

THESE

Présentée à

L'UNIVERSITE BORDEAUX 1

Ecole Doctorale des Sciences de l'Environnement

Par M^{elle} Emilie STRADY

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR

Spécialité : Géochimie et Ecotoxicologie

Mécanismes biogéochimiques de la contamination des huîtres
Crassostrea gigas en Cadmium en baie de Marennes Oléron

Soutenance prévue le 28 septembre 2010

Devant la commission d'examen formée de

M. Peter Campbell, Professeur, INRS Québec, Canada

M. Olivier Radakovitch, Maître de conférences HDR, Université Paul Cézanne, Aix en Provence

M. Thierry Corrège, Professeur, Université Bordeaux 1

M. Pierre Miramand, Professeur, Université de La Rochelle

M. Serge Robert, Cadre de recherche, Ifremer, l'Houmeau

M^{me} Magalie Baudrimont, Maître de conférences, HDR, Université Bordeaux 1

M. Gérard Blanc, Professeur Université Bordeaux 1

M. Jörg Schäfer, Professeur, Université Bordeaux 1

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Examineur

Co-directrice

Co-directeur

Co-directeur

Remerciements

Ces trois années intenses de recherche, d'enseignement, d'aventures (sur le terrain, en mer, en conférences) et mésaventures (sur la passe ouest Gironde !) s'achèvent avec le besoin de dire merci aux personnes qui m'ont entourée et aidée de près comme de loin.

Tout d'abord, je tiens à remercier mes trois directeurs de thèse, Gérard Blanc, Magalie Baudrimont et Jörg Schäfer de m'avoir fait confiance sur ce projet et de m'avoir laissée cette autonomie de travail. Je souhaite particulièrement remercier Gérard pour nos discussions et débats sur les sciences, l'équitation et la vie tout simplement. Avec vous, j'ai appris qu'un 'non' n'est pas définitif et qu'il invite à discuter, à défendre ses idées et à devenir tenace. Je remercie également Magalie pour nos discussions, pour sa disponibilité et son écoute, et surtout pour avoir éveillé ma curiosité envers l'écotoxicologie. Je te remercie d'avoir fait confiance à la novice que j'étais il y a trois ans.

Je voudrais également remercier Alexandra Coynel, d'avoir toujours été là pour discuter des données et de la vie et pour m'avoir prise comme padawan. J'aimerais aussi remercier Patrice Castaing et Jean Marie Jouanneau pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon cheminement et surtout de m'avoir léguée une partie de leurs précieuses bibliographies.

Ces années ont été marquées par de nombreuses missions sur le terrain et en mer, dans des conditions météorologiques très contrastées et souvent lors de week-end, alors je remercie toutes les petites fourmis qui sont venues m'aider et sans qui ces travaux n'auraient pas vu le jour. Merci à Alexandra Coynel, Cécile Bossy et Hervé Derriennic, toujours de la partie dans la joie et la bonne humeur ; Lionel Dutruch, Eric Maneux et Aurélie Larrose, d'avoir été mes compagnons des moments houleux en mer ; les rochelais Valérie David, Julien Modéran et Denis Fichet pour les bons moments sur le *Côtes de la Manche* ; Corinne Glé, Laurent Lanceleur, Georges Oggian, Gérard Blanc et Jean Pierre Lissalde pour leur aide dans la bonne humeur.

Ces années ont également été marquées par de longues journées passées devant des instruments de mesure très capricieux alors je souhaite remercier Gilbert Lavaux, Cécile Bossy, Véronique Duflo et Régine Maury-Brachet d'avoir fait preuve de patience lorsque je n'en avais plus !

La thèse c'est certes le travail mais c'est aussi des bons moments de détente et de rigolade qui font que tout va beaucoup mieux ! Alors un très très grand merci pour tout à mes supers co-

bureaux : Florian, Marion, Ha et Florent ; et à la troupe de thésards d'EPOC. Je pense aux thésards du moment : Loïc, Sam, Laurie, Florian, Marion, Ha, Florent, Laurent, Aurélie, Marie-Lise, Sophie et Adeline ; et aux anciens thésards : Aurélia, Aurélie, Caro, Ju, Raph, Elo, Nico, Delphine, Manu et Elsa. Je voudrai aussi dire merci à Cécile, Alexandra et Hervé pour leur amitié et leur soutien. J'en profite également pour remercier mes amis qui ne sont pas du milieu mais qui m'ont beaucoup aidée par leur soif d'activités et de concerts : Maud, Marjo, Mathilde, JC, Olivier, Aurélie, Carine, Jasmine, Camille, Max et Régis.

Enfin, je tiens à remercier ma famille, qui malgré la distance a toujours était présente en soutenant mes envies et mes choix. Je remercie particulièrement mes parents de m'avoir permis d'étudier si longuement et je leur dédie ce travail.

Table des Matières

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
PARTIE I: ETAT DE L'ART.....	7
CHAPITRE I.1 : CONTEXTE DE L'ETUDE	9
I. Introduction.....	9
II. Les ETM à l'interface continent océan	9
1. Les sources d'ETM à l'interface continent-océan	9
2. Spéciation chimique des ETM en milieu aquatique.....	11
3. Les ETM dans les estuaries.....	12
3.1. Processus de transformation des ETM en milieu estuarien	12
3.1.1. Effet de la salinité	12
3.1.2. Rôle de la matière organique	13
3.1.3. Processus redox	13
3.2. Coefficient de partage entre la phase particulaire et dissoute K_d	14
3.3. Normalisation par le thorium.....	14
3.4. Flux des ETM	15
4. Le cadmium, comportement en milieu estuarien	16
III. Contamination des organismes aquatiques par les métaux traces.....	17
1. Mécanismes généraux	17
1.1. Spéciation des métaux	18
1.2. Prise en charge des métaux.....	18
1.2.1. Métaux dissous	20
1.2.3. Métaux particuliers	20
1.3. Séquestration intracellulaire et/ou tissulaire des métaux.....	21
1.3.1. Séquestration des métaux dans les structures compartimentées.....	21
1.3.2. Fixation des métaux sur les ligands intracellulaires : le cas de la métallothionéine	21
1.4. Mécanismes d'élimination des métaux.....	24
2. L'huître, espèce sentinelle de la contamination métallique	24
IV. Cadre de l'étude	26
1. L'estuaire de la Gironde.....	26
1.1. Généralités	26
1.2. Dynamique des particules à l'embouchure	28
1.3. Historique de la pollution polymétallique de la Gironde.....	29
2. L'estuaire de la Charente	30
3. Comparaison des flux de cadmium en Gironde et Charente	31
3.1. Bilan des flux bruts et nets de cadmium dissous et particuliers dans l'estuaire de la Gironde.....	31
3.2. Bilan des flux bruts et nets de Cd dissous et particuliers dans l'estuaire de la Charente	32
4. La baie de Marennes Oléron	34
4.1. Présentation générale	34
4.2. Concentrations en Cd dans l'écosystème de la baie de Marennes Oléron.....	35
4.3. Bilan des apports à la baie de Marennes Oléron.....	38

V. Conclusions	38
 CHAPITRE II: BASES ANALYTIQUES.....	39
I. Introduction.....	39
II. Bases analytiques en géochimie.....	39
1. Extraction et dosage des ETM	40
1.1. Conditionnement de la vaisselle.....	40
1.2. Prélèvement, traitement et conditionnement des échantillons	40
1.2.1. Phase dissoute.....	40
1.2.2. Phase particulaire	41
1.3. Extractions des ETM.....	42
1.3.1. Extraction solide liquide du V, Co, Ni, Cu, Mo, Cd et U dissous en matrice salée	42
1.3.2. Extraction des ETM sous phase particulaire : attaques totales.....	44
1.4. Dosage des ETM dissous et particulaires par ICP-MS	44
1.5. Dosage du mercure particulaire.....	45
2. Quantification des teneurs en chlorophylle-a et phéopigments	46
3. Quantification du rapport silice biogène/silice terrigène	46
4. Quantification de la matière organique particulaire.....	48
5. Dosage des phosphates	49
III. Bases méthodologiques et analytiques en écotoxicologie	49
1. Origine et âge des huîtres.....	49
2. Traitement et conditionnement des échantillons biologiques.....	49
3. Détermination de la bioaccumulation en ETM.....	50
4. Quantification des métallothionéines.....	51

PARTIE II : COMPORTEMENT DES ETM EN MILIEU ESTUARIEN ET FLUX EXPORTES À LA BAIE..... 53

CHAPITRE II.1 : COMPORTEMENT DU CADMIUM DANS L'ESTUAIRE DE LA GIRONDE 55

I. Introduction.....	55
II. Stratégie d'échantillonnage	57
III. Comportement du cadmium dissous dans l'estuaire de la Gironde	58
IV. Comportement du cadmium particulaire dans l'estuaire de la Gironde	61
1. Distribution du cadmium particulaire dans l'estuaire de la Gironde	61
2. Variations temporelles du cadmium particulaire dans les faibles et moyennes salinités	65
3. Distributions du cadmium particulaire dans les fortes salinités	68
3.1. Distributions conservatrices de Cd _p	68
3.2. Distributions présentant une diminution de Cd _p	69
3.3. Distributions présentant une diminution de Cd _p	69
3.4. Facteurs contrôlant les distributions.....	71

V. Estimation des flux nets de cadmium dissous sortant de la Gironde	72
1. Flux nets journaliers de Cd dissous	72
2. Flux nets annuels de Cd dissous	77
VI. Conclusions et perspectives.....	78

CHAPITRE II.2 : COMPORTEMENT DU CADMIUM DANS L'ESTUAIRE DE LA CHARENTE..... 81

I. Introduction..... 81

II. Stratégie d'échantillonnage 82

III. Variations temporelles de cadmium dissous et particulaire dans l'estuaire de la Charente..... 82

1. Variations temporelles de Cd dissous	82
1.1. Présentation des distributions	82
1.2. Rôles du débit hydrique et coefficient de marée sur la variation temporelle du cadmium dissous.....	84
2. Variations temporelles de Cd particulaire.....	85
2.1. Profils de Cd particulaire	85
2.2. Facteurs influençant la variabilité temporelle de Cd particulaire	87
2.3. Variations des concentrations dans la partie fluviale de l'estuaire.....	88

IV. Variations spatiales des concentrations en Cd89

1. Etendue spatiale	90
2. Quantification des apports	91

V. Flux nets de Cd 92

1. Flux nets de Cd dissous	92
1.1. Estimation des flux nets journaliers de Cd	92
1.2. Estimation des flux nets annuels.....	94
2. Flux nets annuels de Cd particulaires	95
3. Comparaison des flux bruts et flux nets de cadmium	96

VI. Conclusions et perspectives..... 97

CHAPITRE V : COMPORTEMENT DU CADMIUM EN ZONE COTIERE..... 99

I. Introduction..... 99

II. Stratégie d'échantillonnage 100

1. Stratégie déployée pour la variabilité spatio-temporelle	100
2. Stratégie déployée pour la distribution à l'embouchure	101

III. Variations spatio-temporelles de la spéciation du cadmium dans la zone côtière... 101

1. Spéciation du cadmium dissous	101
2. Cadmium particulaire	104

IV. Distributions spatio-temporelles du Cd à l'embouchure de l'estuaire de la Gironde et en zone côtière	108
1. Variabilité des concentrations en stations fixes.....	108
1.1. Distributions du Cd en fonction de la salinité	108
1.2. Variabilité spatiale des concentrations	109
1.2.1. Localisation des échantillons.....	109
1.2.2. Cadmium dissous.....	110
1.2.3. Cadmium particulaire	111
2. Synthèse des distributions en cadmium dissous à l'embouchure : impact sur la baie de Marennes Oléron.....	115
V. Conclusions et perspectives	118
SYNTHÈSE PARTIE III.....	119

PARTIE III : DISTRIBUTION, DYNAMIQUE ET BIOACCUMULATION DU Cd DANS LA BAIE DE MARENNES OLERON..... 121

CHAPITRE III.1: DISTRIBUTIONS SPATIO TEMPORELLE DES CONCENTRATIONS EN ETM DANS LES SEDIMENTS DE SURFACE DE LA BAIE DE MARENNES OLERON 123

I. Introduction.....	123
II. Stratégie d'échantillonnage	124
1. Prélèvements mensuels	125
2. Mesures continues.....	126
III. 'Spatial and temporal trace metal concentrations in surface sediments of the Marennes Oléron Bay. Relation to hydrodynamic forcing', Strady et al., soumis	127
Résumé en français.....	127
Article soumis	128
IV. Conclusions et perspectives.....	155

CHAPITRE VII : ROLES DES VOIES DE CONTAMINATION ET DE L'HYDRODYNAMIQUE REGIONALE SUR LA BIOACCUMULATION EN Cd DES HUITRES CULTIVEES EN BAIE DE MARENNES OLERON..... 157

I. Introduction.....	157
II. Stratégie d'échantillonnage.....	158
III. 'Roles of regional hydrodynamic and trophic contamination in cadmium bioaccumulation by pacific oysters in the Marennes-Oléron Bay (France)' Strady et al., in prep.....	159
IV. Conclusions.....	187

SYNTHÈSE PARTIE III.....	188
PARTIE IV : TRAÇAGE SIMULTANE DES VOIES DE CONTAMINATION EN CADMIUM DES HUITRES <i>Crassostrea gigas</i> PAR AJOUTS D'ISOTOPES STABLES.....	191
I. Introduction.....	193
II. Méthodologie	194
1. Principe des ajouts d'isotopes stables	194
2. Dosage par ICP-MS	195
3. Protocoles expérimentaux.....	197
III. Tracing Cadmium contamination kinetics and pathways in oysters (<i>Crassostrea gigas</i>) by multiple stable Cd isotope spike experiments, Strady et al., accepté	198
1. Résumé en français	198
2. Article soumis	199
IV. Traçage des voies de contamination à un niveau d'exposition environnemental	218
1. Cinétique de variation des rapports isotopiques	218
2. Bioaccumulation de Cd dans les tissus	218
3. Comparaison des niveaux d'exposition	220
V. Conclusions et perspectives	222
CONCLUSIONS GENERALES.....	223

Liste des figures

CHAPITRE I.1

Figure I.1-1: Distribution en taille des différentes particules et colloïdes rencontrés dans le milieu aquatique (Buffle and Van Leeuwen, 1992).	11
Figure I.1-2: Diagramme de mélange, comportements des métaux en milieu estuarien. (a) courbe de mélange pour un élément A dont la concentration est plus élevée dans l'eau de mer que dans la rivière, et (b) courbe de mélange pour un élément B dont la concentration est plus élevée dans la rivière que dans l'eau de mer.	13
Figure I.1-3: Spéciation (% de la fraction molaire) du cadmium dissous en fonction de la salinité (modifié d'après (Rainbow, 1995))	16
Figure I.1-4: Schéma général des courbes dose-réponse typiquement observées chez un organisme vivant pour (i) un macro-élément nutritif, (ii) un micro-élément nutritif et (iii) un élément toxique non essentiel (d'après Campbell and Couillard, 2004)	17
Figure I.1-5: Liens entre l'exposition aux métaux, leur prise en charge, leur détoxification et la manifestation d'effets délétères (d'après Campbell and Couillard, 2004). ..	18
Figure I.1-6: Modèle conceptuel des interactions entre les métaux et les organismes aquatiques (d'après Campbell et al., 2002)	19
Figure I.1-7: Structure tridimensionnelle des deux domaines de chélation métallique de la métallothionéine 2a du foie de lapin (d'après Stillman, 1995).	23
Figure I.1-8: <i>Crassostrea gigas</i> (Thunberg 1793), anatomie	25
Figure I.1-9: Carte de l'estuaire de la Gironde et de ses deux affluents, la Garonne et la Dordogne.	27
Figure I.1-10: Carte de l'embouchure de l'estuaire de la Gironde et de la baie de Marennes Oléron.....	31
Figure I.1-11: Bassin versant du fleuve Charente et de son estuaire (source : EPTB).....	31
Figure I.1-12: Flux bruts annuels de Cd dissous et particulaires apportés par la Garonne et la Dordogne et flux nets annuel de Cd expulsés par la Gironde de 2001 à 2007 (d'après Dabrin 2009).	32
Figure I.1-13: Flux bruts annuels de Cd dissous et particulaires apportés par la Charente et flux nets annuel de Cd expulsés par la Charente en 2006 (d'après Dabrin, 2009).....	33
Figure I.1-14: La baie de Marennes Oléron a) zones conchylicoles et b) natures du substrat...35	
Figure I.1-15: Concentrations en Cd des huîtres du suivi RNO-ROCCH de l'Ifremer des stations Boyardville, Dagnas et mus du loup de 1979 à 2009. Les points noirs sont les données utilisées pour la tendance et les points gris sont les données non utilisées pour la tendance (modifié d'après Ifremer, 2010. Bulletin de la Surveillance de la Qualité du Milieu Marin Littoral).....	36
Figure I.1-16: a) Répartition du pourcentage de Cd dans les espèces benthiques de la baie de Marennes Oléron ; b) Masse de Cd estimée dans les principaux groupes trophiques benthiques de la baie de Marennes Oléron (modifié d'après Pigeot et al., 2006).....	37
Figure I.1-17: Estimation du budget global du Cd en baie de Marennes Oléron(modifié d'après Pigeot et al., 2006).....	37

Figure I.1-18: Schéma conceptuel des flux annuels en MES (t/an), en Cd et en Cu (kg/an) dissous et particuliers dans le système Gironde-Charente-Baie de Marennes Oléron.D'après Dabrin 2009.	38
--	----

CHAPITRE I.2

Figure I.2-1: Principe et protocole opératoire de l'extraction solide liquide du V, Co, Ni, Cu, Mo, Cd et U d'une matrice salée	43
Figure I.2-2: Description et protocole de la détermination de la silice biogène BSi et de la silice terrigène LSi dans les particules estuariennes d'après Ragueneau et al (2005) modifié. ¹ selon Aminot et Kerouel (2007).....	48
Figure I.2-3: Principe général et grandes étapes du protocole de quantification des métallothionéines par la méthode de saturation au mercure inorganique.	52

CHAPITRE II.1

Figure II.1-1: Débits hydriques journaliers entrants en Gironde (gris, Source : PAB) et campagnes d'échantillonnage effectuées de mai 2003 à mars 2009	58
Figure II.1-2: Distributions des concentrations en Cd dissous et MES dans l'estuaire de la Gironde en octobre 2007, novembre 2007, avril 2008, novembre 2008 et mars 2009.	59
Figure II.1-3: Distribution des concentrations de Cd dissous dans l'estuaire des missions de juillet 2004 à mars 2009 en fonction de trois classes de débits: étiage, débits moyens et crue.	60
Figure II.1-4: Distributions des Cd_p (a) et des $\log K_d$ (b) déterminées de mai 2003 à mars 2009 dans le gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde. Les rectangles gris clair représentent les Cd_p^{moy} calculées de 0 à 25 de salinité et leur épaisseur est fonction de l'écart type. Les rectangles gris foncé représentent la zone de salinité 25 à 35.....	63
Figure II.1-5: Relation entre le Cd_p et les concentrations en MES des échantillons prélevés des salinités 0 à 25 des quinze missions.....	65
Figure II.1-6: Variations des Cd_{pmoy} calculées sur les salinités 0-25 des quinze missions en fonction a) des débits hydriques journaliers et b) du temps	66
Figure II.1-7: Modèle empirique historique de la décontamination en Cd des particules de l'estuaire de la Gironde dans le temps.....	67
Figure II.1-8: Débits annuels de la Gironde (Garonne + Dordogne) de 1982 à 2009 (données PAB).	68
Figure II.1-9: Variations du rapport Cd_p/Th_p dans le gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde en a) juillet 2004 ; b) octobre 2004 ; c) septembre 2006 ; d) mars 2009	70
Figure II.1-10: Concentrations en Cd particulaire en fonction des concentrations en chlorophylle-a en octobre 2007 et mars 2009 à partir des salinités 26 et 23 respectivement.....	71
Figure II.1-11: Compilation des concentrations théoriques Cd_d^0 en fonction du débit hydriques de toutes les missions effectuées sur l'estuaire de la Gironde, de 1984 à 2009 (les données de cette thèse sont en losanges noirs et en rectangle gris clair). Le carré gris foncé représente la zone $<500 \text{ m}^3.s^{-1}$ avec des Cd_d^0 variables tandis que le rectangle gris moyen représente la	

zone de débits $>500 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ avec des Cd_d^0 relativement constants (d'après Dabrin et al., 2009).....	73
Figure II.1-12: Flux nets de Cd journaliers en fonction du débit hydrique de toutes les missions effectuées sur l'estuaire de la Gironde, de 1982 à 2009 (les données de cette thèse sont en losanges noirs).....	75
Figure II.1-13: Variations des flux bruts annuels de Cd total et des débits hydriques annuels de la Garonne de 1990 à 2009.....	77
Figure II.1-14: Variations inter-annuelles des flux nets annuels minimaux et maximaux de Cd dissous sortant de l'estuaire de la Gironde et des débits hydriques annuels.....	78

CHAPITRE II.2

Figure II.2-1: Comportement du Cd dissous et distribution des concentrations en MES dans le gradient de salinité de l'estuaire de la Charente en a) octobre 2006 (Dabrin 2009), b) novembre 2008, c) mars 2009 et d) septembre 2009.	84
Figure II.2-2: Concentrations maximales en Cd dissous dans l'estuaire de la Charente en fonction a) des débits journaliers et b) des coefficients de marée.....	85
Figure II.2-3: Distributions des concentrations en Cd_p dans le gradient de salinité de la Charente. A: octobre 2006 (Dabrin 2009), B: novembre 2008, C: mars 2009, D: septembre 2009, a: Cd_p et MES, b: LogK_d . L'aire grise représente la concentration moyenne de Cd_p et l'écart type sur tout le gradient.....	86
Figure II.2-4: Zoom sur les distributions en Cdd dans les faibles salinités des quatre profils. La droite en pointillé montre la distribution théorique de Cdd, les aires grisées montrent les zones où les anomalies sont observées	89
Figure II.2-5: Localisation spatiale (géoréférencement par GPS) des échantillons prélevés en mi-jusant dans la gamme de salinité présentant des augmentations de Cd dissous et particuliers ponctuels	91
Figure II.2-6: a) concentrations théoriques de Cd_d et b) flux nets de Cd_d en fonction des débits hydriques des missions de janvier et décembre 1991, octobre 2006, novembre 2008, mars 2009 et septembre 2009.....	93
Figure II.2-7: Comparaison des flux bruts et nets de Cd_d et Cd_p en Charente pour les années 2006, 2007 et 2008.	96

CHAPITRE II.3

Figure II.3-1: Variations spatio-temporelles du Cd $<0,2 \mu\text{m}$, $<0,02 \mu\text{m}$ et $<0,2 \mu\text{m}$ UV en a) Gironde, b) Charente et c) Maumusson.	103
Figure II.3-2: Diagramme cumulé des refus des particules caractérisant et représentant la Gironde, la Charente et Maumusson en novembre 2008.	104
Figure II.3-3: Variations spatio-temporelles du Cd particulaire brut, $<20 \mu\text{m}$, $<10 \mu\text{m}$ et $<5 \mu\text{m}$ dans les MES prélevées en a) Gironde, b) Charente et c) Maumusson.	105
Figure II.3-4: Variations spatio-temporelles de la chlorophylle-a dans les fractions brutes, $<20 \mu\text{m}$, $<10 \mu\text{m}$ et $<5 \mu\text{m}$ dans les MES prélevées en a) Gironde, b) Charente et c) Maumusson.	107
Figure II.3-5: Distributions de a) Cd dissous ; b) Cd particulaire ; c) $\log K_d$ dans les fortes salinités lors de missions sur points fixes de juillet 2007, novembre 2008, mars 2009 et juin 2009.	109

Figure II.3-6: Localisation spatiales des 10 stations fixes de prélèvements (Geoportail®)...	110
Figure II.3-7: Distributions des a) salinité, b) concentrations en Cd dissous et c) concentrations en MES en fonction des stations de prélèvements.....	111
Figure II.3-8: Distributions des a) concentrations en Cd particulaire, b) du rapport Cd_p/Th_p en fonction des stations de prélèvements	112
Figure II.3-9: Distributions des a) concentrations en chlorophylle-a ; b) du % BSi dans les MES; c) du % LSi dans les MES en fonction des stations de prélèvements	113
Figure II.3-10: Concentrations en Cd dans les MES et plancton (63-200 μm) prélevés en septembre 2006 au large de la côte sauvage, du Pertuis d'Antioche et de la pointe de la Coubre (d'après Dabrin 2009).....	116
Figure II.3-11: Distributions du Cd_d dans les salinités 25-35 de l'estuaire de la Gironde et de la zone côtière.	119
Figure II.3-12: Modèle Previmer pour la simulation des salinités de surface. Exemples pour deux cas extrêmes en crue en avril 2004 et en période de faibles débits en septembre 2008.	117
Figure II.3-13: Carte synthétique des flux nets de Cd_d et Cd_p de la Gironde et la Charente à la zone littorale et à la baie de Marennes Oléron.	119
Figure II.3-14: Variations spatio-temporelles de la chlorophylle-a dans les fractions brutes, <20 μm , <10 μm et <5 μm dans les MES prélevées en a) Gironde, b) Charente et c) Maumusson..	120

CHAPITRE III.1

Figure III.1-1: Sites des prélèvements de sédiments de surface lors du suivi annuel en baie de Marennes Oléron.	125
Figure III.1-2: Figures 1: a) localisation of the Marennes Oléron Bay in southwestern France, b) zoom on the Marennes Oléron Bay and the location of three sampling sites.	147
Figure III.1-3: Figure 2: Variability of a) salinity and b) turbidity on Brouage mudflat, the Doux and Agnas bank, from 04/06/07 to 04/24/07	148
Figure III.1-4: Figure 3: Sediments fractions and water contents measured in sediments from Les Doux, Brouage and Perquis sites during the year survey	149
Figure III.1-5: Figure 4: Variability of hydrodynamic (water level and wave height) and sedimentary (bed elevation) parameters during one year above a) the Doux, b) Brouage mudflat and c) Perquis bank	150
Figure III.1-6: Figure 5: Particulate concentrations and b) enrichment factors of Ni (A), Cu (B), Zn (C) As (D), Ag (E), Cd (F), Pb (G), Hg (H) and (Th) in sediments from Les doux, Brouage and Perquis. To notice, enrichment factors data are not available for Hg and Th.....	151
Figure III.1-7: Figure 6: Particulate thorium concentrations over median grain size distribution of all sediments sampled during the year survey.	152
Figure III.1-8: Figure 7: Relation between a) the water level, b) the Gironde and Charente water discharge and c) wave height measured in front of the Oléron island with the variability of the bed elevation on d) Brouage mudflat and e) Perquis bank, during one year	153

Figure III.1-9: Figure 8: Conceptual outline of the influence of the Gironde Estuary, Charente Estuary and wave action on spatial and temporal variability of sediment transport and Cd concentrations in surface sediments. The thickness of the arrows is proportional to the Cd contribution to the Marennes Oléron Bay.....	154
---	-----

CHAPITRE III.2

Figure III.2- 1: Figure 1: Location map of the study area and the sampling site, Ronce-Les-Bains mudflat.	181
Figure III.2- 2: Figure 2: Twelve hour tidal cycle parameters variations in surface and bottom waters in high tide, mi ebb, first and second hour of flood at Ronce-Les-Bains mudflat (9 th July 2009). a) SPM and Chl-a concentrations (mg.L ⁻¹); b) dissolved Cd (<0.2µm over <0.02µm) concentrations (ng.L ⁻¹); c) particulate Cd concentrations (mg.kg ⁻¹) over salinity.	182
Figure III.2- 3: Figure 3: Temporal parameters variations in surface water at Ronce-Les-Bains mudflat from 15th April to 15th July 2009. a) daily Gironde Estuary over Charente River freshwater discharges (m ³ .s ⁻¹); b) tidal range (m); c) Chl-a over SPM concentrations (mg.L ⁻¹); d) dissolved Cd (<0.2 and <0.02µm) concentrations (ng.L ⁻¹) over salinity; e) Cd concentrations in total SPM and [20-100µm] plankton (mg.kg ⁻¹) over Cd concentrations in sediments and microphytobenthos (mg.kg ⁻¹).	183
Figure III.2- 4: Figure 4: Modis satellite images of SPM distribution in the mouth of the Gironde Estuary, the coastal area and the Marennes Oléron Bay during four contrasting Gironde Estuary freshwater discharges conditions. a) 2 nd May b) 12 th May c) 31 st may and d) 4 th July.	184
Figure III.2- 5: Figure 5: a) Condition index of oysters reared on Table (grey) and on Bottom (black) at the beginning and after one, two and three months of cultivation. b) and c) Metallothionein concentrations (nmol Hg.g ⁻¹ ww) in gills (b) and digestive glands (c) of oysters reared on Table (grey) and on Bottom (black) at the beginning and after one, two and three months of cultivation. Letters correspond statistical variance method (ANOVA) and LSD test analyses, considering a probability of p<0.05 as significant.	185
Figure III.2- 6: Figure 6: a-b-c) Cadmium concentrations (µg.g ⁻¹ dw) in gills (a), digestive glands (b) and rests of tissues (c) of oysters reared on Table (grey) and on Bottom (black) at the beginning and after one, two and three months of cultivation. d-e-f) Cadmium burdens (µg) in gills (d), digestive glands (e) and rests of tissues (f) of oysters reared on Table (grey) and on Bottom (black) at the beginning and after one, two and three months of cultivation. Letters correspond to statistical non-parametric Kruskal-Wallis test analysis, considering a probability of p<0.05 as significant.	185

CHAPITRE IV

- Figure IV-1: Figure 1: Experimental procedure. The $[^{110}\text{Cd}]$ and $[^{112}\text{Cd}]$ concentrations values represent the mean concentration of $[^{110}\text{Cd}]$ and $[^{112}\text{Cd}]$ measured in seawater units over the 21 days of experiment. To notice, concentrations attempted in seawater units were $[^{110}\text{Cd}] = 2 \mu\text{g.l}^{-1}$ and $[^{112}\text{Cd}] = 0 \mu\text{g.l}^{-1}$. 213
- Figure IV-2: Figure 2: Stable Cd isotopes ratio variations ($^{110}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ and $^{112}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$, mean $\pm$ SEM, $n = 3$) in gills (a,b) digestive glands (c,d) and rests of bodies (e,f) over experiment from Controls units (black area), Water units (dark grey area), Algae units (light grey area) and Water/Algae units (white area). Stars indicates the significance ($p < 0.05$, Kruskal-Wallis test)..... 214
- Figure IV-3: Figure 3: Stable Cd isotopes ratio variations ($^{110}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ and $^{112}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$) in faeces (full area) and pseudo-faeces (area with horizontal lines) over experiment from Controls units (black area), Water units (dark grey area), Algae units (light grey area) and Water/Algae units (white area). N.D.: not determined..... 215
- Figure IV-4: Figure 4: Bio-accumulated Cd ($\mu\text{g.g}^{-1}$ dw, mean $\pm$ SEM, $n = 3$) in gills (a), digestive glands (b) and rests of bodies (c) over experiment from Controls units (black area), Water units (dark grey area), Algae units (light grey area) and Water/Algae units (white area). Concentrations were measured by ICP-MS and corrected from ^{112}Cd isotopes measured in seawater in W and WA units. Letters indicate significant differences between mean values ($p < 0.01$, ANOVA LSD test). 216
- Figure IV-5: Figure 5: Metallothionein concentrations (nmol sites Hg^{-1} ww, mean $\pm$ SEM, $n = 3$) in gills (a) and digestive glands (b) 21 days after exposure from Controls units (black area), Water units (dark grey area), Algae units (light grey area) and Water/Algae units (white area). Letters indicate significant differences between mean values ($p < 0.01$, ANOVA LSD test). 217
- Figure IV-6: Figure 6: a) Mean $[^{110}\text{Cd}]$ concentration (direct contamination) over mean $[^{112}\text{Cd}]$ concentration (trophic contamination) measured in digestive glands of oysters from Control, Water unit, Algae units and Water/Algae units after 7, 14 and 21 days of experiment. b) zoom of a). The grey area represents the natural variation content of $[^{110}\text{Cd}]$ and $[^{112}\text{Cd}]$ in oysters from Control..... 217
- Figure IV-7: Variations des rapports isotopiques $^{110/114}\text{Cd}$ et $^{112/114}\text{Cd}$ mesurés dans les branchies, glandes digestives et restes du corps des huîtres des quatre conditions au cours du temps. Les points sont les moyennes de 3 échantillons ($n=3$) et les barres verticales représentent les écarts-types. 219

Liste des figures

CHAPITRE I.1

Tableau I.1-1: Moyennes des flux spécifiques en Cd total de la Charente, la Garonne et la Seudre pour la période 2006-2007, et comparaison avec d'autres systèmes français (Boutier et al., 1993; Idlafkih et al., 1995; Point, 2004).	33
---	----

CHAPITRE I.2

Tableau I.2-1: Justesse, reproductibilité et blancs d'analyses de l'extraction solide-liquide du V, Co, Ni, Cu Mo, Cd et U dosé par ICP-MS.....	43
Tableau I.2-2: Justesse et reproductibilité des attaques totales des ETM particulières dosés par ICP-MS	44
Tableau I.2-3: Justesse et reproductibilité du dosage des ETM par ICP-MS estimés par l'analyse de l'eau de référence SLRS-4.....	45
Tableau I.2-4: Justesse et reproductibilité de la minéralisation et du dosage des ETM dans le TORT-2.....	50

CHAPITRE II.1

Tableau II.1-1: Synthèse des missions effectuées sur l'Estuaire de la Gironde de mai 2003 à mars 2009.	57
Tableau II.1-2: Concentrations moyennes de Cd particulaire $C_{dp moy}$ et écart-type calculés sur le gradient de salinité et dans la zone 0-25 de salinité pour chaque mission. Les débits hydriques journaliers des jours de mission sont reportés. ...	65
Tableau II.1-3: Concentrations théoriques C_{ddo} et flux nets journaliers estimés pour les trois missions effectuées de 2008 à 2009 et non publiées. Les dates, les débits hydriques moyennés, les gammes de salinité utilisées pour effectuer la régression linéaire, le nombre de sites et le coefficient de régressions sont mentionnés pour chacune de ces missions	73

CHAPITRE II.2

Tableau II.2-1: Dates, noms, débits hydriques journaliers et coefficients de marée des quatre missions effectuées sur l'estuaire de la Charente.....	82
Tableau II.2-2: Concentrations en Cd des particules prélevées mensuellement à Chaniers dans le cadre du Défi Cd, dans les faibles salinités de l'Estuaire de la Charente et moyennées sur le gradient de salinité.	88
Tableau II.2-3: Caractérisation des apports en Cd associés à l'augmentation des concentrations en C_{d} observées dans les faibles salinités des quatre profils réalisés sur l'estuaire de la Charente.	92
Tableau II.2-4: Concentrations théoriques C_{d}^0 et flux nets journaliers estimés pour les missions effectuées par Boutier et al. (2000) en 1991, par Dabrin (2009) en 2006 et au cours de cette thèse en 2008 et 2009 sur l'estuaire de la Charente.	

Les dates, les débits hydriques moyennés, l'utilisation ou non du pôle côtier fictif pour la détermination de la régression, les gamme de salinité utilisées pour effectuer la régression linéaire, le nombre de sites et le coefficient de régressions sont mentionnées pour chacune de ces missions.	92
Tableau II.2-5: Flux nets annuels de Cd dissous et débits hydriques annuels de l'estuaire de la Charente de 2006 à 2009.	95
Tableau II.2-6: Flux nets annuels de Cd particuliers et flux annuels de MES entrants de l'estuaire de la Charente de 2006 à 2008.	95

CHAPITRE II.3

Tableau II.3-1: Conditions de marée, débits et salinité des sept missions effectuées sur la zone côtière d'octobre 2007 à septembre 2009.	100
Tableau II.3-2: Types d'analyses, de prélèvements et fractions étudiées pour les sept missions sur les trois sites GIRONDE, CHARENTE ET MAUMUSSON.	101
Tableau II.3- 3: Fraction particulaire la plus fine présentant des concentrations de Cd	106
Tableau II.3- 4: Nombre de jours par an où les salinités données par le modèle Previmer et en face du pertuis de Maumusson sont comprises dans les gammes 25-28, 28-30 et 30-32 et Cd_{min} et Cd_{max} des profils réalisés en période de moyens et forts débits correspondants à ces gammes de salinité	117
Tableau II.3-5: Flux minimaux et maximaux de Cd dissous entrant dans la baie par le pertuis de Maumusson estimés en 2007, 2008 et 2009.	118

CHAPITRE III.1

Tableau III.1-1: Dates des prélèvements de sediments de surface aux sites Les Doux, Perquis et Brouage.	126
Tableau III.1-2: Table 1: Recoveries of certified reference material, BCSS-1 and IAEA-405 for Hg	154

CHAPITRE III.2

Tableau III.2-1: Synthèse des paramètres étudiés et de leurs fréquences d'échantillonnage..	159
Tableau III.2-2: Table 2: Twelve hour tidal cycle parameters variations in surface and bottom waters in high tide, mi ebb, first and second hour of flood at Ronces-Les-Bains mudflat during the four sampling date, 20 th April, 26 th May, 24 th June and 09 th July 2009.	186

CHAPITRE IV

Tableau IV-1: Masses atomiques et abondances naturelles des isotopes stables de Cd	194
Tableau IV-2: Synthèse des protocoles deux expérimentations réalisées	198
Tableau IV-3: Synthèse des principaux résultats des deux expérimentations (B : branchies ; GD : glandes digestives ; R : restes du corps)	221

Liste des équations

CHAPITRE I.1

Equation I.1-1: Coefficient de partage K_d (Turner et al., 1993)	13
Equation I.1-2: Flux net d'un élément dissous	14

CHAPITRE I.2

Equation I.2-1: Loi de Beer-Lambert	45
Equation I.2-2: Indice de condition	50

CHAPITRE II.1

Equation III- 1: Détermination des flux nets annuel de cd dissous	77
---	----

CHAPITRE II.3

Equation II.2-1: Détermination des flux nets en Charente	94
--	----

CHAPITRE IV

Equation IV-1	196
Equation IV-2	196
Equation IV-3	196

INTRODUCTION GENERALE

A cause de leur toxicité et de leur capacité à s'accumuler dans les organismes vivants, les éléments traces métalliques (ETM) sont des polluants importants pour les écosystèmes aquatiques. Les ETM proviennent naturellement de l'érosion et du lessivage des sols mais les activités humaines peuvent être considérées comme une source majeure d'ETM pour les milieux aquatiques. La toxicité des ETM vis-à-vis des organismes vivants dépend de leurs spéciations mais aussi de leurs réactions à la surface cellulaire et de leurs liaisons à des sites intracellulaires sensibles. En zones estuarienne et littorale, le mélange des eaux douces avec les eaux marines qui présentent des caractéristiques physiques, chimiques et biologiques différentes induit la formation de gradients géochimiques tels que les gradients de salinité, qui sont susceptibles de modifier le comportement des ETM et également leur spéciation et leur toxicité. La Directive Cadre sur l'Eau (2000/60/EC) puis la Directive Cadre sur la Stratégie pour le Milieu Marin (2008/56/EC), adoptées respectivement en 2000 et 2008, ont pour objectif commun d'atteindre un bon état écologique des milieux aquatiques d'eau douce et d'eau côtière. Le bon état écologique des eaux est basé sur les qualités biologiques, hydromorphologiques et physico-chimiques du milieu. Ce dernier thème regroupe les substances prioritaires (2005/105/EC) et inclue certains ETM dont le cadmium (Borja et al., 2004).

La baie de Marennes Oléron est la plus importante zone ostréicole française et européenne, avec une production annuelle de 55 à 60 t.an⁻¹. Elle est située entre l'île d'Oléron et la côte de Charente Maritime et elle est alimentée par l'estuaire de la Charente au nord, par la Seudre au sud et par les eaux côtières entrants par le pertuis d'Antioche au nord et le pertuis de Maumusson au sud. La conchyliculture, les activités de loisirs et de tourisme de la baie représentent des domaines d'activités économiques importants et moteurs pour le département. Cependant, la baie est influencée par la pollution historique en cadmium (Cd) de l'estuaire de la Gironde. Le bassin versant de la Gironde, drainé principalement par la Garonne, la Dordogne et l'Isle, est peu industrialisé mais connaît une pollution polymétallique importante qui a affecté l'ensemble du continuum Garonne-Gironde (e.g. (Latouche, 1988; Jouanneau et al., 1990). Depuis la mise en évidence en 1979 d'une contamination en Cd des huîtres de la Gironde et de la baie de Marennes Oléron par le Réseau National d'Observation (RNO), l'estuaire de la Gironde a été classé en « zone D » par la Communauté Européenne (Claisse, 1989; RNO, 2006). Cette classification repose sur des concentrations en Cd supérieures à la norme de consommation (1 µg.g⁻¹ poids frais), rendant interdite la production et la consommation de coquillages dans l'estuaire. En baie de Marennes Oléron, les concentrations mesurées dans les huîtres sont en dessous de cette norme mais toujours proches de cette limite (Ifremer, 2010). Les apports de cadmium dans ces milieux sont susceptibles d'entraîner d'importants problèmes environnementaux, économiques et sociaux

au niveau de l'estuaire de la Gironde et des zones côtières adjacentes (Point and Lavaud, 2005). Malgré cette pollution polymétallique, l'estuaire de la Gironde est aujourd'hui le mieux conservé des grands estuaires d'Europe en matière de paysages naturels, d'environnement et de communautés piscicoles. La pêche, principalement celle des espèces migratrices, représente une activité professionnelle traditionnelle et économiquement importante. En baie de Marennes Oléron, la pollution par le cadmium n'a pas d'incidences directes sur l'exploitation d'huîtres japonaises *Crassostrea gigas*. Depuis deux décennies, la production ostréicole a connu une stagnation vraisemblablement liée à l'augmentation des biomasses d'huîtres en élevage qui excède la capacité trophique de la baie (Héral et al., 1989; Malet, 2005; Struski, 2005). Depuis quelques années, la production est touchée par le phénomène des 'mortalités d'été', potentiellement lié à un herpèsvirus lors de périodes de montée rapide de la température des eaux (Soletchnik et al., 2005; Dégremont et al., 2010; Dutertre et al., 2010; Ifremer, 2010).

La contamination des huîtres en Cd en zone ostréicole est un problème local et international. Les normes de concentrations en Cd dans les huîtres varient suivant les états. La norme européenne est la plus sévère, à $1 \mu\text{g.g}^{-1}$ poids frais (pf), comparée à la norme prévalant sur le marché de Hong-Kong à $2 \mu\text{g.g}^{-1}$ pf et à la norme établie par la Food Drug Administration aux US à $3,7 \mu\text{g.g}^{-1}$ pf (actuellement en révision par la Codex Alimentarius Commission (Bendell, 2010). La validité de la limite sanitaire d'ingestion quotidienne de Cd par l'homme, estimée à $1 \mu\text{g Cd.kg}^{-1}$ poids corporel, a récemment été questionnée (Kruzynski, 2004; Saratug et al., 2010). Cette limite est basée sur des potentiels effets nocifs du Cd sur les reins, les yeux et les os. Cheng and Gobas (2007) et Widmeyer and Bendell-Young (2008) ont montré que l'ingestion d'huîtres à raison de douze par mois en provenance de BC Canada, très enrichies en Cd, est largement compatible avec la limite sanitaire requise pour l'homme. Cependant, l'USDA (2008) et Saratug et al., (2010) ont précisé que pour des populations sensibles ou des apports en Cd supplémentaires par tabagisme ou autre source alimentaire, l'ingestion totale de Cd peut alors dépasser le seuil journalier recommandé. Il est néanmoins important de préciser que ces études sont basées sur des normes de concentrations en Cd des huîtres quatre fois plus élevées qu'en Europe.

La production de *Crassostrea gigas* dans le monde a atteint 4,38 millions de tonnes en 2003, dépassant les autres espèces de mollusques, poissons et crustacées (FAO, 2010). La caractérisation des mécanismes de contamination en Cd de cette espèce reflète alors des enjeux actuels économiques, sanitaires et scientifiques, au niveau mondial et au niveau régional (Geffard et al., 2001; Kruzynski, 2004; Baudrimont et al., 2005; Rasmussen et al., 2007; Lekhi et al., 2008; USDA, 2008; Bendell and Feng, 2009; Christie and Bendell, 2009; Bendell, 2010). Dans ce contexte régional particulier, les objectifs de cette thèse sont de (i)

caractériser le comportement et la spéciation de Cd en milieux estuarien et côtier (ii) déterminer les apports en Cd à la baie de Marennes Oléron (iii) caractériser et quantifier les voies de contaminations en Cd directe et trophique des huîtres *Crassostrea gigas*. L'ensemble des recherches menées durant cette thèse est présenté en huit chapitres qui peuvent être résumés ainsi :

- ✓ La partie I présente l'état de l'art avec dans le chapitre I.1. une brève revue bibliographique donnant un aperçu du comportement des ETM dans les systèmes aquatiques, des mécanismes généraux de contaminations des organismes aquatiques et du cadre de l'étude. Le chapitre I.2. présente les bases analytiques utilisées pour l'extraction des ETM et leurs dosages, la caractérisation du milieu, la minéralisation des tissus et la détermination des concentrations en métallothionéines.
- ✓ La partie II traite du comportement du Cd dans les différents environnements à une échelle régionale et pluri-annuelle. Les données présentées dans ce chapitre sont issues de campagnes en mer pluri-annuelles dans les gradients de salinité de l'estuaire de la Gironde et de la Charente et la zone littorale. Le chapitre II.1. présente la variabilité du comportement du Cd dans l'estuaire de la Gironde et les flux exportés à la zone côtière des années 2001-2009. Le chapitre II.2. présente la variabilité du comportement du Cd dans l'estuaire de la Charente et les flux exportés à la baie de Marennes Oléron de 2006 à 2009. Le chapitre II.3. renseigne plus particulièrement la spéciation du Cd et son comportement dans les zones d'embouchure estuariennes et côtière. La synthèse finale de ces trois chapitres propose une quantification des apports de Cd à la baie de Marennes Oléron.
- ✓ La partie III s'intéresse à la distribution et dynamique du Cd et à son accumulation dans les huîtres à l'échelle de la baie de Marennes Oléron. Le chapitre III.1., basé sur un suivi annuel des sédiments de surface de la baie et des forçages hydrodynamiques (collaboration Ifremer) présente la variabilité spatio temporelle des concentrations en Cd des sédiments de surface de la baie de Marennes Oléron, en relation aux forçages hydrodynamiques. Le chapitre III.2., basé sur une transplantation d'huîtres de trois mois en zone ostréicole, discute du rôle de la voie trophique et de l'hydrodynamisme régional dans la bioaccumulation du Cd des huîtres en baie de Marennes Oléron
- ✓ La partie IV traite des mécanismes de bioaccumulation du Cd à l'échelle de l'organisme. Deux expérimentations de traçage simultané des voies de contamination en Cd des huîtres par ajouts d'isotopes stables de Cd ont été menées pour tracer les

voies directe et trophique dans les différents tissus des huîtres et quantifier les cinétiques de contamination à deux niveaux d'exposition : dix fois supérieurs à l'environnement et environnemental.

Ces travaux de recherche s'inscrivent dans le programme national de recherche INSU EC2CO VOTR'TRAM, dans le projet régional Région Aquitaine RRLA et dans le contrat de recherche publique Agence de l'Eau Adour Garonne Défi-Cadmium. Ces travaux ont également été financés par des allocations ministérielles de recherche du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche.

PARTIE I

ETAT DE L'ART

Cette partie propose dans un premier chapitre un état de l'art du comportement des éléments traces métalliques à l'interface océan continent et de leur accumulation dans les organismes aquatiques. Une attention particulière est portée au comportement du métal cadmium, polluant majeur de la zone d'étude choisie pour ces travaux de thèse. Il est également rappelé le contexte historique et environnemental original de l'estuaire de la Gironde, l'estuaire de la Charente et la baie de Marennes Oléron. Le second chapitre présente les différentes techniques analytiques employées durant ces travaux.

CHAPITRE I.1

CONTEXTE DE L'ETUDE

I. Introduction

La pluridisciplinarité des travaux effectués durant cette thèse requiert des connaissances générales et spécifiques en géochimie des métaux traces en milieu aquatique, en bioaccumulation des métaux par les organismes aquatiques et aussi au niveau du contexte régional. Ainsi, ce chapitre vise à faire l'état des connaissances nécessaires à la bonne compréhension des travaux menés, en synthétisant les notions essentielles sur les ETM à l'interface continent-océan, sur la contamination des organismes aquatiques par les métaux traces et sur le contexte scientifique de la région étudiée.

II. Les ETM à l'interface continent océan

Les estuaires se situent à l'interface continent océan et se définissent d'après Pritchard (1967) comme une masse d'eau confinée ayant une connexion libre avec la mer ouverte et à l'intérieur de laquelle l'eau de mer est diluée d'une façon mesurable avec de l'eau douce, issue du drainage du bassin versant. Les estuaires apparaissent alors comme des lieux d'échanges de matière et d'énergie à l'interface continent/océan. Ils jouent un rôle très important en modifiant quantitativement et qualitativement les apports en ETM des rivières (Turner and Millward, 2002). Les processus mis en jeu, dépendant principalement des paramètres physicochimiques environnementaux tel que la salinité, peuvent directement modifier le comportement des ETM ou indirectement modifier les phases porteuses des ETM (Turner and Millward, 2002).

1. Les sources d'ETM à l'interface continent-océan

La présence des ETM dans les milieux aquatiques naturels résultent des processus d'altération, érosion et transport des roches, des dépôts atmosphériques et des activités anthropiques. L'altération des roches est l'ensemble des processus qui vont déstructurer une

roche et rendre sa matière mobilisable par érosion. L'altération est d'ordre chimique avec la dissolution des roches par les agents atmosphériques (e.g. pluie, neige) ou les agents biologiques, et d'ordre mécanique avec l'érosion des roches par les agents atmosphériques (e.g. vent, tempête). Les résidus de l'altération sont alors transportés par les agents atmosphériques et hydriques (e.g. vent, eau de ruissellement, glaciers) et rejoignent le système hydrologique sous forme particulaire (matières en suspension) et sous forme dissoute. L'abondance relative des éléments dans un système sera alors fonction de la nature des roches du bassin versant, de l'ampleur des agents atmosphériques et biologiques et de la mise en solution ou mobilité des éléments. Middelburg et al. (1988) a classé les éléments en trois groupes suivant leur mobilité :

- éléments très mobiles : Cl, Na, C, S, As, Sb, Mo, Ca, Cd
- éléments modérément mobiles : U, Mn, Co, Cu, Ni
- éléments non-mobiles : Zn, Cr, V, Th, Pb, Fe, Al, Zr, Ti, Ta

Ainsi, les ETM issus des processus d'altération, érosion et transport des roches sont généralement majoritaires dans les apports aux rivières (Martin and Meybeck, 1979; Stallard and Edmond, 1981; Meybeck, 1987).

Les sources des ETM dans les milieux aquatiques peuvent également provenir des apports atmosphériques e.g.(Buat-Ménard, 1984; Guieu et al., 1997; Theodosi et al., 2010) s'effectuant sous forme de précipitations, de dépôts humides de particules et de dépôts secs (Nriagu, 1989). Leurs origines sont diverses et peuvent provenir entre autres des particules des sols transportées par le vent, des émissions de particules volcaniques, des cendres d'incendie de forêt et par l'impact anthropique (Nriagu and Pacyna, 1988; Nriagu, 1989).

Les apports anthropiques sont aujourd'hui une source majeure en ETM dans les milieux aquatiques. Les premières évidences archéologiques de l'exploitation des métaux lourds, principalement le cuivre, remonte à 7 000 BC (Renfrew and Bahn, 1991). Cette exploitation a dramatiquement augmenté depuis la révolution industrielle au 19^{ème} siècle. En effet, les procédures d'extraction de minerais relarguent une quantité importante de métaux lourds comme Zn et Cd (Blanc et al., 1999; Schäfer et al., 2002; Audry et al., 2004c). Actuellement, les ETM sont apportés par de nombreuses sources dont l'agriculture (Nicholson et al., 2003), l'utilisation des pots catalytiques (Schäfer et al., 1999), la production de piles, batteries, accumulateurs, peintures (Brignon and Malherbe, 2005) et nano-particules (Luoma, 2008) et la reprise des activités minières.

2. Spéciation chimique des ETM en milieu aquatique

La spéciation chimique d'un élément se définit comme la distribution d'un élément parmi l'ensemble des espèces chimiques (e.g. phase) alors que la spéciation opérationnelle analytique ou fractionnement se réfère à l'activité analytique de l'élément (Templeton et al., 2000). Dans le milieu aquatique, il est difficile d'établir une frontière entre les ETM sous phases dissoutes et particulaires puisque les particules sont présentes sous une multitude de tailles et poids moléculaires (Figure I.1- 1).

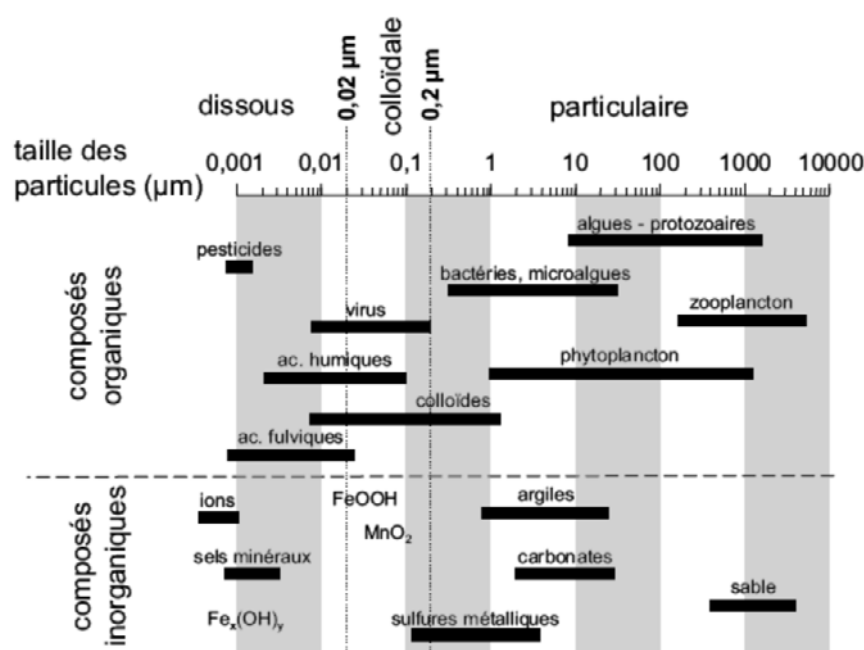


Figure I.1- 1: Distribution en taille des différentes particules et colloïdes rencontrés dans le milieu aquatique (Buffle and Van Leeuwen, 1992).

Traditionnellement, une séparation est artificiellement définie par un diamètre de filtration à $0,45\ \mu m$ pour déterminer la phase dissoute ($<0,45\ \mu m$) et la phase particulaire ($>0,45\ \mu m$). Depuis les années 90, un intérêt grandissant est porté sur le continuum liant l'élément dissous (e.g. ion libre) et le matériel particulaire (e.g. bactéries, microalgues, argiles) qui est appelé « fraction colloïdale » et qui intervient fortement dans la réactivité des ETM e.g.(Muller, 1996; Ross and Sherrell, 1999; Guo et al., 2000). Ainsi, le diamètre de filtration a été récemment réduit de $0,45\ \mu m$ à $0,2\ \mu m$ par la communauté scientifique, essentiellement française e.g.(Dupré et al., 1999; Elbaz-Poulichet et al., 1999; Olivié-Lauquet et al., 1999; Benedetti et al., 2003), afin de séparer les bactéries de la fraction dissoute, ce qui rend les échantillons stériles. Les trois types de phases définies sont alors (Thurman, 1985) Figure I.1- 1)

- phase dissoute $<0,02 \mu\text{m}$ (« vrai dissous ») dans laquelle l'ion libre va se situer mais qui regroupe aussi les acides fulviques et une partie des acides humiques, les sels minéraux et de petites molécules comme les pesticides.
- phase colloïdale comprise entre $0,02$ et $0,2 \mu\text{m}$ dans laquelle vont se situer les acides humiques ou les virus. Par la suite, nous appellerons fraction dissoute $<0,2 \mu\text{m}$ la fraction comprenant la phase dissoute $<0,02 \mu\text{m}$ et la phase colloïdale, e.g. le filtrat obtenu après filtration à $0,2 \mu\text{m}$.
- phase particulaire $>0,2 \mu\text{m}$ dans laquelle se trouve les composés organiques type bactéries, plancton, algues et les composés inorganiques type argiles, carbonates, sables et sulfures métalliques.

3. Les ETM dans les estuaires

3.1. Processus de transformation des ETM en milieu estuarien

3.1.1. Effet de la salinité

Le mélange physique des eaux fluviales d'une part et des eaux côtières et océaniques d'autre part gouverne la distribution des éléments traces métalliques dans les estuaires. En absence de tout processus biogéochimique, ce mélange des eaux conduit à une relation linéaire entre la concentration de l'élément et la salinité. Cette relation suppose également une absence de puits et de sources de métaux dans l'estuaire ainsi qu'une composition constante des eaux pour une durée de l'ordre du temps de résidence des eaux dans l'estuaire. Les diagrammes de mélange représentent les concentrations en métaux dissous en fonction de la salinité des échantillons et caractérisent ainsi le comportement des métaux le long du gradient de salinité estuarien (Boyle et al., 1974). Les comportements sont dits conservatifs lorsque les concentrations suivent la droite de dilution théorique, et non conservatifs lorsque les concentrations sont supérieures ou inférieures à la droite de dilution théorique (Figure I.1- 2). Dans les comportements non conservatifs, ces phénomènes se nomment alors respectivement addition et soustraction et se traduisent par le passage des ETM de la phase particulaire à la phase dissoute lors de l'addition, et le passage de la phase dissoute à particulaire pour la soustraction (Figure I.1- 2)

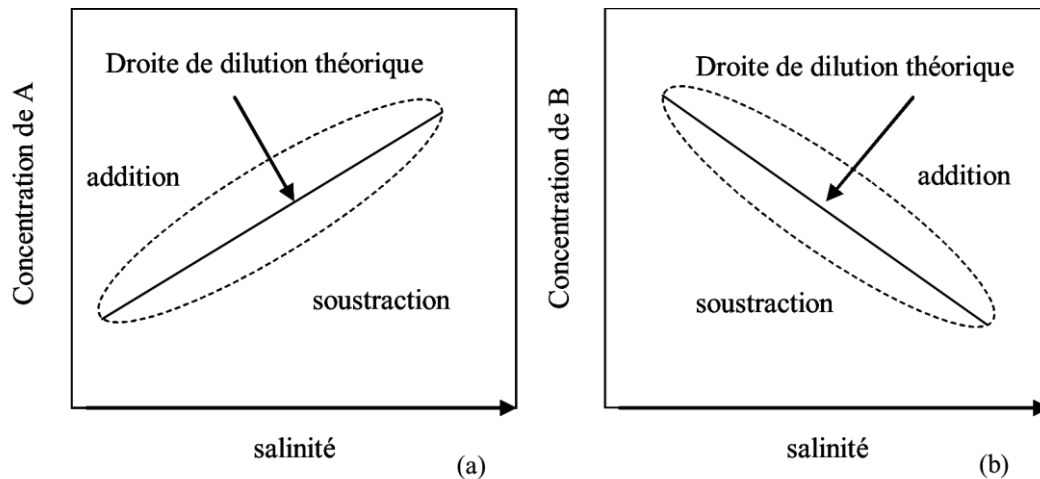


Figure I.1- 2: Diagramme de mélange, comportements des métaux en milieu estuarien. (a) courbe de mélange pour un élément A dont la concentration est plus élevée dans l'eau de mer que dans la rivière, et (b) courbe de mélange pour un élément B dont la concentration est plus élevée dans la rivière que dans l'eau de mer.

3.1.2. Rôle de la matière organique

Dans les estuaires, la zone de turbidité maximum est généralement une zone de forte dégradation de la matière organique (MO) par les bactéries dans laquelle la consommation en oxygène est très élevée. La MO présente une aptitude particulière pour complexer avec les ETM (e.g. (Davis, 1984; Wells et al., 1998; Masson, 2007)). Ainsi, les processus de dégradation et floculation dans l'estuaire affecte qualitativement la MO e.g. (Sholkovitz et al., 1978; Wen et al., 1997; Abril et al., 2002; Lemaire et al., 2002; Point, 2004; Masson, 2007) et peuvent directement influencer la spéciation des ETM e.g. (Mantoura et al., 1978; Mantoura, 1981). Nous notons que la dégradation de la MO peut aussi influencer localement les conditions physicochimiques comme le potentiel redox ou le pH, et ainsi indirectement induire des modifications entre les différentes phases des ETM.

3.1.3. Processus redox

De façon générale, dans les sédiments et les matières en suspension (MES), la dégradation de la MO par les bactéries entraîne une diminution du potentiel redox et une augmentation des conditions réductrices. La minéralisation de la MO est décrite par des réactions mettant en jeu une succession d'accepteurs d'électrons : oxygène, nitrate, oxydes de Mn, oxydes de Fe, sulfates (Froelich et al., 1979). La réduction de ces différents composés permet la mise en solution des ETM qui leurs sont associés e.g. (Shaw et al., 1990; Gonzalez, 1992; Morford

and Emerson, 1999; Robert et al., 2004; Audry et al., 2006). Au niveau des estuaires, la mise en suspension des sédiments de fonds lors des cycles de dépôt/érosion peut être responsable de l'introduction dans la colonne d'eau des ETM (dans les phases dissoute et/ou particulaire) dont la spéciation a pu être modifiée lors des réactions de diagenèse e.g (Gonzalez, 1992; Chiffoleau et al., 1994; Martino et al., 2002; Robert et al., 2004; Audry et al., 2006). Ces phénomènes redox sont donc très importants dans les bilans des ETM dans un estuaire.

3.2. Coefficient de partage entre la phase particulaire et dissoute K_d

Dans les estuaires, l'affinité relative des métaux pour la phase particulaire ou dissoute est un phénomène important (Turner, 1996). Cette affinité peut être quantifiée à partir du coefficient de partage entre les deux phases K_d , calculé selon l' Equation I.1- 1 :

$$K_d = \frac{[Métal]_{particulaire}}{[Métal]_{dissous}}$$

Equation I.1- 1: Coefficient de partage K_d (Turner et al., 1993)

De nombreuses études font référence au coefficient de partage K_d pour appréhender les processus de désorption et adsorption dans les estuaires. Ainsi, K_d varie de façon significative selon le système considéré (e.g. (Turner et al., 1993; Chiffoleau et al., 1994; Monbet, 2001).

3.3. Normalisation par le thorium

Le changement de granulométrie des matières en suspension (MES) et des sédiments peut engendrer des variations des concentrations métalliques dans ces particules. En effet, une augmentation de la taille des particules se traduit généralement par une diminution des concentrations en ETM particulaires due à la diminution des surfaces spécifiques d'échange des particules avec les ETM. e.g. (De Groot et al., 1976; Thorne and Nickless, 1981; Loring, 1991; Loring and Rantala, 1992). Afin de s'affranchir des variations de concentrations dues au changement de taille des particules, nous utilisons la normalisation par thorium (Masson et al., 2006; Coynel et al., 2007) élément très peu soluble (Middelburg et al., 1988) provenant principalement de la croûte terrestre (van Calsteren and Thomas, 2006). Généralement, la correction des effets naturels de la granulométrie dans les milieux aquatiques est réalisée par la normalisation avec aluminium (Loring, 1991), principal constituant des aluminosilicates auxquels la majeure partie des ETM sont associés (Bruland et al., 1974; Windom et al., 1989; Schropp et al., 1990). Or, Al peut-être impliqué dans les cycles biogéochimiques (Exley,

2003) ou les processus d'échanges entre phases dissoute et particulaire en milieu estuarien (e.g.(Xu et al., 2002), induisant un biais dans la normalisation par Al. Ainsi, Masson et al., (2006) ont montré que les concentrations en Th des MES dans les affluents de la Gironde sont très fortement corrélées aux concentrations en Al. La normalisation au Th peut alors être utilisée pour s'affranchir des effets granulométriques.

