapport technique no 2, Contamination et toxicité des éluvatiés. Environnement Illimité Inc., Montréal, Québec, 106 p. + annexes.
- Champoux L., Ross P., Jarry V., Sloterdijk H., Mudroch A. et Couillard Y. 1986. Libération par éluviation des contaminants du lac Saint-Louis (Fleuve Saint-Laurent, Québec). Rev. Int. Sci. Eau 2(4): 95-107.
- Chapman G. and Dunlop S. 1981. Detoxification of Zinc and Cadmium by the Freshwater Protozoan Tetrahymena pyriformis. I. The Effect of Water Hardness. Environ. Res. 26: 81.
- Chapman P.M. 1986. Sediment Bioassay Tests Provide Toxicity Data Necessary for Assessment and Regulation. In: Proc. of the Eleventh Annual Aquatic Toxicology Workshop, Nov. 13-15, 1984, Geen, G.H. and Woodward, K.L. Eds., Vancouver, Canada, Tech. Rpt. 1480, Fish. Aquat. Sci., pp. 178-197.

- Chau Y.K. and Lum-Shue-Chan K. 1974. Determination of Labile and Strongly Bound Metals in Lake Water. *Water Res.* 8: 383-388.
- Dafoe T., Carey J.H., Mc Crindle S.H., Wells P.G. and Wilson R.C.H. 1987. Relationships between the Biological Testing of Industrial Effluents and the Quality of Receiving Waters-some Canadian Case Studies. *Water Poll. Res. J. Canada* 22: 251-269.
- Daniels S.A., Munawar M. and Mayfield C.I. 1989. An Improved Elutriation Technique for the Bioassessment of Sediment Contaminants. *Hydrobiologia* 188/189: 619-631.
- Davies P.H., Goettl J.P. Jr., Sinley J.R. and Smith N.F. 1976. Acute and Chronic Toxicity of Lead to Rainbow Trout Salmo gairdneri, in Hard and Soft Water. *Water Res.* 10: 199-206.
- De Groot A.J., De Goeij J.J.M. and Zegers C. 1971. Contents and Behaviour of Mercury as Compared with Other Heavy Metals in Sediments from the Rivers Rhine and Ems. *Geol. Mijnb.* 50(3): 393-398.
- De Zwart D. and Sloof W. 1983. The Microtox as an Alternative Assay in the Acute Toxicity Assessment of Water Pollutants. *Aquatic Toxicology* 4: 129-138.
- Dillon T. 1983. The Effects of Storage Temperature and Time on Sediment Toxicity. Poster presented at Fourth Annual SETAC Meeting, Arlington, VA, U.S. Army Engineer Waterways Experiment Station, Vicksburg, MS.
- Dutka B.J., Tuominen T., Churchland L. and Kwan K.K. 1989. Fraser River Sediments and Waters Evaluated by the Battery of Screening Test Technique. *Hydrobiologia* 188/189: 301-315.
- Dutka B.J. 1988. Proposed Ranking Scheme and Battery of Tests for Evaluating Hazards in Canadian Waters and Sediments. Rivers Research Branch, National Water Research Institute, Environment Canada, RRB-88-35, Burlington, 18 p. + annexes.
- Dutka B.J. and Kwan K.K. 1981. Comparison of Three Microbial Toxicity Screening Tests with the Microtox Test. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 27: 753-757.