3.4. Flux des ETM

Les concentrations des ETM dans les estuaires varient suivant le système (e.g. nature des roches, anthropisation, superficie, débits hydriques) et suivant l'intensité des processus de transformations énumérés ci-dessus. L'utilisation des concentrations ou des gammes des concentrations apparait alors inadaptée pour comparer les estuaires de taille, latitude et continents différents.

Les flux spécifiques des ETM bruts, entrants dans le système, ou nets, sortant du système ramenés à la superficie sont des paramètres permettant de comparer des systèmes différents car ils prennent en compte les processus de transformation dans l'estuaire et les tailles/débits des systèmes.

La détermination des flux nets d'un estuaire est très délicate du fait principalement de l'inversion des courants et du mélange de deux masses d'eau. Boyle et al. (1974) (1982) ont défini le flux net d'un élément dissous à travers une isohaline à un instant t comme :

$$F_{net} = Qt \times [C(S) - S \times \frac{dC(S)}{dS}]$$

avec S la salinité, $C(S)$ la concentration de l'élément, Qt le débit hydrique à l'instant t .

Si la relation entre la salinité et la concentration est linéaire, alors $\frac{dC(S)}{dS}$ est constant et égal à la pente de la droite de mélange. Ainsi, pour toute salinité où cette relation est valable, $C(S) - S \times \frac{dC(S)}{dS}$ est constant et égal à l'intersection Cd_d^0 entre la droite d'extrapolation et l'axe des ordonnées; le flux est alors déterminé comme l'Equation I.1- 2:

$$F_{net} = Qt \times Cd_d^0 \quad \text{avec } Cd_d^0 \text{ la concentration théorique}$$

Equation I.1- 2: Flux net d'un élément dissous

La détermination des flux nets particuliers était jusqu'alors déterminée de façon indirecte (Jouanneau et al., 1990) en multipliant le débit avec une concentration particulaire moyenne mesurée dans l'estuaire. Au cours de sa thèse, Dabrin (2009) a proposé une nouvelle méthode

directe basée sur des mesures ADCP (Acoustic Current Doppler Profiler) couplées à des prélèvements de MES, d'eau et des mesures de concentrations en ETM sur un cycle de marée.

4. Le cadmium, comportement en milieu estuarien

Le cadmium, élément de numéro atomique 48 et de masse molaire $112,4 \text{ g.mol.L}^{-1}$, est présent sous forme solide sous huit isotopes stables. Ce métal fut découvert en 1817, dans la mine de zinc de Kadmos, près de Thèbes, d'où il tire son nom.

En eau douce, Cd est majoritairement présent sous phase particulaire et associé à des molécules d'hydratation et des carbonates, alors qu'en eau estuarienne, les particules vont avoir tendance à désorber Cd sous l'action de la salinité et former des chlorocomplexes (Figure I.1- 3) e.g. (Bourg, 1987; Comans and Van Dijk, 1988; Turner, 1996). Ainsi, en estuaire, Cd dissous présente généralement un comportement additif avec un maximum de concentrations dans les moyennes salinités, comme observé dans les estuaires de la Gironde (Edmond et al., 1985; Jouanneau et al., 1990; Kraepiel et al., 1997; Boutier et al., 2000; Michel et al., 2000; Robert, 2003; Dabrin, 2009; Dabrin et al., 2009), la Loire (Boutier et al., 1993), la Seine (Chiffoleau et al., 1994; Chiffoleau et al., 2001), l'Amazone (Boyle et al., 1982) et le Chang-Jiang (Edmond et al., 1985).

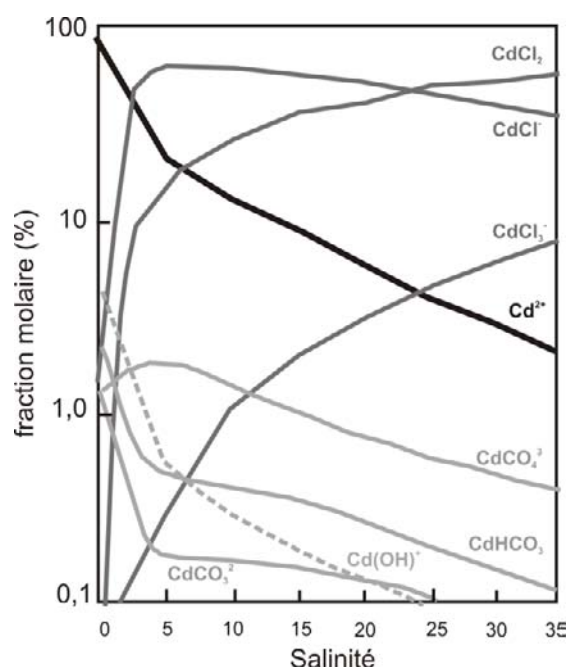


Figure I.1- 3: Spéciation (% de la fraction molaire) du cadmium dissous en fonction de la salinité (modifié d'après (Rainbow, 1995))

III. Contamination des organismes aquatiques par les métaux traces

1. Mécanismes généraux

Dans un contexte de toxicité, les éléments traces métalliques se distinguent entre :

- les éléments essentiels, e.g. Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}
- les éléments essentiels toxiques e.g. Cu^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}
- les éléments toxiques, e.g. Ag^+ , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+}

Ainsi, la prise en charge du métal par l'organisme aura des effets différents suivant le type de métal, comme le montre la courbe dose-réponse de Figure I.1- 4 représentant la réponse positive, stimulation, ou négative, inhibition, de la performance de l'organisme en fonction de la concentration ou dose de métal.

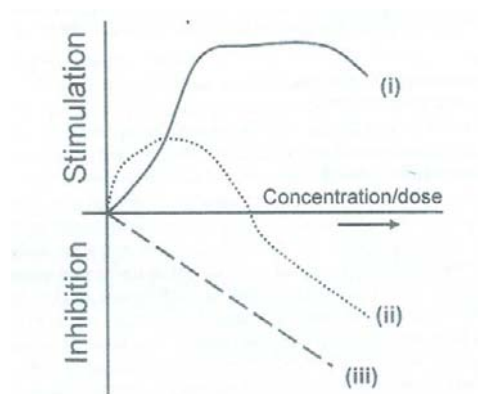


Figure I.1- 4: Schéma général des courbes dose-réponse typiquement observées chez un organisme vivant pour (i) un macro-élément nutritif, (ii) un micro-élément nutritif et (iii) un élément toxique non essentiel (d'après Campbell and Couillard, 2004)

Dans le cadre de ce manuscrit, nous allons nous restreindre aux métaux toxiques et aux étapes générales de la contamination des organismes aquatiques par ces métaux (Figure I.1- 5) : (i) l'exposition ou spéciation, (ii) la prise en charge du métal, (iii) les mécanismes de toxicité, (iv) la détoxification et (v) l'induction des métallothionéines.

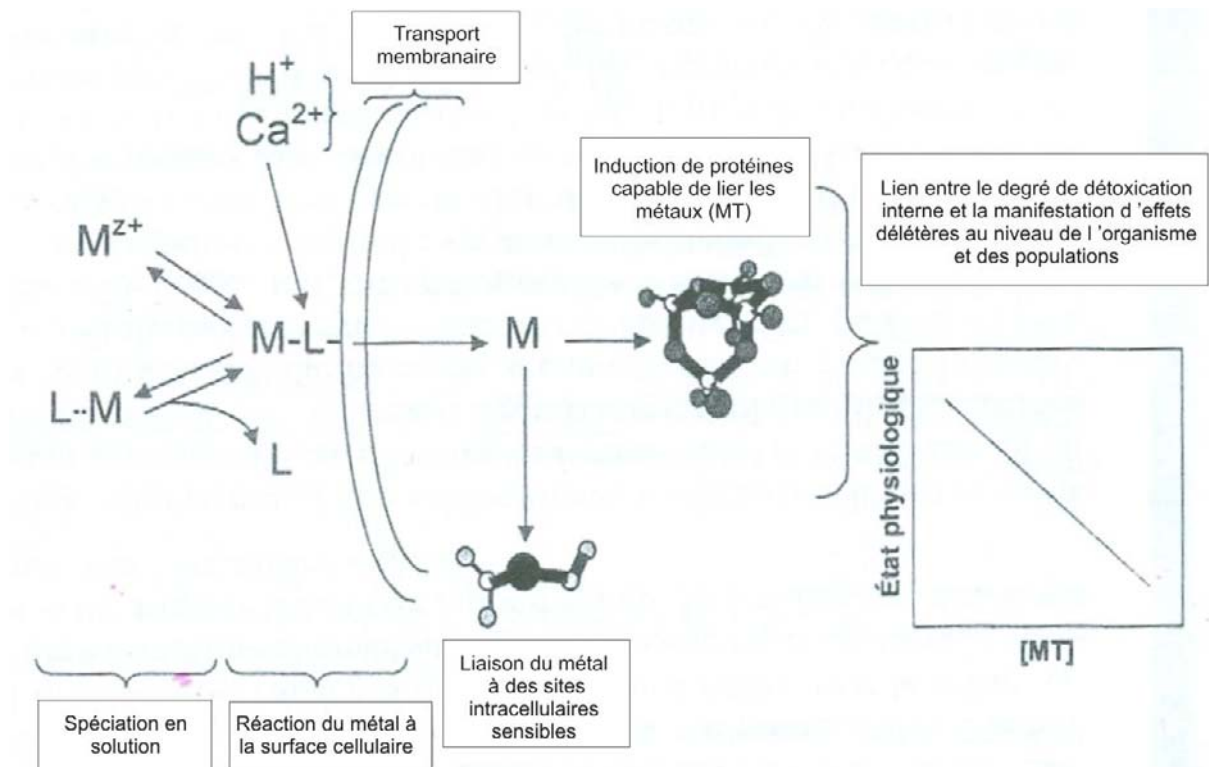


Figure I.1- 5: Liens entre l'exposition aux métaux, leur prise en charge, leur détoxification et la manifestation d'effets délétères (d'après Campbell and Couillard, 2004)

1.1. Spéciation des métaux

La spéciation des métaux est un facteur important pour appréhender la biodisponibilité des métaux. En solution, les métaux sont répartis sous plusieurs formes :

- l'ion métallique 'libre', associé à des molécules d'hydratation, noté M^{Z+}
- liés à des complexes inorganiques $M-X$ où X : Cl^- , HCO_3^- ,...
- liés à des complexes organiques de type ligands monomères $M-L$ (e.g. acides aminés) ou de type ligands polymères (e.g. acides humiques).

La nature hydrophile de ces espèces métalliques contraste ainsi du caractère lipophile de la barrière biologique que doivent franchir les métaux.

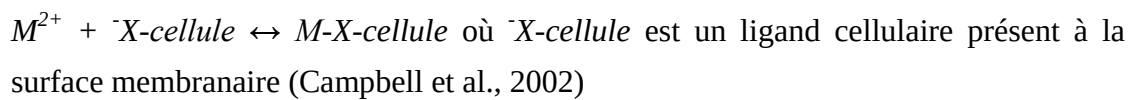
La spéciation du Cd dans les eaux douces et dans l'eau de mer varie fortement et présente une diminution de l'activité de l'ion libre Cd^{2+} et une augmentation des activités des complexes chlorés avec la salinité (Figure I.1- 3).

1.2. Prise en charge des métaux

D'une façon générale, les métaux cationiques M^{Z+} et leurs complexes $M-L$ ne peuvent traverser les membranes biologiques par simple diffusion : les métaux sont alors pris en

charge par transport facilité. Le modèle conceptuel des interactions entre les métaux et les organismes (Campbell et al., 2002) synthétise les différentes étapes menant à la prise en charge du métal : la diffusion du métal vers la surface biologique, la diffusion au travers de la couche externe puis la complexation du métal à des sites physiologiques inertes ou actifs, affectant ou non le métabolisme (Figure I.1- 6).

Le modèle du ligand biotique (Di Toro et al., 2001; Santore et al., 2001; Paquin et al., 2002) et son prédécesseur le modèle de l'ion libre (Morel, 1983) veillent à prédire comment le métal dissous interagit avec, et affecte les organismes aquatiques. Cette interaction est représentée sous la formation du complexe *M-X-cellule*, résultant de :



Selon ces modèles, la réponse induite par le métal sera proportionnelle à la concentration de l'espèce *M-X-cellule*. L'importance de l'ion métallique libre ou complexé comme prédicteur de la biodisponibilité découle de la chimie des équilibres et la connaissance de sa concentration ou activité permettant de prédire la concentration de l'espèce de *M-X-cellule* (Campbell and Couillard, 2004).

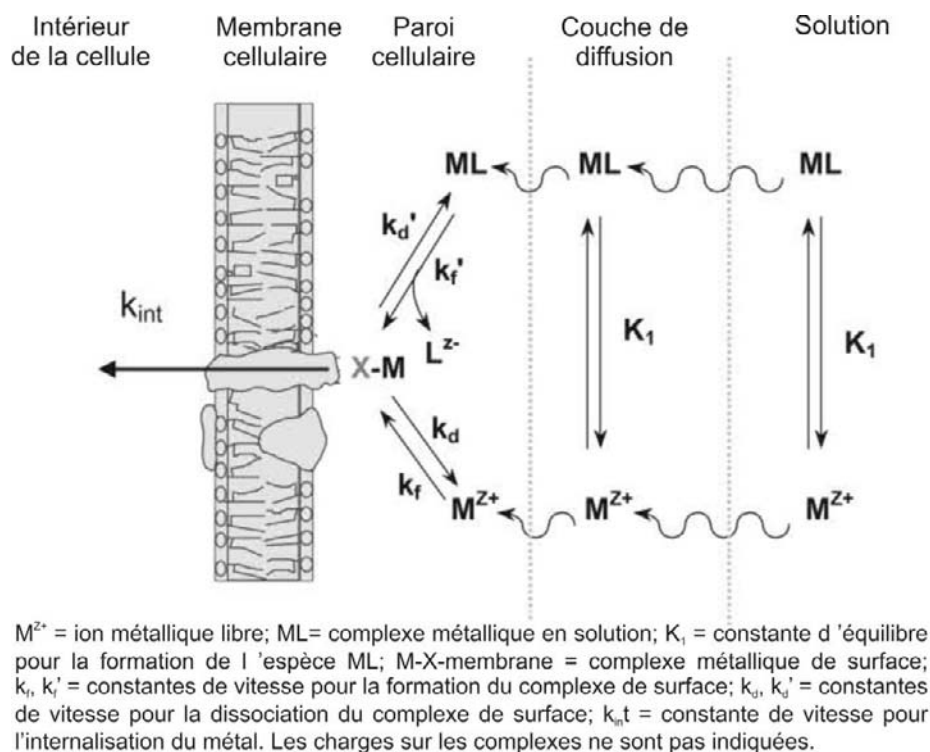


Figure I.1- 6: Modèle conceptuel des interactions entre les métaux et les organismes aquatiques (d'après Campbell et al., 2002)

1.2.1. Métaux dissous

La prise en charge des métaux dissous par la membrane épithéliale des branchies (voie directe de contamination) constitue l'interface clé pour les mécanismes de transport transmembranaire et peut s'effectuer selon trois mécanismes généraux (Campbell and Couillard, 2004):

- le transport facilité du cation par des transporteurs transmembranaires protéiques ou des canaux transmembranaires. Ce transport est considéré comme prédominant et est utilisé dans le modèle du ligand biotique (BLM). Concernant le cadmium, l'ion libre Cd^{2+} est reconnu comme étant l'espèce chimique la plus disponible chez les mollusques, autant en eau douce (Simkiss and Taylor, 1989) qu'en eau salée (Roesijadi and Robinson, 1994). Son transport par canaux calciques induisant une compétition entre les ions Cd^{2+} et Ca^{2+} , du fait de la proximité de leur rayon atomique (0,97 et 0,99 Å respectivement), a été démontré chez trois bivalves marins *Crassostrea virginica* (Roesijadi and Unger, 1993), *Donax rugosus* (Sidoumou et al., 1997) et *Mytilus edulis* (Vercauteren and Blust, 1999).
- le transport facilité d'un complexe métallique anionique
- le transport passif par simple diffusion d'un complexe métallique lipophile.

Des expériences ont montré que la fixation de Cd sur des ligands organiques ou inorganiques (e.g. Cl^-) pouvait former des complexes liposolubles et neutres susceptibles de traverser les barrières hydrophobes par simple diffusion (Mason and Jenkins, 1995) et que ce transport jouerait un rôle non négligeable chez les espèces marines (Daskalakis, 1996).

1.2.3. Métaux particuliers

La prise en charge des métaux associés aux particules (voie trophique de contamination) nécessite plusieurs étapes : l'ingestion de la particule, la solubilisation du métal dans le tractus intestinal de l'organisme qui peut être facilitée par les 'nouvelles' conditions du milieu, présentant un pH et des conditions d'oxydo-réduction très différents et le franchissement de la membrane digestive ou vacuolaire, selon les mêmes processus que les membranes épithéliales des branchies.

L'endocytose peut également jouer un rôle important dans le transfert des métaux chez les organismes aquatiques. Ce mécanisme, décrit au niveau des branchies, de l'épithélium du manteau et au niveau de la barrière intestinale (Depledge and Rainbow, 1990; Roesijadi and Robinson, 1994), induit l'incorporation des métaux aux lysosomes et leur relargage dans le cytosol. Cependant, pour le Cd, la capacité des particules à traverser l'épithélium et le

transfert de métal associé est modéré entre les algues et *Crassostrea gigas* (Ettajani et al., 2001), limitant le phénomène de bioamplification de ce métal le long du réseau trophique en milieu marin.

1.3. Séquestration intracellulaire et/ou tissulaire des métaux

Une fois que les métaux ont franchi la membrane apicale des cellules épithéliales des branchies, ils sont pris en charge selon deux mécanismes :

- ils peuvent traverser la cellule et franchir la membrane baso latérale où ils peuvent être libérés dans le milieu circulant, sang ou hémolymphe, et être fixés sur des protéines plasmatiques et transportés vers les autres organes (Martin and Rainbow, 1998a, b)
- ils peuvent aussi subir des séquestrations intracellulaires, avec des composants structuraux des membranes des organites et des composés cytosoliques. Cette séquestration est dépendante du niveau et du temps d'exposition, du type cellulaire, de l'espèce et du cycle de vie des organismes (Wallace et al., 2003; Wallace and Luoma, 2003).

1.3.1. Séquestration des métaux dans les structures compartimentées

Ce mécanisme de séquestration limite la dispersion du métal au sein de la cellule et favorise son élimination en mettant à contribution le système lysosomal ou la précipitation sous forme de granules ou de concrétions insolubles. Ces mécanismes ne seront pas plus amplement décrits dans le cadre de ce manuscrit mais peuvent être retrouvés dans les travaux de thèse de Marie (2005) pour un contexte très proche.

1.3.2. Fixation des métaux sur les ligands intracellulaires : le cas de la métallothionéine

Dans le cytosol, les métaux dont le cadmium sont susceptibles de se complexer à des acides aminés 'libres' (cystéine), des peptides (glutathion), des acides nucléiques (Viarengo, 1989) et des protéines comme les métallothionéines.

Les métallothionéines (MTs) ont été isolées pour la première fois dans le rein du cheval, comme une protéine complexant le Cd (Margoshes, 1957). Leur intérêt reste élevé du fait que

leurs fonctions sont toujours mal cernées et sujettes à de nombreuses discussions. Les MTs présentent des caractéristiques uniques. Ce sont des protéines cytosoliques de faible poids moléculaires (6 à 7 kD) qui présentent un pourcentage élevé, 30 à 35%, en résidus 'cystéine' (Cys-) avec une absence d'acides aminés aromatiques. Les résidus "cystéine" se répartissent sous forme de motifs récurrents et invariants au sein de séquences peptidiques relativement spécifiques :

Cys-X-Cys, Cys-X-X-Cys, Cys-X-Y-Cys et Cys-Cys,

où X et Y représentent des acides aminés (Hamer, 1986; Roesijadi, 1992).

Chez la plupart des organismes, les MTs sont soumises à un polymorphisme génétique induisant de multiples isoformes, dont deux majeures nommées MT1 et MT2, différenciées par leur séquence en acides aminés (position et nombre de résidus Cys), mais sans réelles divergences fonctionnelles (Waalkes and Goering, 1990). Le contenu cellulaire de chacune d'elles varie chez les mammifères (Hamer, 1986).

La structure tridimensionnelle de ces protéines (Figure I.1- 7) révélée par résonance magnétique nucléaire, spectroscopie UV, séquençage d'acides aminés ou encore cristallographie au rayon X (Stillman, 1995), se distingue en deux domaines globulaires, ou clusters, nommés α et β :

- le cluster α comporte 11 cystéines auxquelles peuvent se lier maximum 4 ions de Cd(II) (Zn ou Hg) avec les groupements thiols (-SH) des résidus Cys
- le cluster β comporte 9 cystéines auxquelles peuvent se lier 3 ions de Cd(II) (Zn ou Hg) lorsque la molécule est saturée (Hamer, 1986; Roesijadi, 1992).

Cependant, certaines espèces présentent des différences structurelles, comme l'huître *Crassostrea gigas*, dont le séquençage de l'isoforme CgMT2 a révélé une duplication d'exon conférant un troisième domaine de liaison (un second cluster β) et une capacité supérieure de fixation des métaux (Tanguy and Moraga, 2001). La complexation avec un métal donné n'est pas statique, impliquant des échanges intramoléculaire et extra moléculaire de métaux avec d'autres ligands (Stillman, 1995).

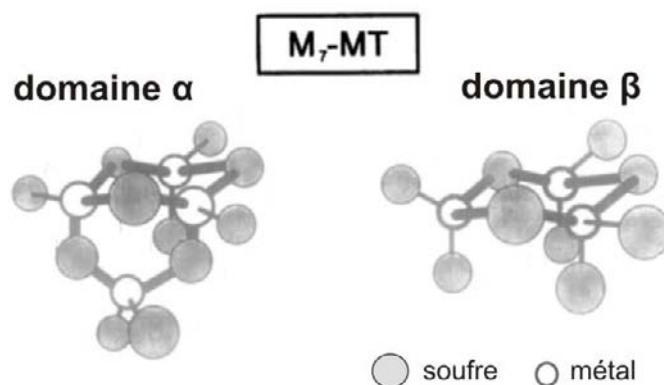


Figure I.1- 7: Structure tridimensionnelle des deux domaines de chélation métallique de la métallothionéine 2a du foie de lapin (d'après Stillman, 1995).

La biosynthèse des MTs en réponse aux métaux lourds fut décrite pour la première fois en 1964 par Piscator (Hamer, 1986). L'accumulation cellulaire des MTs dépend à la fois de l'expression des gènes *mt*, de la traduction de leurs ARN messagers et de la dégradation de la protéine (e.g. références citées dans (Marie, 2005)). La régulation de la synthèse répond à une induction de type transcriptionnelle, comme chez *C.gigas* (Marie et al., 2006). Depuis, cette forme de régulation a été reconnue chez toutes les espèces capables de synthétiser des MTs et dans de nombreux tissus et types cellulaires différents, en réponse à diverses substances autres que les métaux (Waalkes and Goering, 1990; Kagi, 1991).

Le rôle des MTs est toujours très étudié et ouvert à la discussion, principalement du fait qu'un grand nombre de facteurs sont susceptibles d'induire leur synthèse. Ainsi, les MTs jouent un rôle dans :

- l'homéostasie et la répartition intracellulaire des métaux (e.g. références citées dans (Marie, 2005),
- la protection contre le stress oxydant (e.g. références citées dans (Marie, 2005))
- la protection et la détoxication des métaux toxiques. Dans ce contexte, les MTs séquestrent les métaux toxiques et limitent leur accès aux autres sites cellulaires. Cependant, lorsque les flux d'entrée des métaux sont supérieurs aux capacités d'induction de synthèse des MTs, ces MTs présentes dans le cytosol deviennent saturées par les métaux qui vont alors se fixer sur d'autres cibles cellulaires abolissant le rôle de protection des MTs (Roesijadi, 1992; Mason and Jenkins, 1995). Ce phénomène a été observé chez *Corbicula fluminea*, *Pyganodon grandis* ou *Crassostrea virginica* (Baudrimont et al., 1999; Butler and Roesijadi, 2000; Giguere et al., 2003). Les métaux peuvent alors devenir toxiques en induisant entre autres l'apoptose ou en altérant la molécule d'ADN.

Ainsi, la détoxification comprend tous les processus, stratégies ou mécanismes qui permettent de minimiser le potentiel d'un métal à interagir de manière nuisible avec des macromolécules (Mason and Jenkins, 1995).

1.4. Mécanismes d'élimination des métaux

L'élimination des métaux, dont Cd, chez les bivalves se fait par plusieurs voies :

- des sites potentiels d'ultrafiltration, comme les glandes péricardiques chez *Dreissena polymorpha* (Giamberini and Pihan, 1996). Cependant, l'ultrafiltration ne permettrait pas l'excrétion de molécules de taille inférieure à 45 kD, alors que la grande majorité des métaux est fixée aux protéines plasmatiques plus petites (Roesijadi and Robinson, 1994).
- la voie des pseudofèces qui correspond au relargage des corps résiduels du tissu digestif, par exocytose au niveau des cellules de la glande digestive, durant la dernière phase du cycle digestif normal (Morton, 1983).
- par élimination des métaux séquestrés à l'intérieur des hémocytes des mollusques, par migration depuis les tissus intestinaux, à travers la barrière épithéliale, vers la lumière du tube digestif ou vers l'eau environnante par le mécanisme de diapédèse (Roesijadi and Robinson, 1994).
- par élimination des métaux via la coquille des mollusques (Mason and Jenkins, 1995).

Pour conclure cette partie, nous pouvons retenir que tout exemple d'acclimatation, de tolérance ou de résistance aux métaux pourra être interprétée comme une preuve de l'existence d'un système de détoxification. Ainsi, par la capacité de s'opposer aux effets négatifs du métal les organismes sont considérés comme 'résistants' lorsque les processus physiologiques sont ramenés aux mêmes taux que pour les organismes non exposés, et comme 'tolérants' lorsque les processus métaboliques continuent à se dérouler à des taux anormaux (Campbell and Couillard, 2004).

2. L'huître, espèce sentinelle de la contamination métallique

Le mollusque bivalve *Crassostrea gigas* (Figure I.1- 8) est utilisé comme un indicateur quantitatif de la contamination métallique (RNO, 2006). Sa forte capacité à interagir avec le système et à bioaccumuler les métaux via la filtration de la colonne d'eau à des fins

nutritionnelles et respiratoires en fait un excellent modèle biologique pour étudier la contamination métallique d'un environnement (Baudrimont et al., 2005; Geffard et al., 2007; Lekhi et al., 2008; Bendell and Feng, 2009; Christie and Bendell, 2009; Ng et al., 2010).

L'espèce *C.gigas* est originaire d'Asie du nord est et est apparue sur les côtes françaises à la fin des années 1960, suite au déclin de la population *Crassostrea angulata* (Coic, 2007). En 2003, sa production globale s'est élevée à 4,38 millions de tonnes, dont 84% en Chine, 6% au Japon, 5% en Corée et 2,6% en France (FAO, 2010). Au niveau national, la baie de Marennes Oléron est la plus grande aire ostréicole avec une production annuelle de 55 à 60 000 tonnes (AGRESTE 2001, Recensement de la conchyliculture).

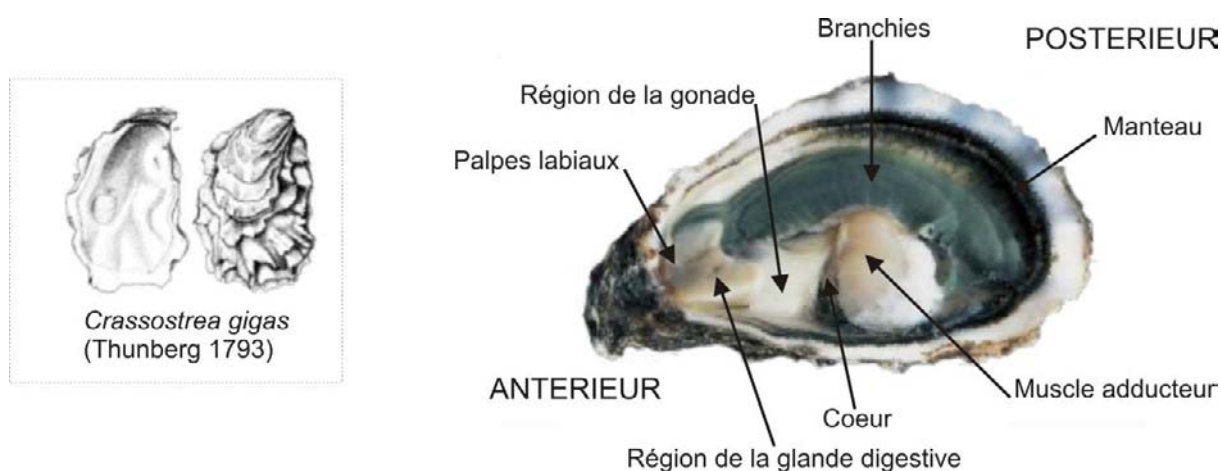


Figure I.1- 8: *Crassostrea gigas* (Thunberg 1793), anatomie

D'un point de vue anatomique, seuls les branchies et le manteau sont en contact avec le milieu environnant. Les branchies lamelleuses assurent une fonction nutritionnelle et respiratoire en pompant l'eau dans le milieu avec une intensité qui peut être fonction de la charge en seston (Barillé, 1993; Barillé et al., 1997), du temps d'immersion (Soletchnik et al., 1996b; Bougrier et al., 1998), de l'âge et de la période de ponte (Barillé, 1997; Bougrier et al., 1998). La taille des particules joue également un rôle important puisque *C.gigas* retient les particules entre 5 et 100 μm (Barillé, 1993) correspondant à plusieurs types de particules détritiques et vivantes dont les flagellés, dinoflagellés, ciliés, diatomées (Dupuy et al., 2000). Les cils vibratils des branchies vont ensuite amener les particules vers la bouche où elles sont ingérées. Avant cela, une partie du matériel particulaire est trié par les palpes labiaux et rejeté sous forme de pseudofèces dans un mucus, alors que la fraction organique du matériel est ingérée (Soletchnik et al., 1996a). La quantité ingérée dépend alors de l'efficacité de sélection (Barillé, 1993). Le matériel ingéré passe dans l'œsophage et est ensuite digéré au niveau du stylet cristallin (condensé d'enzymes digestives) qui constituent la glande digestive (Boucaud-

Camou et al., 1983). La partie non assimilée du matériel est alors rejetée sous forme de fecès. Les processus de digestion sont fonction d'une efficacité d'assimilation, du temps de transit mais aussi du volume stomacal (Boucaud-Camou et al., 1983; Barillé, 1997). L'appareil reproducteur occupe la majeure partie de la masse viscérale pendant la période de reproduction. Les premiers stades de la gamétogenèse apparaissent au printemps en mars-avril (Goulletquer, 1995). La maturité sexuelle est atteinte en été et est suivie de la ponte, déclenchée principalement par le facteur température de l'eau (Goulletquer, 1995). La phase larvaire pélagique dure 15 à 28 jours avant que la larve ne se fixe sur un substrat où elle effectuera sa croissance. L'huître *C.gigas* est considérée comme une espèce à hermaphrodisme successif protandrique (Goulletquer, 1995).

Au niveau écologique, *C.gigas* est répandue des eaux saumâtres des estuaires aux eaux très salées, son spectre de tolérance vis-à-vis de la salinité étant large (salinité 10-42 ;(Shatkin et al., 1997). De plus, elle a une forte capacité d'adaptation aux variations de la température de l'eau 4-34°C et de l'oxygène (Bougrier et al., 1998). Ainsi, on la retrouve en estuaires et en zones intertidales des côtes littorales, où elle se nourrit de plancton néritique, de microphytobenthos et de protistes (Dupuy et al., 2000; Malet, 2005; Malet et al., 2007). En raison de son importance économique, les facteurs influençant l'écophysiologie e.g. (Barillé, 1997), les mortalités e.g. (Dégremont et al., 2010) mais aussi la gestion des ressources e.g. (Goulletquer and Le Moine, 2002) de *Crassostrea gigas* sont toujours très étudiés en baie de Marennes Oléron.

IV. Cadre de l'étude

1. L'estuaire de la Gironde

1.1. Généralités

L'estuaire de la Gironde est formé par la confluence de la Garonne et la Dordogne (Figure I.1-9). Avec une surface de 650 km², il est le plus grand estuaire de la façade atlantique. Son cycle de marée semi-diurne et son marnage, variant de 1,5 à 5,5 mètres, le classent comme estuaire méso à macrotidal selon la nomenclature de Hayes (1975). Au cours d'un cycle de marée, le volume mis en jeu par le prisme tidal est de 30 à 40 fois supérieur à celui apporté par les fleuves (Allen et al., 1977) qui est estimé à environ $34.10^9 \text{ m}^3.\text{an}^{-1}$ par Schäfer et al., (2002).

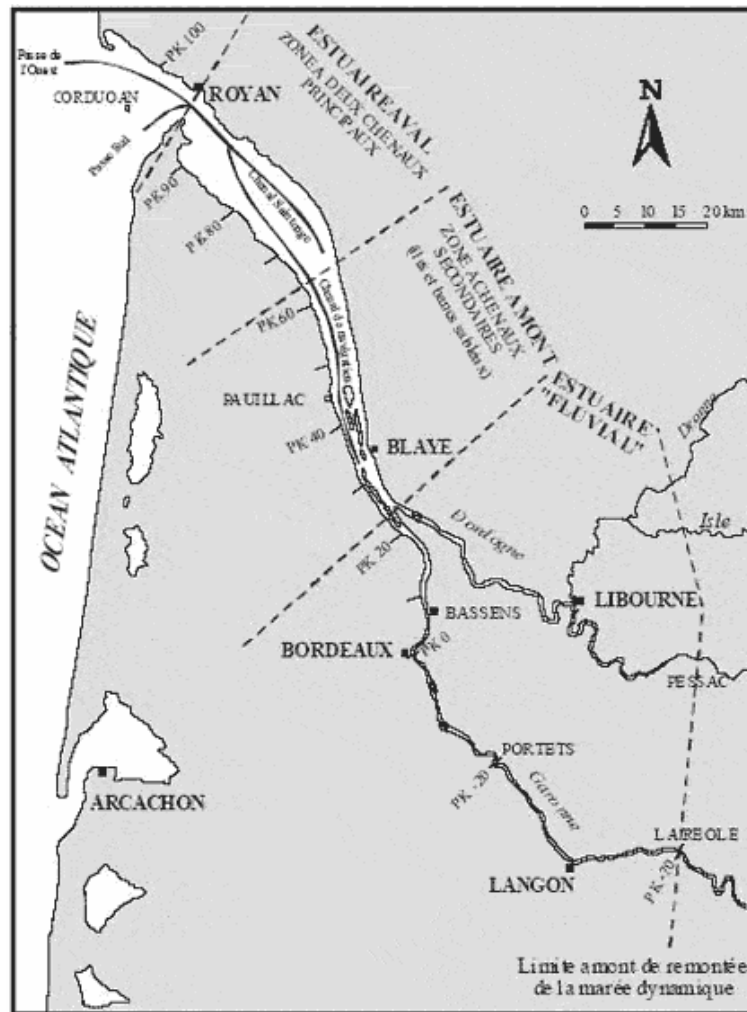


Figure I.1- 9: Carte de l'estuaire de la Gironde et de ses deux affluents, la Garonne et la Dordogne.

Le temps de résidence des eaux dans l'estuaire est estimé à 20 jours en crue et à 86 jours en étiage (Castaing and Jouanneau, 1979). L'estuaire de la Gironde est un estuaire hypersynchrone dans la classification de Le Floch (1961). Les effets du rétrécissement de l'estuaire étant plus forts que ceux du frottement, l'amplitude de la marée augmente vers l'amont et l'onde de marée devient asymétrique. Ainsi, lors du montant les vitesses sont plus élevées, entraînant une plus forte resuspension des sédiments, qui se déposent ensuite lors de l'étalement de haute mer (plus longue) au niveau du point nodal de marée. Ce cycle tidal est le phénomène dynamique responsable de la formation d'une zone de maximum de turbidité avec une concentration en MES en surface supérieure à 1 g.L^{-1} , appelée localement « bouchon vaseux » (Castaing, 1981) et estimée entre 4 et 6 millions de tonnes par Jouanneau (1982). La position de ce bouchon vaseux dépend des conditions hydrologiques. Lors des conditions d'étiage, le bouchon vaseux a tendance à remonter vers l'amont dans l'estuaire fluvial jusqu'à Portets (Figure I.1- 9) alors que pendant les conditions de forts débits, le bouchon vaseux se

déplace vers l'aval où il peut être expulsé de l'estuaire lors des situations de crue (Castaing and Allen, 1981; Sottolichio and Castaing, 1999).

1.2. Dynamique des particules à l'embouchure

Lors des crues, une quantité importante de MES, soit 0,5 à 1,5 millions de tonnes.an⁻¹ (Castaing, 1981; Jouanneau, 1982), se retrouvent dispersées dans la zone côtière sous la forme de deux panaches turbides : un en surface et un au fond provenant de la remise en suspension des vases et des apports directs de la Gironde (Froidefond et al., 1998; Hermida et al., 1998; Jouanneau et al., 1999). Une partie des particules des panaches vont décanter sur le proche plateau continental, pour former la vasière ouest Gironde (ou WGMP, West Gironde Mud Patch ; (Jouanneau et al., 1989; Parra et al., 1999; Lesueur et al., 2001), et la vasière sud Gironde (ou SGMP) (Allen and Castaing, 1977; Jouanneau et al., 1989; Lesueur et al., 2001), composées toutes les deux de sédiments argilo-silteux. Une autre partie des particules vont se déplacer au sein du panache de surface. L'importance de ce panache de surface est en grande partie liée aux débits fluviaux, qui expliquent 75% de sa variabilité observée par images satellites (Dabrin, 2009; Lafon et al., 2009). Il est aussi lié au coefficient de marée, puisque quelque soit le débit considéré, la surface observée est toujours élargie lorsque le coefficient de marée augmente (Froidefond et al., 1998; Lafon et al., 2009), et aux courants instantanés de marée puisque le panache a été observé à son maximum de superficie en condition de jusant (Lafon et al., 2009). L'orientation préférentielle du panache dépend essentiellement des courants géostrophiques et peut-être modifiée par la direction du vent incident (Froidefond et al., 1998; Boutier et al., 2000). Ainsi, les vents de S et SE sont les plus propices au transport des particules issues de la Gironde vers le nord (Baie de Marennes-Oléron ; Figure I.1-10), alors que les vents de SW et W, puis les vents de NE à E et enfin les vents de NW à N ont tendance à déporter le panache vers le sud avec des intensités croissantes (Dabrin, 2009; Lafon et al., 2009). En moyenne, les conditions réunies pour transporter des particules girondines à la baie de Marennes Oléron sont de l'ordre de 100 jours/an (Dabrin, 2009).

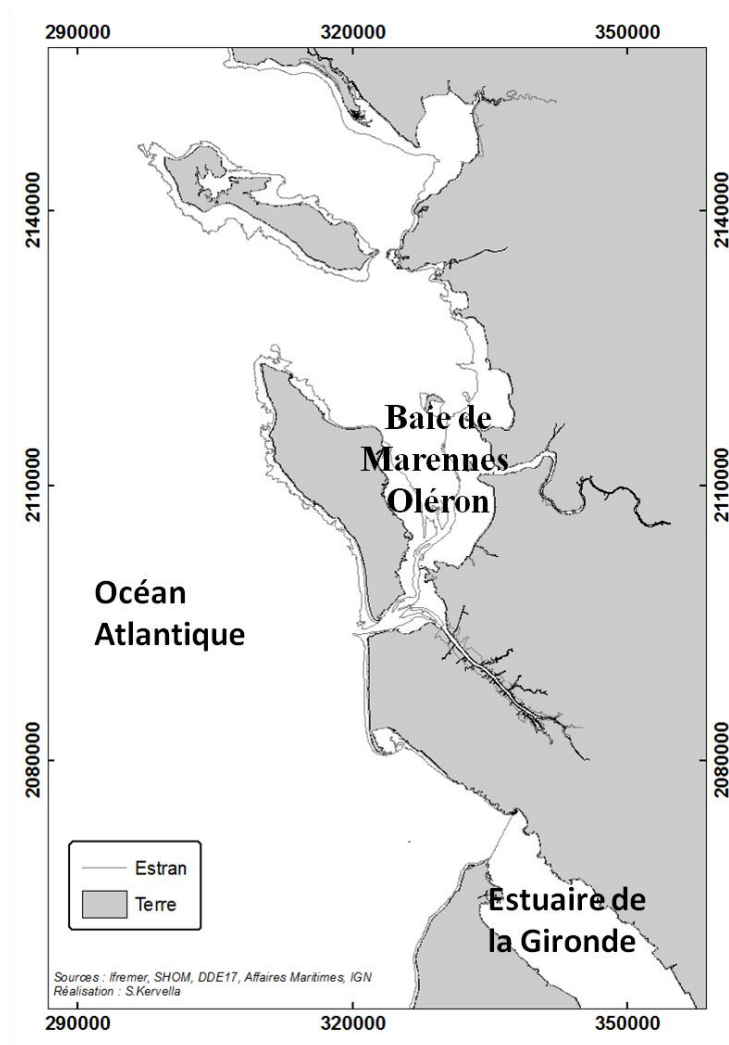


Figure I.1- 10: Carte de l'embouchure de l'estuaire de la Gironde et de la baie de Marennes Oléron

1.3. Historique de la pollution polymétallique de la Gironde

Dans le cadre de la surveillance de la qualité des eaux côtières, le Réseau National d'Observation (RNO) du milieu marin a observé dans les années 1980 des concentrations élevées en Cd dans les huîtres de l'estuaire mais aussi de la baie de Marennes-Oléron (Boutier, 1981; Boutier et al., 1989; Claisse, 1989; Baudrimont et al., 2005; RNO, 2006; Ifremer, 2010). En effet, les concentrations en Cd dans les moules et les huîtres de l'estuaire dépassaient 16 fois la norme fixée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) fixée jusqu'à 2001, à $2 \mu\text{g.g}^{-1}$ poids frais. Cette contamination anthropique en métaux dans l'estuaire de la Gironde a eu pour conséquence de classer l'estuaire en zone « D » interdisant tout ramassage ou production de bivalves, bien que cet estuaire soit l'un des moins industrialisés d'Europe (Abril et al., 2002). La principale source de la pollution en Cd mais aussi en Zn, Cu, As et Hg, fut identifiée à 350 km environ à l'amont de l'estuaire, sur un

tributaire du Lot, le Riou Mort, drainant le bassin de Decazeville (Boutier et al., 1989; Jouanneau et al., 1990; Lapaquellerie et al., 1995; Blanc et al., 1999; Jouanneau et al., 1999; Schäfer et al., 2002; Schäfer et al., 2006). La pollution fut liée aux activités de retraitement des minerais de zinc, d'un site métallurgique, de la Société des Mines et de Fonderie « Vieille Montagne ». En effet, de 1971 à 1987, cette usine produisait essentiellement du zinc d'abord à partir de la calamine (smithsonite ZnCO_3) puis de la blende (ZnS) à laquelle est toujours associée du CdS en impuretés, à raison de 3 kg de Cd par tonne de Zn en moyenne. La production a généré des boues qui ont été stockées sur des crassiers jusqu'en 1977, puis traitées par lixiviation jusqu'à l'arrêt de la production en 1987. Ainsi, c'est essentiellement le lessivage par les pluies des boues stockées sur les crassiers et les nappes superficielles qui furent et sont toujours responsables de la pollution chronique du Lot (Coynel et al., 2009). Aujourd'hui, une nette diminution de ces flux est observée en raison des efforts entrepris par l'usine pour confiner et retraiter les déchets (Audry et al., 2004a). Cependant, au-delà de ces apports directs, les nombreux barrages présents sur le Lot ont piégé des quantités importantes de métaux issus du bassin versant de Decazeville (Audry et al., 2004c). Ces barrages représentent ainsi une source en ETM considérable qui peut être mobilisée lors de l'ouverture des barrages lors des épisodes de crue (Coynel et al., 2007). Des sources secondaires ont été identifiées dans le bassin versant de l'estuaire, et sont dues à de nombreux gîtes métallifères et d'anciennes zones d'extraction et de traitement de minerais dans les Pyrénées et dans le Massif Central (Schäfer and Blanc, 2002; Masson et al., 2006) tandis que des sources intra-estuariennes de métaux ont été estimées comme négligeables par Jouanneau (1990). Actuellement, deux thèses sont menées au sein de l'équipe GEMA-TGM par L. Lanceleur et A. Larrose pour estimer respectivement l'impact de la ville de Bordeaux et son agglomération et l'impact de la viticulture (l'utilisation de fongicides à base de sulfates de cuivre et communément appelée 'Bouillie Bordelaise') sur les flux des ETM dans l'estuaire de la Gironde.

2. L'estuaire de la Charente

L'estuaire de la Charente est la continuité de la rivière Charente (limite en aval de Saintes) et se jette dans la Baie de Marennes Oléron (Figure I.1- 11). Son bassin versant s'étend sur 10 000 km² et est alimenté par plusieurs petits affluents qui drainent majoritairement des terrains du Secondaire et plus localement à l'amont des terrains du Primaire. L'estuaire de la Charente est un estuaire dominé par la marée avec un marnage pouvant atteindre 7 m lors des marées de vives-eaux et est caractérisé par un important bouchon vaseux. Afin de limiter

l'influence de la marée dans la partie fluviale de l'estuaire et dans les zones de marais, un barrage éclusé a été construit en 1968 au niveau de Saint-Savinien. Néanmoins, le barrage est ouvert lors des coefficients de marée supérieurs à 70 pour laisser passer l'eau afin de ne pas endommager l'ouvrage.

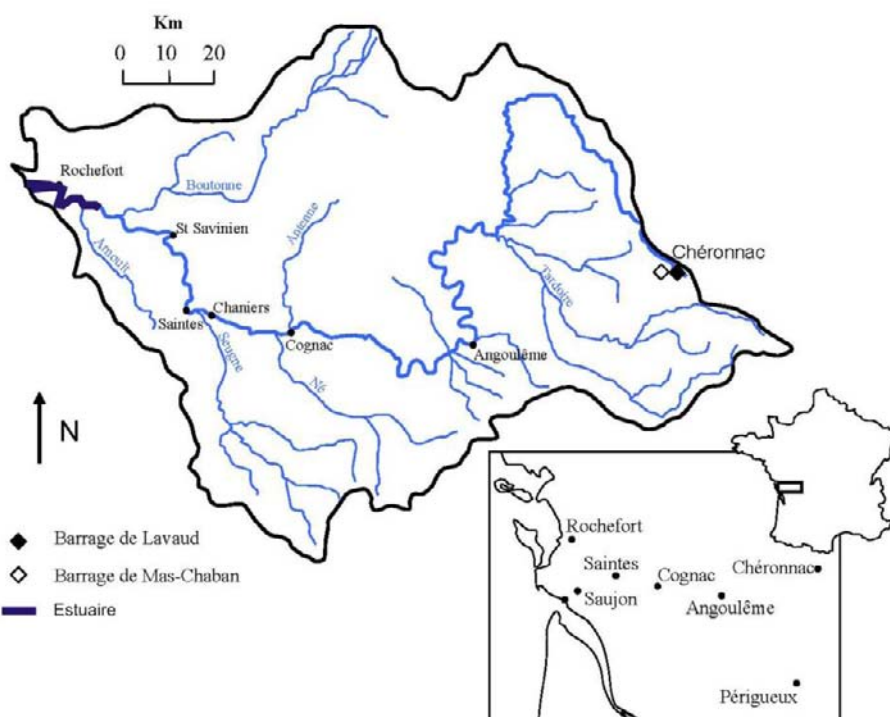


Figure I.1- 11: Bassin versant du fleuve Charente et de son estuaire (source : EPTB)

3. Comparaison des flux de cadmium en Gironde et Charente

3.1. Bilan des flux bruts et nets de cadmium dissous et particulaires dans l'estuaire de la Gironde

Les flux bruts de cadmium dissous et particulaires entrant dans l'estuaire de la Gironde sont estimés annuellement depuis 1991 par l'équipe GEMA-TGM en sommant les flux mesurés en Garonne à La Réole et les flux estimés en Dordogne (Figure I.1- 12; flux 2001-2007). Les flux nets de cadmium dissous, sortant de l'estuaire de la Gironde sont estimés de façon journalière puis annuelle depuis la fin des années 1980 (Jouanneau et al., 1990; Kraepiel et al., 1997; Boutier et al., 2000; Michel et al., 2000; Dabrin, 2009; Dabrin et al., 2009) par

échantillonnage de profils longitudinaux depuis Bordeaux aux salinités côtières et en utilisant la méthode de Boyle et al. (1974).

Cependant, Dabrin et al. (2009) ont proposé un modèle empirique basé sur les concentrations théoriques journalières en Cd et les débits hydriques de 15 profils de Cd dissous réalisés dans l'estuaire de la Gironde entre 2001 et 2007 à bord du NO INSU *Côtes de la Manche*, afin d'estimer les flux nets annuels de Cd dissous (Figure I.1- 12).

Au cours de sa thèse, Dabrin (2009) a déterminé de façon directe et fiable les flux d'eau, de particules et de métaux transitant à l'embouchure de la Gironde lors des cycles tidaux en utilisant une nouvelle méthode par mesure ADCP couplé à des prélèvements d'eau et de MES. Les cinq campagnes menées en période d'étiage et crue ont permis de montrer (i) l'homogénéité des concentrations en ETM particulières à l'embouchure (surface/fond), (ii) les flux résiduels de particules expulsées vers l'océan sur une journée et (iii) les flux annuels de particules et de concentrations en ETM expulsées vers la zone côtière (Figure I.1- 12). La comparaison flux nets dissous et particuliers a permis de mettre en évidence que 86% de Cd est exporté vers la zone côtière sous forme dissoute (Dabrin, 2009).

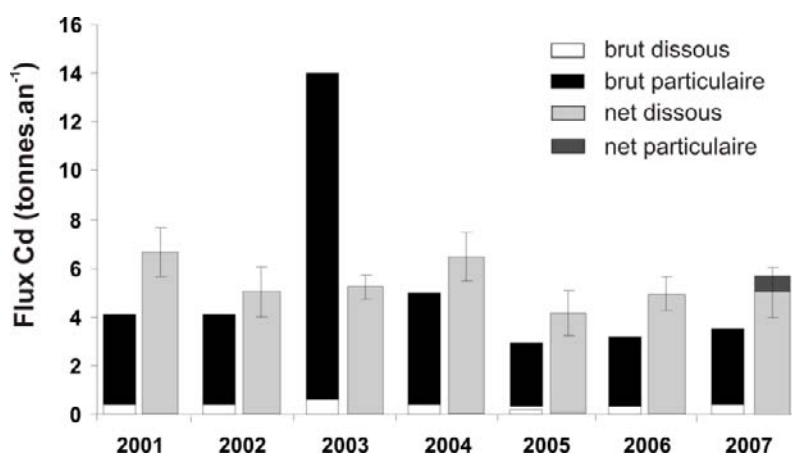


Figure I.1- 12: Flux bruts annuels de Cd dissous et particuliers apportés par la Garonne et la Dordogne et flux nets annuel de Cd expulsés par la Gironde de 2001 à 2007 (d'après Dabrin 2009).

3.2. Bilan des flux bruts et nets de Cd dissous et particuliers dans l'estuaire de la Charente

Les flux bruts de Cd dissous et particuliers entrant dans l'estuaire de la Charente ont été déterminé en 2006 (Figure I.1- 13) à partir d'un suivi mensuel effectué sur le fleuve Charente à Chaniers (Dabrin, 2009).

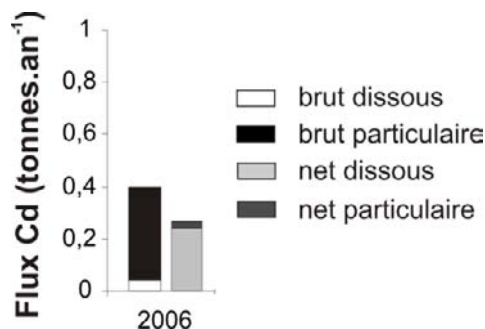


Figure I.1- 13: Flux bruts annuels de Cd dissous et particulaires apportés par la Charente et flux nets annuel de Cd expulsés par la Charente en 2006 (d'après Dabrin, 2009).

Puis, les flux spécifiques de Cd total ont été déterminés pour les années 2006-2007, et montre étonnamment des flux supérieurs à la Garonne (Tableau I.1- 1) connue pour sa pollution polymétallique (Blanc et al., 1999; Schäfer et al., 2002; Audry et al., 2003, 2004a; Audry et al., 2004b; Audry et al., 2006; Schäfer et al., 2006; Coynel et al., 2007).

	Charente	Garonne	Seudre	Seine	Loire	Adour
Cd kg.an ⁻¹ .km ⁻²	0,054	0,039	0,005	0,03	0,058	0,022
	2006-2007	2006-2007	2006-2007	(1)	(2)	(3)

⁽¹⁾Idlafkih et al., 1995 ⁽²⁾Boutier et al., 1993 ⁽³⁾Point, 2004

Tableau I.1- 1: Moyennes des flux spécifiques en Cd total de la Charente, la Garonne et la Seudre pour la période 2006-2007, et comparaison avec d'autres systèmes français (Boutier et al., 1993; Idlafkih et al., 1995; Point, 2004).

Les flux nets dissous de Cd ont été déterminés par la méthode de Boyle sur un profil effectué en octobre 2006 le long de gradient de salinité (Dabrin, 2009). Les flux nets particulaires de Cd ont été estimés indirectement, en multipliant la concentration en Cd particulaire moyenne dans l'estuaire par la charge de MES expulsées (Dabrin, 2009). La comparaison des flux entrants et sortants est présentée dans la Figure I.1- 13.

Au cours de sa thèse, Dabrin (2009) a étudié une carotte sédimentaire des sédiments du barrage de Saint Savinien et a montré que les particules estuariennes appauvries en ETM par les processus de désorption et de chloro-complexation pénètrent en amont du barrage et décantent, engendrant des forts taux de sédimentation et une contribution des particules 'estuariennes' de près de 93% par rapport aux particules fluviales. Les niveaux de concentrations plus élevés observées dans la partie ancienne de la carotte ont été mis en relation avec des apports en Cd plus importants à cause des activités industrielles, de l'impact des villes ou encore par une hydrologie plus importante et donc un bouchon vaseux plus bas dans l'estuaire (Gonzalez et al., 1991; Dabrin, 2009).

4. La baie de Marennes Oléron

4.1. Présentation générale

La baie de Marennes Oléron est une baie semi-fermée peu profonde et macrotidale (jusque 5 m de marnage) de 156 km² (Figure I.1- 14a), dont 58 % de zones intertidales (Bassoullet et al., 2000; Gouleau et al., 2000), alimentée par l'estuaire de la Charente au nord ($40\text{-}470\text{ m}^3.\text{s}^{-1}$; (Soletchnik et al., 1998) et par la Seudre au sud ($0\text{-}40\text{ m}^3.\text{s}^{-1}$ (Soletchnik et al., 1998). Elle est située entre l'île d'Oléron et la Charente Maritime et présente deux ouvertures, le pertuis d'Antioche au nord et le pertuis de Maumusson au sud, qui induisent une circulation résiduelle des eaux du nord vers le sud, avec des périodes de flots et jusants dissymétriques (Klingebiel et al., 1971; Bertin et al., 2005; Stanisière et al., 2006). Ainsi, le temps de résidence des eaux a été estimé de 4-11 jours dans la partie ouest, 7-16 jours dans la partie est et 0,5-5 jours dans le sud (Struski, 2005).

La baie peut être divisée en trois zones selon la caractéristique des sédiments (Figure I.1- 14b)(Tesson, 1973; Pouliquen, 1975). Le nord-est est caractérisé par de grands platiers (40 km²;(Gouleau et al., 2000) composés de particules fines provenant de la Charente, de la Seudre et des zones de marais (Galois et al., 2000). La zone ouest est une zone ostréicole dense composée de sédiments sableux marins et fins provenant de la Gironde (Pouliquen, 1975; Hily, 1977; Castaing and Allen, 1981; Sauriau et al., 1989; Froidefond et al., 1998; Parra et al., 1999; Lafon et al., 2009) et la présence saisonnière d'herbiers à *Zoostera noltii* (Guillaumont, 1991). La partie centrale et sud de la baie, du Coureau au pertuis de Maumusson, est fortement composée de sables calcaires et siliceux provenant des dunes littorales et est continuellement aménagée par les parcs ostréicoles, induisant des dépôts plus silteux (Kusuki, 1978; Sornin, 1981; Martin et al., 1989; Kervella, 2010).

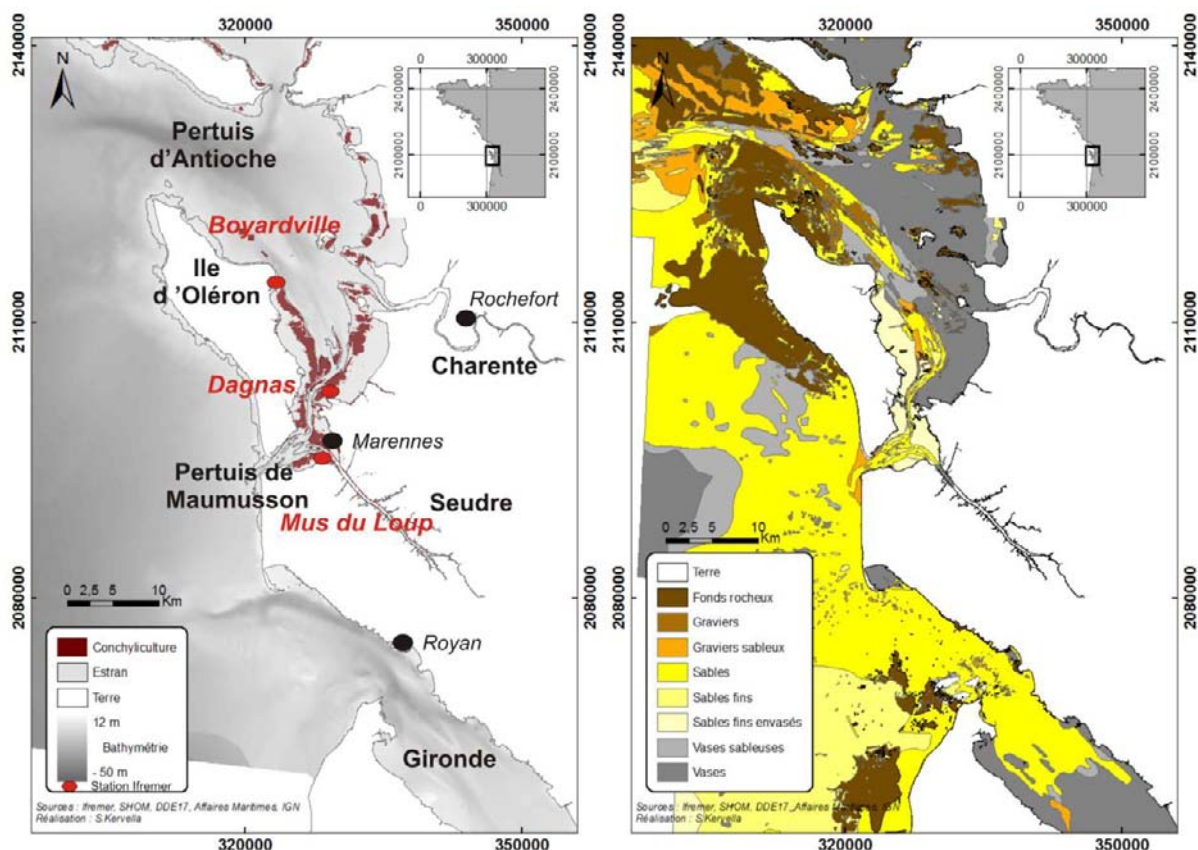


Figure I.1- 14: La baie de Marennes Oléron a) zones conchyliques et b) natures du substrat

4.2. Concentrations en cadmium dans l'écosystème de la baie de Marennes Oléron

La baie est le premier site ostréicole français, avec une production annuelle de 55 000 à 60 000 tonnes.an-1 sur 5100 ha (Figure I.1- 14a)(Goulletquer and Le Moine, 2002). Cependant, le suivi des concentrations en Cd dans les huîtres sauvages depuis 1979 par le RNO (RNO, 2006; Ifremer, 2010) a montré que la baie est influencée par la pollution historique de Cd de l'estuaire de la Gironde (Latouche, 1988; Jouanneau et al., 1990). En effet, jusque dans les années 1990, ces concentrations étaient supérieures à la limite de consommation, avec un effet plus marqué en zone sud que au nord (Figure I.1- 15). Depuis ces années, les concentrations dans les huîtres diminuent mais sont toujours proches en certains sites de la limite de consommation (RNO, 2006; Ifremer, 2010).

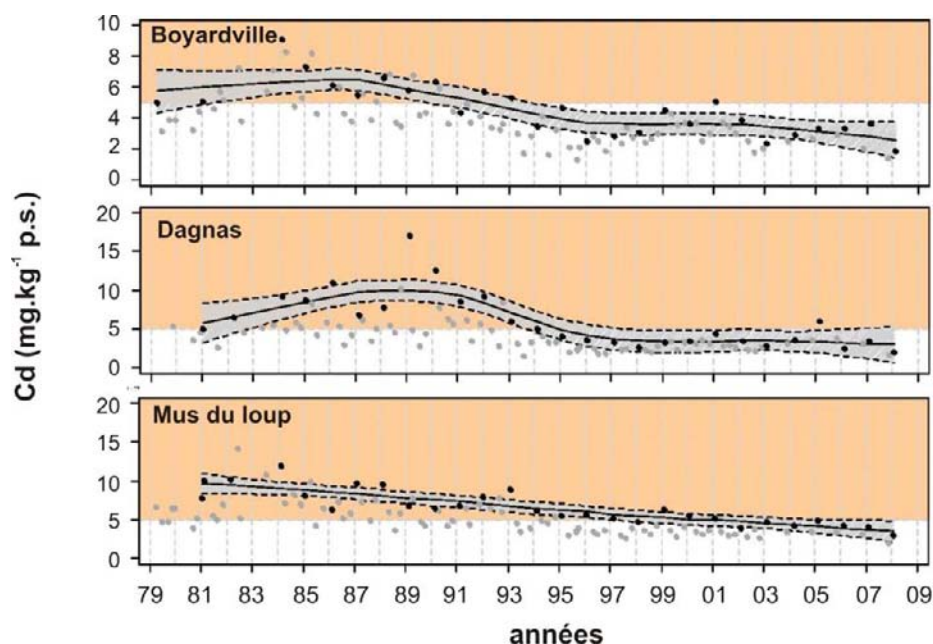


Figure I.1- 15: Concentrations en Cd des huîtres du suivi RNO-ROCCH de l’Ifremer des stations Boyardville, Dagnas et mus du loup de 1979 à 2009. Les points noirs sont les données utilisées pour la tendance et les points gris sont les données non utilisées pour la tendance (modifié d’après Ifremer, 2010. Bulletin de la Surveillance de la Qualité du Milieu Marin Littoral)

Les travaux de Pigeot (2001) se sont intéressés à la contamination en Cd du compartiment biologique benthique de la baie, en mesurant les concentrations en Cd dans 63 espèces prélevées à différents niveaux de l’écosystème. La quantité de Cd est alors répartie à 98 % dans sept espèces dont essentiellement le microphytobenthos et *Crassostrea gigas* (40 % chacun) puis la zostère *Zostera noltii*, la moule *Mytilus edulis*, le gastéropode *Nassarius reticulatus*, la coque *Cerastoderma edule* et l’halophyte *Halinione portulacoides* (Figure I.1-16a ; Pigeot et al., 2006). Au niveau de la chaîne trophique, 97 % du Cd est associé à seulement deux niveaux trophiques : les producteurs primaires et les filtreurs (Figure I.1-16b). Pigeot et al. (2006) ont ainsi montré l’absence de bioamplification de Cd dans le réseau trophique de cet écosystème benthique, bien qu’une bioamplification soit observée entre les deux échelons trophiques : microphytobenthos et filtreurs. Ces études ont permis d’estimer un budget global du Cd dans la baie entre les compartiments sédimentaires, benthiques, pélagiques et la colonne d’eau (Figure I.1- 17) et de conclure que la part la plus importante de Cd est associé aux cinq premiers centimètres du sédiments (Pigeot et al., 2006).

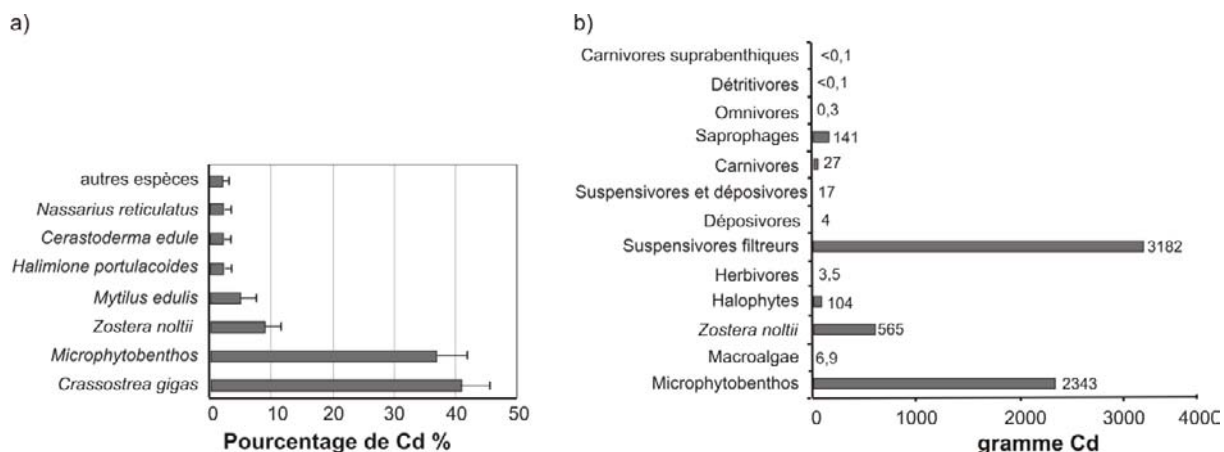


Figure I.1- 16: a) Répartition du pourcentage de Cd dans les espèces benthiques de la baie de Marennes Oléron ; b) Masse de Cd estimée dans les principaux groupes trophiques benthiques de la baie de Marennes Oléron (modifié d'après Pigeot et al., 2006).

COMPARTIMENT PRIMAIRE	COMPARTIMENT SECONDAIRE	Cd TOTAL (KG)
EAU	Dissous particulaire	13 7
PELAGOS	Phytoplancton Zooplancton Necton	0,2 - 0,4 0,01 - 0,05 >0,2
BENTHOS	Microphytobenthos autres producteurs primaires filtreurs autres consommateurs	2,3 0,7 3,2 0,2
SÉDIMENT		1000

Figure I.1-17: Estimation du budget global du Cd en baie de Marennes Oléron(modifié d'après Pigeot et al., 2006).

4.3. Bilan des apports à la baie de Marennes Oléron

La provenance girondine de Cd dans la baie a été montrée via le transport de matières en suspension par le pertuis d'Antioche (Boutier et al., 1989; Boutier et al., 2000; Dabrin, 2009) mais aussi via le pertuis de Maumusson (Dabrin, 2009). Un schéma conceptuel des apports en cadmium (et en cuivre) à la baie par l'estuaire de la Charente et la Gironde via la zone côtière

a été proposé par Dabrin (2009). Ce schéma est reporté dans la Figure I.1- 18 et constitue une base de réflexion pour ce travail sur le bilan des apports en Cd.

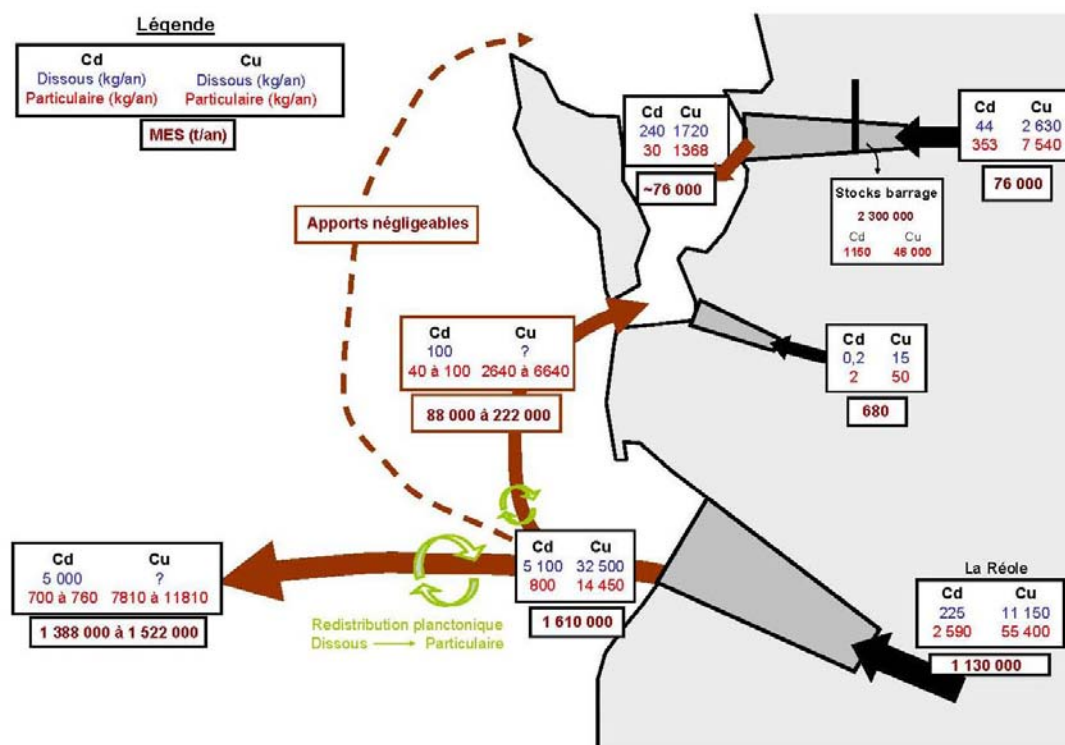


Figure I.1- 18: Schéma conceptuel des flux annuels en MES (t/an), en Cd et en Cu (kg/an) dissous et particulaires dans le système Gironde-Charente-Baie de Marennes Oléron. D'après Dabrin 2009.

V. Conclusions

Le comportement des ETM en milieu estuarien et côtier et leur accumulation dans les organismes aquatiques font appel à de nombreux mécanismes chimiques et biologiques. Cependant, le contexte environnemental a son importance puisque les facteurs abiotiques du milieu peuvent limiter ces mécanismes. Le cadre régional choisi pour ces travaux, Gironde / Charente / Baie de Marennes Oléron, présente des environnements particuliers, estuaire, baie semi-fermée et zone côtière dans un contexte de pollution polymétallique historique, notamment en cadmium. Ainsi, cette zone d'étude est adaptée pour étudier les mécanismes de contamination des huîtres.

CHAPITRE I.2

BASES ANALYTIQUES

I. Introduction

L'étude des voies de contamination des huîtres en ETM a nécessité une approche pluridisciplinaire géochimie-écotoxicologie basée sur des expérimentations en conditions contrôlées, une transplantation d'huîtres en milieu naturel et sur des missions océanographiques embarquées. Nous avons ainsi mis en place différentes stratégies d'échantillonnage et d'expérimentations adaptées au milieu naturel et aux exigences analytiques pour répondre aux différentes problématiques. Ces campagnes ont nécessité une logistique importante notamment pour la préparation du matériel et la forte mobilisation humaine. Par souci de clarté, les stratégies mises en place pour chaque campagne et expérimentation seront développées et discutées en début du chapitre correspondant. Ainsi, ce chapitre vise uniquement à renseigner sur les bases méthodologiques et analytiques en géochimie et écotoxicologie, utilisées de façon commune aux campagnes. Nous présentons ainsi notre méthodologie, du conditionnement de la vaisselle à l'analyse finale de l'échantillon, pour les études menées en laboratoire et en milieu naturel. Toutefois, nous préférons porter une importance plus particulière au développement du traçage des voies de contamination des huîtres par isotopes stables de Cd en consacrant un chapitre à la présentation et discussion de la méthode (Partie IV).

II. Bases analytiques en géochimie

Les analyses dites 'géochimiques' ont été effectuées sur les prélèvements d'eau, de particules et de sédiments des missions en mer et de la transplantation d'huîtres de trois mois sur l'estran de Ronce Les Bains. Elles ont également été effectuées sur les échantillons d'eau prélevés lors des expérimentations en conditions contrôlées sur le traçage des voies de contamination des huîtres par Cd. Les paramètres analysés que nous allons décrire sont les concentrations en ETM dissous et particulaires, la charge en MES, les concentrations en chlorophylle-a,

phéopigments, BSi/LSi, COP et phosphates. Nous notons que les paramètres physico chimiques (température, salinité, oxygène, pH) ont été mesurés directement avec des sondes Criston®. Toutes ces manipulations ont été effectuées au laboratoire dans les mêmes conditions et par les mêmes personnes, et les protocoles n'ont pas évolué au cours du temps ou selon les campagnes. Ainsi, mis à part des variantes dans les moyens de prélèvements, les étapes du traitement de l'échantillon à la mesure du paramètre sont identiques et permettent une comparaison robuste des résultats acquis lors de cette thèse. La précision et justesse des mesures sont renseignées à la fin de chaque description analytique.

1. Extraction et dosage des ETM

1.1. Conditionnement de la vaisselle

Afin d'éviter toute contamination des échantillons, une attention particulière est apportée à la propreté du matériel utilisé pour le prélèvement, conditionnement, analyse et mesure des échantillons. Ainsi, le matériel utilisé est en polypropylène (PP), matériau présentant un faible pouvoir d'absorption envers les ETM, et est nettoyé dans des bains HNO₃ 10% pendant minimum 72h. Le matériel est ensuite rincé trois fois à l'eau déionisée et trois fois à l'eau milli-Q® (Millipore), puis séché sous hottes à flux laminaire et stocké sous double sacs en polyéthylène (PE).

1.2. Prélèvement, traitement et conditionnement des échantillons

Le prélèvement des échantillons diffère suivant la nature de la fraction observée, dissoute ou particulaire, et suivant le type de campagne effectué, en laboratoire ou en milieu naturel. Ainsi, nous allons décrire le prélèvement puis le traitement et conditionnement associés pour les échantillons sous phase dissoute puis sous phase particulaire et nous spécifierons les différentes méthodes utilisées en fonction du type de campagne.

1.2.1. Phase dissoute

Les prélèvements d'eau pour la mesure des ETM dissous ont été effectués avec une bouteille Niskin® lors des missions embarquées, avec une bouteille PP 500 mL lavée HNO₃ lors des campagnes sur les estrans et directement avec une seringue stérile lors des expérimentations

en laboratoire. Les eaux ont ensuite été filtrées à 0,2 μm (acétate de cellulose, Sartorius®), à 0,02 μm , et dans certains cas filtrées à 0,2 μm puis passées à la photolyse U.V., et ont ensuite été acidifiées à $\text{pH} < 2$ (HNO_3 ultrapur® pour les métaux, HCl ultrapur® pour Ag) et stockées dans des bouteilles 60 mL en chambre froide (4°C) et à l'abri de la lumière. La filtration à 0,02 μm permet d'accéder aux métaux se trouvant dans la fraction colloïdale (0,2-0,02 μm) et la photolyse U.V. aux métaux liés à la matière organique dégradable par photolyse U.V. Les prélèvements, traitements et stockage des échantillons ont été réalisés dans des conditions identiques et suivent les méthodes d'analyses des métaux traces recommandés par Patterson and Settle (1974).

1.2.2. Phase particulaire

Les prélèvements de matières en suspension pour la détermination des concentrations en métaux sous phase particulaire ont été effectués lors des missions en milieu naturel seulement. Les extractions des métaux sous phase particulaire ainsi que la détermination des teneurs en COP nécessitent une quantité de MES importante, supérieure à 1 g. Ainsi, parmi les différentes méthodes de récupération des MES existant (filtration, piégeage, centrifugation), nous avons choisi de conserver le protocole par centrifugation de grands volumes d'eau utilisé par l'équipe GEMA-TGM. Ce choix a été motivé par la quantité importante de MES récupérée avec cette technique et par la conservation des conditions de prélèvement, traitement et conditionnement des échantillons provenant des différents sites étudiés par l'équipe pour pouvoir comparer différents environnements. Les grands volumes d'eau pompés (40 à 400 L en fonction de la turbidité) ou prélevés dans des bidons 40 L ont été centrifugés avec un débit de 60-80 $\text{L} \cdot \text{mn}^{-1}$ (Centrifugeuse Westfalia Separator®, 12 000 g) et les particules ont été récupérées dans le bol (acier inoxydable) de la centrifugeuse. Schäfer and Blanc (2002) ont montré que cette méthode permettait de récupérer 96% de la masse des particules sans apporter de contamination métallique et sans en modifier la composition géochimique. Une fois récupérées, les particules ont été immédiatement séchées à l'étuve à 50°C pendant plusieurs jours, broyées au mortier en agate et conservées dans des pochettes PE Whirl Pak® dans un endroit propre, sec et à l'abri de la lumière.

Du sédiment de surface a également été prélevé lors des missions en mer par benne shipeck et sur les estrans de la baie de Marennes-Oléron en utilisant une spatule en téflon. Les sédiments ont immédiatement été transférés dans une poche en plastique PE, puis séchés à 50°C à l'étuve pendant plusieurs jours et également conservés dans des pochettes PE Whirl Pak® dans un endroit propre, sec et à l'abri de la lumière.

1.3. Extractions des ETM

1.3.1. Extraction solide liquide du V, Co, Ni, Cu, Mo, Cd et U dissous en matrice salée

L'extraction en phase solide par la cartouche DigiSEP Bleu® (SCP Science) est une technique permettant de concentrer les ETM : V, Co, Ni, Cu, Mo, Cd et U, et de les isoler de la matrice salée (Strady et al., 2007; Strady et al., 2009). Le groupe fonctionnel, amino di acétate, joue le rôle de chélateur en formant des liaisons de coordination avec les cations polyvalents et divalents. La capacité de rétention de la résine dépend des coefficients d'affinités entre la phase amino di acétate et les ions métalliques à un pH donné de 5,5. La rétention des métaux étant supérieure à celle des cations majeurs présents dans l'eau de mer, les métaux sont préférentiellement adsorbés sur la résine. Le principe d'extraction se déroule en quatre étapes exprimées sur la Figure I.2- 1. Le protocole opératoire est basé sur un volume d'échantillon de 60 mL, passant dans la cartouche avec un débit de 2 mL.min⁻¹ (pompe péristaltique). Le volume d'échantillon et le volume d'HNO₃ pour l'élution de la résine doivent être connus précisément pour calculer les concentrations en métaux dissous dans les eaux. Le protocole d'extraction est reporté sur la Figure I.2- 1. Nous notons qu'avant le dosage à l'ICP-MS, 9 ml d'eau milliQ® sont ajoutés avant dosage pour avoir un échantillon <5% d'acide. La précision et la reproductibilité ont été estimées avec trois eaux de mer côtières certifiées: CASS-4, CASS-5 et NASS-5 et sont représentées dans le Tableau I.2- 1.

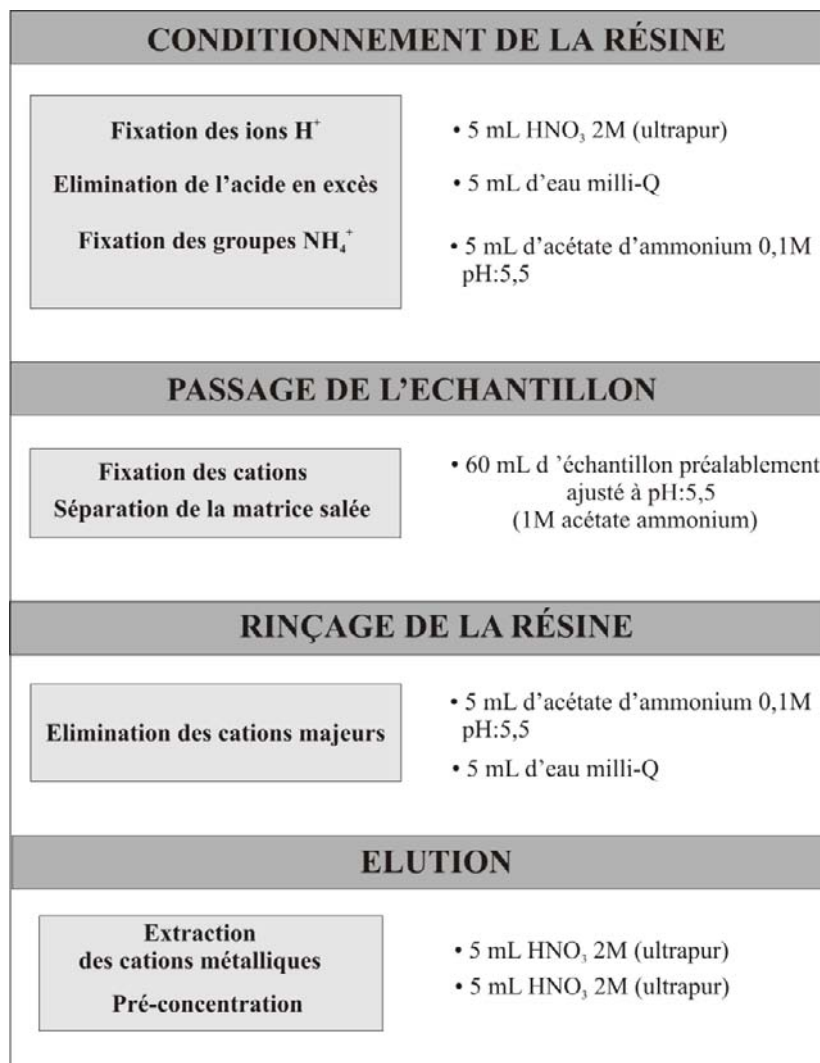


Figure I.2- 1: Principe et protocole opératoire de l'extraction solide liquide du V, Co, Ni, Cu, Mo, Cd et U d'une matrice salée

<i>mg.L⁻¹</i>		V	Co	Ni	Cu	Mo	Cd	U
CASS-4 n=25	valeur certifiée	1,18	0,026	0,314	0,592	8,78	0,026	3
	écart-type	0,16	0,003	0,03	0,055	0,86	0,003	
	moyenne mesurée	1,18	0,033	0,335	0,540	6,50	0,030	2,82
	écart-type	0,09	0,005	0,057	0,061	0,96	0,004	0,26
	justesse %	100%	128%	107%	91%	74%	116%	94%
	reproductibilité	8%	15%	15%	11%	15%	12%	9%
CASS-5 n=3	valeur certifiée	1,32	0,095	0,330	0,380	9,80	0,021	3
	écart-type	0,14		0,023	0,028		0,001	
	moyenne mesurée	1,19		0,33	0,308	6,63	0,024	2,83
	écart-type	0,04		0,02	0,011	2,58	0,002	0,10
	justesse %	90%		100%	81%	68%	113%	94%
	reproductibilité	3%		6%	4%	39%	8%	4%
NASS-5 n=10	valeur certifiée	1,2	0,011	0,253	0,297	9,6	0,023	2,6
	écart-type		0,003	0,028	0,046	1	0,003	
	moyenne mesurée	1,15	0,013	0,259	0,280	6,93	0,027	2,55
	écart-type	0,12	0,002	0,059	0,038	1,49	0,006	0,15
	justesse %	96%	117%	102%	94%	72%	116%	98%
	reproductibilité	10%	13%	23%	14%	21%	24%	6%
Blancs n=160		0,002	0,002	0,088	0,037	0,010	0,003	0,001
		0,004	0,002	0,058	0,019	0,011	0,002	0,002

Tableau I.2- 1: Justesse, reproductibilité et blancs d'analyses de l'extraction solide-liquide du V, Co, Ni, Cu Mo, Cd et U dosé par ICP-MS

1.3.2. Extraction des ETM sous phase particulaire : attaques totales

Les attaques totales ont été effectuées sur les particules et sédiments. Elles consistent en une digestion des phases porteuses et une mise en solution des ETM (V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Ag, Cd, Pb, Th, U). Pour cela, un aliquote de sédiment ou MES (30 mg, sec, homogénéisé et broyé) est introduit dans un tube 50 mL PP (SCP Sciences®) et digéré pendant 2H à 110°C (DigiSEP, SCP Sciences®) par une solution tri acide : 1,5 mL HCl (12 M, suprapur), 0,5 mL HNO₃ (14 M, suprapur) et 2 mL HF (22 M, suprapur). Ensuite, la solution d'acide est évaporée et le résidu est remis en solution dans 0,250 mL HNO₃ (14 M, suprapur) et 5 mL d'eau milli-Q puis chauffé à 65°C pendant 15 mn. Après refroidissement et décantation, 3,5 mL de surnageant sont pipetés et conservés dans un tube PP auquel on ajoute 6,5 mL d'eau milli-Q. La justesse et la reproductibilité des analyses (Tableau I.2- 2) ont été estimées à chaque série d'analyses en utilisant le matériel de référence suivant : NCS DC 78301 (sédiment de rivière), BCSS-1 (sédiment marin) et IAEA-404 (sédiment estuarien).

<i>mg.kg⁻¹</i>		V	Cr	Co	Ni	Cu	Zn	As	Mo	Ag	Cd	Pb	Th	U
NCS n=19	Valeur certifiée	96	90	16,6	32	53	251	56			2,45	79		
	ecartype	8	8	1,5		6		10			0,3	12		
	Moyenne	99,3	87,4	15,4	34,8	54,2	251,0	63,0	1,7	0,64	2,59	84,8	21,7	4,7
	ecartype	5,4	4,9	1,6	2,3	4,3	6,4	4,4	0,2	0,06	0,11	3,7	3,5	0,2
	justesse	103%	97%	93%	109%	102%	100%	113%			106%	107%		
	reproductibilité	5%	6%	10%	7%	8%	3%	7%	11%	9%	4%	4%	16%	
BCSS-1 n=16	Valeur certifiée	93,4	123	11,4	55,3	18,5	119	11			0,25	22,7		
	ecartype	4,9	8	1,5	3,6	6	12	10			0,3	12		
	Moyenne	90,7	90,5	10,1	54,1	17,3	95,7	11,2	2,1	0,18	0,29	21,5	6,6	2,4
	ecartype	5,4	12,1	0,7	4,7	4,2	18,7	1,0	0,2	0,02	0,03	2,3	0,8	0,2
	justesse	97%	74%	88%	98%	94%	80%	102%			117%	95%		
	reproductibilité	6%	13%	7%	9%	24%	20%	9%	10%	11%	10%	11%	13%	6%
IAEA-405 n=9	Valeur certifiée	95	84	13,7	32,5	47,7	279	23,6			0,73	74,8	14,3	
	ecartype													
	Moyenne	89,2	72,9	12,6	31,2	42,5	251,0	23,0	0,7	1,07	0,88	73,2	10,3	2,7
	ecartype	6,6	5,6	1,9	3,1	7,6	52,6	2,4	0,1	0,29	0,10	4,9	1,8	0,1
	justesse	94%	87%	92%	96%	89%	90%	97%			120%	98%	72%	
	reproductibilité	7%	8%	15%	10%	18%	21%	11%	9%	27%	12%	7%	17%	5%

Tableau I.2- 2: Justesse et reproductibilité des attaques totales des ETM particuliers dosés par ICP-MS

1.4. Dosage des ETM dissous et particuliers par ICP-MS

Les mesures des ETM (V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Pb, Th et U) ont été réalisées avec un spectromètre de masse couplé à un plasma d'ionisation (ICP-MS) Thermo X7. Les échantillons liquides sont amenés à la torche plasma par une pompe péristaltique, sont nébulisés au contact de l'argon (ICP) puis sont atomisés et ionisés. Les ions traversent ensuite une interface en nickel et sont extraits de la torche vers le spectromètre de masse (MS) par création d'un vide permanent. Les ions traversent des lentilles polarisées, puis le spectromètre de masse quadripôle discrimine les isotopes par déviation de leur trajet. Il

détecte des rapports de masse atomique sur charge et analyse plusieurs isotopes pour un même élément. Cette technique permet un dosage rapide, quantitatif, juste, reproductible et multi-élémentaire (Tableau I.2- 3). L'ICP-MS permet de doser très précisément des faibles concentrations en ETM (ng.L^{-1}).

$\mu\text{g.L}^{-1}$		V	Cr	Co	Ni	Cu	Zn	As	Mo	Ag	Cd	Pb	Th	U
SLRS-4 n=184	moyenne certifié	320	330	33	670	1810	930	680	210		12	86		50
	ecart-type	30	20	6	80	80	100	60	20		2	7		50
	Moyenne	355	324	39	679	1710	983	729	209	1	12	81	22	48
	justesse	10%	98%	116%	101%	94%	105%	107%	100%		101%	94%		95%
	reproductibilité	6%	9%	17%	8%	7%	11%	7%	7%		9%	12%		5%

Tableau I.2- 3: Justesse et reproductibilité du dosage des ETM par ICP-MS estimés par l'analyse de l'eau de référence SLRS-4.

1.5. Dosage du mercure particulaire

La teneur en Hg total dans les sédiments de surface de la Baie de Marennes Oléron a été déterminée par spectrométrie d'absorption atomique à vapeur froide sous flux de O_2 (Direct Mercury Analyser 80, MILESTONE). Le principe est basé sur l'absorption de l'énergie lumineuse par les atomes. Une lampe à électrode creuse émet un rayonnement spécifique à l'élément analysé à travers la flamme. Les atomes concernés absorbent l'énergie émise pour se retrouver à un état excité. C'est la différence du signal transmis entre le faisceau qui a traversé la flamme et le faisceau de référence qui donnera l'absorbance de l'élément mesuré. Cette absorbance (A_λ) est fonction de la concentration de l'élément mesuré dans la solution, selon la loi de Beer-Lambert (Equation I.2- 1):

$$A_\lambda = \log(I_0/I) = \epsilon_\lambda \times l \times C$$

Equation I.2- 1: Loi de Beer-Lambert

où I_0 est l'intensité initiale de la source lumineuse (rayonnement de référence), I est l'intensité du rayonnement ayant traversé l'échantillon, ϵ_λ est le coefficient d'absorption molaire, l est la longueur du trajet optique dans la zone d'atomisation et C représente la concentration de l'élément mesuré dans l'échantillon.

Les différentes étapes de l'analyse de Hg total sont : la calcination, le séchage, la fixation et la détection. Dans un premier four un aliquote de l'échantillon (environ 80 mg, broyé et homogénéisé) est séché puis subi une combustion à 160°C sous flux de O_2 . Puis un deuxième four à 850°C contenant un tube catalytique permet la décomposition des gaz résultant de la combustion, les vapeurs de Hg entraînées par le flux d'oxygène sont fixées et préconcentrées sur un piège d'or. Celui-ci est alors chauffé très rapidement et les vapeurs de Hg sont

envoyées vers le détecteur. La justesse des mesures a été estimée à 94% (IAEA 405) avec une précision de 5% (Schäfer et al., 2006).

2. Quantification de la charge en MES

La charge de MES (exprimée en concentration mg.L^{-1}) a été estimée par filtration d'un volume d'eau précis et fonction de la turbidité, pour chaque prélèvement des campagnes en milieu naturel. Les filtrations sont réalisées avec une unité de filtration Nalgène® et des filtres en fibre de verre Durieux® ($0.7 \mu\text{m}$) préalablement pré-pesés et passé à l'étuve (50°C) pendant 15 mn. Après filtration, les filtres sont séchés à 50°C pendant au moins 48 H et re-pesé pour déterminer la charge finale en MES.

3. Quantification des teneurs en chlorophylle-a et phéopigments

Les concentrations en chlorophylle-a et phéopigments (produits de dégradation) contenus dans l'eau ont été déterminées pour les campagnes en milieu naturel. Les prélèvements d'eau, contrairement au protocole pour les métaux, sont effectués à l'aide d'une bouteille Niskin ou directement avec une bouteille 500 mL pour éviter l'éclatement des cellules lors du pompage. Puis un volume précis variant de 100 à 1000 mL, choisi en fonction de la turbidité, est filtré sur filtres GF/F (diamètre 47 mm, porosité $0,7 \mu\text{m}$; Whatman®). Toujours pour éviter l'éclatement des cellules sur le filtre, nous avons respecté un temps de filtration inférieur à 5 mn, une dépression n'excédant pas 0,2 bar et un rinçage du filtre avec de l'eau du site pré-filtré à $0,4 \mu\text{m}$. Ensuite, les filtres sont conditionnés dans un tube recouvert de papier aluminium, transportés dans une glacière puis conservés au congélateur à -80°C pendant moins de trois mois. Les concentrations en chlorophylle-a et phéopigment ont été déterminées par extraction à l'acétone (90%) et mesurées par absorbance au fluorimètre Trilogy® selon la méthode de Yentsch and Menzel (1963).

4. Quantification du rapport silice biogène/silice terrigène

Dans l'eau de mer, la silice particulaire existe sous deux formes: la silice biogène dite BSi, issue des frustules de diatomées, de radiolaires et de silicoflagellés (Nelson et al., 1995), et la silice terrigène, dite LSi, présente notamment dans les argiles et issue du lessivage des bassins

versants. Au cours des dernières décennies, les études menées sur le cycle de la silice ont été principalement motivées par le rôle majeur joué par les diatomées dans l'exportation de carbone vers des échelons trophiques supérieurs ou vers l'océan profond (synthétisé dans Ragueneau et al., (2000). Au cours de nos travaux, nous avons voulu estimer le rapport entre la silice biogène et la silice terrigène dans les particules de différents environnements estuariens et côtiers afin d'avoir un nouvel indice de productivité (en plus de Chl-a, COP). Au niveau analytique, de nombreuses études ont essayé de distinguer la BSi de la LSi dans les sédiments marins (synthétisé dans Eggiman et al., (1980) . En effet, la difficulté de la mesure de la BSi réside dans son extraction, qui doit être complète, et dans la correction des aluminosilicates qui sont parallèlement dissous. Cette difficulté est d'autant plus grande pour les échantillons de type particules en suspension qui sont plus riches en minéraux silicatés que les sédiments marins (Ragueneau et al., 2005).

Ainsi, nous avons utilisé la méthode de Ragueneau et al. (2005) développée pour les particules en suspension des zones côtières, qui consiste en trois digestions successives des particules. La première digestion dissout l'intégralité de la BSi plus de la LSi interférente, la seconde digestion au NaOH également permet de déterminer le rapport Al:Si, la silice biogène étant totalement dissoute et la troisième digestion à l'HF permet de dissoudre la totalité de la LSi. Le protocole opératoire adapté de (Ragueneau et al., 2005) et les mesures et déterminations des concentrations finales en silice biogène et silice terrigène sont présentées sur la Figure I.2- 2. Le dosage de la silice dissoute a été effectué par méthode colorimétrique selon le protocole d'Aminot and Kerouel (2007). L'aluminium dissous a été analysé par spectrométrie d'absorption atomique avec nébulisation dans une flamme air/protoxyde d'azote (2900°C) (FAAS), dont le principe de l'AAS a été décrit au paragraphe 1.5.

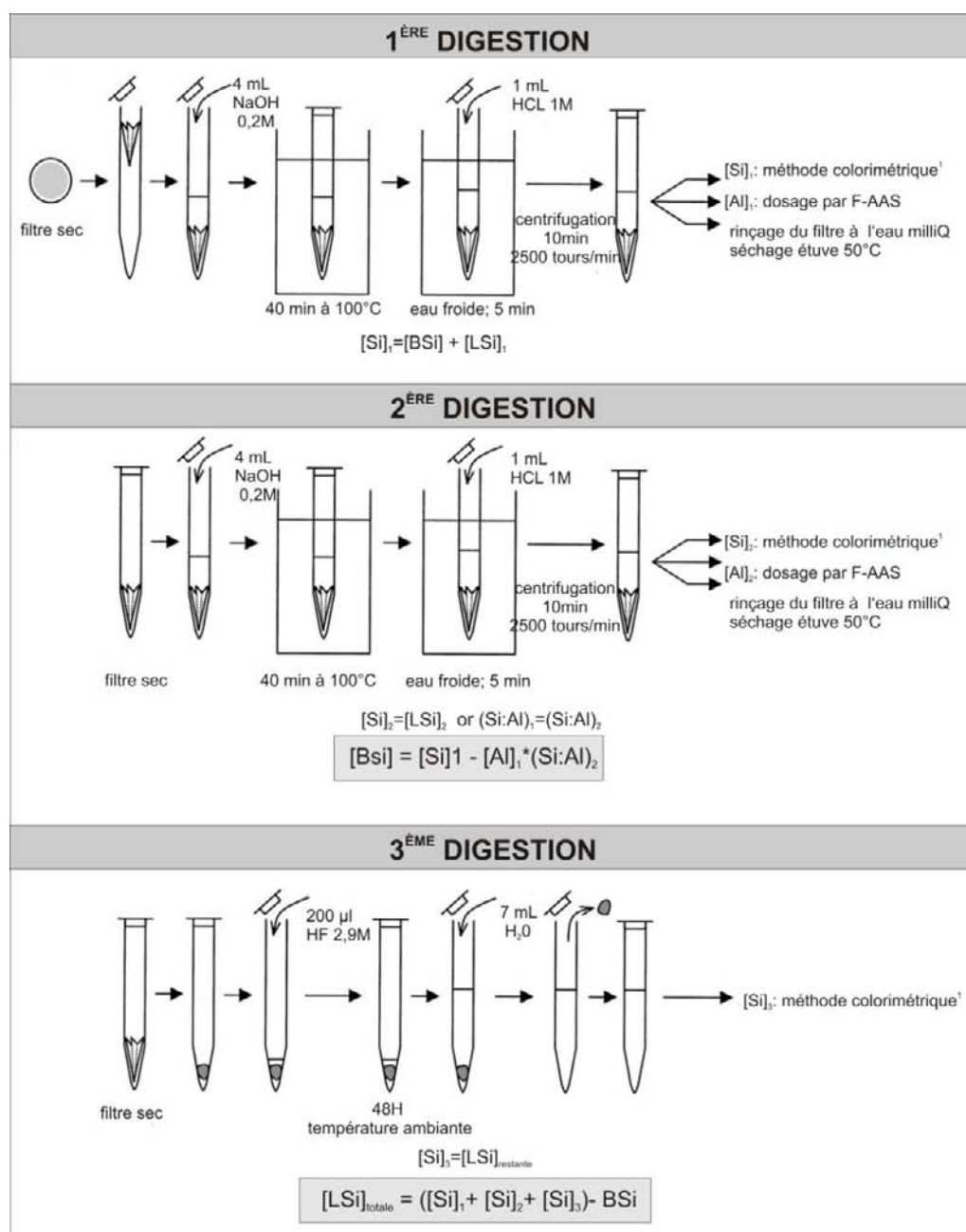


Figure I.2- 2: Description et protocole de la détermination de la silice biogène BSi et de la silice terrigène LSi dans les particules estuariennes d'après Ragueneau et al., (2005) modifié. ¹ selon Aminot et Kerouel (2007).

5. Quantification de la matière organique particulaire

Les teneurs en carbone organique particulaire COP (%) ont été déterminées sur un analyseur Carbone/Soufre LECO CS 125 dans les MES prélevées par centrifugation grand volume (cf 1.2.2.). Le protocole est basé sur la méthode d'Etcheber et al. (1999) et consiste à décarbonatées avec de l'HCl 2M des aliquotes de 50 mg de MES sèches, broyées et

homogénéisés avant leurs analyses sur le LECO. Le principe est basé sur une oxydation des composés organique par combustion à 850°C dans un four à combustion sous flux d'oxygène. Ce flux d'oxygène est associé à un catalyseur (mélange Cu/Pt) qui assure la combustion complète du COP en CO₂ jusqu'à la cellule infrarouge non dispersive où il est mesuré et exprimé en teneur en carbone organique. La limite de détection est évaluée à 0,2% et la précision a été estimée à inférieure à 5%.

5. Dosage des phosphates

Les concentrations en phosphates (inorganique) ont été déterminées d'après la méthode colorimétrique de Murphy and Riley (1962) et mesurées par spectrophotométrie dans les échantillons d'eau prélevés lors des campagnes en mer. Les échantillons ont préalablement été filtrés à 0,2 µm (acétate de cellulose, Sartorius®) et deux aliquotes de 5 mL ont immédiatement été transportés par glacière puis conservés au congélateur à -80°C pendant maximum 6 mois.

III. Bases méthodologiques et analytiques en écotoxicologie

1. Origine et âge des huîtres

Les huîtres juvéniles (18 mois) utilisées pour les expérimentations en laboratoire et la transplantation en Baie de Marennes Oléron proviennent d'une ferme ostréicole du Bassin d'Arcachon. Dès leur livraison, les huîtres ont été acclimatées dans des bassins alimentés continuellement par de l'eau de mer prélevée directement dans le Bassin d'Arcachon. Les lots d'huîtres sélectionnés pour les manipulations ont été constitués d'individus de taille et poids homogènes.

2. Traitement et conditionnement des échantillons biologiques

A la fin de chaque durée d'exposition, les huîtres ont été prélevées et traitées immédiatement, ou le lendemain après avoir été conservées en chambre froide à 4°C pendant moins de 24 H. Puis, les huîtres ont été ouvertes, et le corps mou et la coquille ont été pesés séparément pour déterminer l'indice de condition défini selon l'Equation I.2- 2:

$$I.C. = (\text{poids corps mou frais (g)} / \text{poids coquille (g)}) * 100$$

Equation I.2- 2: Indice de condition.

Ensuite, les huîtres ont été disséquées en trois parties : branchies, glande digestive et reste du corps (Figure I.1- 8), et chaque partie a été pesée séparément.

Pour déterminer la bioaccumulation en ETM, les deux tiers de la masse des branchies et de la glande digestive ainsi que la totalité du reste du corps de chaque huître sont séparément conditionnés dans un tube PP à minéraliser 50 mL (préalablement pesé et lavé avec de l'HNO₃). Puis les échantillons sont pesés, séchés à l'étuve à 55°C pendant au moins 72 H, pesés à nouveau et conservés en chambre froide -4°C jusqu'aux analyses. Pour quantifier les concentrations en métallothionéines, le tiers restant de la masse des branchies et de la glande digestive sont séparément pesés et immédiatement transférés dans un sachet PE fermé sous atmosphère d'azote gazeux et placés au congélateur -80°C jusqu'aux analyses.

3. Détermination de la bioaccumulation en ETM

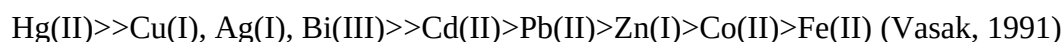
L'extraction des ETM de la matrice biologique a été réalisée par digestion HNO₃, ou minéralisation, pendant 3 H à 110°C (DigiSEP, SCP Sciences®) en ajoutant 3 mL HNO₃ (14 M, suprapur). La digestion terminée, un volume de 15 mL d'eau milli-Q est ajouté à l'échantillon pour abaisser le pourcentage d'acide, et le minéralisat est conservé en chambre froide jusqu'au dosage des ETM par ICP-MS (voir 1.4. Dosage des ETM dissous et particuliers par ICP-MS). La justesse et précision des analyses ont été contrôlées par le matériel de référence TORT-2 (hépatopancréas de homard, Tableau I.2- 4).

<i>mg.kg⁻¹</i>		V	Cr	Co	Ni	Cu	Zn	As	Mo	Ag	Cd	Pb
TORT-2 n=12	valeur certifiée	1,64	0,77	0,51	2,50	106	180	21,6	0,95		26,7	0,35
	ecart-type	0,19	0,15	0,09	0,19	10	6	1,8	0,10		0,6	0,13
	Moyenne	2,06	0,69	0,47	2,64	103	186	24,0	1,13	7,25	25,6	0,37
	ecart-type	0,18	0,15	0,04	0,26	8	34	1,2	0,08	0,40	3,7	0,02
	justesse	126%	90%	92%	106%	97%	103%	111%	119%		96%	107%
reproductibilité		9%	21%	10%	10%	7%	18%	5%	7%	5%	14%	5%

Tableau I.2- 4: Justesse et reproductibilité de la minéralisation et du dosage des ETM dans le TORT-2.

4. Quantification des métallothionéines

La quantification des métallothionéines (MTs) peut-être effectuée selon diverses techniques (méthodes biochimiques, électrochimiques et immunologiques) qui exploitent les principales caractéristiques des MTs : leur capacité à lier les métaux, leur contenu en groupement thiols et leurs propriétés antigéniques. L'équipe GEMA utilise en routine la méthode par saturation au mercure (Hg) inorganique (Baudrimont et al., 1997; Marie, 2005). Cette technique se base sur la forte capacité des MTs à fixer le Hg au niveau de leurs 'clusters' et sur l'affinité des métaux pour les MTs. Pour rappel, la séquence d'affinité des métaux pour les groupements thiols des MTs est la suivante :



Ainsi, cette technique est beaucoup plus sensible que les méthodes de saturation par l'argent ou le cadmium, puisqu'elle est applicable à des organismes préalablement exposés à la majorité des métaux lourds (Zn, Pb, Cd, Cu, ...). La quantification des MTs par saturation au Hg inorganique a été précédemment largement décrite, notamment par Marie (2005), et nous proposons alors une description synthétique du principe général et des grandes étapes du protocole (Figure I.2- 3). Le dosage de Hg total a été effectué par spectrophotométrie à d'absorption atomique à vapeur froide après incinération sous flux d'O₂ (AMA 254 ALTEC). Le principe a déjà été décrit au paragraphe 1.5. La justesse des mesures en Hg, déterminée avec le matériel de référence TORT-2, a été estimée à 95% avec une précision de 5%.

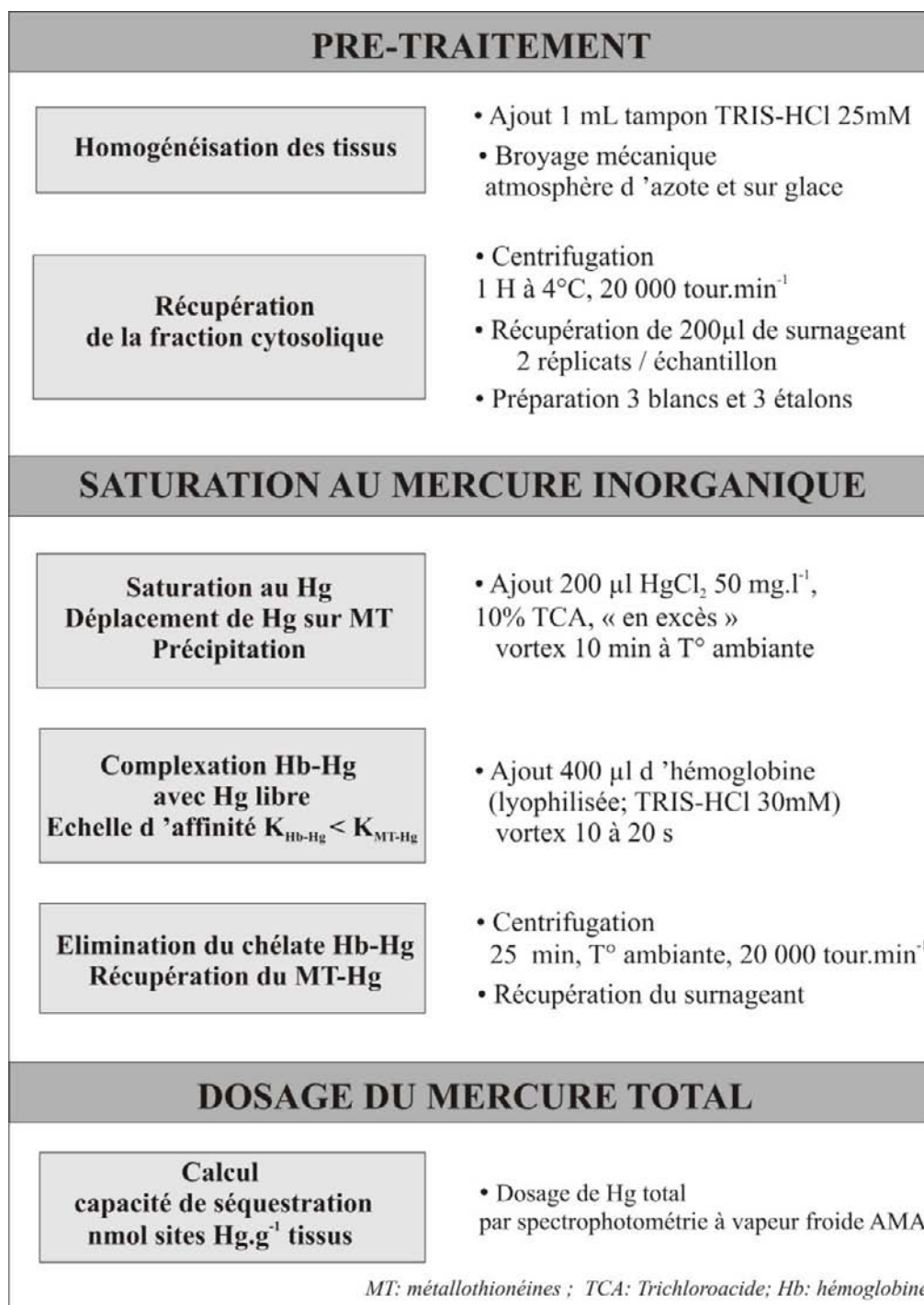


Figure I.2- 3: Principe général et grandes étapes du protocole de quantification des métallothionéines par la méthode de saturation au mercure inorganique.

PARTIE II

COMPORTEMENT DES ETM EN MILIEU ESTUARIEN ET FLUX EXPORTES À LA BAIE

Les estuaires sont des lieux d'échange de matières et d'énergie à l'interface du continent et de l'océan (Pritchard, 1967). Les apports en ETM provenant des rivières y sont modifiés qualitativement et quantitativement par différents processus physico chimiques impliquant notamment la salinité (Turner and Millward, 2002).

Dans le cadre de la pollution en Cd du continuum Lot-Garonne-Gironde-baie de Marennes Oléron (Boutier, 1981; Boutier et al., 1989; Claisse, 1989; Jouanneau et al., 1990; Lapaquellerie et al., 1995; Blanc et al., 1999; Jouanneau et al., 1999; Schäfer et al., 2002; Schäfer et al., 2006), l'étude du comportement du Cd dans le gradient de salinité est essentielle pour qualifier et quantifier l'expulsion de ce métal sur la zone côtière. La baie de Marennes Oléron, soumise à la contamination en Cd d'origine girondine (Pouliquen, 1975; Castaing and Allen, 1981; Boutier et al., 1989; Parra et al., 1999; Boutier et al., 2000; Dabrin, 2009), est alimentée par un autre estuaire, la Charente, qui apporte également du Cd, d'origine naturelle et anthropique (Gonzalez et al., 1991; Dabrin, 2009).

Dans ce contexte régional, cette partie vise à étudier et à comparer le comportement de Cd dans ces deux estuaires et à estimer les flux de Cd expulsés dans la zone côtière. Une attention particulière est portée aux zones d'embouchures pour qualifier et quantifier les apports en Cd atteignant potentiellement la baie de Marennes Oléron.

CHAPITRE II.1

COMPORTEMENT DU CADMIUM DANS L'ESTUAIRE DE LA GIRONDE

I. Introduction

L'estuaire de la Gironde, connu pour sa pollution poly-métallique, influe sur la qualité des eaux côtières et plus particulièrement sur les eaux de la baie de Marennes-Oléron (Castaing and Allen, 1981; Boutier et al., 2000; Dabrin, 2009). Dans ce contexte, il est essentiel de surveiller la distribution des ETM et leurs variabilités temporelles de la partie fluviale (Gironde-Dordogne) à l'embouchure, d'identifier les processus qui affectent cette distribution et d'estimer les flux nets de Cd sortant de la Gironde et arrivant sur la zone côtière.

Depuis plusieurs années, l'équipe GEMA-TGM effectue des campagnes océanographiques dans l'estuaire de la Gironde dans le but de répondre aux problématiques précédemment énoncées. A ce jour, 15 campagnes ont été réalisées, dont 5 durant cette thèse. Ces campagnes ont permis l'acquisition d'une base de données unique et exceptionnelle sur la distribution des concentrations en ETM en milieu estuarien. Une majeure partie de ces résultats ont été présentés dans la thèse d'Aymeric Dabrin (2009) et ont permis de documenter la distribution des ETM dissous dans l'estuaire et la variabilité temporelle du comportement de Cd dissous et à d'estimer les flux nets de Cd dissous (Dabrin et al., 2009) et particuliers sortant de la Gironde.

Dans ce manuscrit, nous présentons les profils des campagnes réalisés dès mai 2003 dont les cinq acquis au cours de cette thèse et apportons de nouvelles réflexions sur le comportement de Cd dans le gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde en répondant aux questions suivantes :

- ✓ Quel(s) facteur(s) contrôle(nt) le comportement du Cd dissous dans le gradient de salinité ?
- ✓ Les flux nets journaliers évoluent-ils au cours du temps ou en fonction des situations hydrologiques ? Quels sont les flux nets annuels de Cd dissous des années 2007, 2008 et 2009 ?
- ✓ Quel est le comportement de Cd particulaire dans le gradient de salinité de la Gironde ? Quel(s) facteur(s) contrôle(nt) ce(s) comportement(s) ?

Sur ces mêmes profils, le comportement des oxi-anions (U, V et Mo) a fait l'objet en 2009 d'une publication intitulée « Dissolved uranium, vanadium and molybdenum behaviours during contrasting freshwater discharges in the Gironde Estuary (SW France) » dans la revue *Estuarine, Coastal and Shelf Sciences*, par Strady et al. (2009). Bien que ces trois métaux ne fassent pas partie des problématiques principales de cette thèse, nous avons tenu à les présenter dans ce manuscrit en Annexe I pour les raisons suivantes : (i) la distribution de ces métaux est pour la première fois décrite dans le gradient de salinité girondin et est peu documentée dans la littérature scientifique (ii) la stratégie d'échantillonnage adaptée a permis d'identifier les comportements et processus de transformation des métaux (iii) cet article nous a permis de publier la méthode d'extraction solide-liquide de ces oxi-anions (et Co, Ni, Cu et Cd), technique présentée au chapitre précédent qui permet de façon simultanée la pré-concentration des ETM, la séparation de la matrice salée et le dosage par ICP-MS. Les principaux résultats sont synthétisés dans le **résumé en français** suivant :

L'étude du comportement des éléments traces métalliques en milieu estuarien nécessite une stratégie d'échantillonnage et des méthodes analytiques adaptées aux gradients géochimiques et physiques. Nous présentons des résultats obtenus lors de neuf missions océanographiques le long du gradient de salinité et de turbidité de l'estuaire de la Gironde, pendant des conditions hydrologiques contrastées (REAGIR-METOGIR-GIMERCAD 2003 à 2007). L'objectif de cette étude est de caractériser le comportement de trois métaux dissous, l'uranium (U), le vanadium (V), et le molybdène (Mo) dans les eaux de surface et de fond de l'estuaire. L'uranium présente un comportement conservatif quelles que soient les conditions hydrodynamiques. On note toutefois dans la zone de salinités faibles (0-3), de légers et occasionnels déficits par rapport à la droite de dilution attribués au mélange des eaux de la Garonne et de la Dordogne. A l'inverse, le comportement de V est non-conservatif et montre des additions plus ou moins accentuées selon les conditions hydrodynamiques. Les fortes additions observées lors des faibles débits fluviaux (e.g. augmentation du temps de résidence des eaux et des particules dans l'estuaire) ont été attribuées aux processus de désorption observés dans la zone de turbidité maximum. Le comportement de Mo dissous dans l'estuaire de la Gironde est plus complexe : Des comportements apparemment conservatifs et clairement non-conservatifs ont été attribués à la concomitance de processus de désorption des MES, d'apports de Mo par les sédiments dans le cas des additions, et de la séquestration par les sédiments dans le cas des soustractions. Les résultats obtenus, suggèrent que les flux nets annuels (Boyle et al ; 1974) sortant de l'estuaire de la Gironde sont de 15,5 à 16,6 tonnes/an pour U et de 31,3 à 36,7 tonnes.an⁻¹ pour V.

II. Stratégie d'échantillonnage

Entre mai 2003 et mars 2009, quinze campagnes d'échantillonnage ont été réalisées sur l'estuaire de la Gironde à bord du *Côtes de la Manche* (Tableau II.1- 1). Ces missions ont permis le prélèvement de matières en suspension (MES) et d'eau pour la détermination des concentrations en métaux dissous et particuliers en différents sites géoréférencés par GPS (coordonnées géographiques), le long du gradient de salinité estuarien.

La variation des débits hydriques journaliers entrants dans l'estuaire de la Gironde (Garonne + Dordogne + 10% (Schäfer et al., 2002)) de juillet 2004 à avril 2009 est présentée sur la Figure II.1- 1. Les débits des jours de missions varient de 169 à 2600 m³.s⁻¹ et représentent ainsi quatre types de situations hydrologiques contrastées : étiage (<200 m³.s⁻¹, septembre 2006), débits faibles (~300 m³.s⁻¹, septembre 2003, juillet 2004, octobre 2004, juillet 2005, octobre 2007 et novembre 2007), débits moyens (~ 700 m³.s⁻¹ mai 2003, mai 2005, mai 2006, novembre 2008 et mars 2009) et période de crue (~ 2000 m³.s⁻¹ mars 2007, avril 2008). Castaing et Jouanneau (1979) ont estimé le temps de résidence des eaux dans l'estuaire entre 20 et 86 jours pour des débits variant de 150 à 3000 m³.s⁻¹. Ainsi, le temps de résidence des eaux conditionne les cinétiques d'adsorption et désorption des particules dans la colonne d'eau (Masson, 2007) et par conséquent, affecte la distribution des métaux le long du gradient de salinité. Ainsi, il est important de prendre en compte les situations hydrologiques précédant la mission pour appréhender au mieux le temps de résidence des eaux. Le Tableau II.1- 1 présente pour chaque mission le débit hydrique et le coefficient de marée du jour de mission et les conditions hydrologiques générales précédant la mission.

Date	Nom des missions	Débits du jour m ³ .s ⁻¹	Coefficient de marée	Conditions précédant la mission
mai 2003	GIROX 3	646	58-61	débits moyens
septembre 2003	GIROX 4	207	107-109	étiage
juillet 2004	REAGIR 1	307	71-73	fin de décrue
octobre 2004	REAGIR 2	313	33-40	étiage
mai 2005	REAGIR 3	687	85-81	débits moyens
juillet 2005	METOGIR 1	314	71-71	étiage
novembre 2005	REAGIR 4	302	88-90	étiage
mai 2006	GIMERCAD 1	705	77-80	décrue
septembre 2006	GIMERCAD 2	169	94-101	étiage
mars 2007	GIMERCAD 3	2600	88-89	crue
octobre 2007	GIMERCAD 4	260	87-79	étiage
novembre 2007	GIMERCAD 5	211	42-40	étiage
avril 2008	GIMERCAD 6	2070	46-54	crue
novembre 2008	GIMERCAD 8	670	63-66	débits moyens
mars 2009	METOGIR 2	730	95-101	débits moyens

Tableau II.1- 1: Synthèse des missions effectuées sur l'Estuaire de la Gironde de mai 2003 à mars 2009.

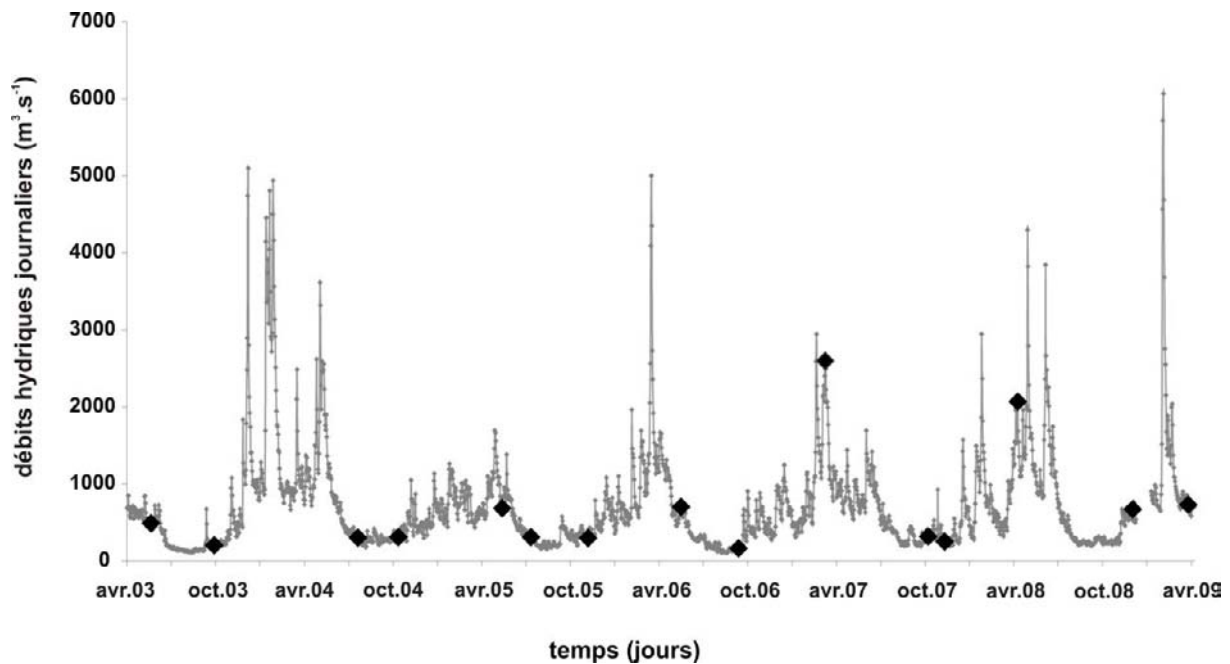


Figure II.1- 1: Débits hydriques journaliers entrants en Gironde (gris, Source : PAB) et campagnes d'échantillonnage effectuées de mai 2003 à mars 2009

III. Comportement de cadmium dissous dans l'estuaire de la Gironde

Les profils de cadmium dissous (Cd_d) le long du gradient de salinité estuarien pour les quatre missions sont présentés en Figure II.1- 2. La distribution présente une forme en cloche très prononcée, avec un maximum de concentrations (Cd_d^{max}) atteint (67 à 143 $ng.L^{-1}$ en avril 2008 et octobre 2007) pour des salinités variant de 15 à 23, et de 12 à 18 en situation de crue. La position du bouchon vaseux et les concentrations en MES dans le gradient de salinité ne montrent pas de lien avec la distribution de cadmium dissous (Audry et al., 2007)

Les concentrations au pôle rivière sont stables de 11 à 13 $ng.L^{-1}$ en avril et novembre 2008 (salinité $<0,2$) et proches des concentrations déterminées sur la Garonne à La Réole (Bossy et al., 2007). Après l'augmentation des concentrations jusqu'à la salinité 15-17, la distribution de cadmium dissous suit une droite de dilution avec le pôle marin. En considérant les points prélevés à la salinité 30, les concentrations sont plus élevées (36 et 87 $ng.L^{-1}$ en mars 2009 et octobre 2007) que les concentrations à l'entrée de l'estuaire au pôle rivière et que les eaux côtières certifiées d'Atlantique Nord CASS-4 ($S=30,7$, $Cd=26 ng.L^{-1}$). Elles sont également beaucoup plus importantes (facteur 100) que les concentrations dans l'Océan Atlantique Nord ($0,2 ng.L^{-1}$, (Bruland and Franks, 1983).

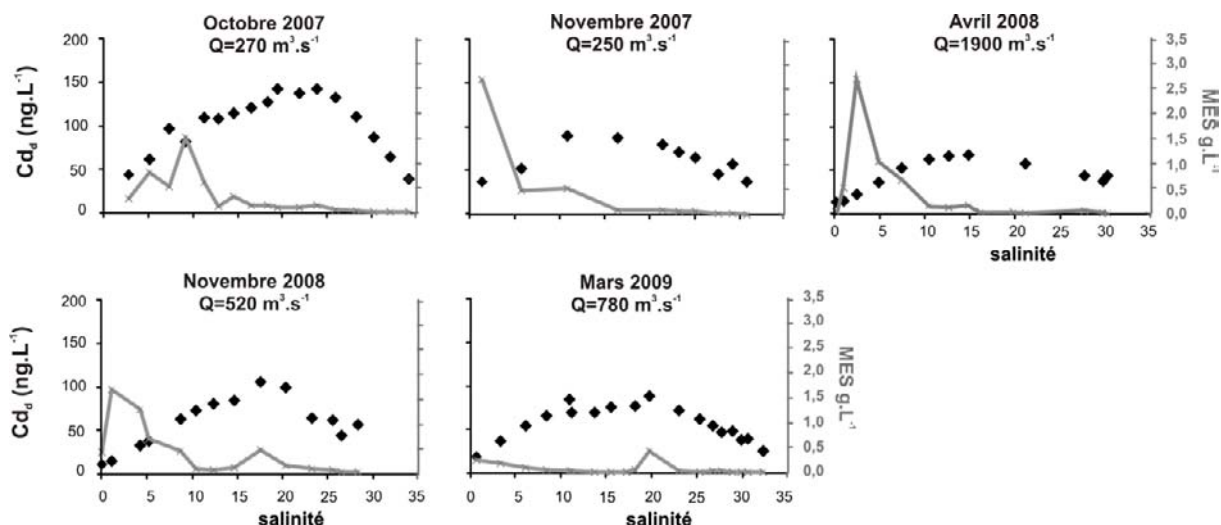


Figure II.1- 2: Distributions des concentrations en Cd dissous Cd_d et MES dans l'Estuaire de la Gironde en octobre 2007, novembre 2007, avril 2008, novembre 2008 et mars 2009.

La distribution des concentrations en Cd dissous dans l'estuaire de la Gironde montre un comportement non conservatif additif, avec un maximum de concentrations atteint pour des salinités moyennes. Ces résultats sont en accord avec les études précédentes menées sur l'estuaire de la Gironde (Edmond et al., 1985; Jouanneau et al., 1990; Kraepiel et al., 1997; Boutier et al., 2000; Michel et al., 2000; Robert, 2003; Dabrin, 2009; Dabrin et al., 2009) mais aussi sur d'autres estuaires macrotidaux comme la Loire (Boutier et al., 1993), la Seine (Chiffoleau et al., 1994; Chiffoleau et al., 2001), l'Amazone (Boyle et al., 1982) et le Chang-Jiang (Edmond et al., 1985). L'augmentation de Cd_d avec la salinité est due aux processus de désorption de Cd des particules et à la formation de chlorocomplexes stables et solubles (Bourg, 1987; Elbaz-Poulichet et al., 1987; Turner et al., 1992, 1993; Turner, 1996; Kraepiel et al., 1997), les sources intra-estuarienne d'origine anthropique ayant été estimées absentes (Jouanneau et al., 1990). La diminution des concentrations pour les plus fortes salinités est considérée comme le résultat de la dilution avec l'eau de mer.