- Elder J.F. 1989. Applicability of Ambient Toxicity Testing to National or Regional Water-Quality Assessment. U.S. Geological Survey, Open-file Report 89-55, Madison, Wisconsin, 102 p.
- E.V.S. Consultants 1989. An Evaluation of the Sensitivity of Microassays Relative to Trout and Daphnid Acute Lethality Tests. E.V.S. Consultants, North Vancouver, BC, 55 p.
- Förstner U. and Wittman G.T.W. 1981. Metal Pollution in the Aquatic Environment. Second Ed., Springer-Verlag, 486 p.
- Gaechter R. 1976. Heavy Metal Toxicity and Synergism to Natural Phytoplankton in the Eutrophic Lake Alpnach and the Mesotrophic Horw Bay. Schweiz. Z. Hydrol. 38: 97-119.
- Germain A. et Janson M. 1984. Qualité des eaux du fleuve Saint-Laurent de Cornwall à Québec (1977-1981). Environnement Canada, Direction générale des eaux intérieures (Québec), Section des relevés de qualité, 232 p.
- Gipps J.F. and Collier B.A.W. 1982. Effect of Some Nutrient Cations on Uptake of Cadmium by Chlorella pyrenoidosa. Aust. J. Mar. Freshwater. Res. 33: 979.
- Gjessing E.T. 1981. The Effect of Aquatic Humus on the Biological Availability of Cadmium. Arch. Hydrobiol. 91: 144.
- Gregor D.J. and Munawar M. 1989. Assessing Toxicity of Lake Diefenbaker (Saskatchewan, Canada) Sediments Using Algal and Nematode Bioassays. Hydrobiologia 188/189: 291-300.
- Hem J.D. 1972. Chemistry and Occurrence of Cadmium and Zinc in Surface Waters and Ground Water. Water Resour. Res. 8: 661-678.
- Hem J.D. and Durum W.H. 1973. Solubility and Occurrence of Lead in Surface Water. J. Am. Water Works Assoc. 65: 562-568.
- Hendricks A.C. 1978. Response of Selenastrum capricornutum to Zinc Sulfides. J. Water Pollut. Contr. Fed. 50: 163.

- Jensen A. 1984. Marine Ecotoxicological Tests with Phytoplankton. In: Ecotoxicological Testing for the Marine Environment, Vol I, Persoone G., Jaspers E. and Claus C. Eds., State University of Ghent, Institute for Marine Scientific Research, Bredene, Belgium, pp. 195-213.
- Jensen S. and Jernelov A. 1969. Biological Methylation on Aquatic Organisms, *Nature (London)* 223: 753-754.
- Jones R.A. and Lee G.F. 1978. Evaluation of the Elutriate Test as a Method of Predicting Contaminant Release during Open-Water Disposal of Dredged Sediments and Environmental Impact of Open-Water Dredged Material Disposal, Vol. I: Discussion. U.S. Army Engineer Waterways Experiment Station, Technical Report D-78-45, Vicksburg, MS, 217 p. + annexes.
- Kaiser K.L.E., Lum K.R. and Palabrica V.S. 1988. Review of Field Applications of the Microtox Test in Great Lakes and St. Lawrence River Waters. *Water Poll. Res. J. Canada* 23(2): 270-278.
- Keely J.E. and Engler R.M. 1974. Dredged Material Research Program. Miscellaneous Paper D-74-14, US, Army Engineer Waterways Experiment Station, Vicksburg, Mississippi.
- Kimerle R.A. 1986. Has the water quality criteria concept outlived its usefulness? *Environ. Toxicol. Chem.* 5: 113-115.
- Kinkade M.L. and Erdman H.E. 1975. The Influence of Hardness Components (Ca^{2+} and Mg^{2+}) in Water on the Uptake and Concentration of Cadmium in a Simulated Freshwater Ecosystem. *Environ. Res.* 10: 308-317.
- Klapow L.A. and Lewis R.H. 1979. Analysis of Toxicity Data for California Marine Water Quality Standards. *J. Water Pollut. Control Fed.* 51: 2054-2070.
- Krebs F. 1983. Toxicity Test Using Freeze-Dried Luminescent Bacteria. *Gewasser, Wasser, Abwasser* 63: 173-230.
- Lamberson J.O. and Swartz R.C. 1988. Use of Bioassays in Determining the Toxicity of Sediment to Benthic Organisms. In: Toxic Contaminants and Ecosystem Health; a Great Lakes Focus, Evans, M.S. Eds., John Wiley and Sons, New York, pp. 257-279.