Cette addition est observée pour différentes périodes de l'année (Gonzalez et al., 2006) et pour différents débits hydriques (Elbaz-Poulichet et al., 1987; Boutier et al., 1989; Dabrin et al., 2009). La prononciation de l'addition est d'autant plus forte que les débits sont faibles (étiage) et inversement en période de crue (Figure II.1- 3). En effet, la compilation des Cd_d mesurées dans le gradient de montre Figure II.1- 3:

- des Cd_d comparables quel que soit le débit dans les faibles salinités (0-5)
- des Cd_d^{max} inversement proportionnelles aux débits, étiage>débits moyens>crue, et atteintes pour des salinités variables : 15-23 en étiage, 14-21 en débits moyens et 12-18 en crue,

- des pentes de droite de dilution variables suivant les Cd_d^{max} et plus abruptes en étiage > débits moyens > crue, induisant une forte variabilité des valeurs de Cd_d pour une même salinité.

Cette dépendance addition-débit montre l'influence de la dilution des masses d'eau en période de forts débits, avec une addition moins prononcée et située dans les faibles salinités, mais aussi l'influence du temps de résidence des eaux, plus faible en période de forts que de bas débits, qui contrôle les cinétiques de désorption et les concentrations en Cd dissous dans le gradient de salinité estuarien.

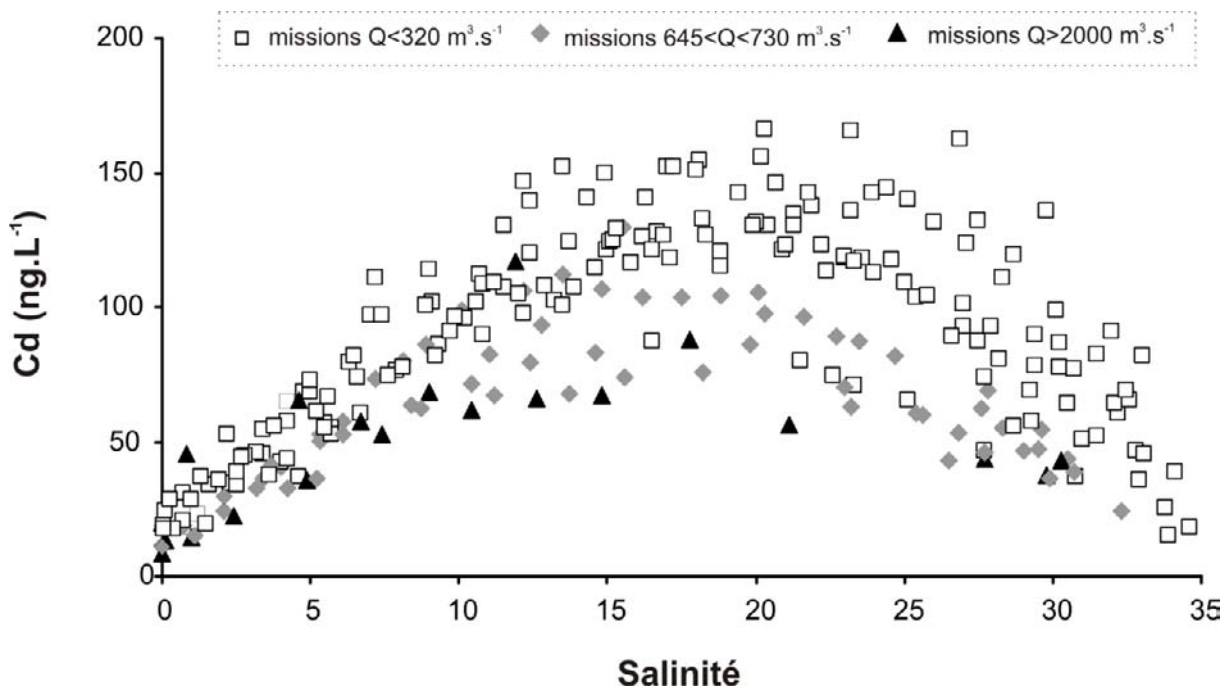


Figure II.1- 3: Distribution des concentrations de Cd dissous dans l'estuaire des missions de juillet 2004 à mars 2009 en fonction de trois classes de débits: étiage, débits moyens et crue.

Les profils acquis de mai 2003 à novembre 2007 ont été intégrés à la publication de Dabrin et al. (2009), « Improving estuarine net flux estimates for dissolved cadmium export at the annual timescale: Application to the Gironde Estuary » publiée dans *Estuarine, Coastal and Shelf Sciences*, 85, p. 429-438 et présentée en Annexe II.

IV. Comportement du cadmium particulaire dans l'estuaire de la Gironde

Le comportement des ETM particulaires dans l'estuaire de la Gironde est peu documenté comparé aux ETM dissous. Les premières observations de la distribution de Cd particulaire dans le gradient de salinité girondin ont été réalisées par Jouanneau et al. (1990) dans les années 1980, puis par Boutier et al. (2000) et Krapiel et al. (1997) dans les années 90. Lors de leurs travaux de thèse respectifs, Robert (2003) a présenté un profil de distribution du Co, Ni, Cu, Mo, Cd et U particulaires dans le gradient de salinité, Dabrin (2009) a présenté les concentrations particulaires à l'embouchure de l'estuaire (point fixe) en fonction de la turbidité et Masson (2007) a effectué des études expérimentales de désorption de Cd des particules dans l'estuaire fluvial et le gradient de salinité. Ainsi, cette partie vise à étudier la variabilité temporelle de la distribution du Cd particulaire et à identifier les facteurs contrôlant ces distributions dans le gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde et à l'embouchure lors de conditions hydrologiques contrastées.

1. Distribution du cadmium particulaire dans l'estuaire de la Gironde

Les campagnes en mer effectuées de mai 2003 à mars 2009 (Tableau II.1- 1) ont permis d'acquérir quinze profils de concentrations en Cd particulaire (Cd_p) le long du gradient de salinité girondin, en situations hydrologiques contrastées. Les distributions observées (Figure II.1- 4) permettent de distinguer deux zones dans le gradient de salinité où les comportements diffèrent:

- de 0 à 25 de salinité, les Cd_p sont légèrement décroissantes témoignant des processus de désorption de Cd avec l'augmentation de la salinité. Cependant, l'intensité (Figure II.1- 5) et la position du bouchon vaseux ainsi que les processus de minéralisation de la matière organique y prenant place (Etcheber et al., 2007) n'affectent pas la distribution du Cd_p (Audry et al., 2007). Au niveau des très faibles salinités (0-5), les Cd_p sont relativement faibles comparées aux concentrations mesurées sur la Garonne 70 km en amont à La Réole (Cd_p : $3,6 \pm 1,5$ (Bossy et al., 2007), suggérant que les processus de désorption commencent dans l'estuaire fluvial et continuent dans le gradient de salinité (Masson, 2007). Les coefficients de partage entre la phase particulaire et la phase dissoute, $\log K_d$ présentent une diminution du rapport de 1,5 à 0,5 pour des salinités variant de 0 à 15, qui caractérise la formation de chlorocomplexes très stables et solubles (Bourg, 1987; Comans, 1987; Turner et al., 1992,

1993; Chiffoleau et al., 1994; Masson, 2007). Ce rapport est à son minimum vers les salinités 18-21, qui correspondent au maximum de Cd dissous dans l'estuaire. La distribution du $\log K_d$ varie suivant les profils et montre des états d'équilibre différents entre les phases particulaire et dissoute à des salinités comparables, pour des campagnes réalisées en conditions hydriques similaires comme par exemple en juillet 2005 et novembre 2005 (Figure II.1- 4F-G)

- de 25 à 35 de salinité, les Cd_p présentent des distributions variables suivant les campagnes, avec des concentrations qui continuent à décroître légèrement, à diminuer significativement ou à augmenter (Figure II.1- 4). Cette variabilité suggère que des facteurs autres ou supplémentaires influent sur le comportement du Cd dans cette zone. Les $\log K_d$ augmentent principalement par dilution avec les eaux océaniques moins concentrées en Cd_d .

La stratégie d'échantillonnage en situations hydrologiques contrastées a permis de constater une absence d'effet du débit ou du cycle tidal VE-ME (Tableau II.1- 1) sur le comportement du Cd_p dans l'estuaire. Les deux zones observées dans le gradient de salinité sont étudiées séparément.

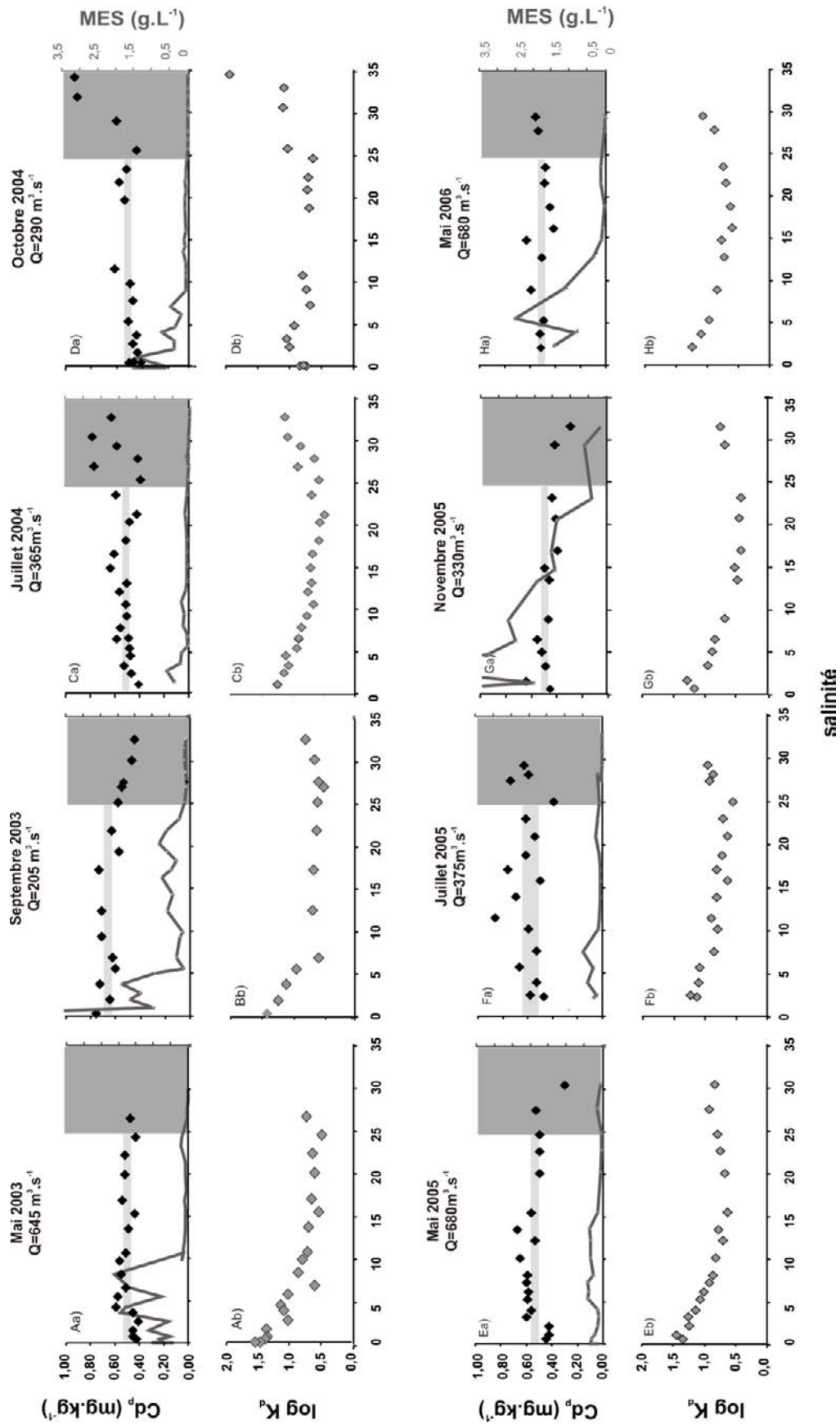


Figure II.1- 4: Distributions des Cd_p (a) et des $\log K_d$ (b) déterminées de mai 2003 à mars 2009 dans le gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde. Les rectangles en gris clair représentent les Cd_p^{moy} calculées de 0 à 25 de salinité et leur épaisseur est fonction de l'écart type. Les rectangles en gris foncé représentent la zone de salinité 25 à 35.

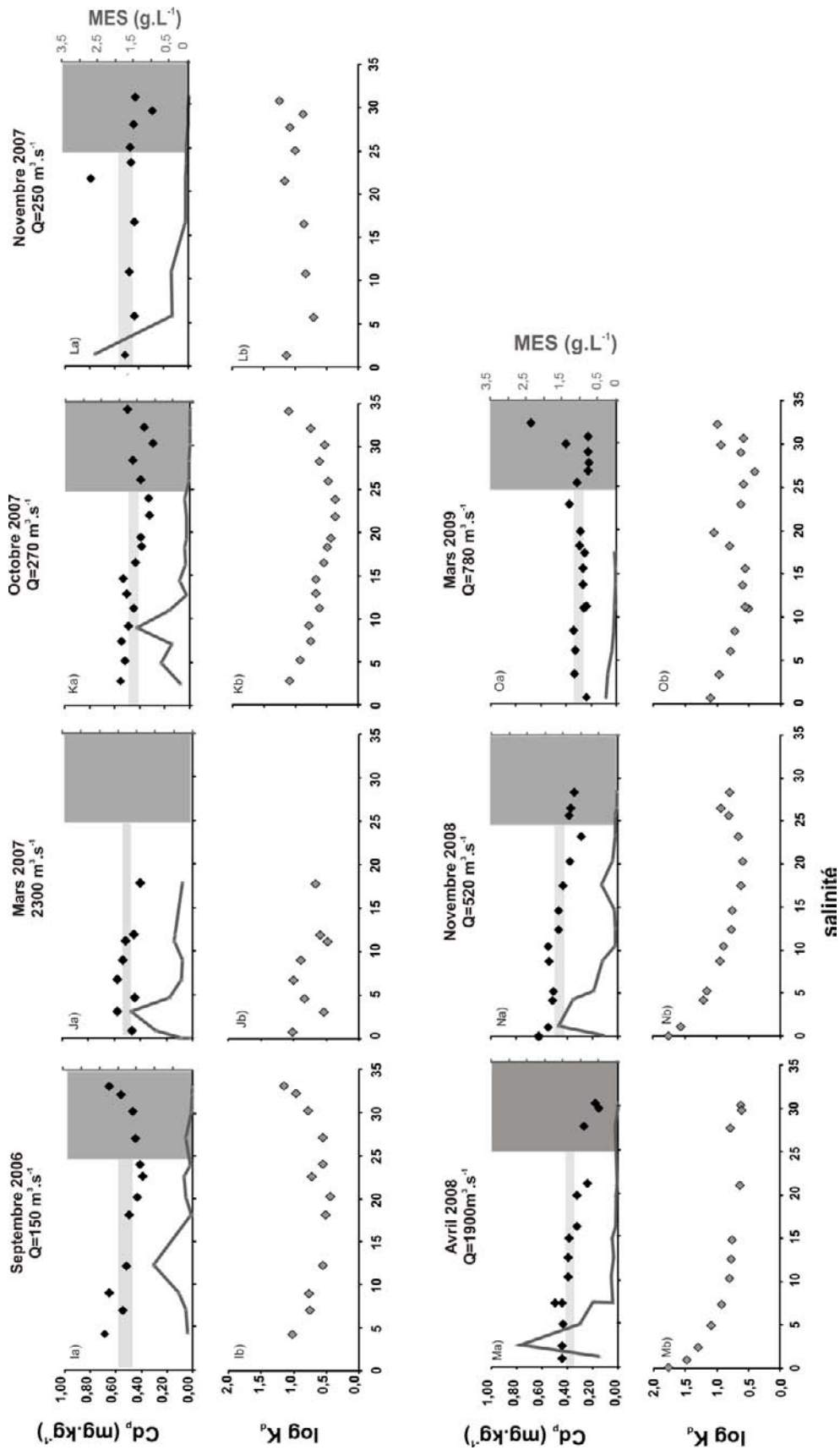


Figure II.1- 4 suite: Distributions des Cd_p (a) et des $\log K_d$ (b) déterminées de mai 2003 à mars 2009 dans le gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde. Les rectangles gris clair représentent les Cd_p^{moy} calculées de 0 à 25 de salinité et leur épaisseur est fonction de l'écart type. Les rectangles gris foncé représentent la zone de salinité 25 à 35

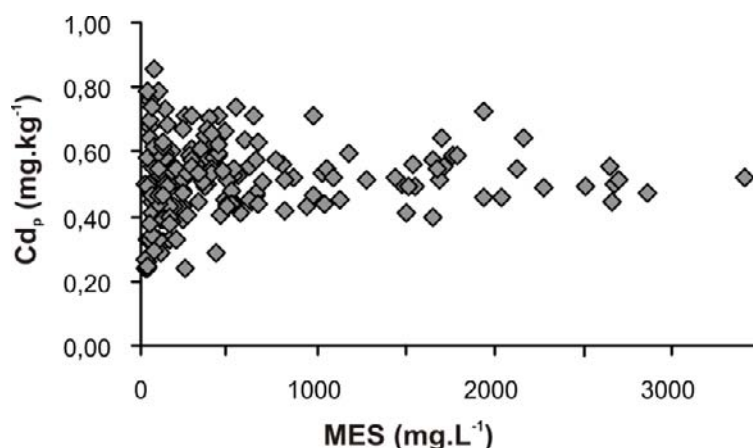


Figure II.1- 5: Relation entre le Cd_p et les concentrations en MES des échantillons prélevés des salinités 0 à 25 des quinze missions.

2. Variations temporelles du cadmium particulaire dans les faibles et moyennes salinités

Les concentrations moyennes de Cd particulaire (Cd_p^{moy}) et écart-types ont été calculées pour chaque mission dans le gradient de salinité et dans la zone 0-25 de salinité de l'estuaire de la Gironde (Tableau II.1- 2). Ces concentrations varient au cours des situations et sont généralement homogènes dans la zone 0-25 de salinité. Les Cd_p^{moy} calculées dans le gradient sont données à titre indicatif et seules les Cd_p^{moy} calculées dans la partie estuarienne (0-25) sont utilisées pour la suite.

Date	Débit journalier $m^3.s^{-1}$	Cd_p^{moy} S: 0-35 $mg.kg^{-1}$	Ecartype S: 0-35	Cd_p^{moy} S: 0-25 $mg.kg^{-1}$	Ecartype S: 0-25
mai 2003	646	0,50	0,06	0,50	0,06
septembre 2003	207	0,62	0,09	0,67	0,06
juillet 2004	307	0,54	0,10	0,52	0,06
octobre 2004	313	0,72	0,29	0,56	0,06
mai 2005	687	0,53	0,09	0,54	0,07
juillet 2005	314	0,59	0,11	0,58	0,12
novembre 2005	302	0,46	0,08	0,48	0,07
mai 2006	705	0,51	0,06	0,51	0,06
septembre 2006	169	0,52	0,10	0,52	0,10
mars 2007	2600	0,50	0,06	0,50	0,06
octobre 2007	260	0,44	0,08	0,45	0,08
novembre 2007	211	0,48	0,12	0,52	0,12
avril 2008	2070	0,35	0,10	0,39	0,07
novembre 2008	670	0,45	0,08	0,47	0,08
mars 2009	730	0,30	0,10	0,29	0,04

Tableau II.1- 2: Concentrations moyennes de Cd particulaire Cd_p^{moy} et écart-type calculés sur le gradient de salinité et dans la zone 0-25 de salinité pour chaque mission. Les débits hydriques journaliers des jours de mission sont reportés.

Les Cd_p^{moy} ne montrent pas de relation directe avec le débit hydrique journalier, quelles que soient les situations hydrologiques observées (Figure II.1- 6a). Les distributions des $\log K_d$ sur cette même zone ont montré que les états d'équilibre entre les phases particulaires et dissoutes sont indépendantes du débit (Figure II.1- 6b) alors que les additions de Cd dissous dans l'estuaire sont dépendantes du débit. L'équilibre entre les phases particulaires et dissoutes semblent être dominées par la phase particulaire.

Les variations temporelles des Cd_p^{moy} entre 2003 et 2009 montrent une nette tendance à la diminution au cours du temps (Figure II.1- 6b).

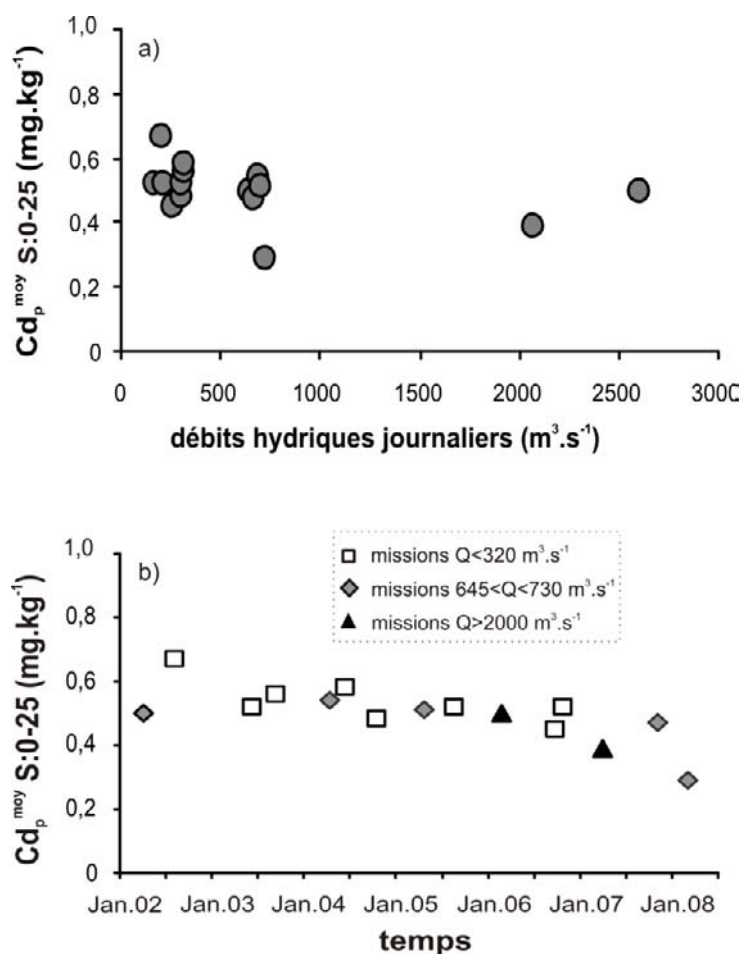


Figure II.1- 6: Variations des Cd_p^{moy} calculées sur les salinités 0-25 des quinze missions en fonction a) des débits hydriques journaliers et b) du temps

Ce résultat est assez important car en dépit des processus de désorption, les particules de l'estuaire montrent une tendance à se décontaminer en Cd. Les étapes de réhabilitation successives entreprises par l'usine UMICORE dans le but de diminuer et contrôler les émissions de Cd du site industriel de Viviez (bassin de Decazeville) peuvent être mises en

relation avec ces diminutions (Blanc et al., 1999; Audry et al., 2004b; Coynel et al., 2007b; Coynel et al., 2009). La compilation des profils de Cd_p acquis sur l'estuaire depuis les années 1985 par Jouanneau et al., (1990) Boutier et al., (2000), Krapiel et al., (1997) et par l'équipe GEMA-TGM permet de voir l'évolution historique de cette décontamination en Cd_p (Figure II.1- 7). Son évolution future est quant à elle beaucoup plus difficile à prédire puisqu'elle dépend de la remédiation du site de Viviez, de la gestion des sédiments de barrages et des berges sur le Lot et la Garonne (Coynel et al., 2007a), du dragage des sédiments de l'estuaire, des apports de la ville de Bordeaux mais aussi de l'absence ou non de toute nouvelle pollution sur le bassin versant de la Gironde. Il est alors difficile de prédire si les Cd_p atteindront des valeurs proches du bruit de fond naturel ($0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$, Larrose et al., accepted) et si les eaux de la Gironde auront retrouvé «un bon état écologique (DCE 2000/60/CE) » d'ici 2015, même si les concentrations en Cd particulières dans l'estuaire ont diminué de moitié depuis le début des remédiations du site en 1987, soit il y a environ 20 ans.

La diminution des débits hydriques annuels depuis les années 1980 (Figure II.1- 8) peut influencer sur la baisse des Cd_p^{moy} dans l'estuaire en diminuant les processus d'érosion en amont et les apports en MES et en Cd_p de la zone amont à l'estuaire. La comparaison des Cd_p^{moy} dans l'estuaire avec les flux de Cd_p mesurés sur le continuum Riou Mort-Lot-Garonne sont abordés dans les travaux de thèse commencés par Cécile Bossy au sein de l'équipe GEMA-TGM.

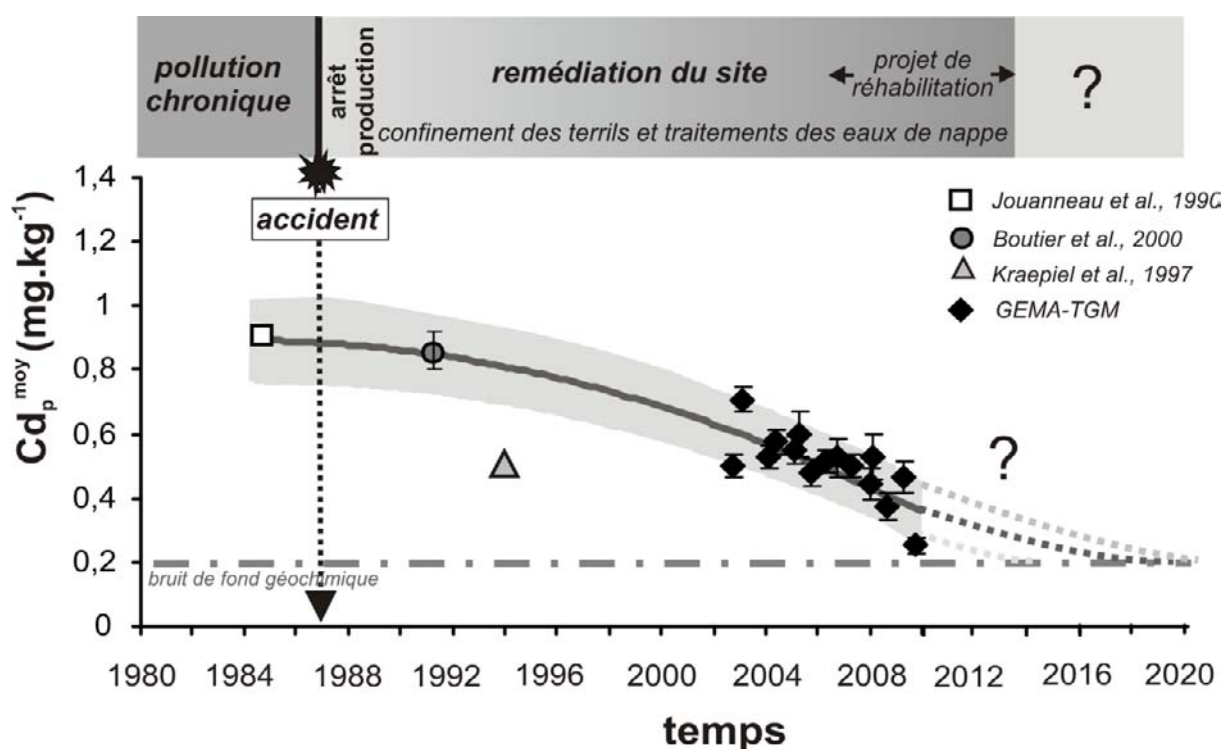


Figure II.1- 7: Modèle empirique historique de la décontamination en Cd des particules de l'estuaire de la Gironde dans le temps.

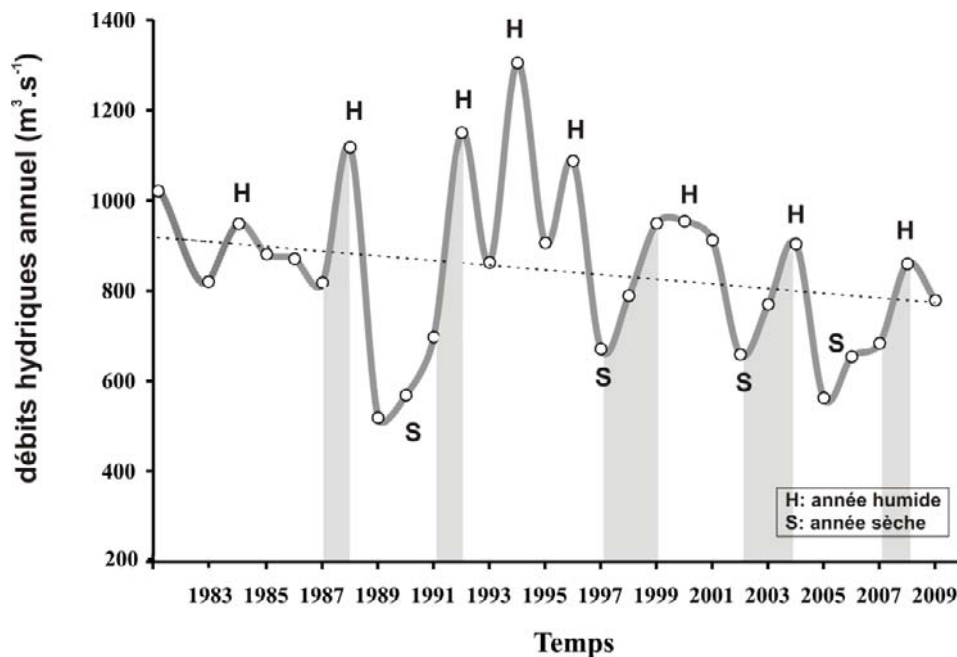


Figure II.1- 8: Débits annuels de la Gironde (Garonne + Dordogne) de 1982 à 2009 (données PAB). Les années sèches et humides sont définies par rapport au débit annuel moyen.

3. Distributions du cadmium particulaire dans les fortes salinités

Suivant les campagnes, les prélèvements d'échantillons dans les salinités 25-35 ne sont pas identiquement représentés. En effet, les conditions météorologiques ont souvent limité les prélèvements dans ces salinités (zone d'embouchure) pour des raisons de sécurité, comme ce fut le cas en mai 2003 et mars 2007. Les variations de Cd_p observées décrivent alors des 'tendances' lorsque les prélèvements sont inférieurs à 3 dans la zone et des 'comportements' lorsqu'ils sont plus représentés.

3.1. Distributions conservatrices de Cd_p

Lors des profils effectués en juillet 2005, mai 2006, novembre 2007 et novembre 2008 (Figure II.1- 4-H-L-N), les concentrations en Cd_p sont du même ordre de grandeur que celles de Cd_p^{moy} de chaque profil entre 0 et 25 de salinité. La désorption en Cd des particules est alors lente et homogène dans tout le gradient de salinité.

3.2. Distributions présentant une diminution de Cd_p

Quatre profils présentent des diminutions de Cd_p dans les fortes salinités (Figure II.1- 4B-E-M-N). En septembre 2003 et avril 2008, la diminution de Cd_p est continue dans le gradient ($S=33$) et est accompagnée par une faible augmentation du $\log K_d$, témoignant de processus de désorption plus intenses pendant ces deux périodes dans les fortes salinités et aussi dès la salinité 20 en avril 2008. En mai 2005 et novembre 2008, les Cd_p chutent brutalement sur un prélèvement au-delà de la salinité 30. La faible représentativité des prélèvements ne permet pas de discerner si ce point est un évènement ponctuel ou une intense désorption lors de chaque profil. Néanmoins, cette diminution des concentrations particulières à l'embouchure peut être engendrée par (i) des phénomènes locaux de désorption important ou (ii) des particules de tailles identiques mais d'origine ou d'histoire différente (temps de résidence différent) et présentant des concentrations plus faibles. En novembre 2005, la position très en aval de la ZTM peut limiter les processus de désorption dans les moyennes salinités. Masson (2007) a démontré par des expérimentations de désorption en laboratoire que la concentration en MES est un facteur limitant de la désorption en Cd des particules lorsque celle-ci est trop élevée ($MES < 500 \text{ mg.L}^{-1}$). La chute brutale des MES observée à la salinité 32 ($MES < 200 \text{ mg.L}^{-1}$) en novembre 2005 n'est alors plus un facteur limitant et peut contribuer à l'augmentation de la désorption du Cd des particules, induisant une diminution des Cd_p et un $\log K_d$ constant. En mai 2005, les concentrations en MES sont inférieures à 200 mg.L^{-1} dès les moyennes salinités, réfutant l'hypothèse d'une désorption brutale à la salinité 30. Nous suggérons plutôt que ces particules sont d'origine estuarienne mais qu'elles aient été échantillonnées à proximité du panache de la Gironde, dans des masses d'eau plus marines où elles ont pu être lessivées.

3.3. Distributions présentant une augmentation de Cd_p

Les profils effectués en juillet 2004, octobre 2004, septembre 2006 et mars 2009 présentent une augmentation notable des concentrations en Cd_p pour des salinités plus élevées (Figure II.1- 4D-I-Oa). Cette augmentation a toujours été observée pour des concentrations en MES faibles, inférieures à 100 g.L^{-1} . Afin de s'affranchir des effets granulométriques sur l'augmentation des concentrations (Loring, 1991), le rapport Cd_p/Th_p a été déterminé sur les particules prélevées dans le gradient de salinité (Figure II.1- 9).

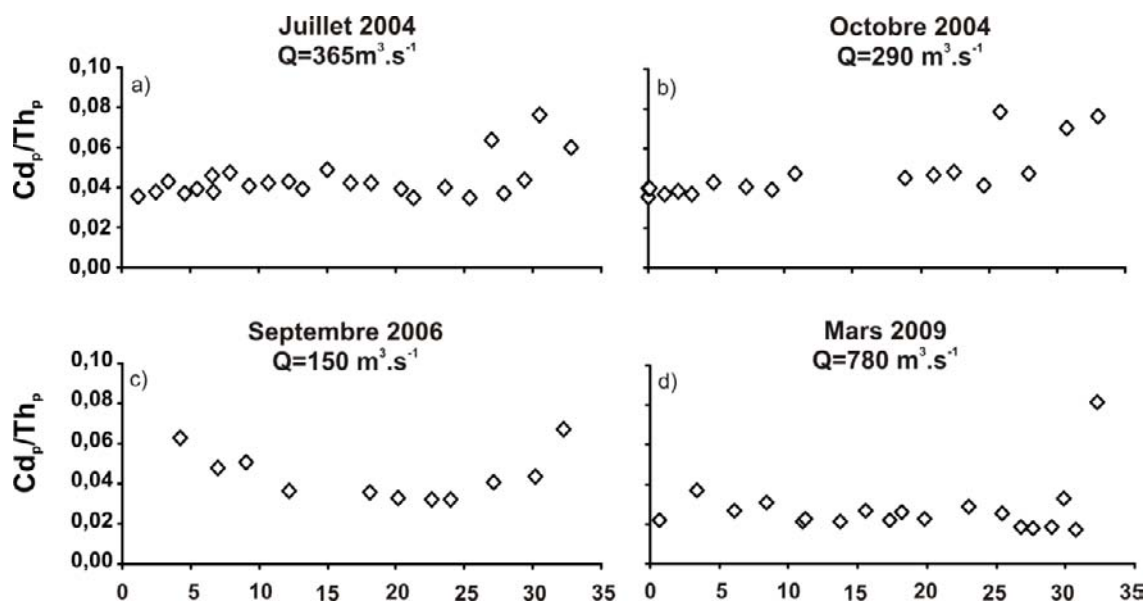


Figure II.1- 9: Variations du rapport Cd_p/Th_p dans le gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde en a) juillet 2004 ; b) octobre 2004 ; c) septembre 2006 ; d) mars 2009

Les profils de Cd_p/Th_p sont parallèles aux Cd_p et présentent soit des rapports constants qui augmentent à partir des salinités 25 (juillet 2004, octobre 2004 et mars 2009) soit des rapports qui diminuent des faibles aux moyennes salinités puis qui augmentent dès la salinité 25 (Figure II.1- 9). La comparaison des distributions des Cd_p et des rapports Cd_p/Th_p montre que l'augmentation à l'embouchure n'est pas reliée à des effets granulométriques mais peut témoigner d'un enrichissement en Cd des particules provenant soit (i) de processus d'adsorption de Cd sur les particules et/ou soit (ii) d'une bioaccumulation (et bioamplification) en Cd par le plancton. L'adsorption de Cd sur les particules semble peu probable à l'embouchure puisque la majorité du Cd est stabilisé sous des formes $CdCl_2$ et $CdCl^+$ très stables (Figure I.1- 3). De plus, des expérimentations en laboratoire de réversibilité des processus de sorption par marquage au ^{109}Cd des particules girondines ont montré que la désorption était peu réversible dans les fortes salinités, du fait de la chloro-complexation et de l'augmentation de la fraction biogénique dans les particules (Dange, 2002). En milieu côtier, le phytoplancton joue un rôle très important dans le cycle des ETM et peut bioaccumuler du Cd lors de fortes productions phytoplanctoniques (Wrench and Measures, 1982; Price and Morel, 1990; Slauenwhite and Wangersky, 1991; Luoma et al., 1998; Turner and Millward, 2002). Ainsi, nous avons regardé la distribution de la chlorophylle-a en fonction de Cd_p à partir des salinités 26 et 23 respectivement pour les profils d'octobre 2007 et mars 2009 (Figure II.1- 10). (NB, les profils de Chl-a n'étant pas disponibles pour les autres missions)

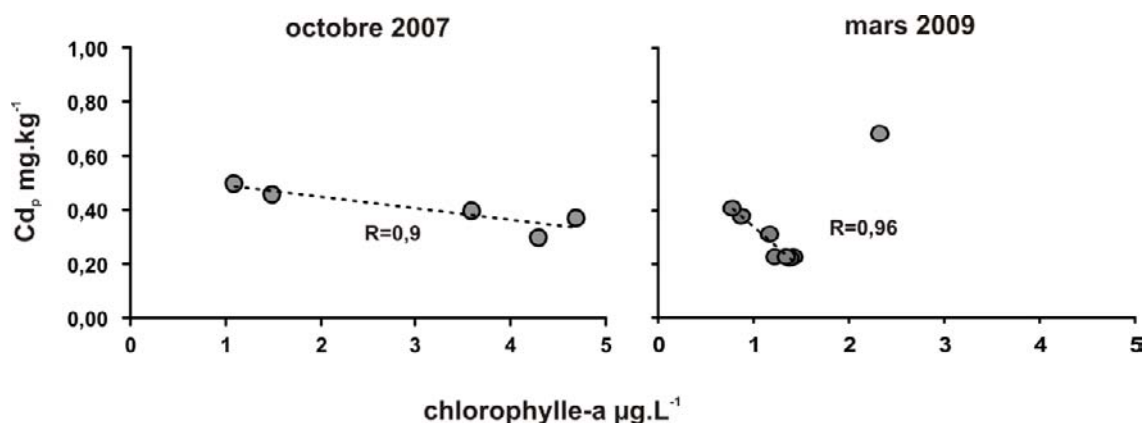


Figure II.1- 10: Concentrations en Cd particulaire en fonction des concentrations en chlorophylle-a en octobre 2007 et mars 2009 à partir des salinités 26 et 23, respectivement.

Les concentrations en Cd_p ne sont pas positivement corrélées ($R=-0,9$ et $-0,96$) avec les concentrations en Chl-a dans les fortes salinités des deux profils (en ne considérant pas le point éloigné en mars 2009 dont nous reparlerons dans le Chapitre 5). Ces observations sont relatives aux périodes de faibles activités phytoplanctoniques et suscitent des interrogations sur : (i) le rôle du phytoplancton dans le recyclage du Cd en période de bloom et (ii) le rôle des autres compartiments pouvant entrer dans la composition des MES (bactéries, mésozooplancton) dans le recyclage de Cd à l'embouchure de l'estuaire de la Gironde.

Dans l'estuaire de la Gironde, la production phytoplanctonique est fortement limitée par la turbidité. Néanmoins, dans la zone aval, des blooms phytoplanctoniques sont observés et peuvent atteindre des valeurs de chl-a de $25 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Irigoien and Castel, 1997). Lors de nos prélèvements, les distributions de Chl-a acquises ne reflètent pas de périodes de blooms, les concentrations ne dépassant pas $5 \mu\text{g.L}^{-1}$. Nous pouvons seulement suggérer que le phytoplancton ne joue pas de rôle dans le cycle de Cd à l'embouchure de l'estuaire hors période de bloom, contrairement à ce qu'avait observé Boutier et al. (2000) dans la zone côtière au large de l'île d'Oléron et le pertuis d'Antioche.

La distribution de Cd particulaire à l'embouchure et plus particulièrement le rôle de la bioaccumulation en Cd par le phytoplancton seront plus amplement étudiés dans le Chapitre II-3, consacré à la zone côtière et à l'embouchure.

3.4. Facteurs contrôlant les distributions

Les facteurs influençant la distribution de Cd_p dans l'estuaire et surtout à l'embouchure sont multiples. Le temps de résidence des particules est un facteur clé puisqu'il contrôle partiellement les cinétiques de désorption de Cd (Masson, 2007) et donc les concentrations de

Cd_p observées dans l'estuaire. La dynamique des masses d'eau, par les débits et les cycles, influe sur la position du bouchon vaseux et son expulsion à l'embouchure (Castaing and Allen, 1981; Dabrin, 2009; Lafon et al., 2009). Les MES peuvent osciller dans la zone aval de l'estuaire pendant une longue période avant d'être définitivement expulsées, et sont ainsi soumises à des processus de désorption plus ou moins longs, conduisant à des distributions à l'embouchure présentant soit des concentrations conservatives soit des diminutions. Le dernier paramètre que nous supposons comme facteur contrôlant les Cd_p mais que nous n'avons pu démontré est le rôle joué par le compartiment planctonique dans la bio-accumulation de Cd dans cet estuaire.

V. Estimation des flux nets de cadmium dissous sortant de la Gironde

A partir des profils additifs de Cd dissous observés dans l'estuaire de la Gironde de mars 2001 à mars 2009, les flux nets de Cd_d ont été estimés de façon journalière en utilisant la méthode de Boyle (Boyle et al., 1974; Boyle et al., 1982), puis de façon annuelle. Les flux nets estimés de mars 2001 à novembre 2007 ont fait l'objet d'une publication Dabrin et al., (2009) (Annexe II), intitulée 'Improving estuarine net flux estimates for dissolved cadmium export at the annual timescale: Application to the Gironde Estuary'. Dans ce manuscrit, nous complétons le modèle empirique des flux nets journaliers, notamment les figures 4a et b de cet article, en présentant les flux nets journaliers estimés puis les flux nets annuels extrapolés pour les missions de avril 2008, novembre 2008 et mars 2009. La discussion relative aux variations des flux et des concentrations théoriques Cd_d^0 étant intégrée à l'article, nous apporterons ici les observations nouvelles relatives à ces trois profils.

1. Flux nets journaliers de Cd dissous

Les concentrations théoriques de Cd (Cd_d^0) estimées d'après la méthode de Boyle et al. (1974) (1982) varient de 93 ng.L^{-1} en période de crue ($2070 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$) en avril 2008 à 201 ng.L^{-1} en période de moyens débits en novembre 2008 ($670 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$) (Tableau II.1- 3). Ces résultats sont du même ordre de grandeur que les Cd_d^0 reportées par Dabrin et al., (2009), pour les débits moyens mais plus faibles pour la période de crue.

Date	Débit journalier (m ³ .s ⁻¹)	Gamme de salinité	Régression linéaire	Cd _d ⁰ (ng.L ⁻¹)	n	R ²	Flux net (kg.j ⁻¹)
avril 2008	2070	21-30	[Cd]=-1,8*[S] + 93	93	4	0,88	17
novembre 2008	670	17-28	[Cd]=-5,5*[S] + 201	201	6	0,86	12
mars 2009	730	18-32	[Cd]=-4,0*[S] + 158	158	10	0,93	9

Tableau II.1- 3: Concentrations théoriques Cd_d⁰ et flux nets journaliers estimés pour les trois missions effectuées de 2008 à 2009 et non publiées. Les dates, les débits hydriques moyennés, les gammes de salinité utilisées pour effectuer la régression linéaire, le nombre de sites et le coefficient de régressions sont mentionnés pour chacune de ces missions.

En effet, en ajoutant nos données à la figure 4a de l'article (Dabrin et al., 2009) compilant les Cd_d⁰ en fonction des débits de toutes les missions effectuées sur l'estuaire de la Gironde (Elbaz-Poullichet et al., 1987; Jouanneau et al., 1990; Kraepiel et al., 1997; Michel et al., 2000; Dabrin et al., 2009), nous remarquons que les Cd_d⁰ en période de crue sont plus faibles que celles observées en période de crues en mars 2007 et en 1994 (Kraepiel et al., 1997; Dabrin et al., 2009), et sont du même ordre de grandeur que les Cd_d⁰ observées par Michel et al.

(2000) en 1997-1998 pour des forts débits. Nous avons ainsi rajouté une nouvelle aire relative à nos données sur la relation Cd_d⁰-débits dans la Figure II.1- 11 pour représenter les faibles Cd_d⁰ observées en période de forts débits.

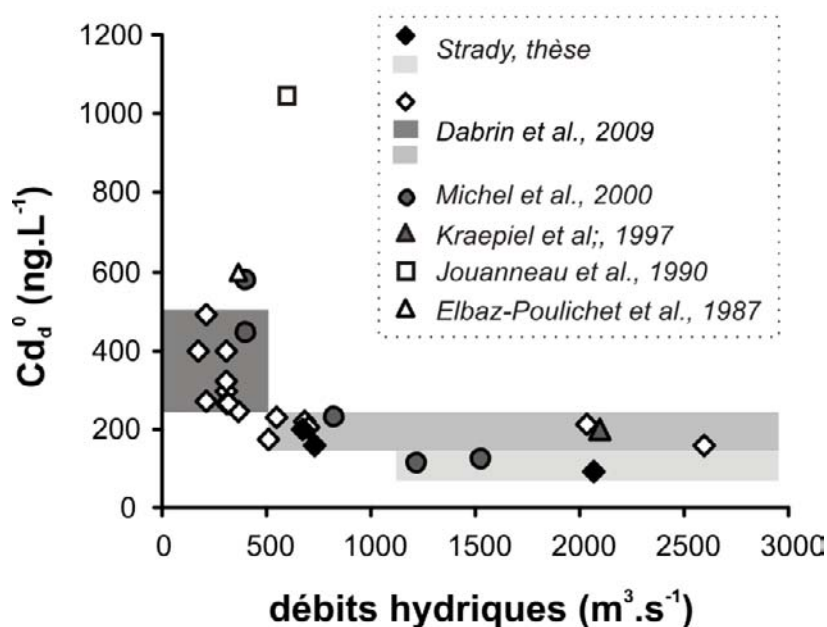


Figure II.1- 11: Compilation des concentrations théoriques Cd_d⁰ en fonction du débit hydriques de toutes les missions effectuées sur l'estuaire de la Gironde, de 1984 à 2009 (les données de cette thèse sont en losanges noirs et en rectangle gris clair). Le carré gris foncé représente la zone <500 m³.s⁻¹ avec des Cd_d⁰ variables tandis que le rectangle gris moyen représente la zone de débits >500 m³.s⁻¹ avec des Cd_d⁰ relativement constants (d'après Dabrin et al., 2009).

Dans les sections précédentes, nous avons pu observer que la distribution des Cd_d en avril 2008 (crue) présentait une addition moins prononcée que les autres profils avec un Cd_d^{max} relativement faible, laissant supposer (i) de faibles processus de désorption des particules et de formation de chlorocomplexes du à un temps de résidence court des particules (débit fort) et/ou (ii) une ZTM expulsée de l'estuaire durant la période de forts débits (de janvier à juin 2008). Or, la distribution des Cd_p en avril 2008 montre des Cd_p^{max} relativement faibles ($0,35 \text{ mg.kg}^{-1}$; Figure II.1- 11) en comparaison des autres profils, suggérant une diminution des concentrations en Cd des particules et engendrant des Cd_d plus faibles. Ainsi, nous supposons que cette diminution de Cd_d^0 en période de crue n'est pas une anomalie et reflète à la fois la complexité de la dynamique estuarienne et une tendance à la décontamination des Cd_p dans le temps, l'équilibre étant régi par la phase particulaire.

Les flux nets journaliers de Cd_d estimés pour ces trois profils varient de 9 kg.j^{-1} en mars 2009 à 17 kg.j^{-1} en avril 2008 et sont du même ordre de grandeur que les flux estimés de 2001 à 2007 dans les moyens débits et deux fois plus faibles pour le flux estimé en crue. La synthèse des flux nets journaliers de Cd_d estimés en Gironde depuis les années 1980 en fonction des débits hydriques est présentée sur la Figure II.1- 12. Cette figure montre les différentes relations observées entre les flux nets journaliers et les débits suivant les années de prélèvements. Ces relations peuvent être caractérisées par des droites linéaires, dont la pente diminue avec la progression dans le temps. A partir de ces relations, trois domaines se distinguent :

- les années 1980 (Elbaz-Poulichet et al., 1987; Jouanneau et al., 1990) où la pente de la droite est forte, montrant des flux nets journaliers élevés pour des débits faibles à moyens.
- les années 1990, caractérisées par deux relations basées sur les données de 1991 (Boutier et al., 2000) et 1994 (Kraepiel et al., 1997) dont la pente diminue aussi en fonction de la progression dans le temps. Les flux déterminés en 1997-1998 (Michel et al., 2000) s'intègrent partiellement à ce domaine, les flux étant constants quelque soient les débits. Dans ce domaine, une valeur seuil de flux nets journaliers est atteinte pour des différents débits, moyens et de crue, montrant la faible influence du débit sur le flux net journalier.
- les années 2000, basées sur les données de Dabrin et al., (2009) et de cette thèse, sont caractérisées par deux droites aux pentes très faibles. Dans ce domaine, les flux nets journaliers observés sont cinq fois moins importants que les flux déterminés dans les années 1980 pour un même débit. De plus, les flux varient peu pour une gamme de

débites prononcée, montrant l'influence de plus en plus faible du débit sur l'augmentation des flux.

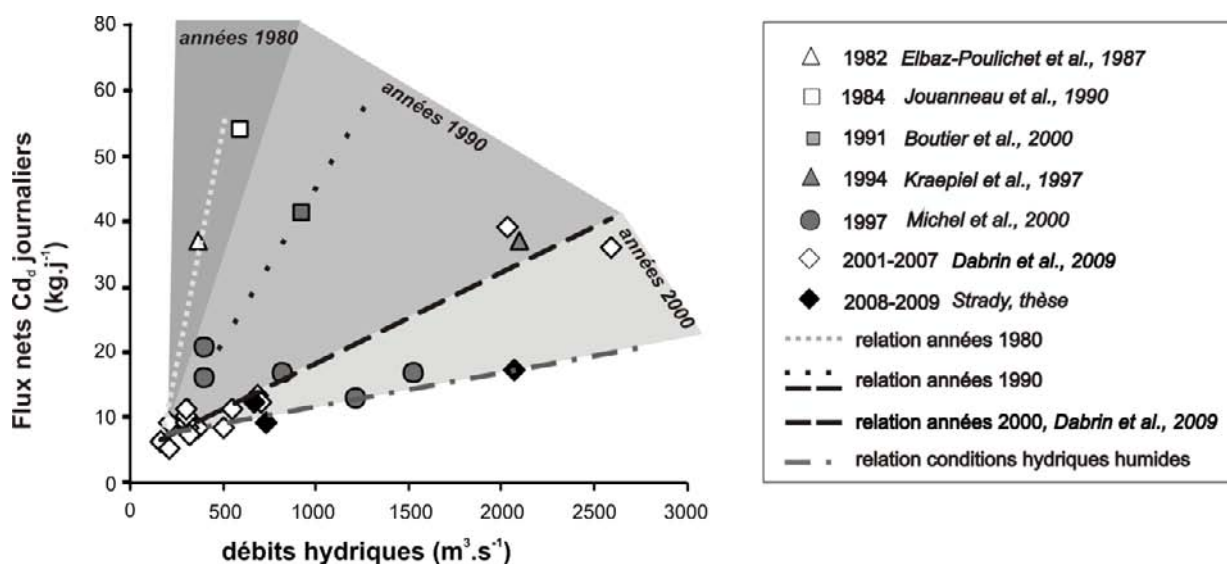


Figure II.1- 12: Flux nets de Cd journaliers en fonction du débit hydrique de toutes les missions effectuées sur l'estuaire de la Gironde, de 1982 à 2009 (les données de cette thèse sont en losanges noirs).

Cet ensemble d'observations montre que :

- les flux nets journaliers ont diminué dans le temps indépendamment du débit,
- l'influence du débit est de plus en plus faible sur l'augmentation des flux nets journaliers en Cd_d dans l'estuaire
- les apports en Cd dissous et particulaires dans l'estuaire jouent un rôle majeur dans la variabilité des flux nets journaliers au cours du temps.

Ainsi, deux facteurs sont impliqués de façon concomitante dans la dynamique de Cd dans l'estuaire : (i) l'hydrologie du système et (ii) la qualité des eaux entrants dans l'estuaire.

Les conditions hydriques du système peuvent influencer sur les flux nets journalier de Cd_d. La très faible influence du débit sur les flux estimés en 1997-1998 par Michel et al., (2000) et en 2008 lors de la crue, également observée sur les Cd_d⁰ et figurée par un nouveau domaine (Figure II.1- 11), a été établie pour des années hydriques particulières, passant de périodes sèches à humides (Figure II.1- 8). En effet, la variation des débits annuels de la Gironde depuis les années 1982 (Figure II.1- 8) montre que ces périodes particulières ont été observées pour les années 1987-1988, 1991-1992, 1997-1999, 2002-2004 et 2007-2008. Nous observons que les flux nets journaliers estimés sont moins importants lors de ces périodes hydriques particulières. Nous suggérons alors que ce changement hydrique (augmentation importante des débits annuels) influe sur le temps de résidence des particules et sur l'intensité

des processus de désorption, qui deviennent alors moins importants et entraînent une diminution du flux exporté.

Depuis les années 1990, les concentrations en Cd_d et Cd_p sont mesurées mensuellement sur la Garonne à La Réole, limite amont de la marée dynamique (Figure II.1- 12), et ont permis de déterminer les flux bruts annuels de Cd_d , Cd_p et Cd_{total} entrants dans l'estuaire (Bossy et al., 2007). Ces flux bruts annuels de Cd_{total} sont dominés par les débits et les flux particuliers (Figure II.1- 13), la phase particulaire étant majoritaire apportée par la Garonne (Schäfer et al., 2002; Audry et al., 2003, 2004a; Masson et al., 2006). Les années 1990-1991, 1997-1998, 2001-2002 et 2004 à 2008 sont caractérisés par des faibles flux en Cd_{total} entrant dans la Gironde. En supposant des temps de résidence des eaux de 20 à 86 jours (Castaing and Jouanneau, 1979) et des particules de 150 à 400 jours (Saari, 2008), les variations annuelles des apports en Cd à l'estuaire influent sur le stock de Cd dans l'estuaire et sur les flux exportés (Audry et al., 2003; Masson et al., 2006; Dabrin et al., 2009). Bien que les variations journalières des apports et des exports en Cd soient beaucoup moins évidentes à corrélérer, le facteur d'amélioration de la qualité des eaux est à prendre en compte dans la variabilité des flux nets journaliers établie sur les trente dernières années.

La détermination des flux nets journaliers de Cd dissous sortant de l'estuaire de la Gironde depuis les années 1982 est une base de données très riche et très intéressante pour comprendre la dynamique des processus estuariens. Ces observations nous ont permis de voir (i) une décontamination de l'estuaire en Cd dissous depuis les années 1980 (ii) une double dépendance des flux nets par rapport aux débits. En effet, nous avons observé à la fois :

- une influence notable du débit sur les flux nets lors de situations hydrologiques annuelles moyennes et peu contrastées temporellement, montrée par la relation établie par Dabrin et al., (2009) pour les années 2001-2002 et 2004-2007, et la relation établie dans les années 1980 pour les années 1982 et 1984.
- une influence faible du débit sur les flux nets lors de situations hydrologiques particulières passant de périodes sèches suivies de périodes de forts débits, montré par l'absence de relations entre les flux nets journaliers et les débits en 1997-1998 (Michel et al., 2000) et la faible pente observée pour les flux de 2008-2009 (Figure II.1- 12).

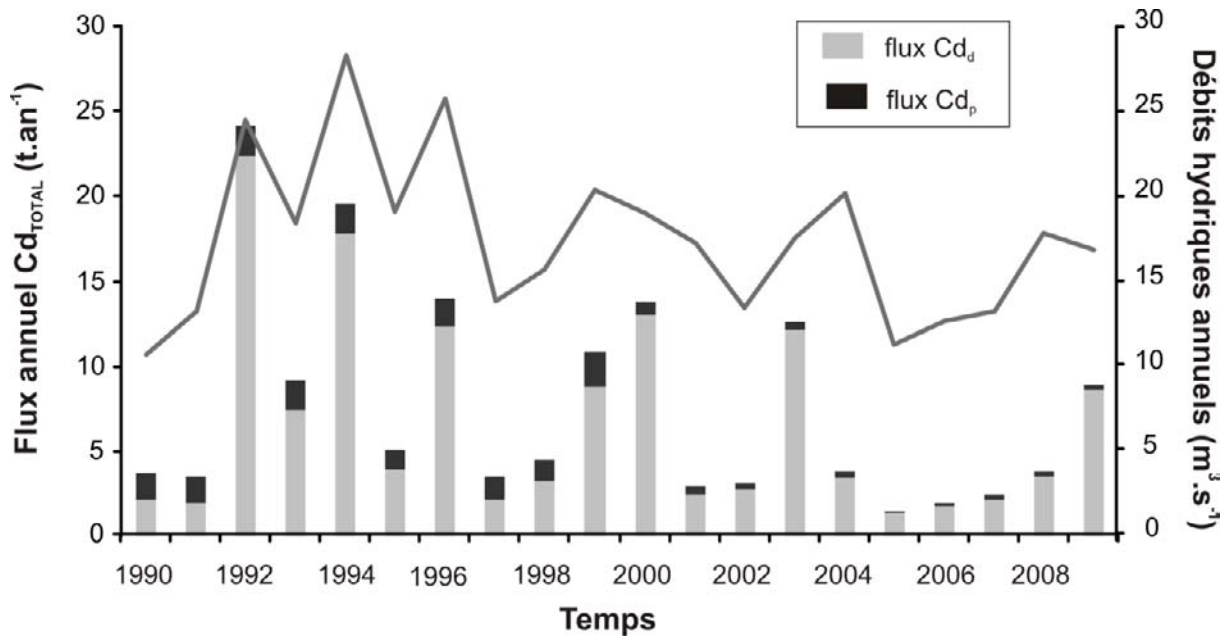


Figure II.1- 13: Variations des flux bruts annuels de Cd total et des débits hydriques annuels de la Garonne de 1990 à 2009.

2. Flux nets annuels de Cd dissous

Les flux nets annuels de Cd dissous ont été extrapolés en utilisant la relation développée par Dabrin et al. (2009) se basant sur la variation de Cd_d^0 en fonction du débit (Equation II.1- 1).

$$^{Min} F_{net} Cd_d = (Cd_{d(Qi>500)}^0 * \Sigma Qi_{(Qi>500)}) + ((^{min} Cd_{d(Qi<500)}^0 * \Sigma Qi_{(Qi<500)})$$

$$^{Max} F_{net} Cd_d = (Cd_{d(Qi>500)}^0 * \Sigma Qi_{(Qi>500)}) + ((^{max} Cd_{d(Qi<500)}^0 * \Sigma Qi_{(Qi<500)})$$

Equation II.1- 1: Détermination des flux nets annuel de cd dissous

En effet, pour des débits $Qi < 500 \text{ m}^3.s^{-1}$, les Cd_d^0 varient (carré gris Figure II.1- 11) d'une gamme minimale de $^{min} Cd_d^0 247 \pm 31 \text{ ng.L}^{-1}$ à une gamme maximale de $^{max} Cd_d^0 490 \pm 38 \text{ ng.L}^{-1}$ alors que pour des débits $Qi > 500 \text{ m}^3.s^{-1}$, les Cd_d^0 sont constantes autour de $201 \pm 28 \text{ ng.L}^{-1}$ selon Dabrin et al. (2009) (rectangle gris, Figure II.1- 11). Les flux nets annuels de Cd_d extrapolés varient alors de $4,8 \pm 0,7$ à $5,6 \pm 0,7 \text{ t.an}^{-1}$ en 2008 et de $5,1 \pm 0,7$ à $6,0 \pm 0,7 \text{ t.an}^{-1}$ en 2009. En prenant compte la variabilité de Cd_d^0 jusqu'en 2009, nous observons que pour des débits $Qi > 500 \text{ m}^3.s^{-1}$, les Cd_d^0 sont constantes autour de $185 \pm 41 \text{ ng.L}^{-1}$. Les flux nets annuels de Cd_d extrapolés varient alors de $5,1 \pm 1,1$ à $5,9 \pm 1,1 \text{ tonnes.an}^{-1}$ en 2008 et de $4,8 \pm 1,0$ à $5,7 \pm 1,0 \text{ tonnes.an}^{-1}$ en 2009, et diffèrent peu des flux extrapolés selon les données de Dabrin et al. (2009). Par soucis d'homogénéité entre les

données, la variation temporelle des flux nets de Cd_d extrapolés selon Dabrin et al., (2009) et des débits hydriques annuels depuis 2001 est synthétisée dans la Figure II.1- 14.

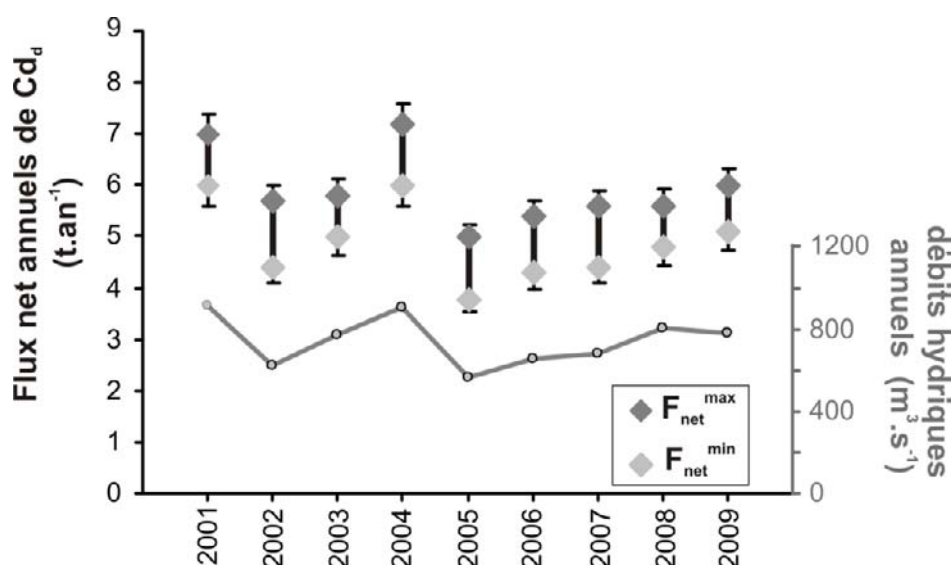


Figure II.1- 14: Variations inter-annuelles des flux nets annuels minimaux et maximaux de Cd dissous sortant de l'estuaire de la Gironde et des débits hydriques annuels.