- Laskowski-Hoke R.A. and Prater B.L. 1984. Multivariate Statistical Analyses of 96-Hour Sediment Bioassay and Chemistry Data. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 33: 400-409.
- Lee G.F. 1975. Role of Hydrous Metal Oxides in the Transport of Heavy Metals in the Environment. In: *Heavy Metals in the Aquatic Environment*, Krenkel P.A. Ed., Pergamon Press, Toronto, Ontario, pp. 137-147.
- Lee G.F. and Jones R.A. 1982. Dredged Material Evaluations: Correlation between Chemical and Biological Evaluation Procedures. *J. Water Pollut. Control Fed.* 54: 406.
- Lee G.F. and Plumb R.H. 1974. Literature Review on Research Study for the Development of Dredged Material Disposal Criteria. Contract Report D-74-1, U.S. Army Engineer Waterways Experiment Station, Vicksburg, MS.
- Lee G.F., Piwoni M.D., Lopez J.M., Mariani G.M., Richardson J.S., Homer D.H. and Saleh F. 1975. Research Study for the Development of Dredged Materials Disposal Criteria. Contract Report D-75-4, U.S. Army Engineer Waterways Experiment Station, Vicksburg, MS.
- Legendre L. et Legendre P. 1984. *Écologie numérique, Tome II: Structure des données écologiques*. 2ième ed., Masson et Presse de l'Université du Québec, 335 p.
- Leland H.V. and Kuwabara J.S. 1985. Trace Metals. In: *Fundamentals of Aquatic Toxicology*, Rand G.M. and Petrocelli S.R. Eds., Hemisphere Publishing Corp., New York, pp. 374-415.
- Levin S.A., Kimball K.D., McDowell W.H. and Kimball S.F. 1984. New Perspectives in Ecotoxicology. *Environ. Man.* 8: 375-442.
- Long E.R. 1983. A Multidisciplinary Approach to Assessing Pollution in Coastal Waters. In: *Proc. of the Third Symposium on Coastal and Ocean Management*, Magoon Q.T. and Converse H. Eds., Am. Soc. Civ. Eng., San Diego, CA, pp. 163-178.
- Mac M.J., Edsall C.C., Hesselberg R.J. and Sayers R.E. 1984. Flow-through Bioassay for Measuring Bioaccumulation of Toxic Substances from Sediments. *Pert. Contrib-61*, EPA/905/3-84/007, 26 p.

- Maciorowski A.F., Gerrard E.D., Little L.W. and Sims J.L. 1983. Bioassays - Procedures and Results. Journ. Water Poll. Control Fed. 53: 974-993.
- McCrary J.K. and Chapman G.A. 1979. Determination of Copper Complexing Capacity of Natural River Water, Well Water and Artificially Reconstituted Water. Water Res. 13: 143-150.
- McNeely R.N., Neimanis V.P. et Dwyer L. 1980. Mercure. Dans: Référence sur la qualité des eaux. Guide des paramètres de la qualité des eaux. Direction de la Qualité des Eaux, Direction Générale des Eaux Intérieures, Environnement Canada, Ottawa, pp. 35-36.
- Microbics Corp. 1987. How to Run a Standard Microtox Test. Microbics Corp., Forest, Ontario, Canada, 38 p.
- Microbics Corp. 1987. How to Reduce Microtox Data. Microbics Corp., Carlsbad, Ca., 42 p.
- Morozzi G. and Cenci G. 1978. Comparison of the Toxicity of Some Metals and their Tetracyanide Complexes on the Respiration of Nonacclimated Activated Sludges. Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B 167: 478.
- Mudroch A. and Sandilands R.G. 1979. Preliminary Report on Dredging Studies. Canadian Center for Inland Waters, Environment Canada, Unpublished Report.
- Munawar M., Wong P.T.S. and Rhee G.-Y. 1988. The Effects of Contaminants on Algae: an Overview. In: Toxic Contaminants in Large Lakes, Vol. 1, Chronic Effects of Toxic Contaminants in Large Lakes. Schmidtke N.W. Ed., Lewis Publishers, Michigan, pp. 113-160.
- Munawar M., Mudroch A., Munawar I.F. and Thomas R.L. 1983. The Impact of Sediment-Associated Contaminants from the Niagara River Mouth on Various Size Assemblages of Phytoplankton. J. Great Lakes Res. 9(2): 303-313.
- NAQUADAT. 1988. Dictionnaire des codes paramétriques. Section des Systèmes Informatiques, Direction de la Qualité des Eaux, Environnement Canada, Ottawa, 378 p.

- OECD (Organization for Economic Cooperation and Development). 1987. The Use of Biological Tests for Water Pollution Assessment and Control. Environment Monographs, no. 11, 70 p.
- Qureshi A. A., Coleman R.N. and Paran J.H. 1984. Evaluation and Refinement of the Microtox Test for Use in Toxicity Screening. In: Toxicity Procedures Using Bacterial Systems, Liu D. and Dutka B. Eds., Marcel Dekker, New York, pp. 1-22.
- Qureshi A. A., Flood K.W., Thompson S.R., Janhurst S.M., Innis C.S. and Rokosh D.A. 1982. Comparison of a Luminescent Bacterial Test with Other Bioassays for Determining Toxicity of Pure Compounds and Complex Effluents. In: Aquatic Toxicology and Hazard assessment: Philadelphia, Fifth Conference, Pearson J.G., Foster R.B. and Bishop W.E. Eds., American Society for Testing Materials, Special Technical Publication 766, Philadelphia, pp. 179-195.
- Rai L., Gaur J. and Kumar H.D. 1976. Protective Effects of Certain Environmental Factors on the Toxicity of Zinc, Mercury and Methylmercury to Chlorella vulgaris. Environ. Res. 25: 250.
- Rammoorthy S. and A. Massalski. 1979. Analysis of Structure-Localized Mercury in Ottawa River Sediments by Scanning Electron Microscopy/Energy-Dispersive X-ray Microanalysis Technique. Environ. Geol. 2: 351-357.
- Reid G.K. and Wood R.D. 1976. Ecology of Inland Waters and Estuaries. D. Van Nostrand Co., Toronto, Ontario, 485 p.
- Ribo J.M. and Kaiser K.L.E. 1987. Photobacterium phosphoreum Toxicity Bioassay. I. Test Procedures and Applications. Tox. Assessment 2: 305-323.
- Ribo J.M. and Kaiser K.L.E. 1983. Effects of Selected Chemicals to Photoluminescent Bacteria and their Correlation with Acute and Sublethal Effects on Other Organisms. Chemosphere 12: 1421-1442.
- Richter R.O. and Theis T.L. 1980. Nickel Speciation in a Soil/Water System. In: Nickel in the Environment, Nriagu J.O. Ed., Wiley Interscience, New York, pp. 189-202.

- Samoiloff M.R. 1990. The Nematode Toxicity Assay Using Panagrellus redivivus. Bioquest International Inc., Winnipeg, Manitoba, 11 p.
- Samoiloff M.R., Schulz S., Jordan Y., Denich K. and Arnott E. 1980. A Rapid Simple Long-Term Toxicity Assay for Aquatic Contaminants Using the Nematode Panagrellus redivivus. Can. J. Fis. Aquat. Sci. 37(7): 1167-1174.
- SAS (SAS Institute Inc.). 1988. SAS/STAT User's Guide. Edition 6.03, Cary, NC, 1028 p.
- Scherrer B. 1984. Biostatistiques. Gaetan Morin ed., 850 p.
- Sergy G. 1987. Recommendations on Aquatic Tests and Procedures for Environmental Protection, Conservation and Protection. Technology Development and Technical Services Branch, Environmental Protection, Conservation and Protection, Environment Canada (Edmonton, Alberta), 102 pp. + annexes.
- Shapiro J. 1964. Effect of Yellow Organic Acids on Iron and Other Metals in Water. J. Am. Water Works Assoc. 56: 1062-1082.
- Sheehan P.J., Miller D.R., Butler G.C. and Boudreau P. 1984. Effects of Pollutants at the Ecosystem Level - Scope 22, John Wiley and Sons, 443 p.
- Shuba P.J., Carroll J.H. and Tatem H.E. 1976. Bioassessment of the Standard Elutriate Test. Dredged Material Research Program, Miscellaneous Paper D-76-7, 16 p.
- Sly P.G. 1977. A Report on Studies of the Effects of Dredging and Disposal in the Great Lakes, with Emphasis on Canadian Waters. Inland Water Directorate, Canadian Center for Inland Waters, Environment Canada, Scientific Publ. Series #77, 38 p.
- Sokal R.R. and Rohlf F.J. 1981. Biometry. 2nd edition, W.H. Freeman and Co., U.S.A., 859 p.
- SOMER 1990. Synthèse de l'approche écotoxicologique d'évaluation de la contamination du milieu aquatique. Rapport préliminaire, 262 p. + annexes.