Les flux nets annuels de Cd_d extrapolés pour 2008 et 2009 sont dans la gamme des flux observés depuis 2001, et sont plus importants que les flux des trois années précédentes 2005, 2006 et 2007. Cette augmentation de flux nets annuels de Cd_d sur les deux dernières années est à mettre en relation avec l'augmentation des flux bruts de Cd_{total} entrants dans la Gironde, mais aussi l'augmentation légère des débits hydriques sur la Garonne et sur la Gironde (Figure II.1- 13; Figure II.1- 14). Le rôle du débit dans l'estimation des flux nets annuel est primordial puisque nous remarquons que la diminution des années précédentes est liée à des diminutions de débits hydriques annuels et que les années 2003, 2008 et 2009 présentent des flux nets de Cd_d et des débits hydriques annuels comparables.

VI. Conclusions et perspectives

Ce chapitre a mis en évidence les points suivants :

- L'addition de Cd dissous dans l'estuaire dépend des débits hydriques journaliers, avec en périodes de forts débits des eaux diluées et une addition moins marquée

qu'en étiage. Cette addition dépend ainsi de l'intensité des processus de désorption prenant lieu dans l'estuaire mais aussi du temps de résidence des particules.

- Le Cd particulaire a un comportement conservatif dans le gradient de salinité avec des variabilités à l'embouchure liées aux processus de sorption. La stratégie d'échantillonnage a permis de mettre en évidence une diminution temporelle des Cd_p moyennes dans l'estuaire, témoignant d'une décontamination en Cd particulaire de l'estuaire de la Gironde.
- Les différentes relations linéaires observées entre les flux nets journaliers et les débits hydriques journaliers ont permis de montrer une nette diminution des flux nets journaliers en Cd dissous entre les années 1980 et 2000 pour un même débit, et une baisse de Cd dissous exporté à la zone côtière de façon journalière.
- Ces relations ont aussi montré le rôle du débit et des conditions hydrologiques générales sur l'augmentation des flux nets journaliers, avec des Cd_d^0 qui varient peu en périodes de forts débits hydriques. De plus, en périodes hydrologiques particulières, humides précédées d'une année sèche, l'influence du débit apparaît comme plus faible qu'en conditions moyennes et peu contrastées.
- Les flux nets annuels de Cd_d pour 2008 et 2009 sont supérieurs aux années précédentes et évoluent de simultanément avec les flux bruts de Cd_p entrant dans la Gironde, montrant le rôle clé du débit hydrique sur les flux annuels.
- Le rôle des débits est alors variable suivant l'échelle de flux considéré. Sa contribution sur les flux est difficile à isoler puisque les variabilités de débits considérées sont beaucoup plus importantes que les variabilités de concentrations et que sa variabilité influe aussi sur les concentrations. Ainsi, nous pensons que la meilleure approche pour observer l'évolution du Cd dans l'estuaire de la Gironde est de conserver une stratégie d'échantillonnage pluri-annuelle, d'estimer les flux journaliers et annuels et d'établir des modèles empiriques pour prédire l'évolution de ce système.

CHAPITRE II.2

COMPORTEMENT DU CADMIUM DANS L'ESTUAIRE DE LA CHARENTE

I. Introduction

L'estuaire de la Charente est un environnement macrotidal peu étudié et peu documenté. Depuis des années, les efforts sont portés sur la baie de Marennes Oléron en raison de sa forte production conchylicole. Les suivis effectués par le RNO sont axés sur des thématiques biologiques et écologiques, comme la distribution saisonnière des sels nutritifs (Soletchnik et al., 1998), ressources importantes pour le développement du phytoplancton dans l'estuaire et dans la baie (Thomas et al., 1999).

Dans le cadre de la pollution en Cd du système Girondin et des concentrations en Cd élevées des huîtres observées dans la baie de Marennes Oléron par le RNO depuis les années 1980, les apports en Cd par l'estuaire de la Charente ont toujours été considérés comme faibles (Boutier et al., 2000). Cependant, Dabrin (2009) a montré que les flux bruts spécifiques de Cd total de la Charente sont supérieurs aux flux bruts spécifiques de la Garonne, connue pour sa pollution polymétallique (Audry, 2003; Audry et al., 2003, 2004a; Audry et al., 2004b; Audry et al., 2005; Masson et al., 2006; Schäfer et al., 2006; Coynel et al., 2007; Masson, 2007). Les flux nets de Cd exportés à la baie divergent suivant les études, montrant des apports en Cd_d de 57 kg.an⁻¹ (Boutier et al., 2000) à 240 kg.an⁻¹ (Dabrin, 2009) et en Cd_p de 3 kg.an⁻¹ (Boutier et al., 2000) à 30 kg.an⁻¹ (Dabrin, 2009). Dans ce contexte, il nous paraît indispensable de caractériser le comportement de Cd et sa variabilité dans cet estuaire, afin de proposer une quantification des apports en Cd dans la Baie par la Charente. Pour cela, nous présentons un jeu de données originales issues de trois campagnes en mer et d'une mission provenant des travaux commencés par Dabrin (2009) sur la distribution de Cd le long du gradient de salinité de l'estuaire. L'objectif de ce chapitre est de répondre aux problématiques suivantes :

- ✓ Quels sont les comportements de cadmium dissous et particulaire dans l'estuaire de la Charente ? Sont-ils identiques ou différents des autres estuaires reportés dans la littérature ?
- ✓ Quels sont les facteurs qui contrôlent ces distributions ?
- ✓ Y a-t-il des sources de Cd intra-estuariennes ?

- ✓ Quels sont les flux nets de Cd dissous atteignant la baie de Marennes Oléron ?

II. Stratégie d'échantillonnage

Quatre campagnes ont été réalisées sur le gradient de salinité de l'estuaire de la Charente en condition de mi jusant: une première en octobre 2006 par Dabrin (2009) à bord d'une barge ostréicole, et trois durant cette thèse en novembre 2008, mars 2009 et septembre 2009 à bord de *l'Estran* (Université la Rochelle) (Tableau II.2- 1). Lors de ces missions, des matières en suspension ont été prélevées pour la détermination des concentrations en MES, en chlorophylle-a et en métaux particuliers et de l'eau pour la détermination des concentrations en métaux dissous. Les différents sites ont été géoréférencés par GPS.

date	nom des missions	débit du jour (m ³ .s ⁻¹)	coefficient de marée
octobre 2006	CHAMET	50	82-90
novembre 2008	PR1CHA	46	63-66
mars 2009	PR2CHA	43	95-101
septembre 2009	PR3CHA	12	100-104

Tableau II.2- 1: Dates, noms, débits hydriques journaliers et coefficients de marée des quatre missions effectuées sur l'estuaire de la Charente.

La variation des débits hydriques entrant dans la Charente dépend de la gestion des différents barrages positionnés sur le fleuve Charente et notamment de celui de Saint Savinien, le plus en aval. Les coefficients de marée des jours de missions sont assez variables, de moyens en novembre 2008 à des marées de vives eaux en septembre 2009 (Tableau II.2- 1).

III. Variations temporelles de cadmium dissous et particulaire dans l'estuaire de la Charente

1. Variations temporelles de Cd dissous

1.1. Présentation des distributions

Le cadmium dissous (Cd_d) dans l'estuaire de la Charente présente un comportement conservatif et additif plus ou moins marqué suivant les missions (Figure II.2- 1). En considérant que le pôle salinité 0 à une concentration en Cd_d de 10 ng.L^{-1} (Figure II.2- 1), inférieure à la concentration moyenne des Cd_d à Chaniers 23 ng.L^{-1} (Défi-Cadmium et al., 2009) et un pôle marin basé sur les Cd_d en eau côtière de l'Atlantique Nord (CASS-5, S :33,5 ; Cd_d : 21 ng.L^{-1}), nous pouvons tracer la droite de dilution théorique du Cd_d pour chaque profil. En septembre 2009, l'addition est bien marquée avec une concentration maximum de Cd_d (Cd_d^{max}) avoisinant les 50 ng.L^{-1} pour des salinités de 20 à 27. En novembre 2008 et mars 2009, les additions sont beaucoup moins importantes avec des Cd_d proches de la droite de dilution théorique. En novembre 2008, les Cd_d^{max} atteignent un plateau (30 ng.L^{-1}) dès la salinité 17, excédant de quelques ng.L^{-1} la concentration du pôle marin (21 ng.L^{-1}) alors qu'en mars 2009, les Cd_d^{max} observées dans l'estuaire n'excèdent pas ce pôle marin (excepté l'augmentation locale à S :26). Le profil d'octobre 2006, déjà présenté dans la thèse de Dabrin (2009), est comparable au profil de septembre 2009, avec une concentration Cd_d^{max} atteignant 70 ng.L^{-1} pour des salinités de 15 à 21. Les concentrations en MES durant ces trois campagnes présentent des distributions comparables, avec une forte turbidité ($> 500 \text{ mg.L}^{-1}$) de l'amont aux salinités 15 en octobre 2006, novembre 2008, mars 2009 et jusqu'aux salinités 30 en septembre 2009. La turbidité, comme pour l'estuaire de la Gironde, ne semble pas influencer la formation des chlorocomplexes et leurs distributions dans l'estuaire de la Charente (Figure II.2- 1).

Le comportement de Cd dissous dans l'estuaire de la Charente est typique du comportement observé dans les autres estuaires mondiaux (Boyle et al., 1982; Edmond et al., 1985; Elbaz-Poulichet et al., 1987; Boutier et al., 1993; Chiffoleau et al., 1994; Zwolsman et al., 1997; Boutier et al., 2000; Chiffoleau et al., 2001; Dabrin, 2009). Cependant, les distributions présentent une variabilité temporelle originale avec des Cd_d^{max} et des gammes de salinités correspondants à ces maxima très variables. Nous notons que les Cd_d^{max} mesurées en octobre 2006 (74 ng.L^{-1}) et septembre 2009 (54 ng.L^{-1}) sont du même ordre de grandeur que celles mesurées par Boutier et al. (2000) en janvier et décembre 1991 (50 et 47 ng.L^{-1} , respectivement).

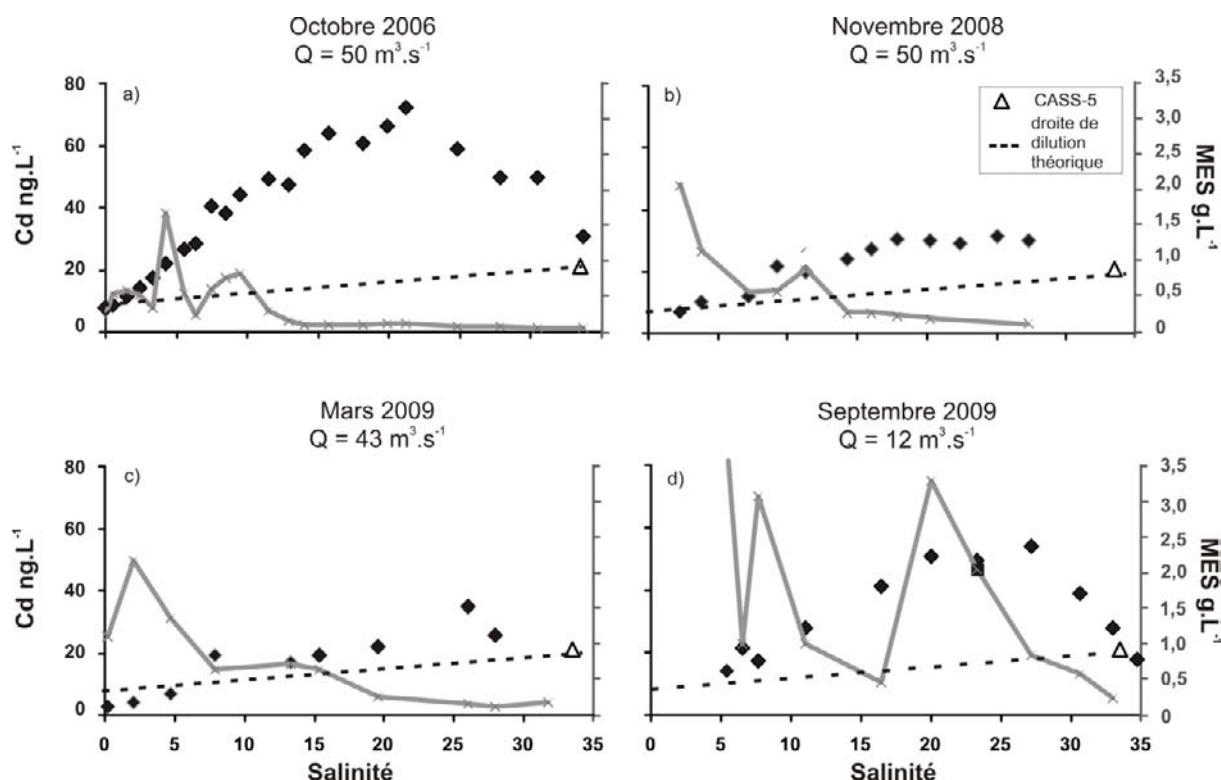


Figure II.2- 1: Comportement du Cd dissous (losange noir) et distribution des concentrations en MES (ligne grise) dans le gradient de salinité de l'estuaire de la Charente en a) octobre 2006 (Dabrin 2009), b) novembre 2008, c) mars 2009 et d) septembre 2009.

1.2. Rôles du débit hydrique et coefficient de marée sur la variation temporelle du cadmium dissous

Le débit hydrique entrant dans l'estuaire influence le temps de résidence des eaux et des particules (Castaing and Jouanneau, 1979), et indirectement la spéciation de Cd par les cinétiques des processus de désorption et de chloro-complexation (Elbaz-Poulichet et al., 1987; Masson, 2007). Pour les trois profils réalisés durant cette thèse, nous pouvons observer un effet du débit sur les Cd_d^{max} dans l'estuaire (Figure II.2- 2ab). Nous notons que les variations de ces débits sont faibles et ne représentent qu'une partie de la gamme des débits entrant dans l'estuaire ($10\text{-}450 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$). En intégrant les profil réalisés par Dabrin (2009) et Boutier et al. (2000), les variations des Cd_d^{max} dans l'estuaire ne sont plus reliées aux débits hydriques. Le cycle tidal en Charente induit un marnage important jusqu'à 7 m et donc une intrusion des eaux marines très variables. Néanmoins nous n'avons pu observer d'effet de ces intrusions, par les coefficients de marée, sur les distributions de Cd et les Cd_d^{m} (Figure II.2- 2b).

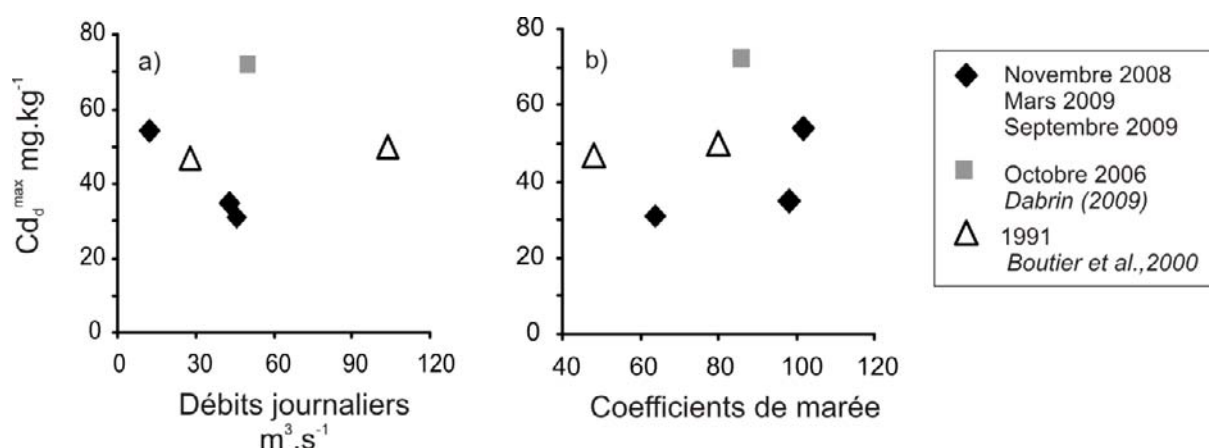


Figure II.2- 2: Concentrations maximales en Cd dissous dans l'estuaire de la Charente en fonction a) des débits journaliers et b) des coefficients de marée.

2. Variations temporelles de Cd particulaire

2.1. Profils de Cd particulaire

Dans le gradient de salinité de l'estuaire de la Charente, deux types de distributions ont été observées (Figure II.2- 3): (i) des distributions aux Cd_p constantes qui présentent une moyenne de concentrations en Cd particulaire (Cd_p^{moy}) sur le gradient de $0,20 \pm 0,03$ et $0,21 \pm 0,03$ mg.kg⁻¹ novembre 2008 et mars 2009 respectivement et (ii) des distributions plus bruitées montrant une faible diminution des Cd_p (processus de désorption) et des augmentations ponctuelles, avec des Cd_p^{moy} plus élevées $0,31 \pm 0,11$ et $0,36 \pm 0,12$ mg.kg⁻¹ (respectivement septembre 2009 et octobre 2006). Les Cd_p mesurées dans les faibles salinités sont très variables, de $0,23$ à $0,72$ mg.kg⁻¹ en mars 2009 et octobre 2006 respectivement, mais globalement plus faibles que les Cd_p mesurées sur la Charente fleuve à Chaniers ($4,89$ mg.kg⁻¹) et dans les sédiments retenus par le barrage de Saint Savinien ($0,7$ mg.kg⁻¹) par Dabrin (2009). A l'embouchure, les Cd_p mesurées varient de $0,15$ à $0,33$ mg.kg⁻¹ en novembre 2008 et octobre 2006 respectivement et sont proches des concentrations résiduelles des particules de la baie de Marennes Oléron mesurées par Dabrin (2009) durant sa thèse. En janvier et décembre 1991, Boutier et al., (2000) ont mesuré des Cd_p de $0,22$ et $0,34$ mg.kg⁻¹ respectivement dans l'estuaire de la Charente, soit du même ordre de grandeur qu'actuellement. Ainsi, les Cd_p dans l'estuaire de la Charente ne présentent pas de variabilité temporelle pluri-annuelle comme observée en Gironde.

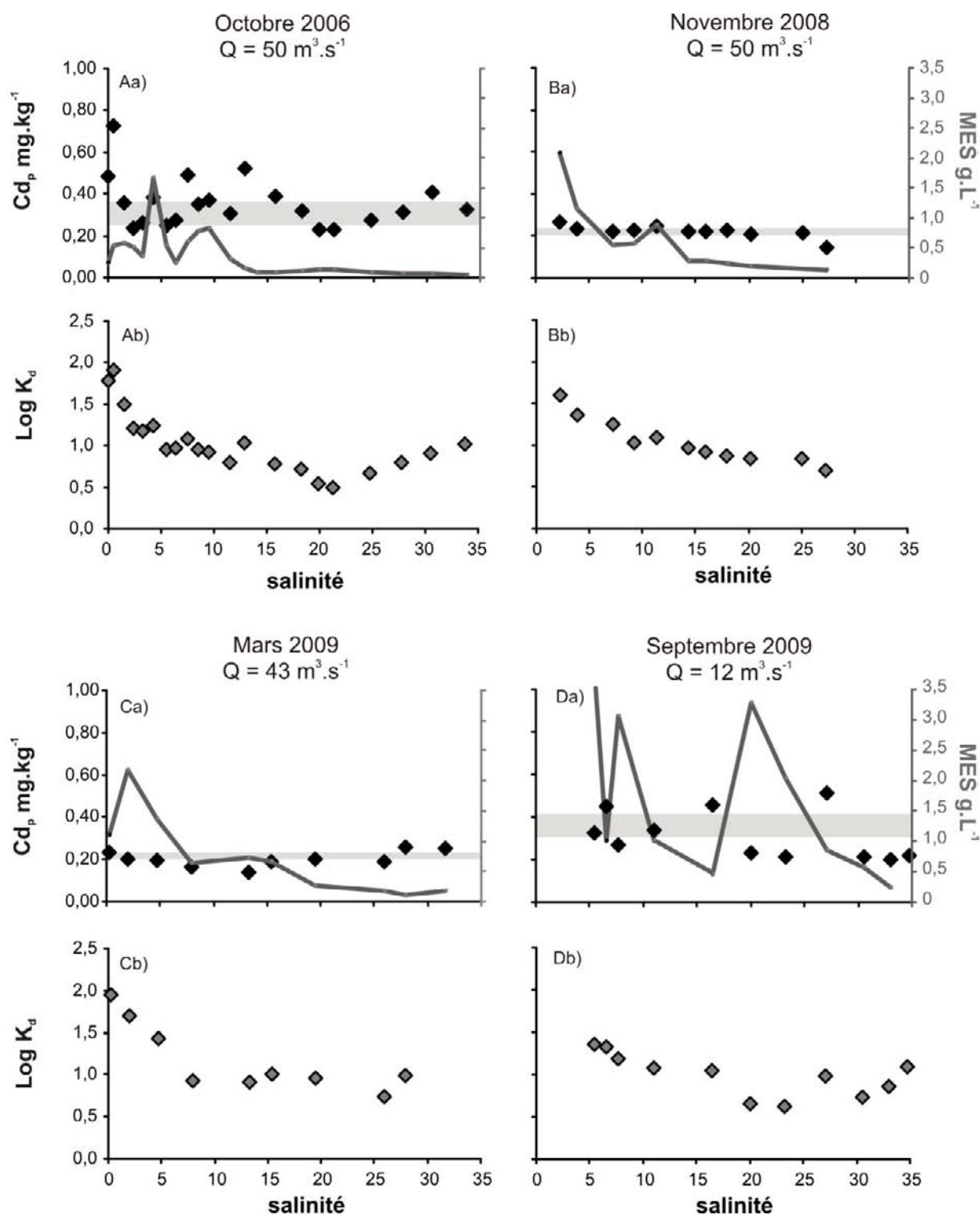


Figure II.2- 3: Distributions des concentrations en Cd_p dans le gradient de salinité de la Charente. A : octobre 2006 (Dabrin 2009), B : novembre 2008, C : mars 2009, D : septembre 2009, a : Cd_p et MES, b : $LogK_d$. l'aire grise représente la concentration moyenne de Cd_p et l'écart type sur tout le gradient

Les profils de coefficient de partage ($log K_d$) pour les quatre missions fluctuent de 1,9 au pôle rivière (lorsqu'il a pu être prélevé en octobre 2006 et mars 2009, Figure II.2- 3) et diminuent avec une intensité variable suivant les profils (Figure II.2- 3b). En novembre 2008 et mars

2009, le log K_d atteint un minimum de 0,8 dès les salinités 15 et 10 respectivement et reste constant jusque la salinité 30. Ceci confirme le faible échange de Cd entre les phases particulaires et dissoutes à partir de ces moyennes salinités, puisque (i) les Cd_p^{moy} sont très stables, $0,20 \pm 0,03$ et $0,21 \pm 0,03$ mg.kg⁻¹ (novembre 2008 et mars 2009 respectivement) et proches du bruit de fond géochimique du bassin versant de la Gironde (0,20 mg.kg⁻¹ (Larrose et al., accepted) et (ii) les additions peu prononcées (Figure II.2- 1). Ainsi, pour ces périodes, les particules sont quasiment désorbées en Cd dès la salinité 15 et sont en état d'équilibre dans le reste du gradient de salinité. Ces processus de désorption ont pris place dans les faibles salinités, de 0 à 15, et probablement dans l'estuaire fluvial (Masson, 2007) en vue de la différence de Cd_p observée entre les prélèvements à Chaniers et dans les faibles salinités. En octobre 2006 et en septembre 2009, les profils de log K_d ressemblent plus aux distributions déterminées sur la Gironde (Figure II.1- 4), avec une diminution du log K_d jusqu'à une valeur de 0,6 à la salinité 20 puis une légère augmentation du rapport dans les salinités supérieures à 25. Pour ces deux profils, les échanges entre les phases dissoutes et particulaires opèrent dans tout le gradient de salinité, comme en témoigne les additions de Cd_d et les variabilités des concentrations en Cd_p . Les profils des log K_d sont bruités, témoignant de nombreux échanges entre les phases et surtout de l'état non stationnaire du système pour ces deux périodes.

2.2. Facteurs influençant la variabilité temporelle de Cd particulaire

La variabilité temporelle des Cd_p dans l'estuaire de la Charente peut être en premier lieu influencée par les temps de résidence des eaux et des particules, contrôlés eux-mêmes par les débits et les cycles tidaux. Les débits hydriques des jours de missions ainsi que les variations du marnage et la remobilisation des sédiments de surface ne semblent pas influencer les Cd_p , les deux types de distribution ayant été observés pour des débits et coefficients de marée comparables (Tableau II.2- 1). Les apports en Cd_p amenés par le bassin versant peuvent également influencer la variabilité temporelle observée dans l'estuaire. Dans le cadre du Défi Cadmium des prélèvements mensuels d'eau et de particules effectués à Chaniers de 2006 à 2008 ont permis d'observer une gamme de Cd_p variant de 1,21 à 9,86 mg.kg⁻¹ et de moyenne 4,89 mg.kg⁻¹ (Dabrin, 2009), reflétant la diversité des natures géologiques du bassin versant de la Charente et les différentes sources anthropiques. Pour les profils d'octobre 2006 et novembre 2008, nous avons comparé les Cd_p mesurées à Chaniers, aux plus faibles salinités échantillonnées, puis aux concentrations moyennes dans le gradient de salinité (Figure II.2- 3). Les apports en Cd_p amenés par le bassin versant étant temporellement très variables, les particules peu chargées en Cd (1,6 mg.kg⁻¹; Tableau II.2- 2) auront une cinétique de

désorption en Cd beaucoup plus rapide que les particules très chargées ($9,2 \text{ mg.kg}^{-1}$; Tableau II.2- 2). Cette variabilité des cinétiques de désorption s'observe alors dans les concentrations en Cd des particules prélevées dans l'estuaire, qui présentent soit des particules quasiment entièrement désorbées en Cd (septembre 2008 et mars 2009) soit partiellement (octobre 2006 et septembre 2009). Les apports en Cd_p du bassin versant de la Charente jouent alors un rôle clé dans la dynamique estuarienne du Cd_p .

Les variabilités de plus forte amplitude présentées en octobre 2006 et septembre 2009 respectivement dans les faibles salinités et ponctuellement dans le gradient peuvent provenir de processus locaux de désorption dans l'estuaire mais aussi de la bioaccumulation de Cd par les organismes planctoniques. Cette hypothèse est étudiée dans la thèse de Modéran (*L'estuaire de la Charente : Structure de communauté et écologie trophique planctonique, approche écosystémique de la contamination métallique*).

Date	Charente Chaniers Cd_p (mg.kg^{-1})			Charente Estuaire Cd_p (mg.kg^{-1})	
	prélèvements	mensuel	moyenne 3 mois	faibles salinités estuaires	Cd_p^{moy}
octobre 2006	23/10/2006	7,11	7,07	0,50 - 0,70 (S:0 à 0,5)	$0,36 \pm 0,12$
	25/09/2006	5,19			
	31/08/2006	6,75			
	02/08/2006	9,22			
novembre 2008	24/11/2008	2,06	2,07	0,27 (S: 2,3)	$0,20 \pm 0,03$
	31/10/2008	1,60			
	06/10/2008	2,44			
	12/09/2008	2,17			

Tableau II.2- 2: Concentrations en Cd des particules prélevées mensuellement à Chaniers dans le cadre du Défi Cd, dans les faibles salinités de l'Estuaire de la Charente et moyennées sur le gradient de salinité.

2.3. Variations des concentrations dans la partie fluviale de l'estuaire

Le gradient de concentrations mesurées entre Chaniers ($4,89 \text{ mg.kg}^{-1}$) et les sédiments retenus dans le barrage de Saint Savinien ($0,7 \text{ mg.kg}^{-1}$) est considérable (Dabrin, 2009), et montre une réelle baisse des Cd_p entre Chaniers, le barrage puis l'estuaire (Figure I-1 11). Deux études ont été réalisées sur les concentrations des sédiments piégés par le barrage en 1988 (Gonzalez et al., 1991) et 2005 (Dabrin, 2009) montrant (i) des profils très variables aux Cd_p moyennes diminuant dans le temps et (ii) une origine estuarienne des sédiments retenus par le barrage (Dabrin, 2009), témoignant de la dynamique sédimentaire particulière de ce barrage principalement liée à sa gestion (Schmidt et al non publié). La nature estuarienne des sédiments du barrage et leurs faibles concentrations en Cd_p montrent que le barrage n'influence pas le stock de Cd dans l'estuaire. La diminution des Cd_p observées entre Chaniers et les points prélevés aux salinités entre 0 et 2 prendrait alors place géographiquement entre Chaniers et le barrage de Saint Savinien, dans l'estuaire fluvial. Ces

diminutions peuvent être contraintes par les processus suivants, de façon simultanée, qui seront à approfondir par la suite :

- ✓ une désorption dans l'estuaire fluvial (observé en Gironde, (Masson, 2007) accompagnée de chlorocomplexation du Cd. Or, nous n'avons pas observé d'augmentation de concentrations en Cd_d qui sont même légèrement inférieures à Chaniers, faisant appel à l'hypothèse suivante,
- ✓ un piégeage de Cd_p dans les sédiments et marais lors des périodes d'irrigation ou de forts débits.
- ✓ une dilution par l'affluent Seugne, situé à l'aval de Chaniers. Cette hypothèse pourrait expliquer la diminution de Cd_p et Cd_d dans les faibles salinités et au niveau du barrage.
- ✓ une dilution par des particules moins chargées en provenance de l'estuaire, dont la conséquence serait également une diminution de Cd_p et Cd_d .

IV. Variations spatiales des concentrations en Cd

L'estuaire de la Charente présente des distributions de Cd_d et Cd_p originales, variant à la fois temporellement et spatialement. En effet, nous avons pu observer sur ces différents profils des augmentations ponctuelles et récurrentes des concentrations en Cd_d pour des salinités variant de 6,5 à 9,2 (Figure II.2- 4). Ces variations de concentrations ont alors été regardées sous un nouvel angle, non plus en fonction de la salinité mais en fonction de la localisation géographique (géo-référencement par GPS).

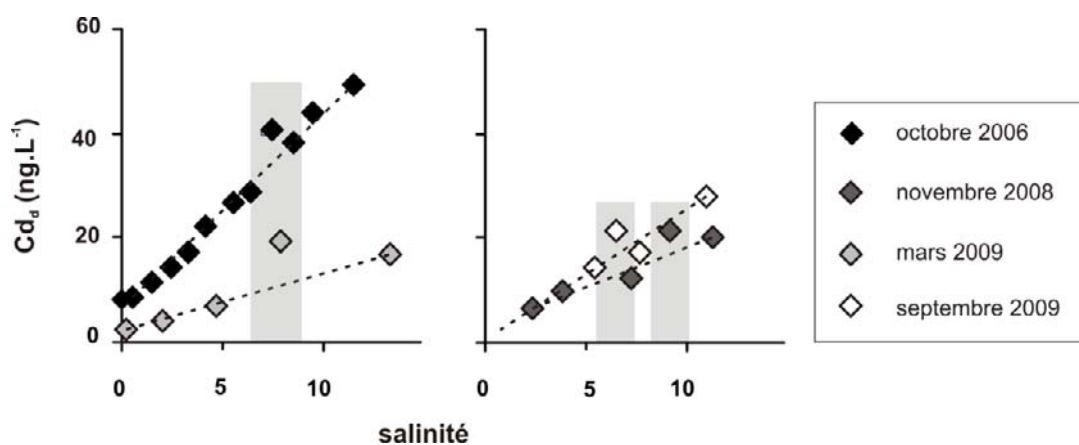


Figure II.2- 4: Zoom sur les distributions en Cd_d dans les faibles salinités des quatre profils. La droite en pointillé montre l'augmentation de Cd_d avec la salinité, les aires grisées montrent les zones où les anomalies sont observées.

1. Etendue spatiale

De façon générale, les sources de métaux sur un bassin versant sont difficiles à identifier, en raison que seules les grosses industries et usines sont soumises à un contrôle de l'Etat. Dans la partie aval du fleuve Charente, la DRIRE (Directions Régionales de l'Industrie de la Recherche et de l'Environnement) a recensé en 2003 des rejets en Cd provenant de l'usine de SAFT (23 kg.an^{-1}) à Nersac, situé à 100 km environ de l'embouchure. Sur la partie estuarienne, l'Agence de l'Eau Adour Garonne et la DRIRE suspectent un site situé à Tonnay sur Charente (10 km en amont de Rochefort) aujourd'hui dédié à la fabrication d'engrais par la SECMA et anciennement occupé par une usine de retraitement des minerais de zinc dont l'activité au début du siècle dernier aurait engendré une quantité importante de déchets contaminés. De plus, des concentrations en Cd_d relevées dans des fossés de ce site suite à une crue de la Charente (7 mars 2007) ont montré des concentrations comprises entre 1,3 et $140 \mu\text{g.L}^{-1}$ soit près de 30 à 4500 fois plus que les concentrations mesurées dans les eaux de surface de la Charente fleuve (Dabrin, 2009)..

Afin d'évaluer l'étendue spatiale de ces augmentations ponctuelles et récurrentes de Cd aux faibles salinités, nous avons localisé sur une photo aérienne en utilisant Géoportail® les sites de prélèvements présentant des augmentations de Cd (gros points) et les prélèvements non perturbés encadrant ces salinités (petits points) (Figure II.2- 5). Cette représentation spatiale montre tout d'abord la faible étendue géographique concernée, entre Soubise et Vergeroux (soit maximum 5 km de long) situé à l'aval de Rochefort et à 10 km de l'embouchure. Les petites industries susceptibles de relarguer du Cd dans cette zone ne sont à notre connaissance pas recensées. De plus, nous rappelons que les prélèvements ont été effectués en mi-jusant, lorsque les courants fluviaux et maritimes sont dirigés vers l'embouchure. Ainsi, la source récurrente et localisée de Cd se situerait en amont de Soubise, vers Rochefort ou Tonnay, pour les raisons précédemment énoncées.

Cette source de Cd a la particularité d'être décelée de façon très ponctuelle sur une masse d'eau réduite, suggérant un apport temporaire. En effet, une source permanente de Cd ou autre contaminant entraîne une zone de mélange, avec un gradient de concentrations décroissant de la source vers l'aval, de façon continue dans le temps. Or, nos profils ne montrent pas cet aspect et suggèrent plutôt un apport ponctuel à un moment spécifique de la marée. La situation de l'étalement de flot est propice à une telle situation puisque le marnage est à son maximum, permettant une connexion temporaire avec une source potentielle type canal ou plaine. Avec la propagation de la marée, les masses d'eau à mi jusant se retrouvent alors plus en aval. Les résultats acquis par ces travaux ne permettent pas de localiser précisément la source de Cd mais d'après le contexte environnemental énoncé précédemment, l'hypothèse

d'une source de Cd émise par l'ancien site métallurgique à Tonnay est renforcée. La question de la quantification et l'importance de ces apports à l'estuaire puis à la baie se pose alors.

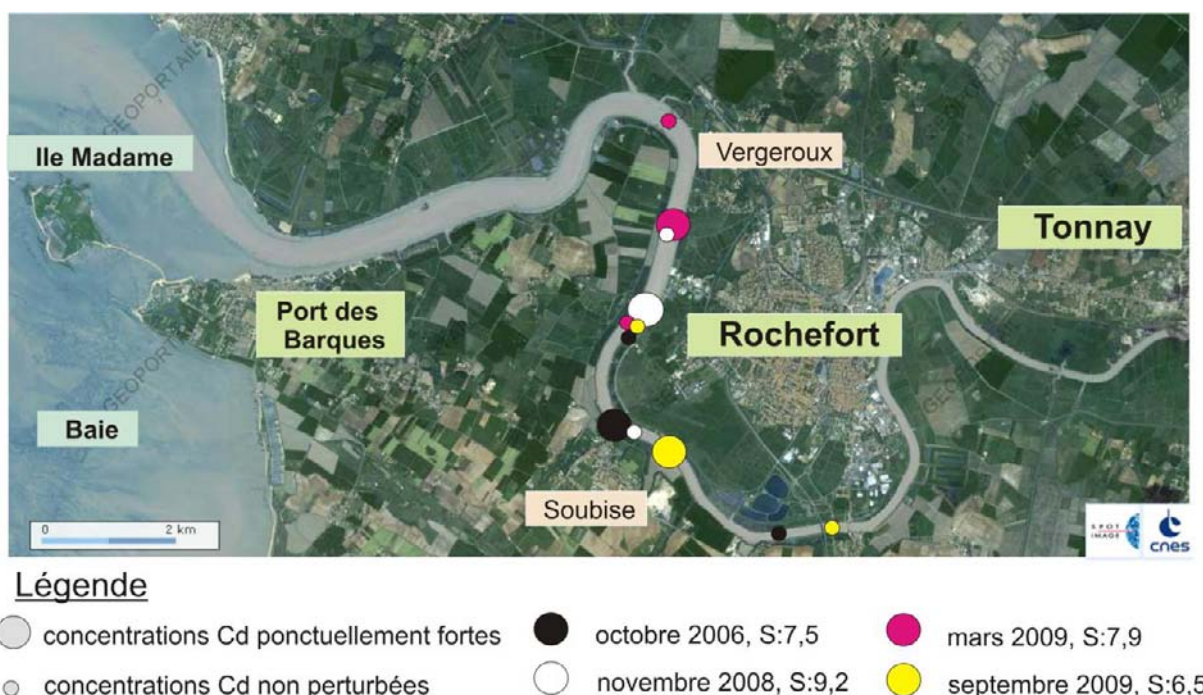


Figure II.2- 5: Localisation spatiale (géoréférencement par GPS) des échantillons prélevés en mi-jusant dans la gamme de salinité présentant des augmentations de Cd dissous et particuliers ponctuels

2. Quantification des apports

La quantification des apports d'un contaminant à un environnement se base généralement sur les concentrations mesurées dans la zone source puis dans la zone de mélange et de gradient, afin de déterminer un facteur de dilution et un flux si les débits à la source sont mesurés. Dans notre étude, nous observons l'apport du Cd après dilution sur une gamme de salinité très réduite correspondant à un prélèvement et pouvons mesurer la concentration finale après l'impact dans l'environnement. Les apports en Cd_d sont alors estimés par l'écart observée entre le point anormalement élevé et la distribution typique additive ou conservative observée et représentée sous forme de régression linéaire (Tableau II.2- 3). Ainsi, après dilution, les apports en Cd_d varient de 0,005 à 0,008 $\mu g.L^{-1}$ soit une augmentation de 18 à 73% des concentrations attendues par l'addition de Cd_d . En terme de bilan, ces concentrations ne semblent pas perturber la suite des distributions malgré des apports notables.

date	droite caractérisant la partie additive de Cd_d (sans les concentrations perturbées)	salinité	$[Cd]_d$ attendue ($\mu g.L^{-1}$)	$[Cd]_d$ mesurée ($\mu g.L^{-1}$)	Apports en $[Cd]_d$ ($\mu g.L^{-1}$)	%
octobre 2006	$[Cd]_d = 0,0036 \cdot S + 0,0071$	7,5	0,034	0,041	0,006	18%
novembre 2008	$[Cd]_d = 0,0015 \cdot S + 0,0032$	9,2	0,017	0,022	0,005	29%
mars 2009	$[Cd]_d = 0,0011 \cdot S + 0,0023$	7,9	0,011	0,019	0,008	73%
septembre 2009	$[Cd]_d = 0,0026 \cdot S - 0,0006$	6,5	0,016	0,021	0,005	31%

Tableau II.2- 3: Caractérisation des apports en Cd associés à l'augmentation des concentrations en Cd_d observées dans les faibles salinités des quatre profils réalisés sur l'estuaire de la Charente.

V. Flux nets de Cd

1. Flux nets de Cd dissous

1.1. Estimation des flux nets journaliers de Cd

Les flux nets journaliers de Cd dissous ont été déterminés par la méthode de Boyle, à partir de l'estimation des concentrations théoriques à salinité $S=0$ (Cd_d^0) et des débits hydriques journaliers (Tableau II.2- 4). Les salinités de la baie de Marennes Oléron étant légèrement variables suivant le mélange des masses d'eau côtière et estuarienne, il est difficile de caractériser un pôle marin pour cette zone et donc de déterminer une régression linéaire correcte dans les fortes salinités. Ainsi, nous avons estimé la concentration théorique (Cd_d^0) selon deux méthodes, la première en considérant seulement les points de prélèvements des fortes salinités (Tableau II.2- 4) et la seconde en utilisant un pôle marin, l'eau de référence des eaux côtières d'Atlantique Nord CASS-5, de salinité 33,5 et Cd_d de 21 $ng.L^{-1}$.

date	débits ($m^3.s^{-1}$)	pôle côtier CASS-5	gamme salinité	régression linéaire	Cd_d^0 ($ng.L^{-1}$)	n	R ²	flux journalier ($kg.j^{-1}$)
janvier 1991	104		26,0 - 33,5	$[Cd]=-1,0 \cdot [S] + 68$	68	6	0,81	0,59
décembre 1991	28		27,1 - 34,7	$[Cd]=-0,4 \cdot [S] + 55$	55	6	0,82	0,14
octobre 2006	50	sans avec	21,2 - 33,7 21,2 - 33,7	$[Cd]=-3,0 \cdot [S] + 135$ $[Cd]=-3,5 \cdot [S] + 148$	135 148	5 6	0,94 0,90	0,33 0,32
novembre 2008	46	sans avec	17,9 - 27,3 17,9 - 33,5	$[Cd]=-0[S] + 30$ $[Cd]=-0,5 \cdot [S] + 42$	30 42	5 6	0,10 0,61	1,09 1,52
mars 2009	43	sans avec	26,0 - 33,5	n.d. $[Cd]=-1,7 \cdot [S] + 42$	n.d. 42	2 3	n.d. n.d.	n.d. n.d.
septembre 2009	12	sans avec	27,1 - 34,7 27,1 - 34,7	$[Cd]=-4,7 \cdot [S] + 181$ $[Cd]=-4,8 \cdot [S] + 186$	181 186	4 5	0,99 0,99	1,72 1,77

Tableau II.2- 4: Concentrations théoriques Cd_d^0 et flux nets journaliers estimés pour les missions effectuées par Boutier et al., (2000) en 1991, par Dabrin (2009) en 2006 et au cours de cette thèse en 2008 et 2009 sur l'estuaire de la Charente. Les dates, les débits hydriques moyennés, l'utilisation ou non du pôle côtier fictif pour la détermination de la régression, les gammes de salinité utilisées pour effectuer la régression linéaire, le nombre de sites et le coefficient de régressions sont mentionnés pour chacune de ces missions.

Les Cd_d^0 varient fortement dans l'estuaire de la Charente, de 30 à 186 $ng.L^{-1}$ en novembre 2008 et septembre 2009 respectivement, et sont du même ordre de grandeur que celles déterminées par Boutier et al. (2000) en janvier et décembre 1991. Les variations des Cd_d^0 dépendent de la distribution du profil de Cd_d avec des concentrations en Cd_d^0 plus importantes lors des additions prononcées et inversement. Lors des profils de novembre 2008 et mars 2009, les Cd_d^0 estimées sont proches des concentrations en Cd_d observées dans les faibles salinités (Figure II.2-1). Les données acquises sont moins nombreuses qu'en Gironde mais permettent en utilisant les concentrations de Boutier et al. (2000) de regarder l'influence du débit sur les valeurs de Cd_d^0 (Figure II.2- 6a). Contrairement aux observations de cet auteur, les Cd_d^0 varient avec les débits hydriques, avec des Cd_d^0 très variables dans les débits inférieurs à $50 m^3.s^{-1}$. Néanmoins, aucune relation claire avec le débit n'a pu être distinguée. Précédemment, nous avons vu que l'origine des particules issues du bassin versant pouvait fortement influencer les concentrations mesurées et les processus additifs de Cd_d . Nous suggérons alors que l'origine des particules peut aussi influencer sur la Cd_d^0 et partiellement expliquer l'absence de relation avec les débits.

Les flux nets journaliers de Cd dissous ($F_{net}Cd_d$) déterminés avec les deux types de Cd_d^0 (avec ou sans le pôle côtier) varient de 0,32 à 1,77 $kg.j^{-1}$ en octobre 2006 et septembre 2009, respectivement. Ces flux sont dans le même ordre de grandeur que les flux nets journaliers déterminés en janvier et décembre 1991, soit respectivement 0,6 et 0,14 $kg.j^{-1}$ (Boutier et al., 2000). Les flux nets journaliers varient suivant les débits, en présentant des $F_{net}Cd_d < 0,40 kg.j^{-1}$ pour des débits inférieurs à $50 m^3.s^{-1}$ et des $F_{net}Cd_d > 0,50 kg.j^{-1}$ pour des débits supérieurs à $50 m^3.s^{-1}$ (Figure II.2- 6b).

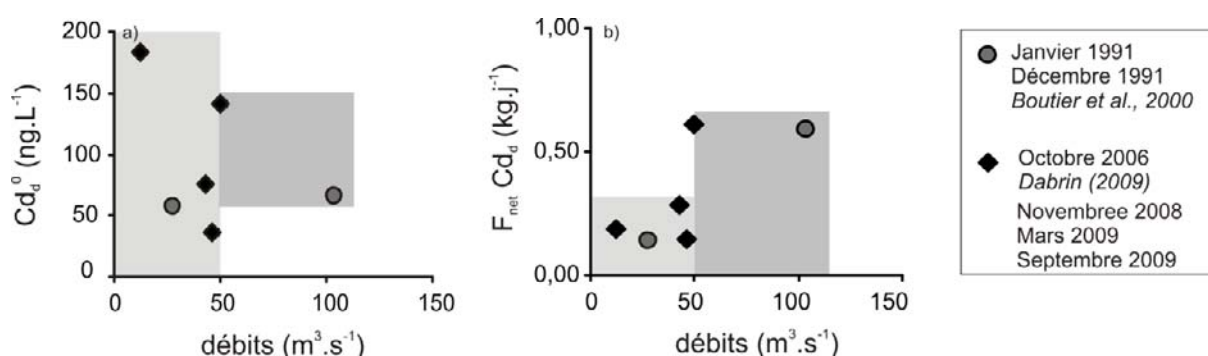


Figure II.2- 6: a) concentrations théoriques de Cd_d et b) flux nets de Cd_d en fonction des débits hydriques des missions de janvier et décembre 1991, octobre 2006, novembre 2008, mars 2009 et septembre 2009.

1.2. Estimation des flux nets annuels

L'estimation des flux nets annuels dans l'estuaire de la Charente est beaucoup plus délicate que pour la Gironde, principalement du fait du nombre plus réduit de missions effectuées et de l'absence de relations linéaires entre les Cd_d^0 et les débits. En effet, les Cd_d^0 sont très variables, ne nous permettant pas d'utiliser une Cd_d^0 constante sur l'année et un débit annuel pour déterminer les flux nets annuels comme effectué par Boutier et al. (2000) pour l'année 1991. Une autre possibilité aurait été d'intégrer la relation $F_{netJ}Cd_d$ versus débits journaliers sur les débits annuels mais les variations sur la Charente n'ont pas montré une telle relation. Ainsi, de part la variabilité du Cd_d^0 dans cet estuaire, les flux nets ont été extrapolés selon la méthode utilisée pour l'estuaire de la Gironde (Dabrin, 2009), se basant sur les travaux de Chiffolleau et al., (1999) et en intégrant les données de Boutier et al., (2000) (Equation II.2-1) :

$$\begin{aligned} \text{Min } F_{net} Cd_d &= (\text{min } Cd_d^0_{d(Qi>50)} * \Sigma Qi_{(Qi>50)}) + ((\text{min } Cd_d^0_{d(Qi<50)} * \Sigma Qi_{(Qi<50)}) \\ \text{Max } F_{net} Cd_d &= (\text{max } Cd_d^0_{d(Qi>50)} * \Sigma Qi_{(Qi>50)}) + ((\text{max } Cd_d^0_{d(Qi<50)} * \Sigma Qi_{(Qi<50)}) \end{aligned}$$

Equation II.2- 1: Détermination des flux nets en Charente

Avec : débits $Qi < 50 \text{ m}^3.s^{-1}$, $\text{min } Cd_d^0$ 36 ng.L⁻¹ à $\text{max } Cd_d^0$ 186 ng.L⁻¹
 débits $Qi > 50 \text{ m}^3.s^{-1}$, $\text{min } Cd_d^0$ 70 ng.L⁻¹ $\text{max } Cd_d^0$ 148 ng.L⁻¹.

Les limites définies du débit et des Cd_d^0 reposent sur la variabilité de la Cd_d^0 en fonction des débits, représentés par des domaines grisés sur la Figure II.2-6.

Les flux nets annuels de Cd_d (Tableau II.2- 5) sont comparables sur les années 2006 à 2009, même si la variabilité observée entre les flux minima $\text{min } F_{net}$ et maxima $\text{max } F_{net}$ est considérable, deux à trois la valeur. Cette variabilité provient essentiellement de l'estimation de la Cd_d^0 , elle aussi très variable. Cependant, les flux annuels sont dans la même gamme que ceux estimés en 1991 par Boutier et al. (2000) et 2006 par Dabrin (2009) en considérant une Cd_d^0 constante en fonction des débits, soit 67 kg et de 240 kg respectivement. Ainsi, la difficulté à déterminer plus précisément les flux sortants de l'estuaire de la Charente réside dans l'estimation de la variabilité de la Cd_d^0 , non pas avec les débits, mais en fonction de l'origine et la concentration des particules arrivant à l'estuaire.

date	2006	2007	2008	2009
$^{\min}F_{\text{net}} \text{ Cd}_d \text{ (kg.an}^{-1}\text{)}$	123	143	133	70
$^{\max}F_{\text{net}} \text{ Cd}_d \text{ (kg.an}^{-1}\text{)}$	325	372	334	187
débits hydriques annuels $\text{m}^3.\text{s}^{-1}$	65	75	68	48

Tableau II.2- 5: Flux nets annuels de Cd dissous et débits hydriques annuels de l'estuaire de la Charente de 2006 à 2009.

2. Flux nets annuels de Cd particuliers

Les flux nets annuels de Cd particuliers ont été déterminés de façon empirique par Dabrin (2009) en 2006. La dynamique des particules étant peu connue, cet auteur a supposé que les flux de MES sortants dans l'estuaire correspondent au maximum au flux de MES entrants dans l'estuaire, soit 84 000 tonnes.an⁻¹ en 2006, 328 000 tonnes.an⁻¹ en 2007 et 33 000 tonnes pour les mois de mars à novembre 2008 (*GEMA-TGM*). Les Cd_p^{moy} dans l'estuaire de la Charente étant variables, de 0,20 mg.kg⁻¹ en novembre 2008 et 0,36 mg.kg⁻¹ en octobre 2006, et non liées aux débits hydriques journaliers (Figure II.2- 3), nous avons choisi de déterminer les flux nets de Cd_p en appliquant au flux de MES de chaque année la Cd_p^{moy} minimale (0,20 mg.kg⁻¹) et maximale (0,36 mg.kg⁻¹) estimée dans l'estuaire. Ces flux nets de Cd_p , présentés dans le Tableau II.2-6 sont très variables, et largement supérieurs à ceux estimés en 1991 de 2 kg.an⁻¹ par Boutier et al. (2000).

	2006	2007	2008
$^{\min}F_{\text{net}} \text{ Cd}_p \text{ (kg.an}^{-1}\text{)}$	17	14	7
$^{\max}F_{\text{net}} \text{ Cd}_p \text{ (kg.an}^{-1}\text{)}$	30	25	12
$F_{\text{MES}} \text{ (tonnes.an}^{-1}\text{)}$	84	69	33

Tableau II.2- 6: Flux nets annuels de Cd particuliers et flux annuels de MES entrants de l'estuaire de la Charente de 2006 à 2008.

Le principal facteur pouvant expliquer cette différence est la stratégie d'échantillonnage pour le prélèvement des MES, journalier dans notre cas, mensuel dans celui de Boutier et al., (2000). (Coynel et al., 2004) En effet, le flux net calculé selon cette méthode repose principalement sur la détermination des MES et l'approximation du flux de MES par an.

3. Comparaison des flux bruts et flux nets de cadmium

La comparaison des flux bruts annuels de Cd_d et Cd_p aux flux nets annuels de Cd_d et Cd_p de l'estuaire de la Charente, présentés au Chapitre I (Figure II.2- 7), a été ré-évaluée pour l'année 2006 d'après les précédents calculs et est présentée pour l'année 2007, 2008. Les flux bruts annuels de Cd_d et Cd_p ont été calculés d'après le suivi effectué de 2006 à 2008 dans le cadre du Défi-Cadmium (2009).

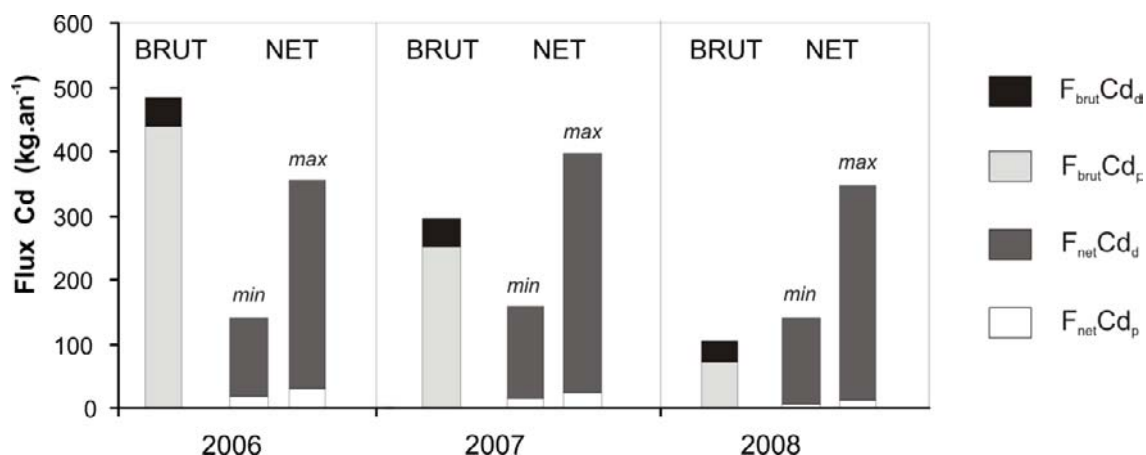


Figure II.2- 7: Comparaison des flux bruts et nets de Cd_d et Cd_p en Charente pour les années 2006, 2007 et 2008.

Cette comparaison montre que la quasi-totalité du Cd observé sous phase particulaire en rivière à Chaniers est expulsée de l'estuaire sous la phase dissoute. Les processus de désorption de Cd_p en Cd_d sont ainsi très importants dans cet environnement. Les flux de Cd_{total} entrants et sortants de l'estuaire de la Charente en 2007 sont du même ordre de grandeur. En 2006, les flux bruts de Cd_{total} estimés sont supérieurs aux flux nets alors qu'en 2008 ils sont inférieurs, montrant que les flux nets de Cd_{total} n'intègrent pas la variabilité des flux entrants de Cd_{total} . Ceci peut soit (i) provenir de la méthode de détermination des flux, discutée précédemment, soit (ii) du rôle du compartiment sédimentaire en tant que puit et source de métal lors des processus d'oxydo réduction associés à la diagenèse précoce, de remises en suspensions naturelles ou anthropiques des sédiments ou de bioturbation (Yang and Sanudo-Wilhelmy, 1998; Audry et al., 2006; Audry et al., 2007; Delmotte et al., 2007). En effet, dans les sédiments de la Gironde, Cd peut précipiter en complexant avec les sulfures amorphes mais aussi être relargué dans la colonne d'eau lors de la dégradation de la matière organique (Audry et al., 2006), induisant un flux de près de 20% vers la colonne d'eau (Audry et al., 2007). Nous suggérons que les flux de Cd entre le sédiment et la colonne d'eau doivent être estimés dans les sédiments charentais pour améliorer le bilan de Cd entrants et sortants de cet estuaire.

VI. Conclusions et perspectives

Ce chapitre apporte des connaissances nouvelles sur l'estuaire de la Charente que nous résumons en ces principaux points :

- Un comportement du Cd_d conservatif à additif original et variable dont les concentrations maximum atteintes ne sont pas reliées aux débits. Des concentrations en Cd_p variables temporellement et constantes et bruitées dans le gradient de salinité, reflétant l'état d'équilibre entre les phases dissoutes et particulaires.
- Des apports variables du bassin versant de la Charente qui contrôlent les concentrations en Cd_p dans l'estuaire et indirectement les Cd_d par les processus de désorption.
- Des flux de Cd_{total} bruts et nets du même ordre de grandeur avec une quasi-totalité de Cd entrant sous phase particulaire et sortant de l'estuaire sous phase dissoute.

L'étude de la Charente dans son continuum rivière estuaire a également permis de mettre en évidence certaines zones où le bilan de Cd est à approfondir :

- Entre la partie fluviale à Chaniers et le barrage de Saint Savinien, les bilans de concentrations et flux de Cd_d et Cd_p suggèrent un piégeage de Cd dans les sédiments de surface ou les zones d'irrigation adjacentes
- Dans la partie estuarienne, une source intra-estuarienne de Cd a été identifiée et incomplètement localisée. Malgré un bilan en apports de Cd relativement faible, une étude plus fine sur la localisation pourrait être effectuée dans une optique de gestion des rejets et de la qualité de l'eau de l'estuaire.

CHAPITRE II.3

COMPORTEMENT DU CADMIUM EN ZONE COTIERE

1. Introduction

La baie de Marennes-Oléron, premier site ostréicole français, est directement influencée par l'estuaire de la Charente et par l'estuaire de la Gironde via les eaux côtières entrant par le pertuis de Maumusson. Avant de s'intéresser à la réactivité de Cd dans la baie, il est indispensable de caractériser Cd et de quantifier ces apports via les deux estuaires.

Lors de sa thèse, Dabrin (2009) a effectué une première estimation de la contribution en Cd des estuaires de la Charente et de la Gironde via le pertuis de Maumusson. Or, dans les chapitres précédents, nous avons mis en évidence la variabilité temporelle de Cd dans le gradient de salinité de ces estuaires. Ainsi, dans ce chapitre, nous allons nous intéresser à la variabilité temporelle de la spéciation de Cd dans la zone côtière afin d'améliorer l'estimation des apports en Cd dans la baie de Marennes Oléron. Pour cela, nous répondrons aux questions suivantes :

- ✓ Y a t-il une variabilité temporelle de Cd_d et Cd_p aux embouchures des estuaires de la Charente et de la Gironde et au pertuis de Maumusson ? Si oui, quels sont les facteurs qui la contrôlent ?
- ✓ Quelle est la spéciation de Cd dans chacun de ces sites ?
- ✓ Quel est le rôle du compartiment phytoplanctonique dans le transport de Cd en zone côtière ?
- ✓ Quels sont les apports en Cd_d à la baie de Marennes Oléron ?

Deux stratégies d'échantillonnage différentes ont été menées pour répondre à ces questions. La première consiste à comparer trois sites à des saisons différentes, alors que la seconde vise à observer à plus petite échelle la distribution spatiale de ces ETM à l'embouchure de la Gironde.

II. Stratégie d'échantillonnage

1. Stratégie déployée pour la variabilité spatio-temporelle

Sept missions ont été effectuées d'octobre 2007 à septembre 2009 à bord du *NO Côtes de la Manche* sur trois sites, la Gironde, la Charente et le pertuis de Maumusson (Tableau II.3- 1)

date	coefficient de marée	GIRONDE débits (m ³ .s ⁻¹)	salinité	CHARENTE débits (m ³ .s ⁻¹)	salinité	MAUMUSSON salinité
octobre 2007	87-79	260	25	22	28	
avril 2008	105-109	2070	26,8	112	26,9	30,5
juillet 2008	90-93	600	25,2	75	30,9	33,1
novembre 2008	63-66	670	24,5	42	24,8	31,4
mars 2009	95-101	730	23,6	61	25,1	31,5
juin 2009	54-58	730	24,5	44	27	33
septembre 2009	100-104	930	24,4	11	23,3	34,3

Tableau II.3- 1: Conditions de marée, débits et salinité des sept missions effectuées sur la zone côtière d'octobre 2007 à septembre 2009.

L'objectif étant de comparer ces sites, tous les échantillons ont été prélevés à mi jusant et à une salinité la plus proche de 25. Le choix de cette salinité a été contraint par la distribution des faunes planctoniques, parallèlement étudié par l'équipe LIENSs de l'Université de La Rochelle, et aussi en raison du changement de la distribution en Cd_p observé dans la Gironde. Des particules et de l'eau de mer ont été prélevées pour déterminer les concentrations en ETM dissous, particulaires, en MES, COP, chlorophylle-a et BSi/LSi pour différentes fractions reportées dans le Tableau II.3- 2. Ces différentes fractions de particules ont été choisies pour séparer les différentes classes de particules et de phytoplancton :

- la fraction 'brut' regroupe l'ensemble des particules et du plancton ;
- la fraction <20µm exclut les sables (>63 µm), les silts grossiers (30-63 µm), une partie des silts moyens (15-30 µm) et le meso-zooplancton ;
- la fraction <10µm exclut les silts moyens, une partie des silts fins (2-15 µm) et le microphytoplancton ;
- la fraction <5 µm regroupe enfin les argiles, les silts très fins, le nano- et pico-phytoplancton (nanoflagellés, cyanobactéries et diatomées <5 µm).

Ces fractions ont été séparées à bord en utilisant des manchons en nylon de maille de refus 20, 10 et 5µm à partir d'échantillons bruts prélevés directement par pompage ou bouteille Niskin. Les débits, coefficients de marée et salinité relatifs à chaque site et missions sont notifiés dans le Tableau II.3- 1.

analyses	eau	particules		fractions étudiées
	niskin	pompe	niskin	
ETM dissous	X			<0.2 µm ; <0.02 µm ; <0.2 µm UV
ETM particulaire		X		totale ; <20 µm ; <10 µm ; <5µm
MES		X		totale ; <20 µm ; <10 µm ; <5µm
COP		X		totale
Chl-a			X	totale ; <20 µm ; <10 µm ; <5µm
BSi/LSi			X	totale ; <20 µm ; <10 µm ; <5µm

Tableau II.3- 2: Types d'analyses, de prélèvements et fractions étudiées pour les sept missions sur les trois sites GIRONDE, CHARENTE ET MAUMUSSON.

2. Stratégie déployée pour la distribution à l'embouchure

Dix points de prélèvements fixes ont été choisis au niveau de la passe ouest de l'estuaire de la Gironde, entre une ligne fictive Royan/Le Verdon et la bouée BXA au large. Ces points ont été échantillonnés lors de quatre missions réalisées en juillet 2007, novembre 2008, mars 2009 et juin 2009 à bord du NO *Côtes de la Manche* (Tableau II.3- 1). De l'eau et des particules ont été prélevées pour la détermination des concentrations en ETM dissous, particulaires, en MES, COP, chlorophylle-a et BSi/LSi pour la fraction dissoute <0,2 µm et la fraction totale seulement.

III. Variations spatio-temporelles de la spéciation du cadmium dans la zone côtière

1. Spéciation du cadmium dissous

Les concentrations en Cd dissous (Cd_d) varient spatialement et temporellement dans la zone côtière (Figure II.3- 1). En Gironde, la fraction <0,2µm varie de 32 à 107 ng.L⁻¹ (juillet 2008 et septembre 2009) pour des salinités de $25,0 \pm 1,0$ (Figure II.3- 1a). Les fractions <0,02 µm et <0,2 µm UV ont des concentrations comparables, ne montrant pas d'affinités particulières du Cd pour la fraction colloïdale et la fraction organique destructible à l'UV. Les variations temporelles importantes de Cd_d , indépendantes de la salinité, rejoignent la variabilité des concentrations observée dans les fortes salinités pour des débits variables dans le Chapitre II.1 (Figure II.1- 3).

En Charente, les concentrations en Cd_d <0,2 µm sont plus faibles qu'en Gironde de 16 à 44 ng.L⁻¹ (novembre 2008 et septembre 2009) pour des salinités de $27,1 \pm 1,9$ (Figure II.3-

1b). Les trois fractions ont des concentrations comparables et leurs variations temporelles ne présentent pas de relation avec les variations de salinité et de débits. Dans le chapitre précédent, nous avons vu que Cd_d à l'embouchure de l'estuaire de la Charente est plus élevée qu'aux faibles salinités, et que la droite de dilution avec l'eau de mer dans les fortes salinités, et donc sa pente est peu abrupte, montrant des concentrations toujours du même ordre dans les faibles salinités.

A Maumusson, les concentrations en Cd_d sont plus faibles qu'en Gironde et du même ordre qu'en Charente, et varient de 20 à 29 $ng.L^{-1}$ (septembre 2009 et mars 2009) pour des salinités plus élevées de $31,7 \pm 1,1$ (Figure II.3- 1). Lors des prélèvements sur ce site, nous avons observé une masse d'eau plus turbide correspondant au prisme tidal de surface sortant de la baie. Les concentrations en Cd_d des échantillons prélevés à Maumusson sont caractéristiques de celles de la baie de Marennes Oléron (Dabrin 2009). Dans la zone côtière, le Cd_d présente une variabilité spatiale et temporelle prononcée, surtout en Gironde. Néanmoins, dans ces trois systèmes et pour des salinités élevées, Cd_d est présent sous forme dissoute vraie et ne montre pas d'affinité pour la fraction organique destructible à l'UV et la fraction colloïdale contrairement à de précédentes études sur l'estuaire de la Gironde (Kraepiel et al., 1997) et à l'estuaire de la Seine (Chiffoleau et al., 2001).

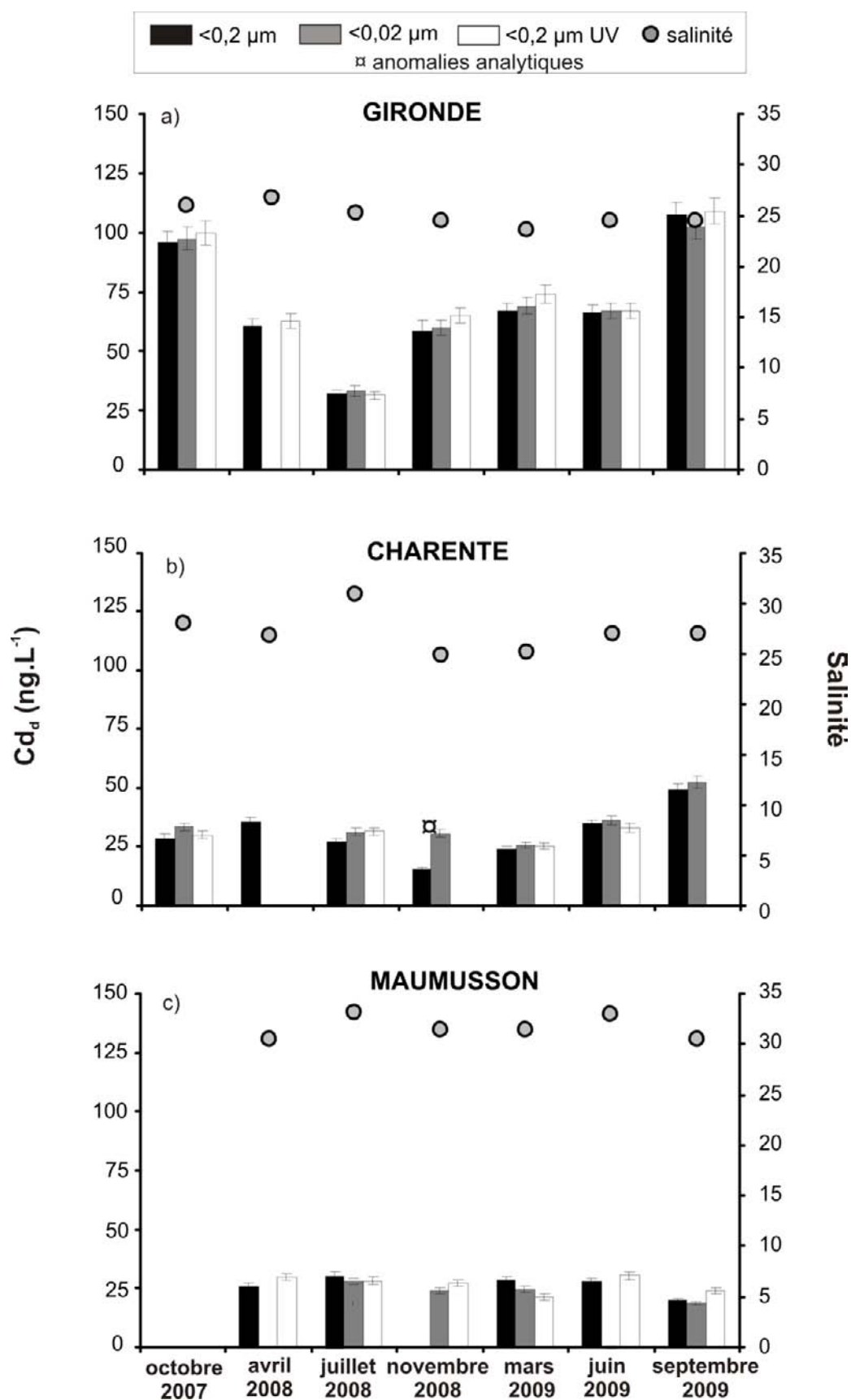


Figure II.3- 1: Variations spatio-temporelles du Cd $<0,2 \mu\text{m}$, $<0,02 \mu\text{m}$ et $<0,2 \mu\text{m UV}$ en a) Gironde, b) Charente et c) Maumusson.

2. Cadmium particulaire

Les concentrations en cadmium particulaire Cd_p présentent des concentrations du même ordre de grandeur entre les trois sites, avec des concentrations légèrement plus élevées en Gironde. La taille granulométrique et le spectre des refus de MES sont très proches pour les différents sites et missions, et présentent en moyenne une médiane de 6-8 μm (silts très fins) avec 90% des particules en dessous de 20 μm soit très peu de silts grossiers et sables (Figure II.3- 2). Les concentrations en Cd_p brutes varient temporellement (Figure II.3- 3), du simple au double sur chacun des sites, mais comme pour les distributions dans le gradient de salinité, aucune relation particulière avec le débit ou coefficient de marée n'a pu être observée.

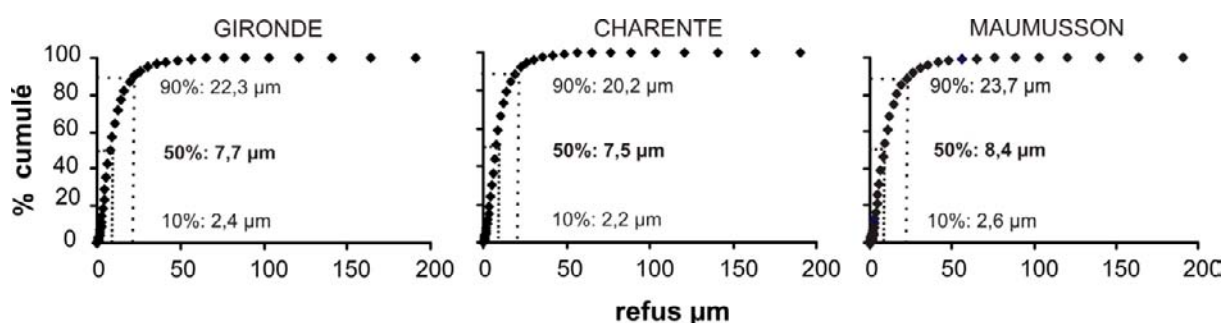


Figure II.3- 2: Diagramme cumulé des refus des particules caractérisant et représentant la Gironde, la Charente et Maumusson en novembre 2008.

En Gironde, les concentrations en Cd_p brutes varient de 0,22 $mg.kg^{-1}$ en mars 2009 à 0,48 $mg.kg^{-1}$ en novembre 2008 (Figure II.3- 3a). La fraction fine des particules contenant la majorité de Cd a été déterminée pour chaque mission à partir de la Figure II.3- 3. Cette fraction (Tableau II.3- 3) représente les argiles et silts très fins, connus pour être plus chargés en ETM (Loring, 1991). Cependant, des valeurs ponctuelles plus importantes demeurent et nous avons voulu caractériser le rôle de la composante biogène dans ces augmentations en utilisant les concentrations de Chl-a (Figure II.3- 4a) et silice biogène BSi (données non illustrées) mesurées dans chaque fraction. La comparaison des Cd_p observées en juillet 2008, novembre 2008 et juin 2009 avec les concentrations en Chl-a et BSi (très faibles, $<2\mu M$) ne montre pas d'augmentation particulière de production phytoplanctonique dans la fraction concernée, réfutant l'hypothèse d'une augmentation de Cd_p liée à la bioaccumulation du Cd par le micro-phytoplancton ($>10\mu m$) et nano-phytoplancton ($<10\mu m$).

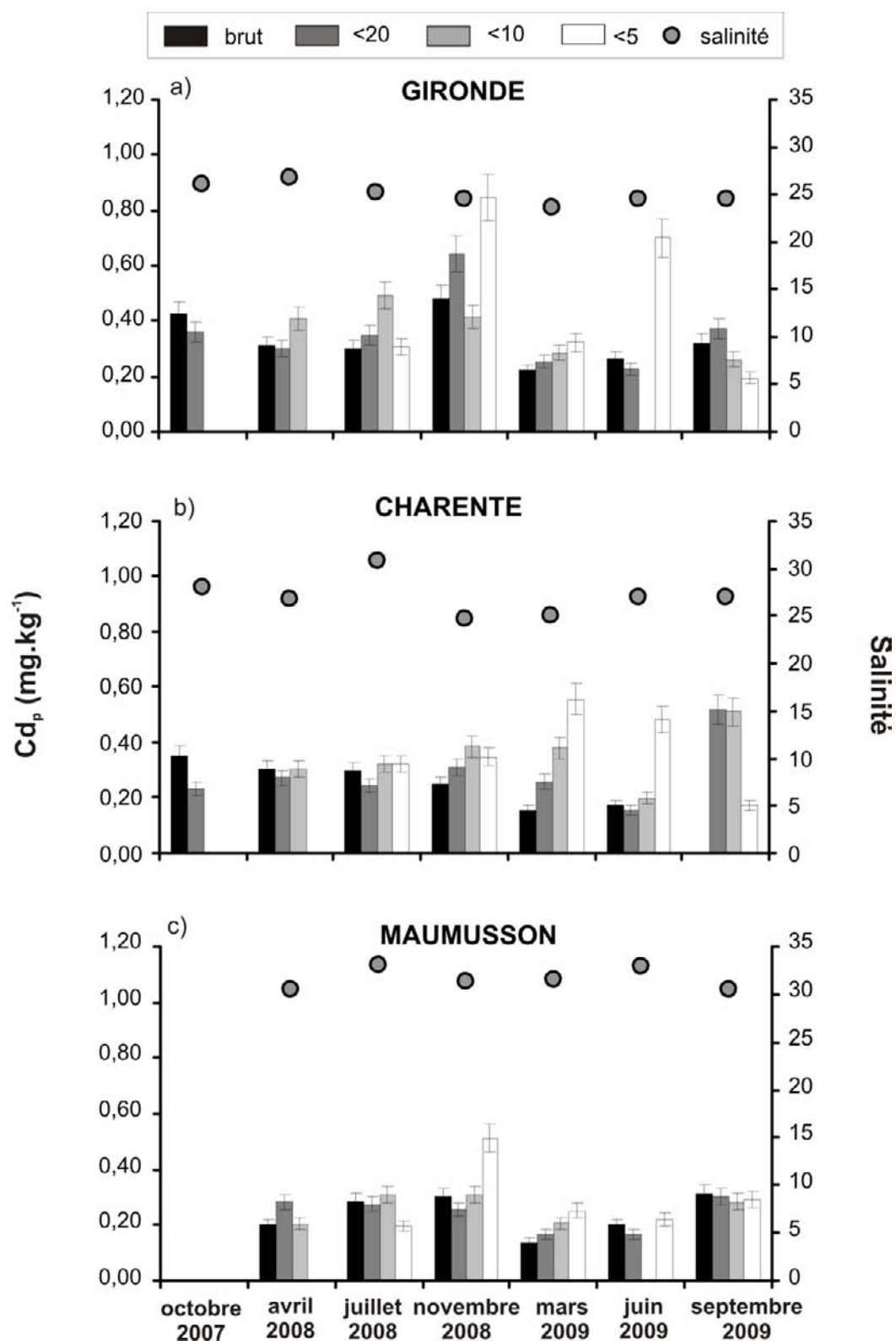


Figure II.3- 3: Variations spatio-temporelles du Cd particulaire brut, <20 µm, <10 µm et <5 µm dans les MES prélevées en a) Gironde, b) Charente et c) Maumusson.

date	GIRONDE		CHARENTE		MAUMUSSON	
	fraction	remarques	fraction	remarques	fraction	remarques
octobre 2007	< 20µm		< 20µm			
avril 2008	<10µm		<10µm		[10-20µm]	
juillet 2008	[5-10µm]	<10µm EG	[5-10µm]		[5-10µm]	
novembre 2008	<5µm	<20µm EG + enrichissement <5µm	<5µm	<10µm EG	<5µm	enrichissement <5µm
mars 2009	x		x		x	
juin 2009	<5µm	enrichissement <5µm	<5µm	enrichissement <5µm	<5µm	
septembre 2009	[5-10µm]		[5-10µm]			

EG: enrichissement dû à un effet granulométrique (EG)

Tableau II.3- 3: Fraction des particules comportant la majorité des concentrations en Cd_p.

En Charente et à Maumusson, les concentrations en Cd_p varient respectivement de 0,16 à 0,28 mg.kg⁻¹ (mars 2009 et octobre 2007) et de 0,14 à 0,30 mg.kg⁻¹ (mars 2009 et novembre 2008 ; Figure II.3- 3 bc). La majorité de Cd est également contenu dans les argiles et silts très fins et présente des variations avec des enrichissements ponctuels (Tableau II.3- 3). Cependant, comme pour la Gironde, nous n'avons pas observé de relation entre la production phytoplanctonique (Figure II.3- 4) et les enrichissements en Cd_p en novembre 2008 et juin 2009 pour la Charente. En novembre 2008, à Maumusson, la fraction <5µm présente des valeurs de Chl-a supérieures aux autres fractions (trois fois le brut) en relation avec une augmentation de la concentration en Cd_p mais la concentration en Chl-a reste trop faible pour pouvoir conclure à une bioaccumulation de Cd par le nano-phytoplancton.

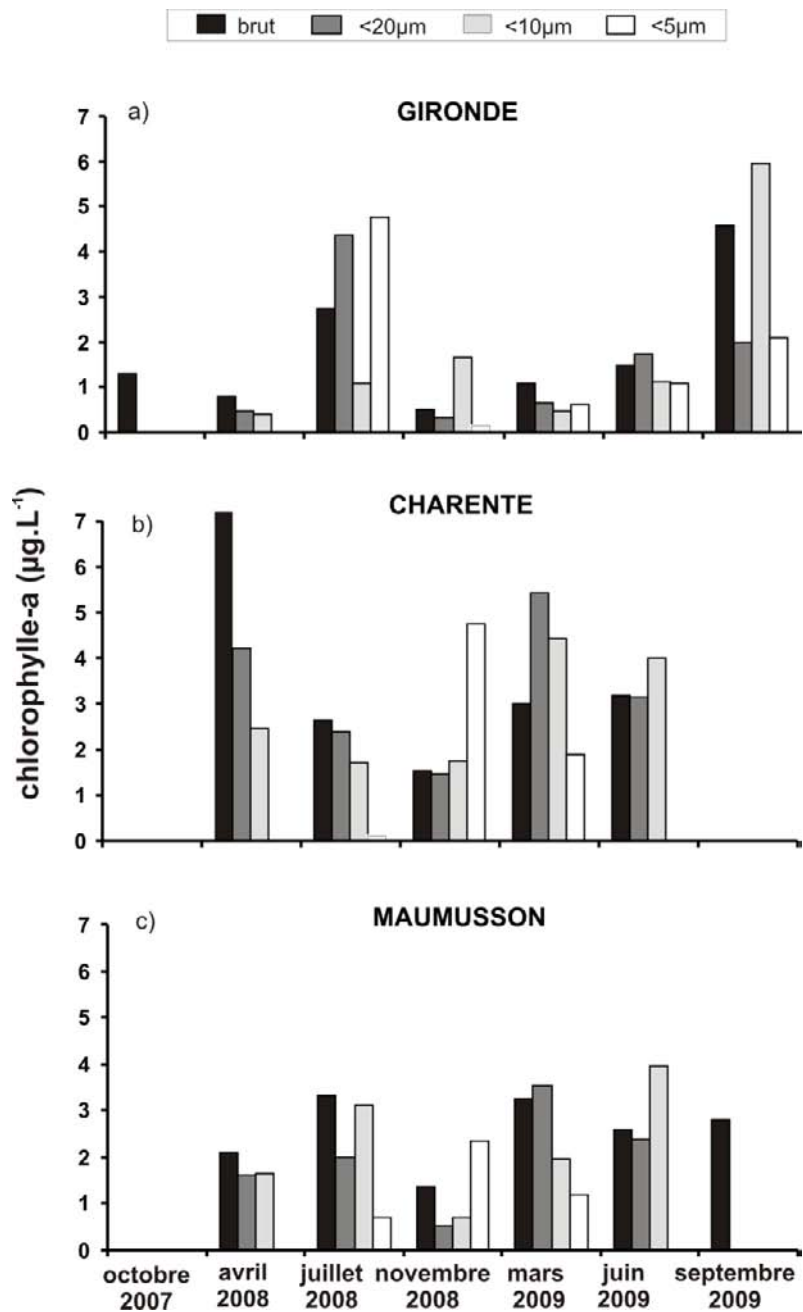


Figure II.3- 4: Variations spatio-temporelles de la chlorophylle-a dans les fractions brutes, <20 µm, <10 µm et <5 µm dans les MES prélevées en a) Gironde, b) Charente et c) Maumusson.

IV. Distributions spatio-temporelles de Cd à l'embouchure de l'estuaire de la Gironde et en zone côtière

1. Variabilité des concentrations en stations fixes

Avant d'observer les variations des concentrations en stations fixes à l'embouchure, nous proposons dans un premier temps d'illustrer le comportement de Cd dissous et particulaire en fonction de la salinité.

1.1. Distributions de Cd en fonction de la salinité

Les échantillons prélevés en 10 stations fixes de la ligne fictive Royan-Le Verdon à la bouée BXA couvrent des salinités variant de 17 à 34,7. Les distributions de Cd_d diminuent en fonction de la salinité de 97 à 24 $ng.L^{-1}$ en juillet 2007 (données juin 2009 indisponibles), témoignant de la dilution avec le pôle marin (Figure II.3- 5a). Les quatre missions suivent la même droite de dilution et présentent des concentrations similaires pour une salinité donnée. Cette observation vient confirmer nos résultats du chapitre II.1 montrant une dépendance de la distribution des concentrations en Cd_d en fonction du débit dans les fortes salinités. Les Cd_p présentent des distributions bruitées dans les fortes salinités, variant de 0,11 à 1,29 $mg.kg^{-1}$ en juillet 2007 avec une moyenne de $0,35 \pm 0,21 mg.kg^{-1}$ sur les quatre profils (Figure II.3- 5b). Le $\log K_d$ est typique des distributions observées sur cet estuaire (chapitre II.1) montrant une augmentation dans les fortes salinités témoignant de la diminution des Cd_d (Figure II.3- 5c)

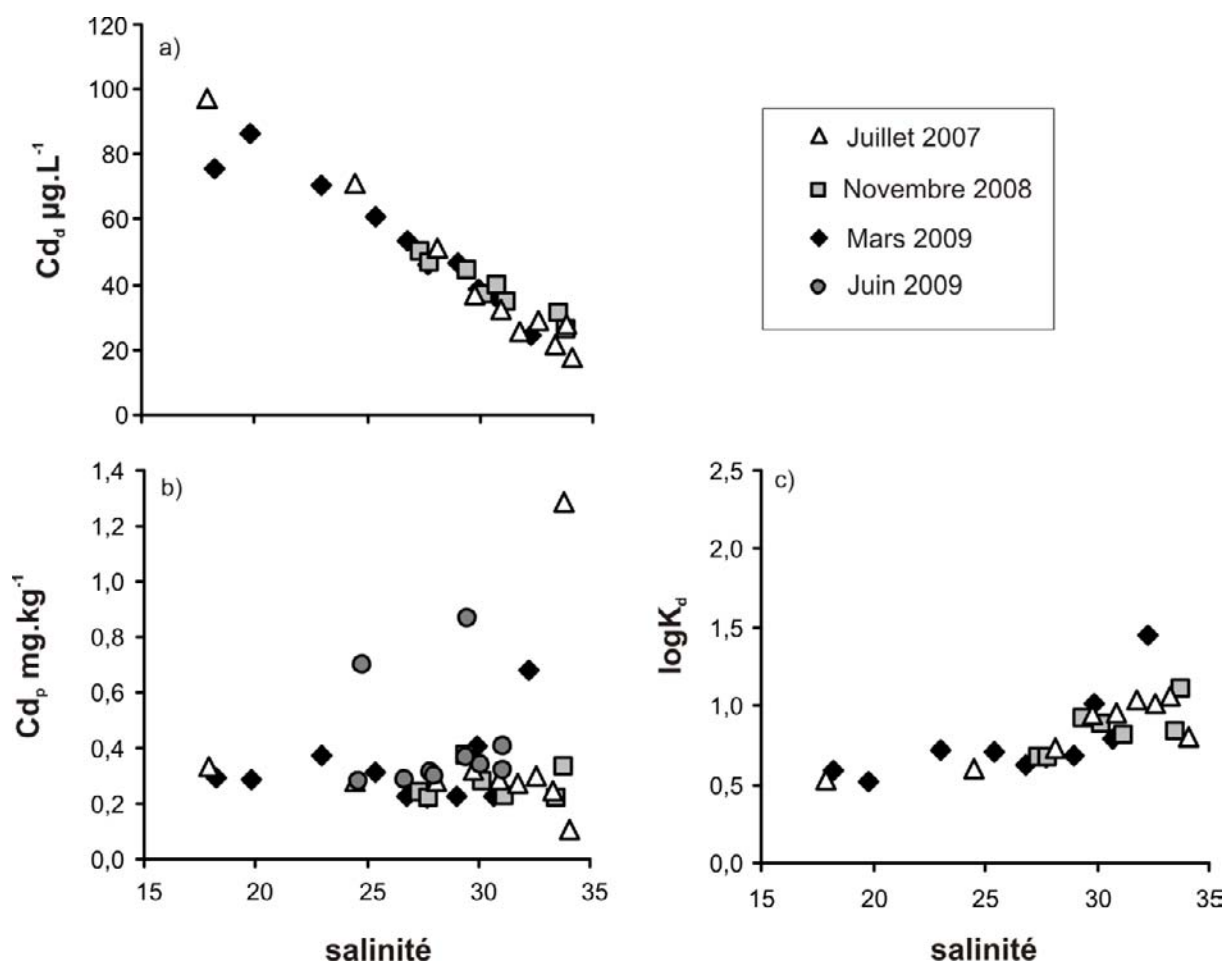


Figure II.3- 5: Distributions de a) Cd dissous ; b) Cd particulaire ; c) $\log K_d$ dans les fortes salinités lors de missions sur points fixes de juillet 2007, novembre 2008, mars 2009 et juin 2009.

1.2. Variabilité spatiale des concentrations

1.2.1. Localisation des échantillons

Les échantillons ont été prélevés à mi jasant en stations de coordonnées géographiques fixes et nommés de 1 (bouée XBA) à 10 (ligne fictive Royan-Le Verdon). Ces coordonnées ont été reportées sur une photo satellite en utilisant le logiciel Geoportail (Figure II.3- 6).



Figure II.3- 6: Localisation spatiales des 10 stations fixes de prélèvements (Geoportail®)

1.2.2. Cadmium dissous

La distribution des concentrations en Cd_d en fonction des stations de prélèvements (Figure II.3- 7b) montre (i) des concentrations de plus en plus faibles vers l'ouest et à la station 1 et (ii) des Cd_d variables pour une station donnée liés aux salinités changeantes des différents prélèvements (Figure II.3- 7a). Cependant, la station 1 est particulière puisque les concentrations en Cd_d mesurées sont très proches pour les trois missions $26 \pm 0,2 \text{ ng.L}^{-1}$ (a) et indépendantes des débits hydriques et du cycle ME-VE (Tableau II.3- 3). Les concentrations en MES étant de plus en plus faibles vers les stations les plus à l'ouest (Figure II.3- 7c), nous supposons que la station 1 se situe en marge du panache de la Gironde ($MES < 30 \text{ mg.L}^{-1}$ et $< 10 \text{ mg.L}^{-1}$ en juillet 2007, mars 2009 et juin 2009). Cette station peut ainsi être considérée comme caractéristique des eaux côtières Atlantique Nord Est, avec une Cd_d de $26 \pm 0,2 \text{ ng.L}^{-1}$ pour une salinité de 32,3 à 33,8, et est comparable aux eaux côtières de référence d'Atlantique Nord CASS-4, $Cd_d : 26 \pm 0,3 \text{ ng.L}^{-1}$ pour une salinité de 30,7 et CASS-5, $Cd_d : 21 \pm 0,2 \text{ ng.L}^{-1}$ pour une salinité de 33,5.

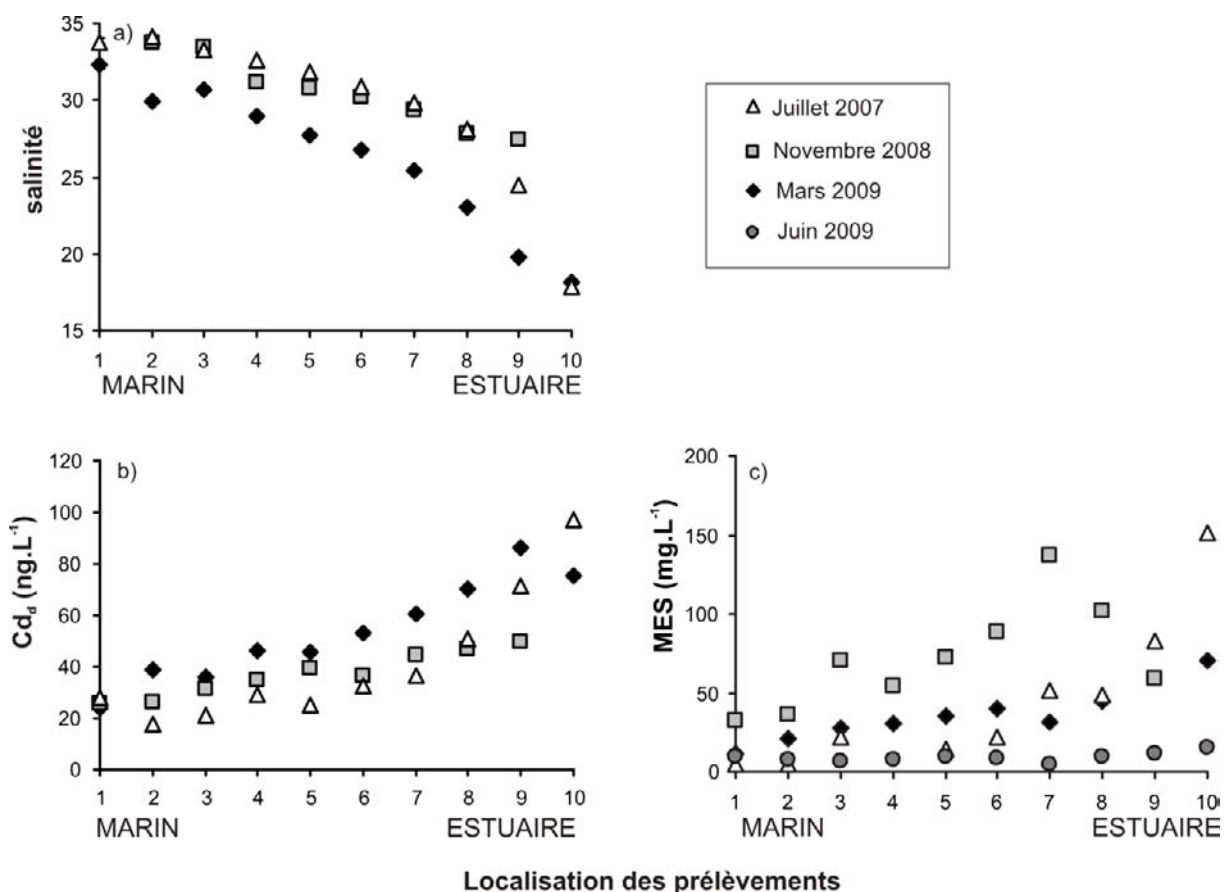


Figure II.3- 7: Distributions des a) salinité, b) concentrations en Cd dissous et c) concentrations en MES en fonction des stations de prélèvements

1.2.3. Cadmium particulaire

Les distributions spatiales de Cd_p , de moyenne $0,35 \pm 0,21 \text{ mg.kg}^{-1}$, présentent (Figure II.3- 8):

- des augmentations ponctuelles atteignant $1,30 \text{ mg.kg}^{-1}$ en juillet 2007 à la station 1, et autour de $0,75 \text{ mg.kg}^{-1}$ en mars 2009 à la station 1 et en juin 2009 aux stations 3 et 9.
- des variations importantes entre profils pour des stations données (mis à part les augmentations ponctuelles) soient les stations 4, 6 et 8. Ces variabilités sont intrinsèques aux processus de sorption estuariens et comme nous l'avons vu dans cet estuaire au Chapitre II.1, ne sont ni reliées aux débits hydriques ni aux cycles tidaux.

Ces augmentations singulières de Cd_p sont importantes et peuvent représenter un risque potentiel pour la baie de Marennes Oléron puisqu'elles se situent déjà dans la zone côtière (Dabrin, 2009). La caractérisation de la nature de ces particules est alors essentielle pour qualifier les enrichissements observés (adsorption ou bioaccumulation).

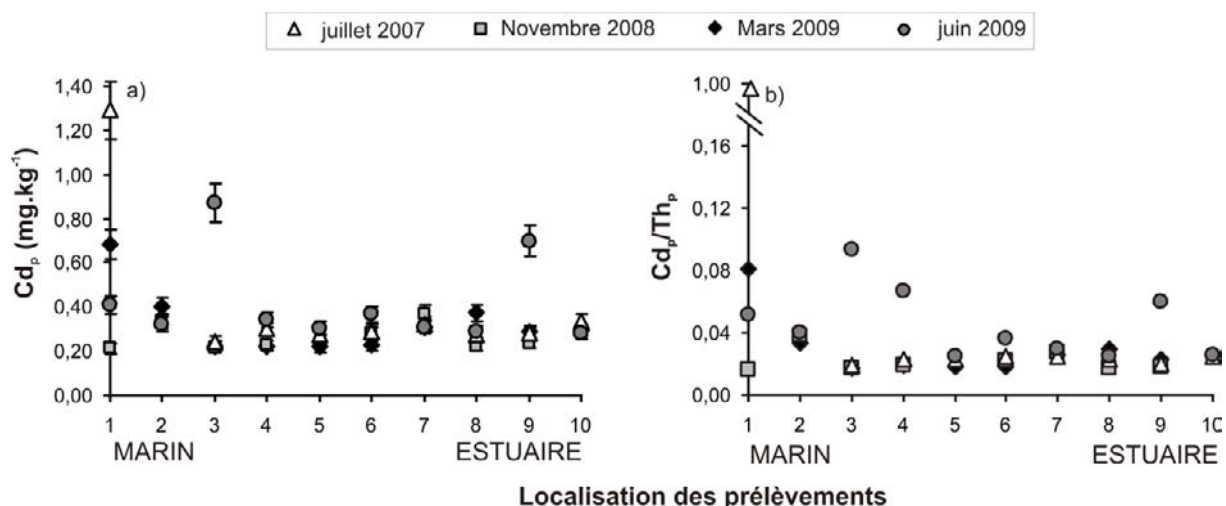


Figure II.3- 8: Distributions des a) concentrations en Cd particulaire, b) du rapport Cd_p/Th_p en fonction des stations de prélèvements

La normalisation par le thorium (Cd_p/Th_p), première étape pour s'affranchir des augmentations liées à la diminution de la granulométrie, indique que toutes ces augmentations ponctuelles sont bien indépendantes de la granulométrie et dues à des enrichissements en Cd, de même que pour les prélèvements des stations 1, 3, 4 et 9 effectués en juin 2009 (Figure II.3- 8b). La part biogénique de ces particules a été déterminée qualitativement par les concentrations en Chl-a, qualifiant le phytoplancton, et par la quantité de silice biogène (%BSi) contenue dans les MES qualifiant les microalgues unicellulaires constituées de silice. La part minérale a été approchée par la quantité de silice terrigène (%LSi) contenue dans les MES et par le pourcentage de $CaCO_3$.

Les concentrations en Chl-a ($<3 \mu g.L^{-1}$; Figure II.3- 9a) sont caractéristiques des teneurs dans l'estuaire (Irigoien and Castel, 1997) en novembre 2008, mars 2009 et juin 2009 et plus élevées en juillet 2007 correspondant à une phase de production phytoplanctonique avec des valeurs atteignant $9 \mu g.L^{-1}$. Dans les stations les plus côtières (1, 2 et 3), les concentrations en Chl-a demeurent faibles pour les quatre mois, malgré les faibles turbidités mesurées (Figure II.3- 9c). Cependant, aucune concomitance d'augmentation de Cd_p et Chl-a n'a été observée témoignant d'une potentielle bioaccumulation de Cd par les organismes. Les pourcentages de BSi dans les MES (Figure II.3- 9b) sont constantes et du même ordre de grandeur qu'en milieu peu turbide comme la rade de Brest (Del Amo et al., 1997) et présentent des valeurs plus élevées pour les mois de juillet et juin, témoignant de la production phytoplanctonique en milieu tempéré. Néanmoins, les augmentations ponctuelles de Cd_p ne coïncident pas avec les augmentations de %BSi dans les MES.

Les pourcentages de LSi dans les MES (Figure II.3- 9c) sont variables d'un profil à l'autre, montrant une variabilité de la composition en Si des particules en fonction du temps. D'après des précédentes études (Donard, 1983; Dange, 2002), les particules girondines sont constituées de 8% de calcite, 4% de MOP, 33 à 49% de quartz et 39 à 55% d'argiles. En considérant que le quartz est composé de 46% de Si et que les argiles, représentées majoritairement par l'illite, sont composées de 7 à 14% de Si, alors nous pouvons supposer que les particules girondines contiennent théoriquement 10 à 20% de Si provenant du quartz et 3 à 8% de Si provenant des argiles, soit un %LSi théorique de 13 à 28% environ. Lors des missions, les %LSi mesurés sont dans cet ordre de grandeur excepté en novembre 2008 où la nature des particules semblent différente et moins riche en Si. De plus, dans les stations 1 et 2, les %LSi des MES diminuent considérablement et montrent une tout autre signature. Or, la granulométrie effectuée sur le profil de juin 2009 ne montre aucun changement des classes granulométriques entre les 10 stations (données non illustrées). Nous supposons alors que la nature des particules est différente.

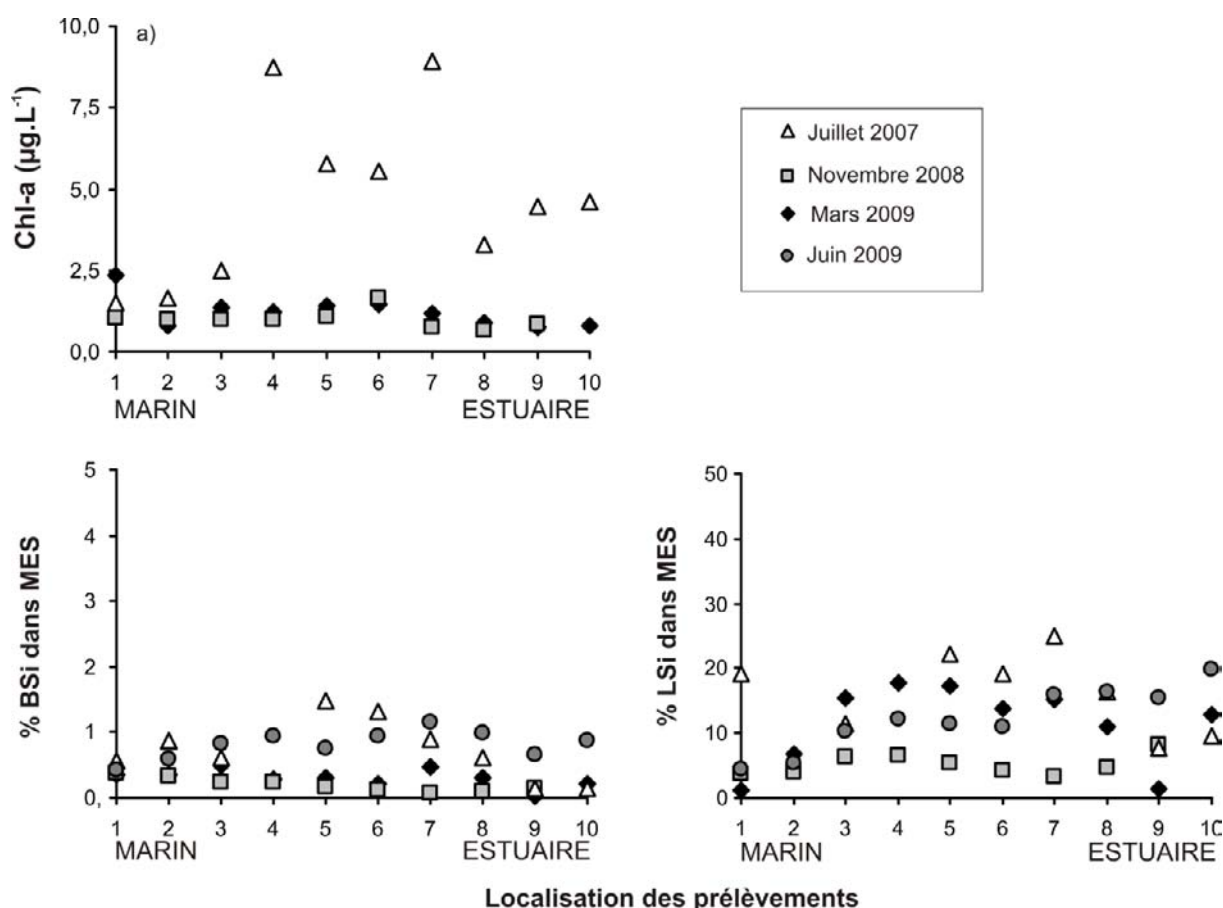


Figure II.3- 9: Distributions a) des concentrations en chlorophylle-a ; b) du % BSi dans les MES ; c) du % LSi dans les MES en fonction des stations de prélèvements

La relation entre les indicateurs de production phytoplanctonique et de Cd_p pouvant témoigner d'une bioaccumulation de Cd par le phytoplancton, observée dans d'autres environnements et en laboratoire (Price and Morel, 1990; Luoma et al., 1998; Miao and Wang, 2006) n'a pas été observée pour cet environnement. Nous supposons que les échantillons présentant des augmentations ponctuelles de Cd_p sont des particules toujours enrichies qui n'ont pas entièrement désorbées dans le gradient de salinité. Comme pour le Cd_d , les stations 1 et 2 en zone côtière montrent des particularités minérales avec des %LSi plus faible, suggérant un pôle différent. Néanmoins, les prélèvements de particules étant effectués par pompage de grands volumes d'eau, les particules récupérées sont un assemblage de particules terrigènes, détritiques et biogènes : bactéries, phytoplancton et zooplancton. Lors de sa thèse, Dabrin (2009) a montré que le Cd_p était plus élevé dans la fraction planctonique 63-200 μm (prélevée par filets) que dans les MES dans cette zone (Figure II.3- 10).

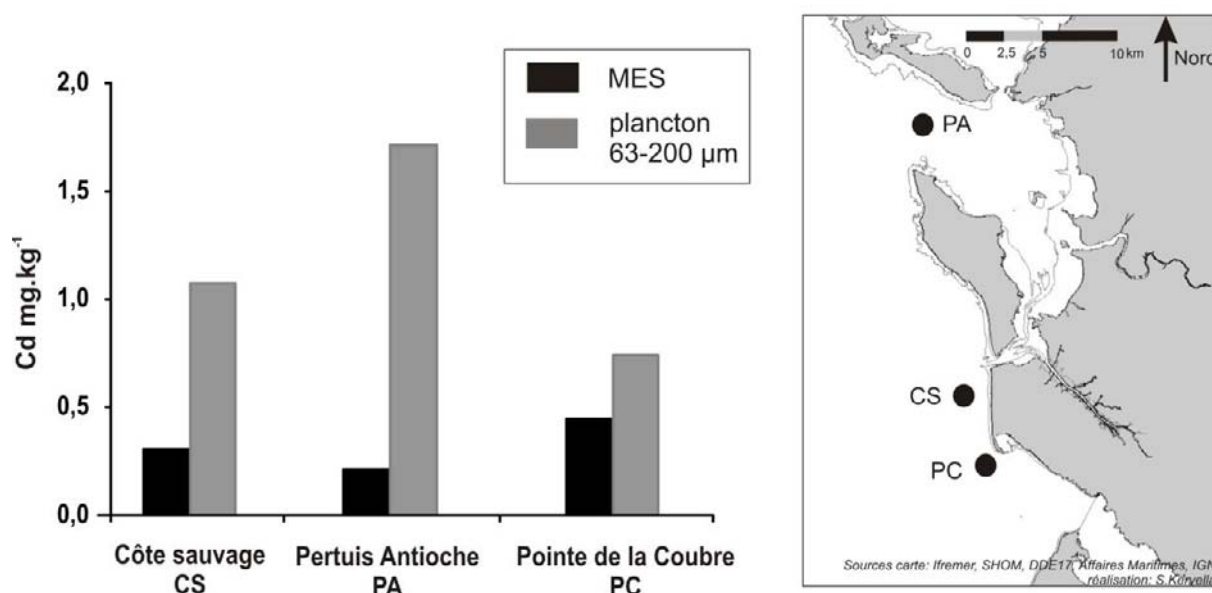


Figure II.3- 10: Concentrations en Cd dans les MES et plancton (63-200 μm) prélevés en septembre 2006 au large de la côte sauvage, du pertuis d'Antioche et de la pointe de la Coubre (d'après Dabrin 2009, modifié).

Dans la rade de Toulon, zone anthropique et ponctuellement contaminée en Cd (Danovaro, 2003), un suivi annuel des Cd_p dans les compartiments particules terrigènes, bactéries, phytoplancton et zooplancton, a montré que le zooplancton était beaucoup plus concentré en Cd que les autres compartiments (non détecté dans les bactéries et particules terrigènes) et que l'indice de bio-amplification était le plus élevé pour le zooplancton (Rossi and Jamet, 2008). Des études comparables menées dans l'estuaire de la Seine ont montré les variations saisonnières des quantités de Cd mobilisées par les espèces planctoniques et suprabenthiques de la zone haline (Gonzalez et al., 2006). De même, dans l'estuaire fortement anthropique de

Bahía Blanca en Argentine, les Cd_p (atteignant des concentrations de $28,6 \text{ mg.kg}^{-1}$) ne sont pas corrélées à la Chl-a mais au mésozooplancton ($200 \mu\text{m}$ - $2000 \mu\text{m}$, $R=0,9$; Fernández Severini et al., 2009). Les auteurs ont également observé que les variations temporelles de Cd_p étaient liées aux espèces de copépodes présentes et à leurs régimes alimentaires. Dans le panache de l'estuaire de la Gironde, les copépodes présentent des concentrations en Cd inférieures aux copépodes prélevés plus en amont dans la zone oligohaline (Miramand et al., 2001), et sont comparables aux concentrations mesurées dans la Seine (Miramand et al., 1998). Nous pouvons ainsi émettre l'hypothèse que le mésozooplancton et plus spécifiquement les copépodes, peuvent jouer un rôle dans le cycle du Cd à l'embouchure de l'estuaire de la Gironde et dans le transport de Cd dans la zone côtière. Des études spécifiques sur la bioaccumulation de Cd par cette fraction planctonique sont nécessaires pour identifier le cycle de Cd en zone côtière.

2. Synthèse des distributions en cadmium dissous à l'embouchure : impact sur la baie de Marennes Oléron

Les apports de Cd dissous à la baie de Marennes Oléron par le pertuis de Maumusson ont été estimés pour la première fois lors de la thèse de Dabrin (2009). Pour cela, l'auteur s'est basé sur une étude statistique des distributions de salinité du panache de la Gironde face au pertuis de Maumusson en utilisant le modèle Previmer (Ifremer). La salinité a été choisie par cet auteur en se basant sur les postulats suivants : (i) qu'une concentration de 50 ng.L^{-1} dans la baie est potentiellement élevée pour les huîtres et que (ii) les concentrations en Cd_d sont proportionnelles à la salinité et donc qu'une salinité de 50 ng.L^{-1} correspond à une salinité de 25 (en crue). Le flux net de Cd_d apporté à la baie résultant de cette étude statistique a été estimé à 100 kg.an^{-1} .

Cependant, nos résultats montrent que pour une salinité fixe, les concentrations sont variables, que ce soit à des salinités de 25 ou plus élevées (Figure II.3- 10a). La compilation des profils sur l'estuaire depuis 2003 déjà présentée dans le chapitre II.1 dans tout le gradient est présentée à nouveau avec les profils acquis sur les stations fixes (1 à 10), pour des salinités de 25 à 35 (Figure II.3- 11).

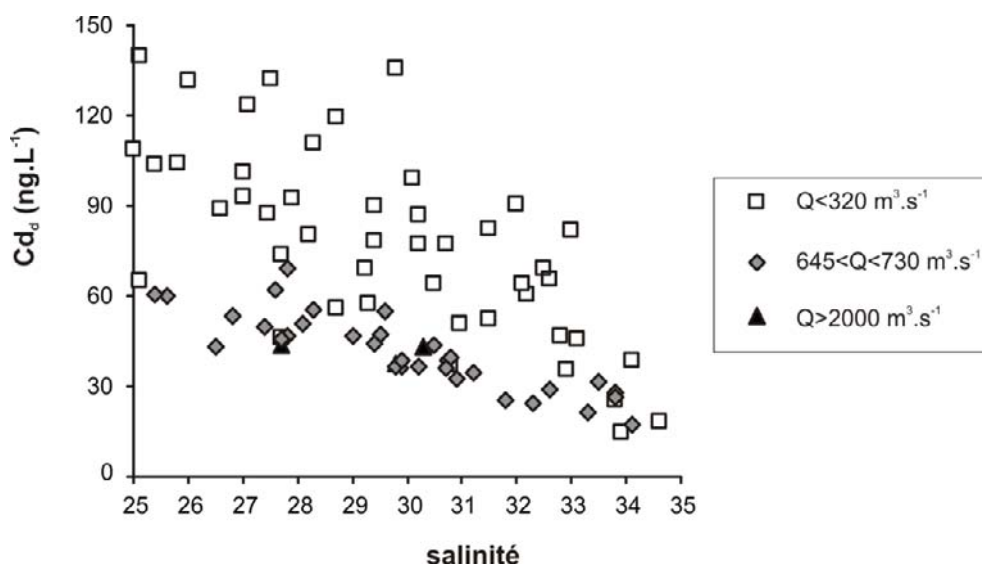


Figure II.3- 11: Distributions du Cd_d dans les salinités 25-35 de l'estuaire de la Gironde et la zone côtière

Cette figure démontre la variabilité du Cd_d et la complexité d'estimer l'impact de ces eaux sur la baie puisque les salinités 25-35 sont fortement susceptibles d'être observées face au pertuis de Maumusson. Ainsi, de nouvelles estimations des apports en Cd_d à la baie de Marennes Oléron ont été réalisées toujours à partir d'une étude statistique des distributions de salinité du panache de la Gironde face au pertuis de Maumusson en utilisant le modèle Previmer (Figure II.3- 12) ; IFREMER) sur les années 2007, 2008, 2009 mais en se basant sur de nouveaux postulats :

- les Cd_d sont variables pour des salinités fixes
- une salinité observée face au pertuis de Maumusson peut contenir des concentrations en Cd_d variables et donc apporter des flux différents à la baie
- la gamme de salinité potentiellement critique pour la qualité des eaux de la baie et pour la bioaccumulation de Cd par les huîtres est élargie de 25 à 32, puisque les Cd_d mesurées à ces salinités sont supérieures au Cd_d du pôle marin côtier.

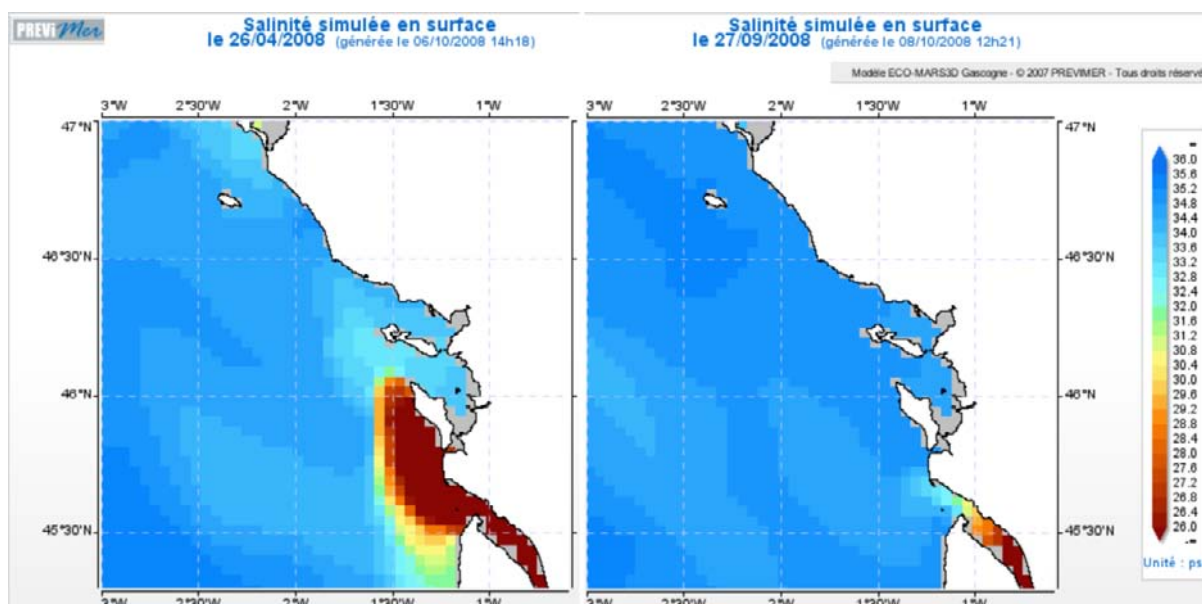


Figure II.3- 12: Modèle Previmer pour la simulation des salinités de surface. Exemples pour deux cas extrêmes en crue en avril 2004 et en période de faibles débits en septembre 2008.

Ainsi, l'étude statistique a été réalisée pour les gammes de salinité 25-28, 28-30 et 30-32. Les flux nets de Cd dissous ont été estimés pour le nombre de jours où les salinités sont <28 , <30 et <32 (Tableau II.3- 4), à partir du prisme tidal de flot au pertuis de Maumusson (Bertin, 2005), en considérant deux marées par jour et à partir des Cd_{d}^{min} et Cd_{d}^{max} issues des profils réalisés sur la Gironde (Tableau II.2- 4) et plus spécifiquement des concentrations mesurées pour des débits moyens à forts ; aucune dessalure n'est observable dans la zone de l'embouchure lors des périodes d'étiage.

		S: 25-28	S: 28-30	S: 30-32	S<30	S<32
2007	(jours)	8	14	72	22	100
2008	(jours)	12	25	72	37	109
2009	(jours)	2	16	61	19	80
Cd_{min}	(ng.L ⁻¹)	43	37	25	37	25
Cd_{max}	(ng.L ⁻¹)	70	69	44	70	70

Tableau II.3- 4: Nombre de jours par an où les salinités données par le modèle Previmer et en face du pertuis de Maumusson sont comprises dans les gammes 25-28, 28-30 et 30-32 et Cd_{min} et Cd_{max} des profils réalisés en période de moyens et forts débits correspondants à ces gammes de salinité .

Les flux estimés (Tableau II.3- 5) montrent que 400 à 1600 kg de Cd dissous sont potentiellement exportés chaque année par la Gironde dans la baie de Marennes Oléron via le pertuis de Maumusson. Ces flux représentent une quantité de Cd non négligeable et beaucoup plus importante que celle estimée par Dabrin (2009) en raison de la prise en compte de la variabilité de Cd_d à l'embouchure et des salinités plus élevées pouvant atteindre la zone

côtière et apporter du cadmium dissous. L'étude statistique montre que la récurrence de salinités entre 25-30 et aussi 25-32 en face du pertuis de Maumusson est significatif (Tableau II.3- 4), et peut être considérée comme des gammes de salinité potentiellement alarmantes. La comparaison des flux nets de Cd_d sortants de la Gironde aux estimations de flux minima et maxima entrants dans la baie par Maumusson permet de quantifier les apports de la Gironde à la baie. Cette comparaison, effectuée pour des salinités comprises entre 25-30 et 25-32, estime que 3 à 30% du Cd_d sortant de l'estuaire entre dans la baie via Maumusson. Il est intéressant de rappeler que l'étude statistique réalisée sur la position du panache girondin par imagerie satellite lors de la thèse de Dabrin (2009) a montré que les particules gironnines sont susceptibles d'entrer dans la baie via le pertuis de Maumusson 30 % du temps soit environ 100 jours.an⁻¹.

	2007			2008			2009		
	25<S<28	25<S<30	25<S<32	25<S<28	25<S<30	25<S<32	25<S<28	25<S<30	25<S<32
F^{min} (kg.an ⁻¹)	70	170	460	108	285	570	27	145	420
F^{max} (kg.an ⁻¹)	115	325	1470	176	545	1600	45	270	1475

Tableau II.3- 5: Flux minima et maxima de Cd dissous entrant dans la baie par le pertuis de Maumusson estimés en 2007, 2008 et 2009.

V. Conclusions et perspectives

Ce chapitre nous a permis d'identifier les points suivants :

- les concentrations en Cd_d et Cd_p montrent des variabilités temporelles à chaque site, supposant une variabilité des apports à la zone côtière et à la baie de Marennes-Oléron. Les facteurs contrôlant ces variabilités sont les facteurs qui contrôlent la distribution de Cd dans le gradient de salinité soit les débits pour Cd_d et les apports fluviaux pour les Cd_p en Charente.
- la spéciation de Cd dissous est identique dans les trois sites sous forme de dissous vrai (chloro-complexes) et dans les particules très fines, type silts très fins et argiles.
- durant nos observations, Cd est transporté sous phases minérales à la zone côtière. La caractérisation des particules par la Chl-a et la BSi n'a pas montré de relations avec le phytoplancton. Toutefois, le mésozooplancton semble un bon candidat pour le transfert du Cd particulaire à la zone côtière.
- d'après l'étude statistique des distributions de salinité du panache de la Gironde face au pertuis de Maumusson en utilisant le modèle Previmer (Ifremer), les flux de Cd entrants dans la baie de Marennes Oléron via le pertuis de Maumusson représentent 10 à 30% du Cd exportés par la Gironde.

Synthèse Partie III

L'étude de la variabilité du comportement et de la spéciation de Cd dans les estuaires de la Gironde, de la Charente et dans la zone littorale a permis d'établir le bilan de Cd dans cette zone. En guise de synthèse, les principaux résultats de flux de Cd exporté à la zone littorale et à la baie sont résumés dans deux figures. La Figure II.3- 13 synthétise les flux nets exportés de chaque estuaire et exportés à la baie de Marennes Oléron. La Figure II.3- 14 présente la contribution des apports en Cd de la Charente et de Gironde via Maumusson à la baie de Marennes Oléron.

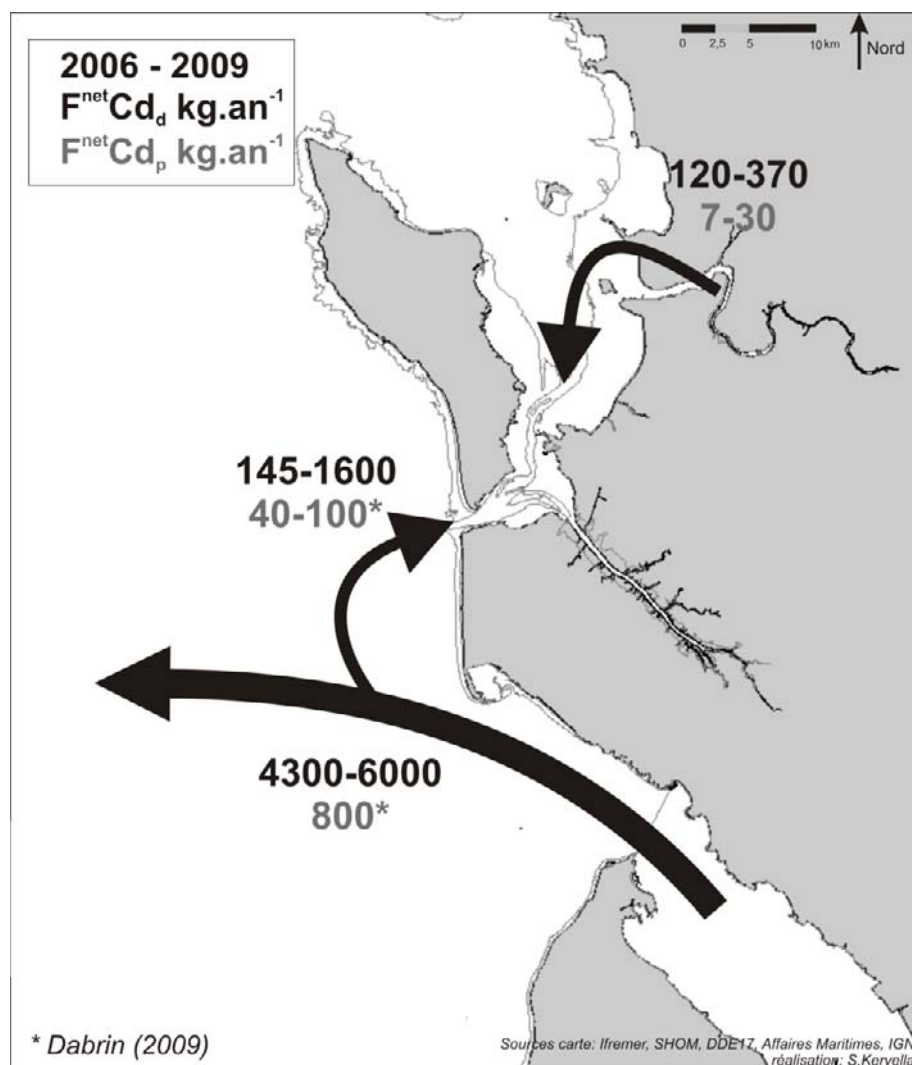


Figure II.3- 13: Carte synthétique des flux nets de Cd_d et Cd_p de la Gironde et la Charente à la zone littorale et à la baie de Marennes Oléron.

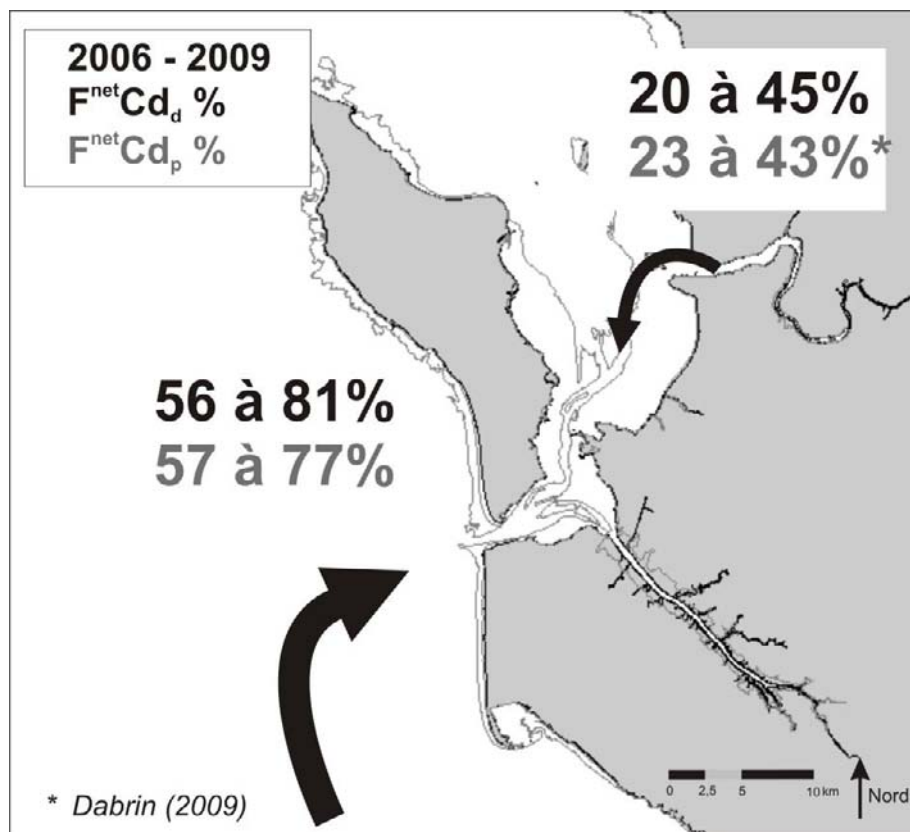


Figure II.3- 14: Contribution en % des apports de Cd à la baie de Marennes Oléron par la Charente et la Gironde via le pertuis de Maumusson

PARTIE III

DISTRIBUTION, DYNAMIQUE ET BIOACCUMULATION DU Cd DANS LA BAIE DE MARENNES OLERON

La baie de Marennes Oléron, comme nous l'avons vu précédemment, est soumise à des apports importants en Cd dissous et particulaires par les estuaires de la Gironde et de la Charente. Ainsi, dans cette partie, nous nous intéresserons plus particulièrement à la distribution, au comportement et à la bioaccumulation de Cd par les huîtres à l'échelle régionale de la baie. Pour cela, nous présentons deux études réalisées dans la baie portant sur (i) la distribution spatio-temporelle des concentrations en ETM des sédiments de surface de la baie puis sur (ii) le rôle de la voie trophique et de l'hydrodynamique régionale sur la bioaccumulation de Cd par les huîtres dans la partie sud de la baie.

CHAPITRE III.1:

DISTRIBUTIONS SPATIO TEMPORELLES DES CONCENTRATIONS EN ETM DANS LES SEDIMENTS DE SURFACE DE LA BAIE DE MARENNES OLERON

I. Introduction

En zone côtière, les sédiments sont le réceptacle des matières en suspension terrigènes provenant des bassins versants des estuaires et des MES marines organiques et/ou inorganiques. Les sédiments côtiers jouent alors un rôle clé dans le transport, piégeage et la remobilisation des particules et surtout des métaux qui leur sont associées (Förstner and Salomons, 2008). L'évaluation de la qualité des sédiments de surface est une thématique scientifique majeure dans les différents environnements côtiers (ports, estuaires, baie, etc.) (e.g. Apitz and Power, 2002; Crane, 2003; Borja et al., 2004; Apitz, 2008; Corbett et al., 2009; Essien et al., 2009; Tueros et al., 2009; Valdès et al., 2009; Larrose et al., accepted). Malgré cet intérêt, l'évaluation de la qualité des sédiments de surface n'est pas clairement mentionnée dans la Directive Cadre Européenne sur l'eau (DCE/2000/60/EC) (Borja et al., 2004).