- Sprague J.B. 1985. Factors that Modify Toxicity. In: Fundamentals of Aquatic Toxicology, Rand G.M. and Petrocelli S.R. Eds., Hemisphere Publishing Corp., New York, pp.124-163.
- Stebbing A.R.D. 1982. Hormesis-The Stimulation of Growth by Low Levels of Inhibitors. The Science of the Total Environment 22: 213-234.
- Stemann Nielsen E. and Wium-Andersen S. 1970. Copper Ions as Poison to the Sea and Freshwater. Mar. Biol. 6: 93-97.
- Stumm W. and Morgan J.J. 1981. Aquatic Chemistry. An Introduction Emphasizing Chemical Equilibria in Natural Waters. Wiley-Interscience Publ., John Wiley and Sons, New York, 780 p.
- Swartz R.C., DeBen W.A., Jones J.K.P., Lamberson J.O. and Cole F.A. 1985. Phoxocephalid Amphipod Bioassay for Marine Sediment Toxicity. In: Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Seventh Symposium, Cardwell R.D., Purdy R. and Bahner R.C. Eds., American Society for Testing Materials, ASTM STP 854, Philadelphia, pp. 284-307.
- Swartz R.C. and Lee H. 1980. Biological Processes Affecting the Distribution of Pollutants in Marine Sediments. Part I. Accumulation, Trophic Transfer, Biodegradation and Migration. In: Contaminants and Sediments, Baker, R.A. Eds., Ann Arbor Sci. Publ., Ann Arbor, MI, Vol. 2, pp. 533-553.
- Toledo A.P.P., Tundisi J.G. and D'Aquino V.A. 1980. Humic Acid Influence on the Growth and Copper Tolerance of Chlorella sp. Hydrobiologia 71: 261.
- Underwood E.J. 1977. Trace Elements in Human and Animal Nutrition. New York: Academic.
- USEPA (U. S. Environmental Protection Agency). 1985. Technical Support Document for Water Quality-Based Toxics Control. Office of Water, Washington, DC, EN-336, 74 p. + annexes.
- USEPA 1979. Mercury. In: Water-Related Environmental Fate of 129 Priority Pollutants. Vol 1. Introduction, Technical Background, Metals and Inorganics, Pesticides, Polychlorinated Biphenyls. Office of Water Planning and Standards, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C. EPA-440/4-79-029a, pp. 14-1 to 14-15.

- USEPA 1977. Dredged material Sample Collection and Preparation. Appendix B. In: Ecological Evaluation of Proposed Discharge of Dredges Materail into Ocean Waters, Environmental Protection Agency/Corps of Engineers Technical Committee for Dredged and Fill Material. Environmental Effects Laboratory, U. S. Army Engineer Waterways Experiment Station, Vicksburg, Mississippi.
- Vasseur P., Bois F., Ferard J.F. et Rast C. 1986. Influence of Physicochemical Parameters on the Microtox Test Response. *Tox. Assessment* 1: 283-300.
- Wiener B.J. 1971. *Statistical Principles in Experimental Design*. 2nd edition, Mc Graw-Hill Book Co., N.Y.
- Wong P.T.S., Chau Y.K. and Patel D. 1982. Physiological and Biochemical Responses of Several Freshwater Algae to a Mixture of Metals. *Chemosphere* 11: 367-376.