La distribution des ETM et spécifiquement de Cd dans les sédiments de la baie de Marennes Oléron a été étudiée par Dabrin (2009) et Gonzalez et al. (1991a). Ce dernier auteur a étudié plus précisément la répartition spatiale des concentrations en Cd, Cu, Zn, Pb et Hg des sédiments et a montré l'influence des apports terrigènes de la Charente et de l'activité phytoplanctonique sur les distributions. A ce jour, aucune étude temporelle et spatiale n'a été réalisée sur les sédiments de surface. L'évaluation de la qualité des sédiments de surface dans la baie sur plusieurs sites et pendant une longue période de temps est alors essentielle pour comprendre la dynamique spatio-temporelle des métaux mais aussi leurs impacts potentiels dans cet écosystème.

Afin de répondre à cette demande, une collaboration avec Serge Robert et Stéphane Kervella du LER/PC de l'Ifremer l'Houmeau a été réalisée. Durant sa thèse, Stéphane Kervella a effectué une étude sur les différents types de sédiments de la baie et les processus sédimentaires à court et moyen terme (à l'échelle d'une tempête, semi-diurne, diurne et annuelle). Cette étude s'est appuyée sur le déploiement d'altimètres *in situ* et de courantomètres en plusieurs points de la baie, sur une longue période, afin de réaliser des mesures de terrain à haute fréquence et en continu des paramètres hydrodynamiques et sédimentaires. La réponse de l'interface aux forçages et l'influence des différents forçages (hydrodynamiques, anthropiques et biologiques) sur la stabilité des estrans ont alors été étudiées (Kervella, 2010). Les sédiments de surface prélevés sur différents sites pendant un an ont été analysés pour la détermination des concentrations en métaux prioritaires (e.g. Ni, Cu, Zn, As, Cd, Hg, Pb, plus Th). La mise en commun des compétences des deux équipes a permis aux objectifs suivants :

- ✓ Quelles sont les concentrations en ETM des sédiments de la baie ?
- ✓ Observe-t-on une variabilité spatiale et temporelle des concentrations ?
- ✓ Quels sont les facteurs d'enrichissements en métaux des sédiments ?
- ✓ Quels sont les rôles des forçages hydrodynamiques sur la distribution des ETM ?

II. Stratégie d'échantillonnage

Trois sites d'étude ont été choisis afin de représenter au mieux l'hétérogénéité des faciès sédimentaires rencontrés dans la baie de Marennes-Oléron : Les Doux à l'ouest, Brouage à l'est et Perquis au sud (Figure III.1- 1). L'étude s'est déroulée entre avril 2007 et avril 2008 et était constituée de mesures continues et prélèvements mensuels.

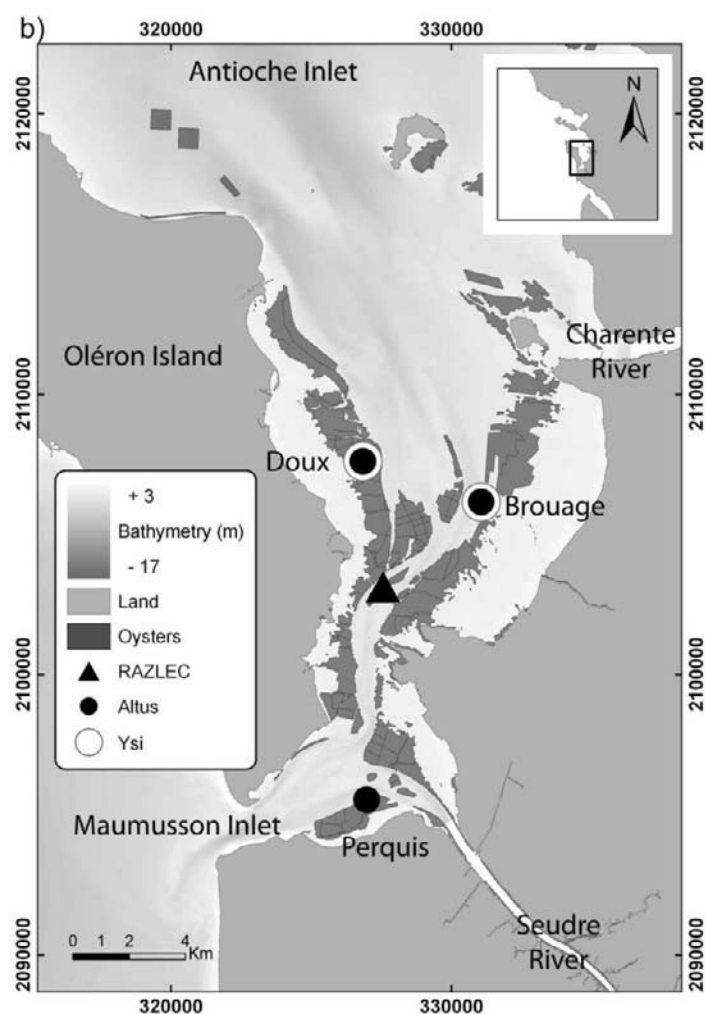


Figure III.1- 1: Sites des prélèvements de sédiments de surface lors du suivi annuel en baie de Marennes Oléron.

1. Prélèvements mensuels

Entre avril 2007 et avril 2008, du sédiment de surface (0-5 mm) a été prélevé mensuellement et sur chaque site durant les phases d'émersion (Tableau III.1- 1). Les échantillons ont ensuite été conditionnés individuellement de manière hermétique (pour limiter la perte en eau) et conservés en chambre froide. Nous notons que le suivi mensuel n'a pas toujours été possible sur l'ensemble de la période du fait de problèmes météorologiques et/ou logistiques. La détermination de la taille des particules des sédiments a été réalisée au LER/PC à l'aide d'un granulomètre laser Beckman Coulter LS 13 320 (focale 780nm ; 0,4 à 2000µm). Chaque analyse a été réalisée avec de l'eau de mer et sans additif (défloculant par exemple), afin de prendre en compte les caractéristiques physico-chimiques du milieu naturel. Les coupures choisies et la classification des particules se basent sur les classifications internationales

USDA et ASTM. La limite supérieure des argiles est fixée à 2 µm et la limite silts-sables à 50 µm (Kervella, 2010). De plus, des attaques totales ont été réalisées à posteriori au laboratoire EPOC GEMA-TGM pour déterminer les concentrations en ETM particulières (Chapitre I.2).

	Les Doux	Brouage	Perquis
avril 2007	x		
mai 2007		x	
juin 2007	x		x
juillet 2007			
août 2007	x	x	x
septembre 2007	x		x
octobre 2007	x	x	x
novembre 2007	x	x	
décembre 2007			
janvier 2008	x	x	x
février 2008	x	x	
mars 2008			
avril 2008	x	x	x

Tableau III.1- 1: Dates des prélèvements de sédiments de surface aux sites Les Doux, Perquis et Brouage.

2. Mesures continues

Durant la même période, des instruments de mesures autonomes type ALTUS et courantomètre ADV ont été installés sur chaque site et ont permis de mesurer en continu la hauteur d'eau, la hauteur du sédiment, les hauteurs des vagues, la vitesse et la direction du courant, la température de l'eau, la salinité et la turbidité. La description de ces instruments et de plus amples informations sur la stratégie d'échantillonnage peuvent être retrouvées dans la thèse de Kervella (2010).

II. ‘Spatial and temporal trace metal concentrations in surface sediments of the Marennes Oléron Bay. Relation to hydrodynamic forcing’, Strady et al., soumis

L'article *Spatial and temporal trace metal concentrations in surface sediments of the Marennes Oléron Bay. Relation to hydrodynamic forcing*, de Emilie Strady, Stéphane Kervella, Gérard Blanc, Serge Robert, Jean Yves Stanisière, Alexandra Coynel, Jörg Schäfer, a été soumis au journal *Continental and Shelf Sea Research*.

Résumé en français

L'évaluation de la qualité des sédiments est essentielle pour comprendre l'état chimique et écologique d'un écosystème. La baie de Marennes Oléron, premier site ostréicole producteur en France et en Europe, est influencée par la pollution polymétallique historique de l'estuaire de la Gironde. Malgré les efforts de remédiation du site et la baisse des émissions en métaux du bassin versant de la Garonne, les concentrations en Cd dans les huîtres sauvages de la baie demeurent proches de la limite de consommation ($5 \mu\text{g.g}^{-1}$ poids sec, EC No.466/2001). Ainsi, les objectifs de cette étude sont d'évaluer les concentrations en métaux prioritaires (Ni, Cu, Zn, As, Ag, Cd, Hg, Pb plus Th) dans les sédiments de surface de la baie, en confrontant la variabilité spatiale et temporelle des concentrations dans les sédiments aux forçages hydrodynamiques. Pour cela, nous avons sélectionné trois sites caractérisant les différents environnements de la baie et nous avons déterminé les concentrations en métaux, la granulométrie, l'élévation de l'interface eau-sédiment et l'activité des vagues par altimétrie pendant un an (avril 2007-avril 2008). Les concentrations en métaux des sédiments ont varié temporellement et spatialement. Ainsi, pour s'affranchir de la variabilité naturelle des concentrations dues aux changements de granulométrie, les concentrations en métaux des sédiments ont été normalisées par les concentrations en thorium. Puis, les degrés d'enrichissement en métaux des sédiments ont été évalués par le facteur d'enrichissement (EF), permettant de différencier le bruit de fond géochimique des apports anthropiques. Dans la partie Est de la baie, très influencée par les dépôts des particules terrigènes originaires de la Charente, les concentrations en métaux sont constants et les sédiments ne présentent pas d'enrichissements au cours du suivi. Dans la partie Ouest, l'élévation du fond est très influencée par les forçages hydrodynamiques, surtout par l'action des vagues. Toutefois, les concentrations en métaux sont constants et non enrichis, excepté Cd qui montre des variations temporelles et des enrichissements mineurs ponctuels (EF : 1,5-3) en relation directe avec des

apports de la Gironde. Par contre, la partie Sud apparaît comme déconnecté du reste de la baie. Les concentrations en métaux varient temporellement et sont peu enrichis, excepté Cd qui montre des enrichissements mineurs à modérément sévères ($EF \sim 6$) en relation avec les débits hydriques de la Gironde. Pour conclure, cette étude pluridisciplinaire s'est montré très pertinente pour caractériser les interactions entre les forçages hydrodynamiques, les sédiments et la qualité de ces sédiments sous la forme de facteurs d'enrichissement en métaux.

Article soumis à Continental Shelf Sciences

Spatial and temporal trace metal concentrations in surface sediments of the Marennes Oléron Bay. Relation to hydrodynamic forcing

Authors : Emilie Strady¹, Stéphane Kervella², Gérard Blanc¹, Serge Robert², Jean Yves Stanisière³, Alexandra Coynel¹, Jörg Schäfer¹.

¹ : Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC CNRS, GEMA team, avenue des Facultés, 33405 Talence, France

² : IFREMER - LER/PC, BP 7 - Place Gaby Coll, 17137 L'HOUMEAU – France

³ IFREMER, station de la Trinité-sur-Mer, 12 rue des Résistants, BP 26 56470 La Trinité-sur-Mer, France.

Abstract:

Sediment quality assessment is of priority concern to provide a comprehensible overview of ecological and chemical state of an ecosystem. The Marennes-Oléron Bay, hosting the largest oyster production in France, is influenced by the historic polymetallic pollution of the Gironde Estuary. Despite, management efforts and decreasing emissions in the Gironde watershed, Cd levels in oysters from the bay are close to consumption limit (5 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw, EC No.466/2001). In this context, the aim of the study was to assess the priority metal (Ni, Cu, Zn, As, Ag, Cd, Hg, Pb and Th) concentrations in sediment within the Bay, by investigating spatial and temporal distribution variations and the role of hydrodynamic forcing. For that we selected three sites (east, west, south) characterizing different environments of the Bay and we observed metal concentrations, grain size distribution, bed elevation and wave activities during a year survey. The sampling strategy pointed out both spatial and temporal metal concentrations variability in sediment. In general, metal enrichments were close to geochemical background. The eastern part of the Bay, largely influenced by the Charente river particulate deposition, presented constant concentrations over the survey. In contrast, in the western part, bed elevation was strongly influenced by hydrodynamic forcing especially wave activities, and metal distribution showed constant metal concentrations except very located Cd minor enrichment related to the Gironde influence via the Antioche Strait (north). The southern part was disconnected from the rest of the Bay and showed minor to very located moderately severe Cd enrichment, related to the Gironde water discharges via the Maumusson Strait (south). Thus, the multi disciplinary approach was relevant to characterize the interactions between hydrodynamic forcing on the environment and sediments and their

metal quality state which (i) were close to geochemical background over a year for Ni, Cu, Zn, As, Ag, Hg and Pb (i) which presented enrichment of Cd in the western and southern part.

Keyword: trace metal – Marennes Oléon Bay- enrichment factor- sediment – hydrodynamic-altus

1. Introduction

Sediment particles have been identified as key factors in metal/contaminants transport from the continent to the ocean and they play an important role in river basin and coastal area (Förstner and Salomons, 2008). They can act as a source or a sink of metal-bounded particles or dissolved metal in the interstitial water, which can significantly modify contaminant distribution, behaviour and ecotoxicological impact. In coastal zone, sediments may be considered as ultimate receptacle of marine organic/inorganic suspended particulate matter (SPM) and terrigenous inputs from estuarine and riverine watersheds. However, coastal tidal dynamic can induce sediments resuspension and remobilisation which affect trace metal cycle. The Water Framework Directive (Förstner and Salomons, 2008)(WFD) aims at attempting a good ecosystem health in aquatic systems (2000/60/EC). The ecological status is based upon the status of biological, hydromorphological and physicochemical quality elements, including priority substances (2005/105/EC), as trace metals (Borja et al., 2004). Sediment quality assessment is not clearly mentioned in the WFD monitoring network, despite its major scientific concern and available data (Corbett et al., 2009; Essien et al., 2009; Valdès et al., 2009). However, previous studies have showed that sediments should be included to WFD monitoring network to '*provide a coherent and comprehensible overview of ecological and chemical status*' (Apitz and Power, 2002; Crane, 2003; Borja et al., 2004; Apitz, 2008; Tueros et al., 2009).

The Marennes-Oléron Bay (MOB, Figure 1a) is a semi-closed bay of 156 km², with 58 % of intertidal areas (Bassoullet et al., 2000; Goulet et al., 2000) located between the Oléron Island and the Charente coast in south-western France. The Bay hosts the largest oyster production in France, as one third of its intertidal areas are covered by oyster structures several months per year (Goulletquer and Le Moine, 2002). The annual production of 55 to 60 ton.yr⁻¹ generates important regional economy related to farming and tourism activities. However, the MOB is influenced by the historical cadmium pollution from the Gironde Estuary (Latouche, 1988; Boutier et al., 1989; Jouanneau et al., 1990; Boutier et al., 2000; Dabrin, 2009). The Cd is transported through the dissolved phase (Boutier et al., 2000; Dabrin, 2009) and through fine sediments and particles (Pouliquen, 1975; Castaing and Allen, 1981; Boutier et al., 1989; Froidefond et al., 1998; Parra et al., 1999; Boutier et al., 2000; Dabrin, 2009). The pollution of the Lot-Garonne-Gironde fluvial-estuarine system originates 350 km upstream from former mining activities, especially ore treatment, in the Decazeville watershed (Jouanneau et al., 1990; Lapaquellerie et al., 1995; Blanc et al., 1999; Schäfer and Blanc, 2002; Audry et al., 2004b; Coynel et al., 2009; Audry et al., in press). Despite

management efforts and decreasing emissions in the watershed (Audry et al., 2004a; Coynel et al., 2007), dissolved and particulate Cd net fluxes exported from the Estuary to the coastal zone were estimated at 5100 and 800 kg.yr⁻¹ respectively (Dabrin, 2009; Dabrin et al., 2009). Since the 1980s, the French National Monitoring Network (Réseau National Observation, RNO), under the IFREMER responsibility, bio-monitored Cd contamination in oysters collected in the Gironde Estuary and the MOB (RNO, 2000, 2006). The Cd contents in oysters from the Gironde Estuary (RNO, 2000, 2006) were significantly higher than the consumption limit level (5 µg.g⁻¹ dw, EC No.466/2001) conducting to the interdiction of oysters' production, selling and consumption in the Estuary. The Cd concentrations in oysters from the MOB are below but still close to this consumption limit level (RNO, 2000, 2006). Assessment of sediment quality in the MOB is thus of priority concern to implement a successful ecosystem management. It requires an adapted sampling strategy to understand and integrate hydrologic and hydrodynamic forcing over spatial and temporal scale on ecosystem health (Apitz et al., 2006). This study aims at assessing sediment metal quality by evaluating priority metal concentrations (e.g. Ni, Cu, Zn, As, Cd, Hg, Pb, more Th) in surface sediments. The spatial and temporal sediment variability was investigated by performing a year survey at three strategic sites. During the same period, temporal sediment bed elevation and hydrodynamic forcing were monitored at each site in order to discuss the influence of sedimentary and hydrodynamic forcing on sediment metal quality.

2. Material and methods

2. Study area

The Marennes Oléron Bay (MOB; Figure 1b) is a shallow macrotidal bay, with an 8.6 m depth average and a tidal range of 5 m. It receives the fresh waters of Charente River in the North (with a 40-470 m³.s⁻¹ flow, (Soletchnik et al., 1998) and the ones of Seudre River in the South (with a 0-40 m³.s⁻¹ flow, according to the same authors). It can be divided into three sediment areas (Tesson, 1973; Pouliquen, 1975). The north-eastern Bay is a 40 km² large mudflat ((Goulet et al., 2000) compound by 92% of fine particles (Galois et al., 2000), from Charente River, Seudre River and salt marshes, which locally presented specific drainage systems called “ridges and runnels”. The western Bay is a marine mixed sandy and muddy flat, of which sediments are partly originated from the Gironde Estuary (Hily, 1977; Sauriau et al., 1989) and characterized by shellfish farming installations in the lower part and seasonal presence of seagrass *zoostera noltii* in the upper part (Guillaumont, 1991). The central to southern Bay, from “Coureau of Oléron” to Maumusson Strait, is compound of calcareous

and siliceous sandy sediments coming from coastal limestone cliffs and dune under littoral drift action. It is characterized by important permanent oyster farming activities, inducing sandbars and silt deposition (Kusuki, 1978; Sornin, 1981; Martin *et al.*, 1989; Kervella, 2010).

Current circulation The particular bathymetry and the difference of size between the two openings, the Antioche Strait (North) and the Maumusson Strait (South) (Figure 1) bring a residual water circulation oriented along a north-south axis, with dissymmetric ebb and flood tides (Klingebiel *et al.*, 1971; Bertin *et al.*, 2005; Stanisière *et al.*, 2006). During still weather period, marine waters penetrate by the Antioche Strait and the Charente waters flow on the eastern side of the bay (Stanisière *et al.*, 2006). Thus, the central part of the Bay called “Coureau of Oléron” is influenced by sea water mass (salinity > 30) and less saline water mass (salinity < 30) constituted by a mixing between marine waters and Charente ones (Tesson, 1973). The southern Bay is slightly influenced by the marine waters entering via the Maumusson Strait because of the higher ebb tidal prism (Bertin *et al.*, 2005; Stanisière *et al.*, 2006). Thus, the water residence time was estimated of 4-11 days in the western part, 7-16 days in the eastern part and 0.5 to 5 days in the south of the Bay (Struski, 2005). The current maxima (1 m.s^{-1}) are observed during spring tides in subtidal areas (Tesson, 1973) whereas currents do not exceed 0.60 m.s^{-1} in intertidal areas (Bassoullet *et al.*, 2000).

Wave activity: Wave propagation in the bay comes roughly from the Antioche Strait. Waves are strongly attenuated in the South because of the narrowness of the Maumusson Strait and the singular bathymetry in this area. In the MOB, waves are responsible of significant sediment transport at these openings under littoral drift action, while wind waves cause fine sediment resuspension on mudflats (Tesson, 1973; Bassoullet *et al.*, 2000). Despite few data available, Bassoullet *et al.* (2000) have recorded waves of about 0.70 m high on the Brouage mudflat (East) using pressure sensors in stormy periods.

Field sites: Three intertidal sites were selected according to the Bay environmental characteristics and were studied during one year (Figure 1b). The first site, called “Les Doux”, was located in the middle of the oyster production area in the low part of the western flat. During this study, no oyster installations were present. The second site called “Brouage” was located in the low part of the eastern mudflat between the wild oyster area and the “Coureau” of Oléron. The third site was located on the western part of the Perquis sand bank in the southern part of the Bay, in annual oyster installation area.

2.2. Methodology and analysis

2.2.1. Sampling

Surface sediments (0-5 mm) were collected monthly at each site using a plastic spatula. Sediments were immediately introduced into a 60 mL PE tube hermetically closed to avoid re-oxidation processes and kept refrigerated in the dark at 4°C until particle size, water content and metal analyses.

2.2.2. Turbidity and salinity

Salinity and turbidity data were recorded by multi-parameters probes (Ysi) located at the Agnas bank (monitoring network RAZLEC, IFREMER) and at Les Doux and Brouage sites during 16 days (06-22 April 2007). These probes were positioned a few inches from the bottom and temperature and salinity were recorded once every 10 minutes.

2.2.3. Sedimentary parameters

Grain size analyses were performed using Beckman Coulter laser diffraction (LS13 320; focal 780 nm; 0.4 to 2000 µm). The upper limit of clay was fixed at 2 µm and the limit between silt and sand to 50 µm according to USDA standard. Each analysis was performed with seawater to avoid deflocculation processes and take into account environmental physico-chemical characteristics. Before analyses, a blank was realised to eliminate micro organisms and salt contents. The water content (W, in %) was defined as (Kervella et al., 2009)

$$W = \frac{M_w}{M_d} \quad \text{with } M_w: \text{wet mass (g) and } M_d: \text{dry mass (g) after 72 H drying at } 55^\circ\text{C}$$

2.2.4. Bed-elevation and wave measurements

Bed level variations, related to waves and tide currents, were continuously recorded at each site from April 2007 to April 2008 using altimeter devices (ALTUS; NKE®). The ALTUS system is an echo-sounder recording bed elevation and water height with an accuracy of 0.2 and 20 mm, respectively (Jestin et al., 1998). During this study, wave and bed parameters were recorded during 300 seconds every 20 minutes at a frequency of 2 Hz. The transmitter was positioned at 25 to 40 cm above the bottom. The distance between transmitter and bottom is estimated on acoustic waves speed propagation in water. Therefore, a correction of the bed elevation signal is necessary, using Coppens equation, according to changes of environmental temperature and salinity (Deloffre et al., 2005). In this study, we used temperature and salinity data from the monitoring network RAZLEC (IFREMER) located at Agnas bank (middle

MOB) to correct the acoustic signal. Thus, we determined the significant wave height H_{sig} from water level measurement, according to the following equation:

$$H_{sig} = 4\sqrt{m_0} = 4\sqrt{\int S_p(f)df} \cong 4\sqrt{\sum S_p(f_i)\Delta f_i}$$

where S_p is the pressure spectral density (corrected from depth attenuation), f is the wave frequency and m_0 is the variance of the water surface elevation .

2.2.5. Trace metal analysis

For analysing Cr, Ni, Cu, Zn, As, Ag, Cd, Pb and Th, representative sub-samples of surface sediments (30 mg of dried, powdered and homogenized material) were digested into acid-pre-cleaned PP-tubes (SCP sciences®) using 1 mL HNO_3 (14M, suprapur®), 3 mL HCl (12M, suprapur®) and 2.5 mL HF (26M, suprapur®). The reactors were heated at 110°C for 2 h using a temperature controlled digestion system DigiPrep® (SCP sciences). After cooling, the digested solution was evaporated until dryness, and the digestate was diluted to 10 mL using 250 μ L HNO_3 (14M, suprapur®) and milli-Q water®. Trace metal concentrations were measured by ICP-MS (Thermo X7), using external calibration. The analysis and measurements were quality controlled using respectively certified marine sediments (BCSS-1) and riverine water (SLEW-3). Recoveries and reproducibility are presented in Table 1.

For analysing Hg representative sub-samples of surface sediments (70 mg of dried, powdered and homogenized material) were measured by cold vapor atomic spectrometry (DMA®) and quality controlled using IAEA-405 certified sediment.

3. Results

3.1. Salinity and turbidity

Measured salinity showed net temporal and spatial variations (Figure 2a). Three situations were pointed out: (A): salinity measured at Agnas (RAZLEC, IFREMER) and Brouage are relatively low (31,5) and followed the same tendency whereas at Les Doux salinity is slightly higher (32) and varied differently; (B): salinity measured at Les Doux was close to Agnas but lower than Brouage (10-14 February 2007), showing freshwater inputs from the Gironde Estuary via the Antioche Strait; (C): same situation as (A) with higher salinity, showing decreasing freshwater inputs to the Bay. Turbidity (Figure 2b) measured at Les Doux and Agnas (RAZLEC, IFREMER) in spring tides were relatively lower ([10-150] $mg.L^{-1}$) than those measured at Brouage ([10-500] $mg.L^{-1}$).

3.2. Grain size distribution

Sediment fractions and water contents varied temporally and spatially (Figure 3). At Les Doux and Perquis sites, sediments were dominated by the marine sandy fraction throughout the year (87 and 81 % respectively) and characterized by a mean median grain size distribution of 209 and 194 μm respectively. However, a slight increase in fine fraction (silt+clay, 26 %) was observed during the summer. In those two sites, the water content was weak (40 and 43 % respectively) and constant over the survey. On the other hand, Brouage muddy sediments showed a muddy sediments with a mean fine fraction of 90 % throughout the year and a mean median grain size distribution of 9 μm . However, the water content varied, and presented low water content (< 150 %) from April 2007 to October 2007 and higher water content (> 184 %) from November 2007 to April 2008.

3.3. Bed elevation variation and wave activity

At Les Doux site, bed elevation showed strong multi-centimeter vertical variations (SVV), which were related to wave activity (Figure 4a). In fact, measured waves were established from a little signification of 0.20 to 0.50 meter high throughout the year survey. During storms, recorded bed elevation was stronger, corresponding to current and wave ripples on the bottom.

At Brouage site, bed elevation and wave's height temporally changed (Figure 4b). So, the mudflat was in constant erosion ($\Delta h = - 100$ mm) from June 2007 to the end of August 2007, then stable from September 2007 to late November 2007 and in accretion (sitting up) from December 2007. In the meantime, measured wave's activity was from a value of 0.20 m to 0.70 m between May 2007 to August 2007, thus until 1.10 m (important activity) from December 2007 to the end of the survey : between these two periods, the waves were not significant.

In the Southern Bay (Figure 4c), at Perquis site, sediment interface was in slight accretion ($\Delta h = + 35$ mm) from June 2007 to December 2007, whereas waves were not significant during the year ($H_s < 0.20$ m). However, during storm period, recorded wave heights were from 0.20 to 0.60 m values, in relation with higher altimetry variations (erosion and accretion), which is characteristic with current ripples propagation.

3.4. Trace metal concentrations in Marennes-Oléron Bay sediments

Particulate trace metal concentrations (Ni, Cu, Zn, As, Ag, Cd, Hg, Pb, Th) varied spatially and temporally from May 08 to April 08 in the Marennes Oléron Bay surface sediments

(Figure 5a). As no similar concentration range and temporal variation were observed between sites, trace metal variation are described for each site.

3.1.1. Les Doux

Trace metal concentration ranges observed at Les Doux were lower than at Brouage and Perquis. All trace metals significantly varied over time ($10\% < \text{rsd} < 30\%$) and Cu presented a punctual elevated concentrations in September 07 ($30\% < \text{rsd} < 50\%$).

3.1.2. Brouage

Trace metal concentration ranges measured in Brouage were higher than at Les Doux and Perquis. Temporal variations were observed for Zn, As, Ag and Cd ($10\% < \text{rsd} < 30\%$) whereas Ni, Cu and Hg were relatively constant ($\text{rsd} < 10\%$). Pb showed medium temporal variations ($30\% < \text{rsd} < 50\%$).

3.1.3. Perquis

High temporal variations were observed for Ni, Cu, Zn, Ag, Cd ($\text{rsd} > 50\%$) and for As, Pb Hg ($30\% < \text{rsd} < 50\%$). The lowest metal concentrations were observed in January 08 and the highest were observed in August 07 for Cr, Ni, and As concentrations and in September 07 for Cu, Zn, Ag, Cd, and Pb. Exceptional high Cd contents exceeding Brouage and Les Doux levels were noticed in August and September 07.

Despite spatial and temporal metal variations, Cd showed punctual high concentrations at Les Doux and Perquis and was distinguished from other trace metals.

4. Discussion

4.1 Trace metal concentrations in surface sediments

The sampling strategy, adapted to the three environments of the Bay (Tesson, 1973; Pouliquen, 1975), allowed to observe and compare spatial and temporal variations of metal concentrations in the Bay. First of all, trace metal concentrations in sediments varied spatially (Figure 5a). Higher metal concentrations were observed in muddy-sediments from the eastern part than sandy sediments from the western and southern parts of the bay. Those observations are consistent with increasing metal-adsorption sites with decreasing grain size described in the literature (e.g. Loring, 1991; Horowitz et al., 1999). The sampling strategy pointed out different temporal metal distributions between sites. In fact, in the East, metal concentrations were relatively constant over the year survey, except a punctual Pb increase in May 07 (Figure 5a). In the Western part, concentrations variations were closely related to sediment

fractions (Figure 3) and median grain size distribution (mean: 209 μ m; minima: 121 μ m; maxima: 283 μ m), as maxima contents were observed in finest sediments sampled in November and September 07. Finally, the Southern part presented the most important temporal variations of trace metal in sediments, with lower values measured in January 08 and higher in September /October 07.

In the late 1980s, a previous study on trace metal concentrations (Cu, Zn, Cd, Hg, Pb) in MOB sediments showed homogenous distribution between the Eastern and Western part of the MOB (Gonzalez et al., 1991). Sediments were sampled at one time, close to Brouage and Les Doux sites which were characterised at this period by homogenous grain size distribution (mean: 10 μ m; minima: 8 μ m; maxima: 15 μ m; (Gonzalez et al., 1991)). As the same analytical procedure were performed in both studies (acid digestion $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{HF}$ for Cu, Zn, Cd, Pb analysis and cold-vapor atomic spectrometry for Hg (Toth and Ingle, 1977; Sturgeon et al., 1982), we have compared this previous study to Brouage sediments (mean: 9 μ m; minima: 7 μ m; maxima: 12 μ m) in order to provide a decadal tendency of trace metal concentration variations in the MOB sediments. Thus, Cu and Hg values were close to Brouage mean concentrations, Cd and Zn appeared to decrease over time whereas Pb to increase. However, we have to keep in mind that (i) the previous study (Gonzalez et al., 1991) presented only a spatial distribution and that (ii) present temporal variations in the MOB are significant. Taking into account the annual variability, (i) Cu, Hg and Zn are in the same concentration range and do not present decadal variations, (ii) Cd slightly decreased over the last two decades and (iii) Pb is in a steady state in the case of excluding its exceptional local increase in May 07. Those observations suggest a double balanced process, between (i) the removal of metal from the water column, estuaries and coastal inputs into the sediments and (ii) the metal inputs (diffusion, lixiviation) from the sediments to the water column. Present metal concentrations observed in the MOB are relatively low, in comparison to lagoon, bay and marine environments of world oceans reported in literature (Accornero et al., 2008). The Bay can be drawn closer to uncontaminated system as Vaccares and Leucate Mediterranean Lagoon in the Gulf of Lion (France) (RNO, 1998; Accornero et al., 2008).

The MOB is a highly dynamic system with relevant spatial and temporal metal distribution variations. The sampling strategy in such environment is a key factor to provide a comprehensible overview of the ecosystem state. To assess the sediment quality, the influence of grain size distribution on metal concentrations (Horowitz et al., 1991; Loring, 1991) needs to be removed by using the enrichment factor parameter.

4.2. Enrichment factor

The degree of metal enrichment in sediments was assessed using the enrichment factor (EF) which allow to differentiate natural geochemical background to anthropogenic inputs (Zhang and Liu, 2002). Previously, trace metal concentrations in sediments were normalized to compensate natural variability due to grain-size variations (e.g. mineral composition) and to detect any anthropogenic metal contributions e.g. (Loring, 1991). In this study, we have normalized trace metal concentrations with particulate thorium concentrations (Masson et al., 2006; Coynel et al., 2007; Larrose et al., accepted), as Th concentrations are proportional to decreasing grain-size (Figure 6) and as it can be measured simultaneously by ICP-MS. Then, EF was defined as the ratio of Th normalized metal concentrations in sediments over Th normalized ratio in a geochemical background reference (Feng et al., 2004). The background reference concentrations correspond to the concentrations measured at the bottom of a sediment core from the West Gironde Mud Patch (Larrose et al., accepted), located on the Aquitaine Plateau, seaward of the Gironde estuary mouth (Lesueur et al., 2001). Thus, a value of EF between 0.5 and 1.5 suggests natural weathering processes (Zhang and Liu, 2002). In contrary, $EF > 1.5$ values suggest enrichment from anthropogenic source. More precisely, the $1.5 < EF < 3$ interval indicates a minor enrichment, the $3 < EF < 5$ one for a moderate enrichment, the $5 < EF < 10$ one for a moderately severe enrichment until $EF > 50$ values which indicates an extremely severe enrichment (Essien et al., 2009). Enrichment factor determined in sediments from Les Doux, Brouage and Perquis site were reported in Figure 5b. Three tendencies were observed (represented in Figure 6) (i) elements as Cu, As, Ag and Pb which are in the geochemical background in the East, West and South part of the bay (Figure 5b B-D-E-G) (ii) elements as Ni and Zn which are in the geochemical background in the East and West of the Bay and which present temporal minor enrichment in the South (Figure 5b A-C) and (iii) Cd which is in the geochemical background in the East, which present minor enrichment in the West and minor to temporally moderate severe enrichment in the South of the Bay (Figure 5bF). Thus, metal enrichment factors showed that metal sediment quality strongly spatially differed. The Eastern and Western MOB presented very good sediment quality as no enrichment were noticed except Cd punctual minor enrichment in the West in August and November 07. The southern Bay showed three features of temporal enrichment variations: (i) Cu, As, Ag and Pb which are in the geochemical background (Figure 5d), (ii) Ni and Zn which indicate punctual minor enrichment in August and September 07 (Figure 5e) (iii) Cd which present minor to moderately severe enrichment in September 07 and January 08 (Figure 5f). Thus, to better understand metal distribution in the Bay, we will focus on Cd

because of its variation and its high pollutant state in the Bay (Cd repercussion on oysters' production) and we will examine its temporal distribution coupled to hydrodynamic forcing for each site.

4.3. Hydrodynamics

The Marennes Oléron Bay showed spatial and temporal strong hydrodynamic and sedimentation variations (Figure 6). In the Western part, sediment interface was rather sandy and presented strong vertical variations (Figure 4a), although a mean annual erosion, depending only on wave activity. The area was under strong oceanic influence as evidenced by marine sandy deposition and measured salinity (34 Figure 2a situation C). However, during particular periods, less salty water coming from the Gironde was directly measured (Figure 2a situation B) and were simulated after this records, using PREVIMER hydrodynamic model (IFREMER) based on daily measured salinity. These observations are in agreement with previous studies on the Gironde influence on MOB sediment via the Antioche Strait (Pouliquen, 1975; Castaing and Allen, 1981; Boutier et al., 1989; Froidefond et al., 1998; Parra et al., 1999) and with Cd minor enrichment estimated on Les Doux sediments. In fact, during the transit Gironde-Antioche-MOB, Cd-enriched SPM originated from the Gironde Estuary desorbed in marine coastal waters (Boutier et al., 2000; Masson, 2007; Dabrin, 2009) and deposited quasi Cd-depleted in the western MOB. (Figure 5c)

In contrast, the Eastern MOB mudflat was largely influenced by the Charente River Estuary (Tesson, 1973; Pouliquen, 1975). Salinity, turbidity and bed elevation variations (Figure 4;7b) differed from the western part showing disconnection of hydrodynamic and sedimentary parameters. During the survey, bed elevation was closely related to Charente water discharges and wave activity (Figure 7bcd), as we observed erosion mechanisms during high and low water discharges from April 07 to October 07 and repeated short wave action and accretion during mean water discharges and decreasing wave activity from December 07 to April 08. Accordingly, sediments sampled during accretion presented high water content (Figure 3) and were freshly deposited (called 'mollin') whereas during erosion, sampled sediments presented lower water content (Figure 3) and were dated of a century, as shown by ^{210}Pb datation (Kervella, 2010). During flood, expulsion of maximum Charente River turbidity caused deposition a few days later in the mudflat (Figure 7be), as observed in the Seine Estuary (Deloffre et al., 2005). However, Cd concentrations and enrichment were constant over time and were not related to the age of sediments and to Charente River Estuary water discharges. Thus, inputs of trace metal to Brouage mudflat were constant over the survey, meaning

constant trace metal inputs from the Charente River, whatever the water discharges. Concerning the older sediment, low trace metal concentrations can be explained by sediment desorption during regular outcrop since a century and probably already not metal-enriched SPM flowing out the Charente Estuary.

The Southern part of the bay showed different hydrodynamic and sedimentation processes (Figure 4c). This area was very quiet with low waves amplitude, and did not exhibit close relation with bed elevation variations, except during major storm. During the year, the area was in constant accretion despite multi-centimetre sequences of erosion/deposition observed in winter (Figure 7bcf). From December 28, 2007, oyster installations were removed and could have induced development of current ripples as they did not act as hydrodynamic barriers anymore. Before this event, sandy bed-elevation variations were not related to the Charente and Gironde water discharges or to tidal cycles (Figure 7ab). However, we observed that the outside waves were much higher (mean H_s : 3 m; Figure 7c) during winter than during summer time (mean H_s : 1.8 m; Figure 7c), which could have induced sand resuspension and transport from outside dunes to the MOB via the Maumusson Strait. Cadmium enrichments in sediments from Perquis were the most important of the MOB. Enrichments temporally varied but were not related to temporal bed elevation variations (Figure 5 and 3). Because of the north to south residual circulation, the Charente origins of enriched sediments could be considered. However, Cd enrichments in the south were significantly higher than in Brouage and Les Doux, refuting their possible origins from the north of the Bay. Thus, we hypothesized Cd sediment enrichment by deposition of high Cd concentrated SPM transported by the Gironde Estuary via the Maumusson Strait. In fact, the Gironde turbid plume can extend northly to the coast during High water discharges and floods situations combined to S to SE winds (Froidefond et al., 1998; Hermida et al., 1998). The connexion of the Gironde turbid plume with the Maumusson Strait was estimated from a statistical study of satellite images over four years at about 30% of time per year (Dabrin, 2009; Lafon et al., 2009). Thus, SPM from the Gironde plume can enter the Bay through Maumusson Strait during those specific conditions (Dabrin, 2009) and flooding tide (Bertin et al., 2005). This is consistent with moderately severe enriched Cd observed in January 08 (Figure 5) just after the Gironde flood situation (Figure 7b).

Thus, hydrodynamic forcing play an important role on sediment bed elevation and erosion/sedimentation phases but do not systematically influence trace metal distribution. In fact, sediments were in constant good quality state in the eastern part and were influence neither by the Charente river water discharges or the wave activities. In contrast, sediments

from the western parts were strongly related to hydrodynamic forcing as waves activities whereas metal concentrations were more related to water masses inputs, especially the Gironde water influence. Finally, the southern part presented different hydrodynamic and enrichment patterns as sediment quality was punctually moderately severe enriched in Cd in relation with Gironde water discharges. To resume, a conceptual outline is presented in Figure 8 and represent the Gironde and Charente influences on metal distribution and the hydrodynamic influences via the Gironde and Charente water discharges and wave propagation on sediment dynamic in the Bay.

5. Conclusion

This original pluri-disciplinary study pointed out both spatial and temporal trace metal concentrations in sediments of the Marennes Oléron Bay, the sediment quality and the role of regional hydrodynamics forcing on metal distribution in sediments. The MOB can be divided into three areas, Western, Eastern and Southern, disconnected to each other, which are characterized by specific hydrodynamic forcing and trace metal distribution. Globally, sediments were little impacted by trace metals which were in the geochemical background state and so in good quality state. However, the Southern Bay was the most concerned by metal enrichment. Temporal distribution variations have shown the influence of the Gironde plume via the Maumusson Strait on Cd enrichment, which was under-estimated until now. To conclude, this study has shown the relevance of an adapted sampling strategy and multi-disciplinary approach to assess metal sediment quality and later implement an ecosystem management.

6. Acknowledgements

The authors thank Lucette Joassard for the grain size distribution analysis. The study was funded by the laboratory IFREMER LERPC, the Conseil Général de Charente-Maritime and the Région Poitou-Charente, the VOTR'TRAM EC2CO INSU program.

7. References

- Accornero, A., Gnerre, R., Manfra, L., 2008. Sediment concentrations of trace metals in the Berre lagoon (France): An assessment of contamination. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 54, 372-385.
- Apitz, S.E., 2008. Is risk-based, sustainable sediment management consistent with European policy? *Journal of Soils and Sediments* 8, 461-466.

- Apitz, S.E., Elliott, M., Fountain, M., Galloway, T.S., 2006. European environmental management: moving to an ecosystem approach. *Integrated environmental assessment and management* 2, 80-85.
- Apitz, S.E., Power, E.A., 2002. From risk assessment to sediment management: An international perspective. *Journal of Soils and Sediments* 2, 61-66.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., 2004a. Cadmium transport in the Lot-Garonne River system (France) - Temporal variability and a model for flux estimation. *Science of the Total Environment* 319, 197-213.
- Audry, S., Grosbois, C., Bril, H., Schäfer, J., Kierczak, J., Blanc, G., in press. Post-depositional redistribution of trace metals in reservoir sediments of a mining/smelting-impacted watershed (the Lot River, SW France). *Applied Geochemistry*.
- Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., Lavaux, G., 2004b. Anthropogenic components of heavy metal (Cd, Zn, Cu, Pb) budgets in the Lot-Garonne fluvial system (France). *Applied Geochemistry* 19, 769-786.
- Bassoullet, P., Le Hir, P., Gouleau, D., Robert, S., 2000. Sediment transport over an intertidal mudflat: Field investigations and estimation of fluxes within the 'Baie de Marennes-Oleron' (France). *Continental Shelf Research* 20, 1635-1653.
- Bertin, X., Chaumillon, E., Sottolichio, A., Pedreros, R., 2005. Tidal inlet response to sediment infilling of the associated bay and possible implications of human activities: The Marennes-Oléron Bay and the Maumusson Inlet, France. *Continental Shelf Research* 25, 1115-1131.
- Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Anschutz, P., 1999. A cadmium budget for the Lot-Garonne fluvial system (France). *Hydrobiologia* 410, 331-341.
- Borja, A., Valencia, V., Franco, J., Muxika, I., Bald, J., Belzunce, M.J., Solaun, O., 2004. The water framework directive: Water alone, or in association with sediment and biota, in determining quality standards? *Marine Pollution Bulletin* 49, 8-11.
- Boutier, B., Chiffolleau, J., Jouanneau, J., Latouche, C., Phillips, I., 1989. La contamination de la Gironde par le cadmium: origine, extension, importance. pp. Scientific and technical report, Ifremer no. 14.
- Boutier, B., Chiffolleau, J.F., Gonzalez, J.L., Lazure, P., Auger, D., Truquet, I., 2000. Influence of the Gironde Estuary outputs on cadmium concentrations in the coastal waters: Consequences on the Marennes-Oléron bay (France). *Oceanologica Acta* 23, 745-758.
- Castaing, P., Allen, G.P., 1981. Mechanisms controlling seaward escape of suspended sediment from the Gironde: A macrotidal estuary in France. *Marine Geology* 40, 101-118.
- Corbett, D.R., Walsh, J.P., Marciniak, K., 2009. Temporal and spatial variability of trace metals in sediments of two adjacent tributaries of the Neuse River Estuary, North Carolina, USA. *Marine Pollution Bulletin* 58, 1739-1747.
- Coynel, A., Blanc, G., Marache, A., Schäfer, J., Dabrin, A., Maneux, E., Bossy, C., Masson, M., Lavaux, G., 2009. Assessment of metal contamination in a small mining- and smelting-affected watershed: High resolution monitoring coupled with spatial analysis by GIS. *Journal of Environmental Monitoring* 11, 962-976.
- Coynel, A., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., 2007. Scenario of particulate trace metal and metalloid transport during a major flood event inferred from transient geochemical signals. *Applied Geochemistry* 22, 821-836.
- Crane, M., 2003. Proposed development of Sediment Quality Guidelines under the European Water Framework Directive: A critique. *Toxicology Letters* 142, 195-206.
- Dabrin, A., 2009. Mécanismes de transfert des éléments traces métalliques et réactivité estuarienne. Cas des systèmes Gironde, Charente, Seudre et Baie de Marennes Oléron. Thèse, University of Bordeaux, p. 375pp.

- Dabrin, A., Schäfer, J., Blanc, G., Strady, E., Masson, M., Bossy, C., Castelle, S., Girardot, N., Coynel, A., 2009. Improving estuarine net flux estimates for dissolved cadmium export at the annual timescale: Application to the Gironde Estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 84, 429-439.
- Deloffre, J., Lafite, R., Lesueur, P., Lesourd, S., Verney, R., Guézennec, L., 2005. Sedimentary processes on an intertidal mudflat in the upper macrotidal Seine estuary, France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 64, 710-720.
- Essien, J.P., Antai, S.P., Olajire, A.A., 2009. Distribution, seasonal variations and ecotoxicological significance of heavy metals in sediments of cross river estuary mangrove swamp. *Water, Air, and Soil Pollution* 197, 91-105.
- Feng, H., Han, X., Zhang, W., Yu, L., 2004. A preliminary study of heavy metal contamination in Yangtze River intertidal zone due to urbanization. *Marine Pollution Bulletin* 49, 910-915.
- Förstner, U., Salomons, W., 2008. Trends and challenges in sediment research 2008: The role of sediments in river basin management. *Journal of Soils and Sediments* 8, 281-283.
- Froidefond, J.M., Jegou, A.M., Hermida, J., Lazure, P., Castaing, P., 1998. Variability of the Gironde turbid plume by remote sensing. Effects of climatic factors. *Oceanologica Acta* 21, 191-207.
- Galois, R., Blanchard, G., Seguignes, M., Huet, V., Joassard, L., 2000. Spatial distribution of sediment particulate organic matter on two estuarine intertidal mudflats: A comparison between Marennes-Oleron Bay (France) and the Humber Estuary (UK). *Continental Shelf Research* 20, 1199-1217.
- Gonzalez, J.L., Boutier, B., Chiffolleau, J.F., Auger, D., Noel, J., Truquet, I., 1991. Distribution of Cd and Hg in the Bay of Marennes-Oleron. *Oceanologica Acta* 14, 559-568.
- Gouleau, D., Jouanneau, J.M., Weber, O., Sauriau, P.G., 2000. Short- and long-term sedimentation on Montportail-Brouage intertidal mudflat, Marennes-Oleron Bay (France). *Continental Shelf Research* 20, 1513-1530.
- Gouletquer, P., Le Moine, O., 2002. Shellfish farming and Coastal Zone Management (CZM) development in the Marennes-Oléron Bay and Charentais Sounds (Charente Maritime, France): A review of recent developments. *Aquaculture International* 10, 507-525.
- Guillaumont, B., 1991. Use of satellite imagery for spatial and temporal comparisons in the intertidal zone. 19. ECSA Symp., Estuarine and Coastal Sciences Assoc., Caen.
- Hermida, J., Lazure, P., Froidefond, J.M., Jegou, A.M., Castaing, P., 1998. Seaward dispersion of Gironde estuarine waters on to Aquitanian continental shelf from hydrological, satellite and numeric data. *Oceanologica Acta* 21, 209-221.
- Hily, C., 1977. Characteristics and originality of the Pertuis Charentais area. *J. Rech. Oceanogr* 2, 31-38.
- Horowitz, A.J., Elrick, K.A., Demas, C.R., Demcheck, D.K., 1991. The use of sediment-trace element geochemical models for the identification of local fluvial baseline concentrations. Sediment and stream water quality in a changing environment. Proc. symposium, Vienna, 1991, 339-348.
- Horowitz, A.J., Meybeck, M., Idlafkih, Z., Biger, E., 1999. Variations in trace element geochemistry in the Seine River Basin based on floodplain deposits and bed sediments. *Hydrological Processes* 13, 1329-1340.
- Jestin, H., Bassoullet, P., Le Hir, P., L'Yavanc, J., Degres, Y., 1998. Development of ALTUS, a high frequency acoustic submersible recording altimeter to accurately monitor bed elevation and quantify deposition or erosion of sediments. *Oceans Conference Record (IEEE)*, pp. 189-194.

- Jouanneau, J.M., Boutier, B., Chiffolleau, J.F., Latouche, C., Philipps, I., 1990. Cadmium in the Gironde fluvioestuarine system: Behaviour and flow. *Science of the Total Environment* 97-98, 465-479.
- Kervella, S., 2010. Dynamique des sédiments fins et mixtes des zones intertidales de la baie de Marennes-Oléron - Caractérisation des sédiments, processus hydro-sédimentaires et modélisation appliquée. University of la Rochelle.
- Kervella, S., Robert, S., Pantet, A., Jarny, S., 2009. Characterisation of Marennes-Oléron bay superficial sediment. *European Journal of Environmental and Civil Engineering* 13, 261-281.
- Klingebiel, A., Deresseghier, A., Tesson, M., 1971. Contribution à l'étude de la circulation des masses d'eau dans le bassin de Marennes-Oléron. *Comptes Rendus de l'Académie de Sciences de Paris* 273, 1783-1786.
- Kusuki, Y., 1978. Fundamental studies on the deterioration of oyster growing grounds. 3. Sinking rates and distance of transport of the faeces of Japanese oyster. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish* 44, 971-973.
- Lafon, V., Petus, C., Dabrin, A., Froidefond, J.M., Doxaran, D., Maneux, E., Castaing, P., 2009. Gironde and Adour plume dynamics using MODIS imagery - dynamique des panaches de la Gironde et de l'Adour par imagerie MODIS. 31èmes Journée de l'Hydraulique de la SHF "Morphodynamique et gestion des sédiments dans les estuaires, les baies et les deltas", Paris, France.
- Lapaquellerie, Y., Jouanneau, J.M., Maillet, N., Latouche, C., 1995. Cadmium pollution in sediments of the Lot river (France), estimate of the mass of cadmium. pollution en Cadmium dans les sédiments du Lot (France) et calcul du stock de polluant. *Environmental Technology* 16, 1145-1154.
- Larrose, A., Coynel, A., Schäfer, J., Blanc, G., Massé, L., Maneux, E., accepted. Assessing the current state of the Gironde Estuary by mapping priority contaminant distribution and risk potential in surface sediment. *Applied Geochemistry*.
- Latouche, C., 1988. Cadmium pollution in the Gironde estuary. La pollution en cadmium de l'estuaire de la Gironde 44, 15-21.
- Lesueur, P., Jouanneau, J.M., Boust, D., Tastet, J.P., Weber, O., 2001. Sedimentation rates and fluxes in the continental shelf mud fields in the Bay of Biscay (France). *Continental Shelf Research* 21, 1383-1401.
- Loring, D.H., 1991. Normalization of heavy-metal data from estuarine and coastal sediments. *ICES J. Mar. Sci.* 48, 101-115.
- Martin, J.L., Sornin, J.M., Delmas, D., El Sayed, M., Berthet, B., 1989. La biodéposition dans les aires conchylicoles. Son rôle dans la concentration de matière organique et de contaminants potentiels. Son impact sur le sédiment. IFREMER, p. 60.
- Masson, M., 2007. Sources et transferts métalliques dans le bassin versant de la Gironde. Réactivité et mécanismes géochimiques dans l'estuaire fluvial de la Gironde. Université Bordeaux1, p. 366 pp.
- Masson, M., Blanc, G., Schäfer, J., 2006. Geochemical signals and source contributions to heavy metal (Cd, Zn, Pb, Cu) fluxes into the Gironde Estuary via its major tributaries. *Science of the Total Environment* 370, 133-146.
- Parra, M., Castaing, P., Jouanneau, J.M., Grousset, F., Latouche, C., 1999. Nd-Sr isotopic composition of present-day sediments from the Gironde Estuary, its draining basins and the WestGironde mud patch (SW France). *Continental Shelf Research* 19, 135-150.
- Pouliquen, M., 1975. Etude minéralogique et sédimentologique des sédiments du littoral vando-charentais et de la vasière ouest-Gironde: application à la connaissance de l'origine et de la dynamique des vases dans la baie de marennes-Oléron. Université Bordeaux 1, France, p. 163pp.

- RNO, 1998. Surveillance du milieu marin. Travaux du RNO. Ifremer et Ministère de l'Aménagement du territoire et de l'Environnement.
- RNO, 2000. Surveillance du milieu marin. Travaux du RNO. Ifremer et Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable.
- RNO, 2006. Surveillance du milieu marin. Travaux du RNO. Ifremer et Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable.
- Sauriau, P.-G., Mouret, V., Rince, J.-P., 1989. Trophic system of wild soft-bottom molluscs in the Marennes-Oleron oyster-farming bay. *Oceanologica acta* Paris 12, 193-204.
- Schäfer, J., Blanc, G., 2002. Relationship between ore deposits in river catchments and geochemistry of suspended particulate matter from six rivers in southwest France. *Science of the Total Environment* 298, 103-118.
- Soletchnik, P., Faury, N., Razet, D., Goulletquer, P., 1998. Hydrobiology of the Marennes-Oléron bay. Seasonal indices and analysis of trends from 1978 to 1995. *Hydrobiologia* 386, 131-146.
- Sornin, J.M., 1981. Processus Sédimentaire et biodéposition liés à différents modes de conchyliculture (Baie de Cancale, Anse de l'Aiguillon et Bassin de Marennes-Oléron). Gironde. Institut des Sciences de la Nature de l'Université de Nantes, Nantes, p. 188.
- Stanisière, J.-Y., Dumas, F., Plus, M., Maurer, D., Robert, S., 2006. Caractérisation des composantes hydrodynamiques d'un système côtier semi-fermé : Le Bassin de Marennes-Oléron. In: Ifremer, R. (Ed.).
- Struski, C., 2005. Modélisation des flux de matières dans la baie de Marennes-Oléron: couplage de l'hydrodynamisme, de la production primaire et de la consommation par les huîtres. Université de La Rochelle, p. 340 p.
- Sturgeon, R.E., Desaulniers, J.A.H., Berman, S.S., Russell, D.S., 1982. Determination of trace metals in estuarine sediments by graphite-furnace atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 134, 283-291.
- Tesson, M., 1973. Aspects dynamiques de la sédimentation dans la baie de marennes-Oléron. Université Bordeaux1, France, p. 128pp.
- Toth, J.R., Ingle, J.D., 1977. Determination of mercury in manganese nodules and crusts by cold-vapor atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 92, 409-412.
- Tueros, I., Borja, A., Larreta, J., Rodríguez, J.G., Valencia, V., Millán, E., 2009. Integrating long-term water and sediment pollution data, in assessing chemical status within the European Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin* 58, 1389-1400.
- Valdès, J., Román, D., Guiñez, M., Rivera, L., Morales, T., Ávila, J., Cortés, P., 2009. Distribution and temporal variation of trace metal enrichment in surface sediments of San Jorge Bay, Chile. *Environmental Monitoring and Assessment*, 1-13.
- Zhang, J., Liu, C.L., 2002. Riverine composition and estuarine geochemistry of particulate metals in China - Weathering features, anthropogenic impact and chemical fluxes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 54, 1051-1070.

8. Figures



Figure III.1- 2: Figures 1: a) localisation of the Marennes Oléron Bay in southwestern France, b) zoom on the Marennes Oléron Bay and the location of three sampling sites.

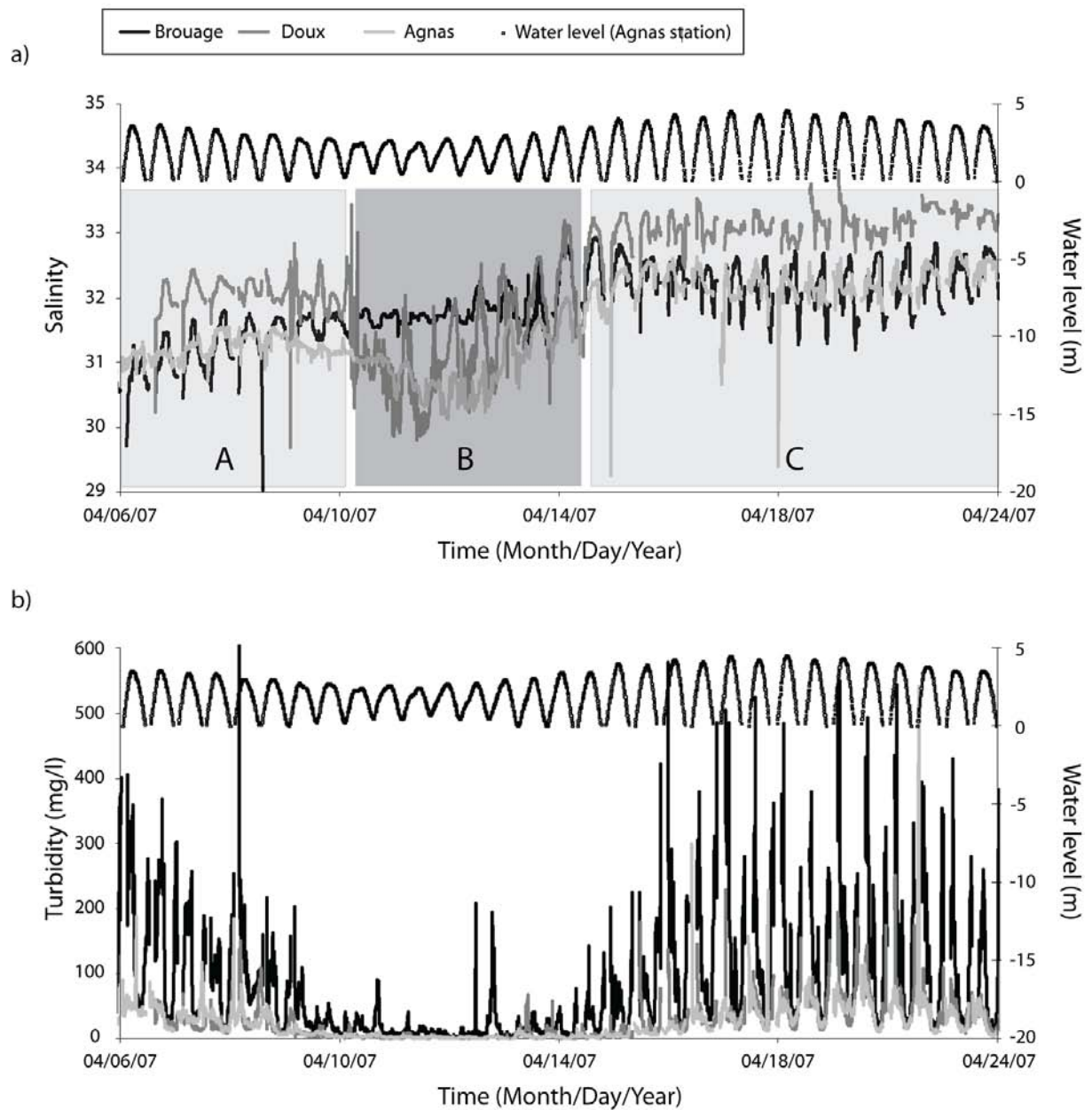


Figure III.1- 3: Figure 2: Variability of a) salinity and b) turbidity on Brouage mudflat, the Doux and Agnas bank, from 04/06/07 to 04/24/07

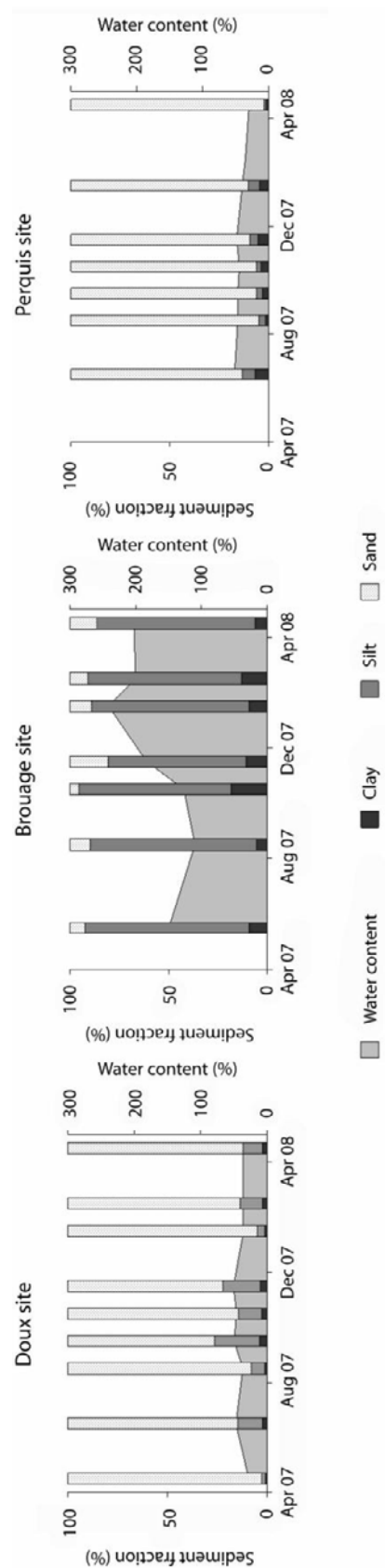


Figure III.1- 4: Figure 3: Sediments fractions and water contents measured in sediments from Les Doux, Brouage and Perquis sites during the year survey

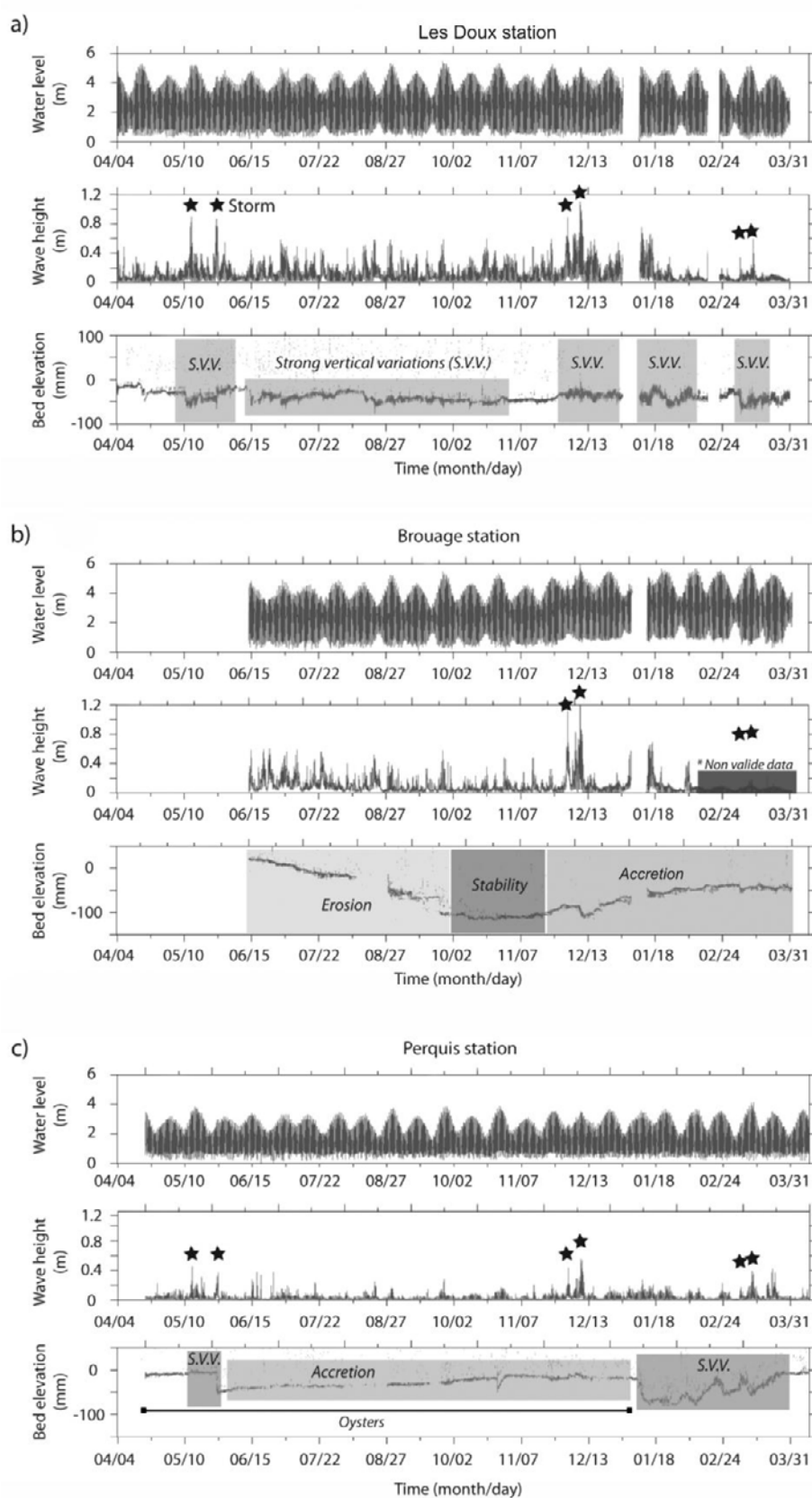


Figure III.1- 5: Figure 4: Variability of hydrodynamic (water level and wave height) and sedimentary (bed elevation) parameters during one year above a) the Doux, b) Brouage mudflat and c) Perquis bank

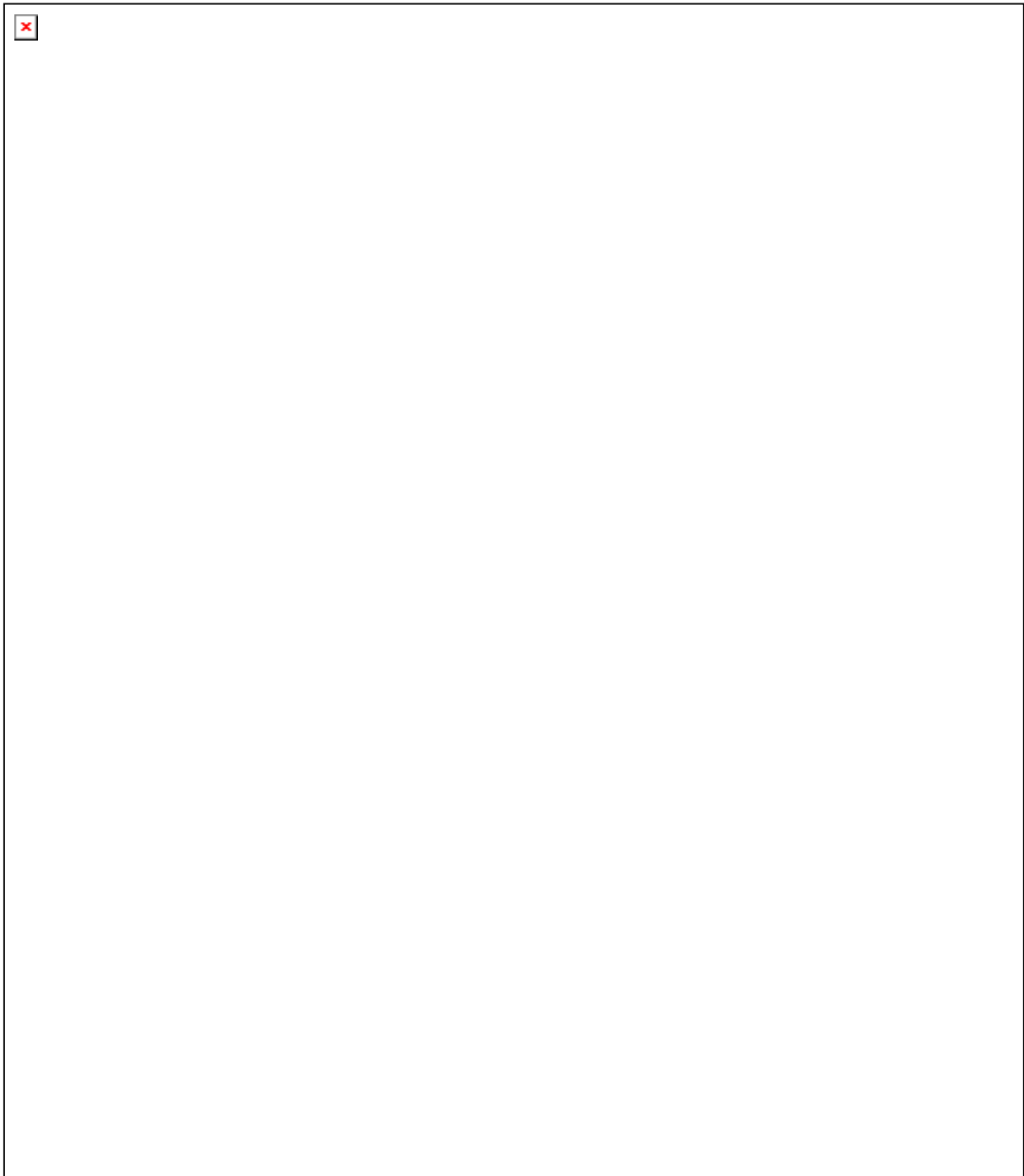


Figure III.1- 6: Figure 5: a) Particulate concentrations and b) enrichment factors of Ni (A), Cu (B), Zn (C) As (D), Ag (E), Cd (F), Pb (G), Hg (H) and (Th) in sediments from Les doux, Brouage and Perquis. To notice, enrichment factors data are not available for Hg and Th.

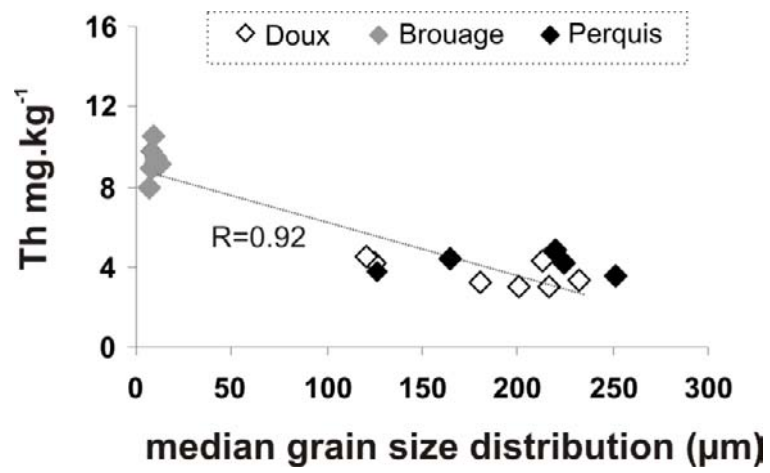


Figure III.1- 7: Figure 6: Particulate thorium concentrations over median grain size distribution of all sediments sampled during the year survey.

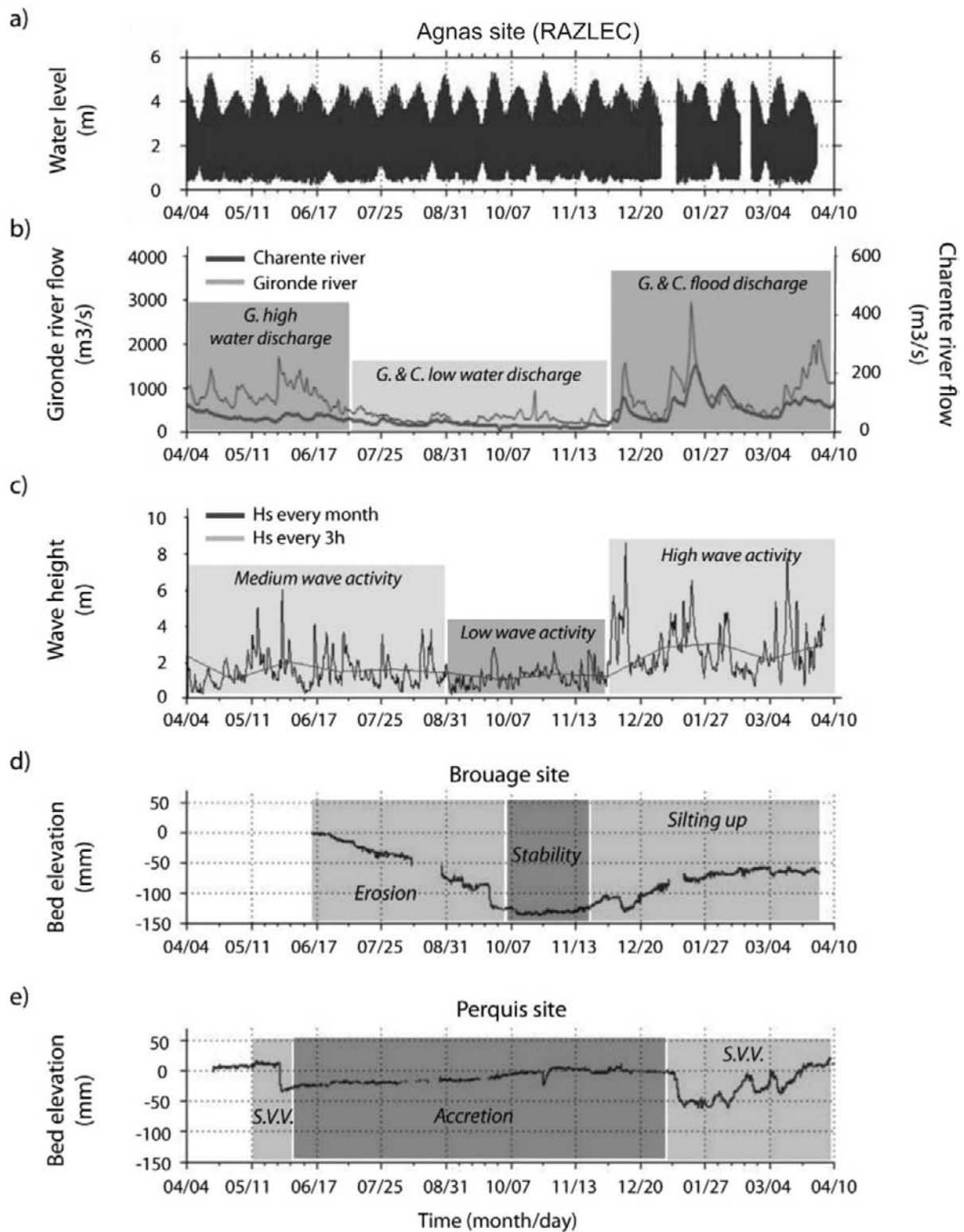


Figure III.1- 8: Figure 7: Relation between a) the water level, b) the Gironde and Charente water discharge and c) wave height measured in front of the Oléron island with the variability of the bed elevation on d) Brouage mudflat and e) Perquis bank, during one year

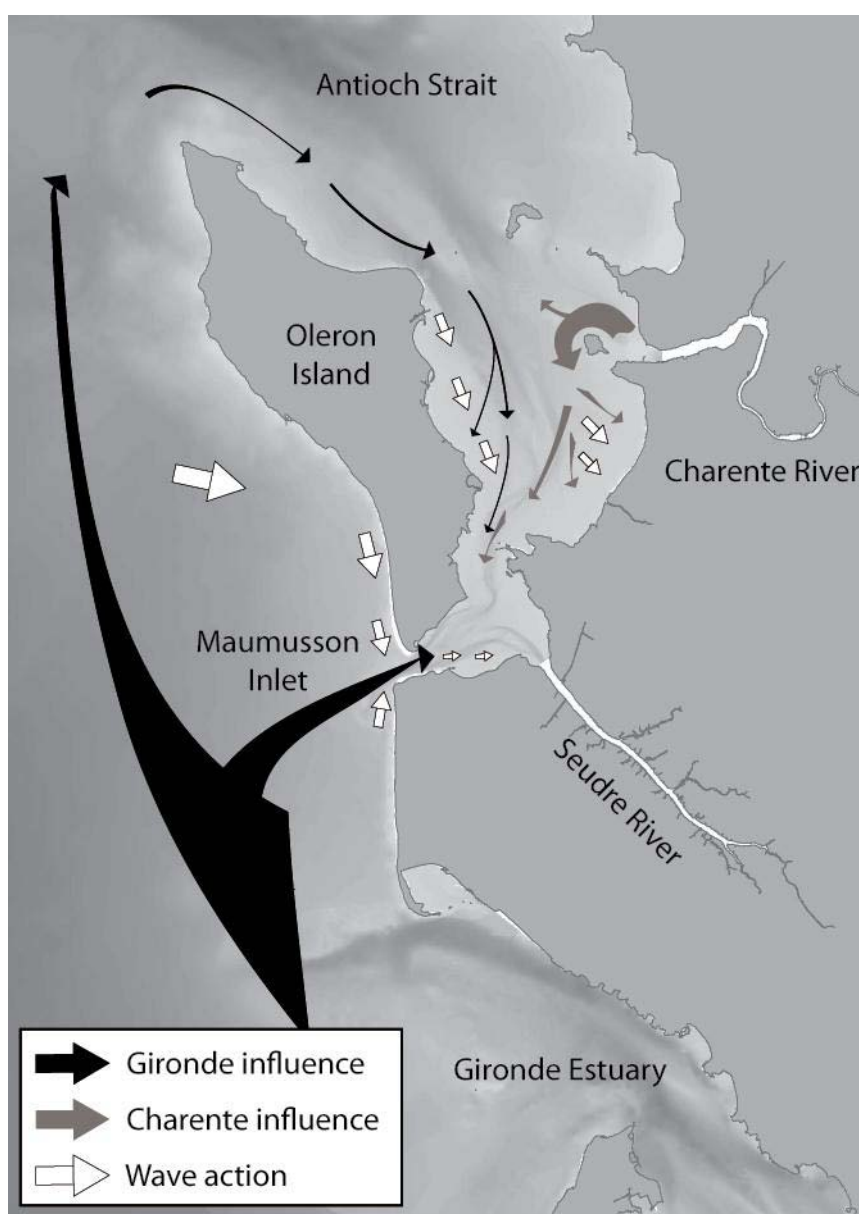


Figure III.1- 9: Figure 8: Conceptual outline of the influence of the Gironde Estuary, Charente Estuary and wave action on spatial and temporal variability of sediment transport and Cd concentrations in surface sediments. The thickness of the arrows is relatively proportional to the Cd contribution to the Marennes Oléron Bay.

	Ni	Cu	Zn	As	Ag	Cd	Pb	Th	Hg	
BCSS-1	55.3 ± 3.6	18.5 ± 2.7	119 ± 12	11.1 ± 1.4		0.25 ± 0.04	22.7 ± 3.4		IAEA-405	0.81 ± 0.04
mg.kg ⁻¹	56.5 ± 5.5	20.0 ± 6.1	92.6 ± 3.5	10.4 ± 0.6	0.18 ± 0.00	0.32 ± 0.01	22.3 ± 0.6	6.9 ± 0.07	mg.kg ⁻¹	0.80 ± 0.06

Tableau III.1- 2: Table 1: Recoveries of certified reference material, BCSS-1 and IAEA-405 for Hg.

IV. Conclusions et perspectives

La mise en commun des compétences hydro-sédimentaires, sédimentaires et géochimiques a permis de proposer une étude pluri-disciplinaire originale sur la distribution spatiale et temporelle des concentrations en métaux des sédiments de surface et sur le rôle potentiel des forçages hydrodynamiques régionaux sur ces distributions. Ainsi, la baie de Marennes Oléron peut-être divisée en trois environnements (Est, Ouest et Sud) déconnectés les uns des autres et caractérisés par des forçages hydrodynamiques et des distributions métalliques spécifiques. D'une façon générale, les sédiments de surface sont proches du bruit de fond géochimique et donc peu impactés par les apports anthropiques. Cependant, la partie sud de la baie présente des enrichissements plus importants, surtout en Cd. En effet, les variations temporelles ont montré l'influence de l'estuaire de la Gironde via le pertuis de Maumusson qui était sous-estimée jusqu'à récemment. Nous proposons alors un schéma conceptuel de la qualité 'métallique' des sédiments de surface et des apports en Cd dans la baie, schéma proposé également dans l'article et présenté sous la Figure III.1- 9

Pour conclure, cette étude a permis de mettre en évidence :

- un gradient décroissant Sud-Nord des enrichissements en Cd des sédiments de surface
- l'influence des apports de l'estuaire de la Gironde en Cd sur les sédiments de surface de la baie, surtout dans le sud.

A la suite de ces résultats, nous avons choisi la zone sud de la baie comme zone d'étude pour mieux comprendre les « Rôles des voies de contamination et de l'hydrodynamique régionale sur la bioaccumulation en Cd des huîtres cultivées en baie de Marennes Oléron ».

CHAPITRE III.2 :

ROLES DES VOIES DE CONTAMINATION ET DE L'HYDRODYNAMIQUE REGIO- NALE SUR LA BIOACCUMULATION EN Cd DES HUITRES CULTIVEES EN BAIE DE MARENNES OLERON

I. Introduction

Dans le contexte de la pollution en Cd de l'estuaire de la Gironde et de la baie de Marennes Oléron, le Réseau National d'Observation (RNO) puis le Réseau d'Observation des Contaminants CHimiques (ROCCH) de l'Ifremer surveillent depuis les années 1980 les concentrations en Cd des huîtres sauvages de l'estuaire de la Gironde et de la baie. Cette surveillance a une vocation sanitaire puisque la norme européenne interdit la commercialisation et la consommation d'huîtres ayant des concentrations en Cd supérieures à $1 \mu\text{g.g}^{-1}$ de poids frais ou $5 \mu\text{g.g}^{-1}$ de poids sec (EC No.466/2001). En Gironde, Cd bioaccumulé par les huîtres dépasse largement ce seuil (classement zone D), alors que dans la baie les concentrations en Cd sont en dessous mais proches de ce seuil depuis le début des années 90 au nord (Boyardville) et la fin des années 90 au sud (Mus du Loup) (Ifremer, 2010). Malgré une surveillance annuelle de Cd bioaccumulé dans les huîtres sauvages, aucune étude n'a été effectuée pour comprendre la variabilité de cette distribution entre les huîtres cultivées au nord et au sud. Des incertitudes demeurent sur les mécanismes de contamination des huîtres dans cette zone et sur les facteurs pouvant jouer un rôle déterminant dans la bioaccumulation. Dans les régions ostréicoles européennes et Nord Est Américaines impactées par une contamination en Cd (Baudrimont et al., 2005); (Lekhi et al., 2008; Bendell and Feng, 2009; Ng et al., 2010), des transplantations d'huîtres ont mis en évidence une nette relation entre les concentrations en Cd dissous et la bioaccumulation, avec une influence notable des conditions physico-chimiques du milieu sur la spéciation de Cd lors de cultures en bassin (Baudrimont et al., 2005).

Dans ce chapitre notre intérêt portera sur la relation entre la spéciation du contaminant cadmium dans le milieu et sa bioaccumulation dans les huîtres. Nous examinerons également le rôle des voies de contaminations directes et trophiques sur la bioaccumulation et le rôle potentiel de l'hydrodynamique générale de l'estuaire de la Gironde et de la baie sur la distribution et le comportement du cadmium. Pour cela, nous proposons une transplantation d'huîtres juvéniles d'une durée de trois mois en conditions réalistes de culture, sur tables ostréicoles et sur le sol, en zone sud de Marennes Oléron, identifiée comme temporellement enrichie en Cd par l'étude de la distribution spatio-temporelle des concentrations en Cd des sédiments de surface de la baie de Marennes Oléron (Chapitre VI). Durant cette transplantation, un suivi pluridisciplinaire de la zone a été mis en place au niveau des paramètres géochimiques (spéciation de Cd dissous et particulaire, du recyclage de Cd par la remobilisation des sédiments de surface et du microphytobenthos), écotoxicologiques (indice de condition, cinétique de bioaccumulation de Cd, organotropisme, induction des métallothionéines) et hydrosédimentaires (turbidité, élévation du fond, activité des vagues), nous permettant de répondre aux questions suivantes :

- ✓ Quelle est la cinétique de bioaccumulation de Cd dans les huîtres en baie de Marennes Oléron ?
- ✓ Observe t-on une différence de bioaccumulation entre les deux modes de culture ?
- ✓ Quel est le rôle de la spéciation de Cd dans la bioaccumulation ?
- ✓ Quel est le rôle de l'hydrodynamique générale de la zone et de la resuspension tidale sur le transport de Cd et sur la bioaccumulation ?
- ✓ Quelles sont les contributions des voies de contamination dans la bioaccumulation ?

II. Stratégie d'échantillonnage

La transplantation d'huîtres juvéniles (origine Arcachon) a été effectuée sur l'estran de Ronce les Bains (sud baie) de mi-avril à mi-juillet 2009. Le lieu a été choisi en raison de l'enrichissement ponctuel en Cd observé dans les sédiments de surface (Chapitre III.1) et de son importante productivité ostréicole. La période de temps a été choisie sur la base d'un compromis entre trois critères : (i) l'observation 'annuelle' de blooms phytoplanctoniques (ii) la présence saisonnière de l'ostréiculture dans cette zone et (iii) le cycle de reproduction de l'huître en évitant la période de 'jeun' hivernal et la ponte des gamètes à la fin de l'été. Les huîtres ont été placées dans des poches (30 huîtres/poche) selon deux modes de culture : (i) sur les tables à 60 cm du sédiment et (ii) directement sur le sédiment en évitant l'envasement

des poches, que nous avons ramassées après 1, 2 et 3 mois de transplantation pour effectuer une cinétique de bioaccumulation. Parallèlement, des prélèvements d'échantillons et des mesures à différentes fréquences d'échantillonnage ont été effectués pour le suivi géochimique et hydrodynamique, que nous avons reportés dans le Tableau III.2- 1. Les mesures sur le cycle de marée ont été effectuées à bord du '*Poto-Poto*' (UMR EPOC) et ont nécessité une logistique importante avec cinq personnes embarquées, alors que les autres mesures ont été effectuées à marée basse. Les analyses géochimiques et écotoxicologiques ont été effectuées, respectivement à Talence et Arcachon, selon les protocoles décrits au Chapitre II, le suivi et traitement de l'altimètre pour l'élévation du fond, l'activité des vagues et l'estimation globale du temps d'immersion a été confié à Serge Robert (IFREMER) et Stéphane Kervella (IFREMER) et le traitement des images satellites a été accompli par Virginie Lafon (GeoTransfert, ADERA).

paramètres	fréquences et nombre de missions		
	continu	1 mois	cycle 12h
géochimiques			
Cd dissous : <0,2 ; <0,02 ; <0,2 UV		3	4
Cd particulaire: MES, sédiments		3	4
plancton, microphytobenthos			4
MES, chlorophylle-a		3	4
écotoxicologiques			
indice de condition		3	
bioaccumulation		3	
métallothionéines		3	
hydrosédimentaires			
élévation du fond	x		
activité des vagues	x		
turbidité (images satellites)		4	
salinité (modèle previmer)	x		

Tableau III.2- 1: Synthèse des paramètres étudiés et de leurs fréquences d'échantillonnage

III. 'Roles of regional hydrodynamic and trophic contamination in cadmium bioaccumulation by Pacific oysters in the Marennes-Oléron Bay (France)' Strady et al., in prep

Auteurs : Emilie Strady¹, Gérard Blanc¹, Magalie Baudrimont¹, Jörg Schäfer¹, Serge Robert² et Virginie Lafon³

¹ : Université de Bordeaux 1, UMR EPOC GEMA

² : IFREMER, LER/PC l'Houmeau

³ : Geotransfert, Université de Bordeaux et ADERA

Résumé en français

La baie de Marennes Oléron, premier site producteur ostréicole en France et en Europe, est influencée par la pollution polymétallique historique de l'estuaire de la Gironde. Malgré les efforts de réhabilitation et la baisse des émissions en métaux du bassin versant de la Garonne, les concentrations en Cd dans les huîtres sauvages de la baie demeurent proches de la limite de consommation (5 µg.g⁻¹ poids sec, EC No.466/2001). De mi-avril à mi-juillet 2009, nous avons étudié le rôle de l'hydrodynamique régionale et de la resuspension tidale sur la spéciation du Cd (eau, MES, phytoplancton, sédiments et microphytobenthos) et sur la bioaccumulation du Cd dans les huîtres juvéniles (branchies, glandes digestives et restes du corps) transplantées dans une zone ostréicole au sud de la baie dans des conditions réalistes de culture (i) sur tables ostréicoles à 60 cm du fond et (ii) directement sur le sédiment. Les concentrations constantes en Cd dissous et particulaire durant le cycle tidal ont montré l'absence de relargage de Cd par les sédiments durant leur remise en suspension en flot. Durant les trois mois de transplantation, l'observation des conditions hydrodynamiques ont montré une connexion du panache girondin avec le pertuis de Maumusson lors des forts débits hydriques de la Gironde (avril-mai), puis une diminution de cette connexion et de la turbidité à l'embouchure avec la diminution des débits en juin-juillet. Les variations de Cd dissous et particuliers mesurés dans la baie reflètent cette influence girondine, avec des concentrations en Cd particuliers élevées lors des prélèvements de flot (entrée d'eau dans la baie) d'avril et mai. Les concentrations en Cd dissous diminuent en juin et juillet, parallèlement à l'augmentation du Cd dans la fraction planctonique [20-100 µm] suggérant le recyclage du Cd par le phytoplancton. La bioaccumulation de Cd dans les huîtres a montré une nette augmentation des teneurs par organes au cours du temps, dans l'ordre suivant : glandes digestives=restes du corps>branchies, avec un facteur de bioaccumulation plus important pour les huîtres élevées sur table que sur le sol. Cette différence, associée au faible écart du temps de submersion des huîtres entre les deux conditions, suggèrent que la voie directe seule n'explique pas la différence de bioaccumulation. Ainsi, nous suggérons que la voie trophique influe sur la bioaccumulation, avec des huîtres sur table se nourrissant majoritairement de plancton et des huîtres au sol se nourrissant avec une proportion plus importante de microphytobenthos, moins enrichi en Cd que le phytoplancton. Pour conclure, les conditions hydrodynamiques régionales influent sur la distribution de Cd dans la baie, qui est ensuite accumulé par voie directe et trophique par les huîtres.

Roles of regional hydrodynamic and trophic contamination in cadmium bioaccumulation by pacific oysters in the Marennes-Oléron Bay (France)

Emilie Strady, Gérard Blanc, Magalie Baudrimont, Jörg Schäfer, Serge Robert and Virginie Lafon

Abstract

The Marennes-Oléron Bay, hosting the largest oyster production in France, is influenced by the historic polymetallic pollution of the Gironde Estuary. Despite management efforts and decreasing emissions in the Gironde watershed, cadmium levels in oysters from the bay are close to the consumption limit ($5 \mu\text{g.g}^{-1}$ dw, EC No.466/2001). From mid April to mid July 2009, we investigated the role of tidal resuspension and regional hydrodynamics on Cd speciation (seawater, SPM, phytoplankton, sediment, microphytobenthos) and bioaccumulation in 18 month-old oysters (gills, digestive glands, rests of tissues) reared under natural conditions (i) in the water column at ~60 cm above the sediment and (ii) on the sediment surface. Dissolved and particulate Cd concentrations in surface and bottom waters were similar and constant over tidal cycle suggesting the absence of Cd release during sediment resuspension. Temporal dissolved and particulate Cd concentrations were closely related to Gironde Estuary water discharges, showing increasing concentrations during flood situations (April and May) and decreasing concentrations afterwards in June and July. Cd depletion in the water column was associated with increasing Cd in the [20-100 μm] plankton fraction, suggesting an uptake by the phytoplankton. After 3 months, enrichment factors of Cd in tissues of oysters exposed in the water column and directly on the sediment were respectively 3.0 and 2.2 in gills, 4.7 and 3.2 in digestive glands and 4.9 and 3.4 in remaining tissues. Increasing Cd bioaccumulation in gills, digestive glands and remaining tissues can be related to elevated dissolved Cd in the bay, suggesting gill contamination via the direct pathway and subsequent internal redistribution of Cd to other organs and tissues. The differences observed for oysters from the water column and from the sediment surface cannot be explained by direct contamination, suggesting differences in trophic Cd transfer, as concentrations measured in phytoplankton were 2 to 3-fold higher than in microphytobenthos. Accordingly, the trophic contamination pathway may play a non negligible role in oyster Cd bioaccumulation in the Marennes Oléron Bay.

1. Introduction

Characterising cadmium bioaccumulation pathways of oysters in a specific environment is of a high economic concern and remains a present important issue (Baudrimont et al., 2005; Lekhi et al., 2008; Bendell and Feng, 2009; Ng et al., 2010). Oyster production and trade are limited by the Cd consumption safety level, varying from 1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ wet weight in the European Union (or 5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry weight), to 2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ww in the Hong-Kong market and 4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ww in the US (Food and Drug Administration). Because of too high Cd levels in oysters, oyster farms have been closed in the Gironde Estuary, SW France (Baudrimont et al., 2005) and several shipments from BC Canada were rejected in the Hong-Kong market (Kruzynski, 2004). Thus, the understanding of oyster contamination by Cd in farming environments required investigations on mechanisms and factors influencing and controlling bioaccumulation.

Cadmium bioaccumulation pathways in oysters have been characterized in laboratory experiments under controlled conditions (Reinfelder et al., 1997; Boisson et al., 2003; Barrera-Escorcia et al., 2010; Hédouin et al., 2010) where bioaccumulation was more important by the direct pathway than by the trophic pathway of contamination (Reinfelder et al., 1997; Boisson et al., 2003). In environments, Cd bioaccumulation depends of location and regional hydrodynamics and can differ from one site to another within a bay (Kruzynski, 2004; RNO, 2006). The preponderant role of dissolved Cd on bioaccumulation was clearly shown in studies on Vancouver Island, but uncertainties remained concerning the role of particulate Cd and the trophic pathway (Lekhi et al., 2008). The influence of environmental factors on bioaccumulation was investigated in breeding basins and it has been shown that specific physico-chemical parameters variations control metal distribution between dissolved and particulate phases and metal recycling and so, strongly influenced metal bioaccumulation (Baudrimont et al., 2005).

The Marennes Oléron Bay hosts the largest oyster production in France and Europe: 55 to 60 $\text{ton}\cdot\text{yr}^{-1}$, i.e. 50 to 55% of French annual production, covering a cultured area of 51 km^2 . The bay is influenced by the Charente and Seudre Rivers (Figure 1), but also by the historical polymetallic pollution of the Gironde Estuary waters (Latouche, 1988; Jouanneau et al., 1990; Blanc et al., 1999; Schäfer et al., 2002; Audry et al., 2007; Dabrin et al., 2009). Because of this pollution, the French Mussel Watch program (Réseau National d'Observation, RNO, and recently renamed Réseau d'Observation des Contaminants CHimiques, ROCCH), have been surveying Cd bioaccumulation in wild oysters from the Gironde and the Marennes Oléron Bay, since the 1970s. Despite management efforts and decreasing emissions in the Gironde

watershed (Audry et al., 2003; Coynel et al., 2007), Cd concentrations in oysters from the Gironde Estuary have decreased with time but they are still higher than the consumption limit level (ROCCH, 2010). In the Marennes Oléron Bay, Cd levels in oysters have also decreased over time and are now lower than (but close to) the limit level since the late 1990s, with higher contents in wild oysters from the southern part of the bay than from the north (ROCCH, 2010).

Previous work on the hydrodynamic context of this area and more precisely the Gironde plume using MODIS imagery, combined with wind and water discharges data, has shown that this plume can extend toward the bay and can be connected to the Antioche Inlet (north) only 1% of time and connected to the Maumusson inlet (south) 31% of time (Dabrin, 2009; Lafon et al., 2009). Thus, particulate and dissolved Cd water could enter the bay during flood tide conditions (Bertin et al., 2005) and contribute to Cd concentrations in Marennes Oléron sediments (Parra et al., 1999) and to the temporally high Cd enriched sediments observed in the southern part (Strady et al., in prep).

In this context, we investigated over three months the influence of regional hydrodynamic and tidal sediment resuspension on Cd levels, speciation, and bioaccumulation in young oysters grown under real production conditions at an instrumented experimental site in the southern part of the Marennes Oléron Bay (Ronce les Bains). In this paper, we present temporal Cd speciation (seawater, SPM, phytoplankton, sediments, microphytobenthos), hydrodynamic variations, Cd bioaccumulation kinetics in gills, digestive gland and in the rest of the tissues and metallothionein concentrations in oysters cultivated under real production conditions, i.e. in bags (i) installed on tables in the water column at 60 cm above the sediment and (ii) directly on the sediment surface during the three month experiment. We investigated the influence of the regional hydrodynamics on Cd speciation and availability in the area, the role of the direct and the trophic Cd contamination pathway in oysters, the potential effect of the rearing conditions on bioaccumulation and detoxification processes.

2. Material and methods

2.1. Study area

The Marennes Oléron Bay has a total surface area of 180 km² and is directly influenced by the Charente River and the Seudre River (10-470 and 0-40 m³.s⁻¹ respectively, Soletchnik et al., 1998; Figure 1). The intertidal mudflat area, representing 96 km², concentrates the major portion of the biomass (Soletchnik et al., 1998; Pigeot et al., 2006). Benthic microalgae produced on these mudflats can be resuspended during the beginning of flood by wind-

induced resuspension (Guarini et al., 1998). The north-to-south residual circulation of marine waters within the bay leads to a residence time varying from 5 to 10 days, depending on tidal (over 6 m) and winds conditions (Raillard and Menesguen, 1994).

2.2. Sampling

Sampling strategy

The survey was conducted from mid April to mid July 2009 at Ronce-Les-Bains site (RLB), an oyster cultured tidal flat in southern Marennes-Oléron Bay (Figure 1). Sampling was performed every two weeks, successively (i) over a 12-hour tidal cycle: high tide (HT), mid ebb (ME), first hour of flood (F1), second hour of flood (F2); and (ii) at low tide conditions for oysters sampling (Tables 1). During 12-hour tidal cycle, we used a 5 m flat boat *poto-poto* to reach the sampling site at high tide and mid-tide. During low tide, we reached the sampling site by foot.

Seawater

Surface and bottom seawater were sampled with 1.5 L Niskin bottles and immediately transferred to HNO₃ pre-cleaned PP bottles (1 L). Then, 60 mL were immediately filtered through 0.2 mm Nucleopore® polycarbonate filters and another 60 mL through 0.02µm Whatman® filters; the filtrating were acidified (ultrapure HNO₃, 1/1000) to a pH < 2 and stored in acid pre-cleaned PP bottles at 4°C in the dark until cadmium analysis. Larger volumes of seawater (up to 500 mL) were filtered through 0.7 mm Whatman GF/F® filters, which were immediately folded and kept in ice-bags a few hours until being kept at -20°C in the dark for chlorophyll-a measurements by a fluorometric method (Yentsch and Menzel, 1963). Surface water was also sampled with a 40 L water bottle (previously rinsed three times with seawater) for suspended particulate matter SPM, retrieved in the laboratory by large volume centrifugation. Previously, homogenised 500 mL subsamples were filtered through pre-weighted 0.7 mm Whatman GF/F® filters before drying at 50°C for three days and weight again for SPM concentrations determination. During low tide sampling, seawater was sampled using 1 L HNO₃ pre-cleaned PP bottles instead of using a Niskin bottle.

As oysters ingest 10-100 µm particles, we collected plankton using a 20 µm diameter net. Then, in the laboratory, we separated ‘particles’ above 100 µm, and dried the ‘20-100 µm phytoplankton’ at 50°C for 3 days until metal measurement.

Salinity, temperature, pH, and oxygen levels were measured with crison® probes.

Sediments

Surface sediment (0-0.5 cm) was sampled using a plastic knife, dried at 50°C and powdered until trace metal analysis. Microphytobenthos was sampled at low tide according to two methods. In the first one, the top 5 mm surface sediment was scraped and epipelagic diatoms were isolated from mud samples in the laboratory using their capacity to migrate upwards, as described in Malet et al., (2008). In the second method, we directly separated surface epipelagic diatoms (which had migrated) from mud in the field using their capacity to float and aggregate with the beginning of flood tide waters. Thus, with filtered-seawater from the site, we re-created local tidal suspension and collected diatoms just after floating. Microphytobenthos was then dried at 45°C, powdered, and bag-packed until metal analysis.

Oysters

Eighteen months-old oysters, originated from the Cd-uncontaminated Arcachon Basin (RNO, 2006), were placed in 6 bags (n=45) installed on tables (T) in the water column 60 cm above the sediment and directly on the bottom (B), which was actually 5 cm above the sediment to avoid burying by sediment deposition processes. Oyster bags from each condition were sampled after 1, 2 and 3 months and kept refrigerated at 4°C in the dark until dissection the day after. Then, shells and tissues were separately weighed, and tissues were dissected into gills (G), digestive glands (DG) and remaining tissues (R), which were weighed, dried at 60°C during three days and weighed again. Subsamples of G and DG (2/3 of masses) and whole R were kept at -20°C until cadmium analysis whereas the other 1/3 of G and DG masses were kept at -80°C under N₂-atmosphere until metallothionein measurements.

2.3 Analysis

Dissolved and particulate Cd

Dissolved Cd (<0.2; <0.02 µm) was extracted from seawater by solid-liquid extraction (Strady et al., 2009) and measured by ICP-MS (Thermo X7).

Representative sub-samples of surface sediments, SPM, (20-100 µm) plankton and microphytobenthos (30 mg of dried, powdered and homogenized material) were digested into acid-pre-cleaned PP-tubes (SCP sciences®) using 1 mL HNO₃ (14M, suprapur®), 3 mL HCl (12M, suprapur®) and 2.5 mL HF (26M, suprapur®). The reactors were heated at 110°C for 2 h using a temperature controlled digestion system DigiPrep® (SCP sciences). After cooling, the digested solution was evaporated until dryness, and the digestate were diluted to 10 mL using 250 µL HNO₃ (14M, suprapur®) and milli-Q water®. Trace metal concentrations were measured by ICP-MS (Thermo X7).

Analyses were quality controlled using certified seawater (CASS-4; $98\% \pm 3\%$ accuracy), certified marine sediments (BCSS-1; $97\% \pm 8\%$ accuracy) and measurements by using riverine water (SLRS-4; $99\% \pm 5\%$ accuracy).

Oysters condition index, Cd bioaccumulation and metallothionein levels

Oyster condition index during the three months was determined individually as the tissue/shell wet weight ratio multiplied by 100.

To analyse Cd concentrations in oysters, G, DG and R were mineralized during 3 hours in 3 mL suprapur® HNO₃ at 100°C (DigiPREP, ®SCP Sciences) and measured by ICP-MS (Thermo X7). Analyses and measurements were quality controlled using respectively lobster hepatopancreas reference material TORT-2 ($110\% \pm 2\%$ accuracy).

Metallothionein levels in oysters G and DG were analyzed by mercury saturation assay (Marie et al., 2006).

2.4. Statistical analysis

Statistical analyses were performed on condition index, bioaccumulation and metallothionein data using Statistica® software. When normality and homogeneity of error terms were respected (e.g. condition index and metallothionein), the significant effect of factors taken into account was determined using an analysis of variance method (ANOVA) and a least square deviation test (LSD). When the assumptions were not respected (e.g. bioaccumulation), we used a non-parametric method and the Kruskal-Wallis test. For all statistical results, a probability of $p < 0.05$ was considered significant.

2.5. Satellite data

The spatial extent and the orientation of the Gironde plume was monitored during the survey using ocean colour MODIS satellite data as described by Lafon et al., (2009). Surface were SPM were quantified using algorithms adapted to the MODIS surface reflectance (Doxaran et al., 2009), allowing SPM quantification at surface water for concentrations lower than 50 mg l⁻¹. Since this algorithm has not been validated so far, it seems reasonable to consider SPM values as indicative of an order of magnitude instead as absolute values. However the plume geometry (size and orientation) are correctly represented (Lafon et al., 2009). In order to evaluate the Gironde plume evolution all along the sampling period, four couple of MODIS Aqua full resolution (250 m) images have been downloaded from the NASA Land Processed Distributed Active Archive Center. Acquisition dates and times are synthesized on Figure 4.

3. Results

3.1 Twelve hours tidal cycle: geochemical survey

Salinity, SPM, Chl-a, dissolved Cd, total particulate Cd concentrations were determined at high tide (HT), mid ebb (ME), first and second hour of flood (F1, F2) of four tidal cycle sampling (20th April, 26th May, 24th June and 9th July 2009; Table 1; Figure 2). However, during 20th April and 26th May tidal cycles, we observed higher Cd concentrations in SPM at HT compared to ME, F1 and F2. As it will be discussed in the discussion section, those higher concentrations are not included in tidal cycle variations but to a larger influence of the Gironde water flowing into the bay during flood tide (Bertin et al., 2005). Despite those specific HT sampling, we observed similar tendencies for each tidal cycle sampling (Table 1). Consequently, we decided to focus on and describe one tidal cycle (9th July), the most complete cycle, representing the other observed tidal cycles variations (Figure 2). In fact, in some cycle, data are missing because of sampling or analytical issues.

Salinity was constant over the water column and over tidal cycle (Figure 2). Surface and bottom dissolved Cd (Cd_d) did not vary significantly during ebb and flood sediment resuspension, showing similar values for both fractions $<0.2\ \mu m$ and $<0.02\ \mu m$. SPM and Chl-a presented higher bottom concentrations during the first and second hour of flood tide, corresponding to sediment and microphytobenthos resuspension. However, total particulate Cd concentrations were constant, over the tidal cycle, even during flood tide suspension.

3.2 Three months variations

The hydrological situation in the southern part of Marennes Oléron Bay was characterised by daily freshwater discharges from the Charente River and the Gironde Estuary, provided by the BanqueHydro® and the Port Autonome de Bordeaux (Figure 3a). During the three months survey, the Charente River daily discharges were typical of mean annual discharges (Soletchnik et al., 1998). In contrast, Gironde Estuary daily discharges were higher than annual mean discharges ($\sim 800\ m^3.s^{-1}$, over 1989-2009) from mid April to end of May, with two flood events ($>2000\ m^3.s^{-1}$) on the 22nd April and from 28th April to 4th May.

The position of the Gironde plume changed during the three months (Figure 4). During high Gironde water discharges from mid April to mid May, high turbidity levels in the coastal zone were detected by MODIS images (Figure 4ab). Furthermore, the plume was connected to the Marennes Oléron Bay at the Maumusson Inlet (south). With decreasing Gironde freshwaters discharges in beginning of June, the plume extension in the coastal area was less important as

during high freshwater discharges, and was not connected anymore to the Maumusson inlet (figure 4c). Then, during low Gironde freshwaters discharges from mid June to July, the plume was definitely off the coastal zone and the turbidity zone had moved into the estuary (Figure 4d). Salinity was rather constant during the survey from 32.2 in April, decreased to 31.5 in early June and increased to 33.9 in mid July (Figure 3c). These variations are consistent with the salinity measured twice a month at Auger Est (Figure 1) (RAZLEC-IFREMER, 2009). SPM concentrations at the RLB site were relatively low (<10 to 90 mg.L^{-1}) during the survey and more related to tidal sediment resuspension than hydrologic conditions (Figure 3d). Chl-a concentrations were in the typical range of the area, from 1 to $6 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ (Soletchnik et al., 1998), despite that lower concentrations were measured at Auger Est by RAZLEC watch (RAZLEC-IFREMER, 2009). However, we did not observe the typical spring plankton bloom (Malet et al., 2008; RAZLEC-IFREMER, 2009).

Dissolved Cd concentrations ($<0.2 \text{ } \mu\text{m}$; Figure 3c) showed two different temporal patterns. During high Gironde water discharges, concentrations were constant and close to 40 ng.L^{-1} whereas concentrations decreased with decreasing Gironde water discharges to 30 ng.L^{-1} in mid June and to 20 ng.L^{-1} by the end of June and in July for very low water discharges. Comparison of <0.2 and <0.02 (truly dissolved) Cd concentrations fractions showed that the colloidal Cd fractions ranged from 0 to 30% in waters sampled at F1 and at HT, respectively (Figure 3c).

Total particulate Cd concentrations showed higher concentrations in SPM sampled at HT than at F1 during high Gironde water discharges in April and May (up to 1.5 mg.kg^{-1} ; Figure 3e). During mean to low water discharges, Cd concentrations in SPM sampled at HT and F1 were significantly lower, close to 0.25 mg.kg^{-1} (Figure 3e). Oppositely, Cd concentrations in $[20\text{-}100 \text{ } \mu\text{m}]$ plankton fractions were not related to the Gironde Estuary water discharges. Note that this fraction reflects the particle size ingested by oysters and represents at least 90% of plankton, as 95% of terrigenous particles are smaller than $20 \text{ } \mu\text{m}$. In April and May, Cd in $20\text{-}100 \text{ } \mu\text{m}$ plankton was of 0.25 mg.kg^{-1} whereas it increased to values two-fold higher (0.55 mg.kg^{-1}) in June and July (Figure 3e). These increasing Cd concentrations in plankton were correlated to decreasing <0.2 and $<0.02 \text{ } \mu\text{m}$ Cd_d in waters, suggesting Cd uptake and bioaccumulation by plankton. In sediments, Cd concentrations were constant over the three months, $0.17 \pm 0.08 \text{ mg.kg}^{-1}$, except a slight increase in June (Figure 3f). Although microphytobenthos in sediments was sampled according to two different methods described above. However, we encountered issues with diatoms migration *in situ* and in the laboratory during the beginning of the survey. Accordingly, we were able to measure Cd concentrations

in microphytobenthos only three times during the survey and we observed highly variable concentrations close to Cd in sediments (Figure 3f).

3.3. Oysters

3.3.1 Oysters condition index

Condition index (C.I.) increased with time in oysters from both conditions, and were significantly different from one month to another. However, the differences between bottom (B) and table (T) for each sampling period were not statistically significant (Figure 5a). After 2 and 3 months sampling, we observed gametogenesis in oysters from both conditions without spawning. Oyster mortality, controlled for each condition and sampling time, was of 22-26% after three months and was not significantly different between the two rearing conditions, contrary to previous studies (Soletchnik et al., 2005; Gagnaire et al., 2006). Furthermore, mortality was in the same range as that of 18th months-old oysters reared in the bay and was related to the 2009 summer mortality events which occurred in all coastal French waters (ROCCH, 2010).

3.3.2 Cadmium bioaccumulation

Cadmium concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$ dw) were measured in oysters gills, digestive glands and rests of tissues from T and B conditions at the beginning of the survey (control) and after one, two and three months (Figure 6abc). Concentrations in gills from T and B were significantly different from control ($2.1 \pm 0.4 \mu\text{g.g}^{-1}$ dw; control) after three months survey, respectively 4.5 ± 0.9 and $3.3 \pm 0.3 \mu\text{g.g}^{-1}$ dw ($p < 0.05$). Concentrations in digestive glands were significantly different from control ($2.0 \pm 0.4 \mu\text{g.g}^{-1}$ dw; control) after two months survey ($2.0 \pm 0.4 \mu\text{g.g}^{-1}$ dw; control) but we did not observe different bioaccumulation levels between the conditions ($p > 0.05$). In the rest of tissues, concentrations were significantly different from control ($3.6 \pm 0.3 \mu\text{g.g}^{-1}$ dw) after two month ($p < 0.05$), reaching values of 5.6 ± 0.6 (T) and 5.5 ± 0.7 (B) $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw. However, cadmium concentrations considerably decreased during the third month, to values of 0.9 ± 0.1 and $1.0 \pm 0.1 \mu\text{g.g}^{-1}$ dw, in T and B tissues after three months.

Cadmium burdens (μg) were measured in gills, digestive glands and rest of tissues of oysters from T and B conditions at the beginning and after one, two and three months survey (Figure 6def). Cadmium burdens in gills from T and B showed similar evolution and were

significantly different from control ($0.12 \pm 0.02 \mu\text{g}$) after two months survey. However, measured burdens were significantly higher in gills from T ($0.33 \pm 0.05 \mu\text{g}$) than from B ($0.21 \pm 0.04 \mu\text{g}$) after two months ($p < 0.05$). In digestive glands, Cd burdens increased with time and were significantly different from control ($0.16 \pm 0.02 \mu\text{g}$) after one month survey. After two months, burdens were considerably higher in digestive glands from T ($0.70 \pm 0.11 \mu\text{g}$) than from B ($0.45 \pm 0.06 \mu\text{g}$). Finally, Cd burdens in the rest of tissues increased with time and were significantly different from control ($0.15 \pm 0.02 \mu\text{g}$) after one month. Higher Cd burden was measured in tissues from T ($0.82 \pm 0.012 \mu\text{g}$) than from B ($0.53 \pm 0.04 \mu\text{g}$) after two months of survey.

3.3.3 Metallothionein levels

Metallothionein concentrations ([MT]; $\text{nmol Hg.g}^{-1} \text{ ww}$) were measured in gills and digestive glands of oysters from T and B conditions at the beginning and after one, two and three months of survey (Figure 5bc). In gills, [MT] were relatively constant in oysters from T ($9.7 \pm 1.2 \text{ nmol Hg.g}^{-1} \text{ ww}$, control) and decreased in oysters from B conditions ($p < 0.05$) to a minimum of $3.3 \pm 2.5 \text{ nmol Hg.g}^{-1} \text{ ww}$ after two months. In digestive glands, we also measured constant [MT] in T oysters ($39.1 \pm 16.9 \text{ nmol Hg.g}^{-1} \text{ ww}$, control) and decreasing [MT] after two months in oysters from B ($25.4 \pm 7.1 \text{ nmol Hg.g}^{-1} \text{ ww}$, 3M, $p < 0.05$).

4. Discussion

4.1 Tidal cycle variation

The dynamics of Cd and geochemical parameters, observed during four tidal cycles, showed similar tendencies, despite different concentration ranges. From high tide to mid ebb, Cd partitioning between the dissolved and particulate phases was constant as presumed by the weak exchange between the water column and sediment. During the beginning of flood, tidal sediment resuspension was weaker than expected and was observed for 10-15 cm water depth. Particulate Cd concentrations associated to tidal sediment resuspension were constant, showing (i) the absence of particulate influx from sediment and from microphytobenthos (constant chl-a concentrations) or (ii) the achieved equilibrium state between Cd concentrations in SPM, microphytobenthos and sediments. Dissolved Cd concentrations were also constant over increasing tidal range and bottom resuspension, suggesting that dissolved Cd release from sediment due to diagenetic processes was not measurable in contrast to previous work by Gonzalez (1992) in sediments from the tidal Marennes Oléron Bay. The absence of Cd release may also imply that Cd desorption from microphytobenthos (Pigeot et

al., 2006) may be negligible in the water column. Thus, Cd partitioning between dissolved and particulate phases did not seem to be controlled by sediment resuspension, i.e. not influenced by tidal cycle, suggesting the importance of hydrodynamic for Cd Cycle.

4.2 Hydrodynamics

Hydrological conditions varied within the three month survey. From mid-April to the end of May, the Gironde plume was expelled to the coastal zone by high freshwater discharges and connected to the bay via the Maumusson Inlet, as observed by MODIS turbidity images, suggesting an influence of the Gironde waters and SPM in the south of the Marennes Oléron Bay during flood tide. From June to mid July, the Gironde plume was not connected anymore to the bay (Figure 4), which was influenced by the constant mean Charente River water discharges only.

Salinity showed small temporal variations during the survey, related to Gironde water discharge and ocean inputs. In fact, salinity decreased during high discharge periods and increased with decreasing Gironde Estuary discharges due to increasing ocean inputs via the Maumusson Inlet during flooding tide (Bertin et al., 2005).

4.3. Cadmium partitioning

Cadmium concentrations in sediments from the south of the bay showed typical low values (Strady et al submitted; (Gonzalez et al., 1991). Compared to most environments cited in the literature (e.g.(Accornero et al., 2008), these concentrations are low and can be related to unpolluted Vaccares and Leucate Mediterranean Lagoon in the Gulf of Lion (France) (RNO, 1998; Accornero et al., 2008). Geochemical background concentrations in sediments were differentiated from anthropogenic inputs by assessing the degree of metal enrichment using the enrichment factor EF (Zhang and Liu, 2002; Essien et al., 2009). Previously, Cd concentrations in sediments were normalized with Th concentrations (Masson et al., 2006; Coynel et al., 2007) to compensate natural variability due to grain-size variations (e.g. mineral composition) and to detect any anthropogenic metal contributions (Loring, 1991). Then, EF was defined as the ratio of Th normalized Cd concentrations in sediments over Th normalized Cd levels in the bottom sediment of a core from the West Gironde Mud Patch, considered as representative of the regional geochemical natural background (Larrose et al., accepted). Sediments presented $EF < 1.5$, suggesting natural weathering processes, except in June, where $1.5 < EF < 3$ indicated a minor Cd enrichment. Accordingly, although the sediments in the study area were mainly derived from the Gironde Estuary (Parra et al., 1999) they were Cd-depleted

(by desorption) and released low Cd amount by diagenetic processes during flood resuspension (Gonzalez, 1992). The punctual minor enrichment observed was not due to Cd-rich microphytobenthos (Pigeot et al., 2006), as during this study Cd levels in microphytobenthos were globally similar to those in sediments (Figure 3e). We rather suggest deposition of SPM, which are globally more concentrated in Cd than sediments (Figure 3; (Gonzalez et al., 1991).

Temporal Cd variations in SPM were within the typical concentration ranges observed in the southern bay (Gonzalez et al., 1991; Dabrin, 2009). However, high Cd levels in SPM were not related to Chl-a concentrations and were significantly higher than those in (20-100 μm) plankton. Thorium normalized Cd concentrations in SPM rather suggested anthropogenic inputs in April and May ($\text{Cd/Th} > 0.1$) and natural geochemical background levels in June and July ($\text{Cd/Th} \sim 0.02$). This supports that temporal Cd variations could be related to Gironde water discharges, as higher Cd concentrations were observed at HT sampling, when the Gironde Estuary influence is at maximum. Experimental studies of Cd desorption processes in the salinity gradient related to the turbid Gironde Estuary have shown that Cd desorption was enhanced by increasing salinity (Chiffoleau et al., 2001) and mainly limited by high SPM concentrations and decreasing water residence time (Masson, 2007). Considering that during flood events, a major part of SPM entering the Gironde Estuary are expelled to the coastal area through the plume, we suggest that during the first month of the survey, fresh riverine particles ($\text{Cd } 4.0 \pm 3.0 \text{ mg.kg}^{-1}$, Garonne, La Réole, pers. comm.) may have reached the coastal area within the Gironde plume (Figure 4). We hypothesize that those particles were not entirely desorbed in the Gironde Estuary turbid waters, and so continued to desorb in the low turbid and saline waters of the Marennes Oléron Bay. This hypothesis is consistent with Cd-rich SPM sampled at HT in the bay at the beginning of the survey (Table 1). Oppositely, during low water discharges from mid-June to July, the plume was less extended in the coastal zone and the turbidity zone had moved into the estuary (Figure 4), inducing Cd desorption inside the estuary (Robert et al., 2004; Audry et al., 2007; Dabrin et al., 2009). In this condition, particles potentially reaching the bay are quasi Cd-depleted. Thus, SPM sampled at RLB site presented a Gironde signature during the 1-2 months, showing the potential influence of (i) Gironde water discharges, (ii) plume extension and position and (iii) desorption processes occurring in the Gironde Estuary on Cd concentrations in SPM of the Marennes Oléron Bay. The Charente Estuary discharges were constant during this survey, and did not induce noticeable variations in SPM.

In the Marennes Oléron Bay, previous studies have shown that dissolved Cd concentrations varied locally and temporally. In fact, lower concentrations were observed in the northern part (Gonzalez et al., 1991) and larger variability was observed in the south during a year survey ($43 \pm 15 \text{ ng.L}^{-1}$; (Dabrin, 2009). Although the Charente and Seudre Rivers Cd inputs contribute to the Cd budget of the bay, they did not directly explain the increased concentrations observed in the southern bay (Dabrin, 2009). During this survey, Cd_d concentrations varied and were related to Gironde Estuary water discharges (Figure 3). Thus, temporal Cd variability could be related to (i) dissolved inputs from the Gironde waters, (ii) SPM desorption processes in the bay and/or (iii) plankton uptake. A previous study on Cd_d export from the Gironde Estuary showed that Cd_d levels were highly variable in the high salinity Gironde waters, $S=32\text{-}34.7$, Cd: $15\text{-}90 \text{ ng.L}^{-1}$ (Dabrin et al., 2009). We hypothesize that increasing Cd_d concentrations in the bay originated from Gironde Cd-rich waters masses connected to the Maumusson Inlet during the first month of the survey. In the previous section, we discussed the desorption processes still occurring in the coastal area and in the bay during April and May. We can now suggest that desorption of observed Cd-rich particles enhanced Cd_d concentrations (Comans and Van Dijk, 1988; Turner, 1996) in the bay. As we did not sample Gironde waters during the survey, the dominant process (inputs or desorption) occurring in the bay cannot be determined. However, we pointed out the key role played by the connection of the Gironde plume to the Maumusson Inlet on increasing Cd in the southern bay. In June and July, Cd_d concentrations decreased in the bay simultaneously to increasing Cd in ($20\text{-}100\mu\text{m}$) plankton (Figure 3), suggesting phytoplankton uptake. In fact, laboratory experiments have shown that Cd toxicity to phytoplankton can be limited (Miao and Wang, 2006) and also that Cd can, under specific conditions, stimulate marine diatom growth (Price and Morel, 1990). This process, well observed during algae blooms (Luoma et al., 1998; Luengen et al., 2007), was already suggested for the bay by Gonzalez et al. (1991) to complete Cd budget but was not yet observed.

4.4. Cd bioaccumulation in oysters

Oysters cultivated in the water column (T) and on the sediment surface (B) grew and developed similarly, as confirmed by the condition index (Figure 5a). Kinetics of Cd bioaccumulation showed clearly increasing Cd concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$, dw) in gills and digestive glands, whereas it significantly decreased in the rest of tissues after two months, because of increasing weight due to gonad development (Figure 6abc). To avoid Cd concentrations dilution by weight effect, we used kinetics of Cd burdens (μg). Cd burdens

clearly increased over time and showed higher burdens in digestive glands and rest of tissues than in gills (Figure 6def). After three months, enrichment factors ($[Cd]_{3M}/[Cd]_{control}$) of Cd in tissues of oysters exposed from T and B were respectively 3.0 and 2.2 in gills, 4.7 and 3.2 in digestive glands and 4.9 and 3.4 in the rest of tissues. Thus, Cd accumulation was clearly higher in oysters growing in the water column than near the bottom, as it has been observed for oyster larvae in eastern North America (Ng et al., 2010). We also determined the bioaccumulation factor (BAF), defined as the ratio of Cd concentration in the organism to the concentration in water (Gobas and Morrison, 2000; DeForest et al., 2007), in whole oysters for both conditions after 1, 2 and 3 months assuming a mean Cd_d levels of 40 ng.L^{-1} during the first two months and of 30 ng.L^{-1} for the whole three months. However, BAF was affected by the weight effect as it decreased over time for both condition. Consequently, we calculated a new adapted BAF (BAF_{adap}) from the Cd burden (μg) and not from the Cd concentration ($\mu\text{g.g}^{-1}$) anymore and for the three tissues (gills, digestive glands and rests) to avoid the weight dilution effect. This BAF_{adap} showed different factors for different organs, with higher and similar BAF_{adap} in digestive glands and rests of tissues than in gills, after 1, 2 and 3 months (Figure 7), suggesting gill contamination via the direct pathway and subsequent internal redistribution of Cd to other organs and tissues (Strady et al, accepted; (Lekhi et al., 2008)) in oysters from both conditions. Higher Cd bioaccumulation in digestive glands than in gills was also observed in previous studies but was not related to Cd environmental levels (Geret and Cosson, 2000; Geffard et al., 2002). The BAF_{adap} between conditions showed general higher factors in all tissues from T than from B (Figure 7), showing that direct pathway of contamination cannot explain the difference of Cd bioaccumulation observed between the two rearing conditions. Submersion time of oysters reared in the water column (T) was globally lower than oysters reared on bottom (B) and was depending on tidal range. From an altimetry survey (ALTUS device), conducted in the same time, and especially the pressure sensor, we roughly determined a general submersion time of 90% for B and of 80% for T. As the filtration rate of oysters is about 4 L.h^{-1} (Bougrier et al., 1995) and as it is not influenced by SPM load (Gerdes, 1983), we can estimate that the potential difference of accumulated Cd by direct pathway (filtration) between the two submersion time is of 1% and could induce a small difference between BAF_{adap} in T and B. Thus, we hypothesize that additive preponderant diet exposure in one condition over the other could be responsible of the different BAF_{adap} . In fact, the phytoplankton biomass in spring is generally composed by 90% of pelagic and 10% of benthic microalgae (Malet et al., 2008). Consequently, oysters in the water column would rather filter pelagic phytoplankton, whereas for oysters on the

sediment surface one would expect higher contributions of benthic microalgae. As concentrations measured in phytoplankton were 2 to 3-fold higher than in microphytobenthos, we suggest that oysters reared on tables fed by a majority of phytoplankton, which was higher Cd-contaminated. In contrast, we suggest that oysters reared on bottom mainly fed on a higher proportion of benthic microalgae, which had lower Cd levels. However, we would like to specify that Cd concentrations measured in microphytobenthos during this study were 4 to 5 fold lower than those measured by Pigeot et al. (2006). These concentrations differences could be due to (i) either the sampling method used which could induce remaining sediments with epipellic diatoms and (ii) from the previous authors sampling site, northern in the bay, performed about ten years ago in a different season. Thus, we do not exclude Cd bioaccumulation in oysters via microphytobenthos feeding. In conclusion, during the three months survey, oysters were contaminated via both direct and trophic pathways.

Metallothionein (MT) levels were higher in digestive glands than in gills (Figure 5bc), as previously reported in different contaminated environments and for different oyster ages (Mouneyrac et al., 1998; Geret and Cosson, 2000; Geffard et al., 2001; Geffard et al., 2002). After 3 months, MT were constant in gills and digestive glands from oysters reared on T (Figure 5bc), attesting the absence of MT induction for detoxifying processes. However, MT decreased after two months in organs from oysters reared on B (Figure 5bc) where Cd burdens were significantly lower compared to tables (Figure 6e). Those variations are quite surprising as they were not related to gametogenesis, although previous studies on diploid and triploid oysters showed that gametogenesis induced increasing MT in diploid oysters (Marie, 2005). Nevertheless, oysters were in their first phase of reproduction. Previous studies on the effect of the sediment nearness on the metabolic activity of *Crassostrea gigas* have shown that despite similar survival and growth at the water column and bottom rearing levels, the ATP activity was significantly reduced in oysters reared on the sediment (Le Moullac et al., 2007). Furthermore, measurements of metabolic enzyme activities have suggested that oysters feed less and experience an oxygen deficiency when reared on the sediments (Le Moullac et al., 2007). Depleted oxygen in waters (or at the water-sediment interface) induced reduced metabolism and protein synthesis in crabs *Carcinus maeras* (Mente et al., 2003) and in eels *Anguilla anguilla* (Pierron et al., 2007). Thus, decreased metabolism and ATP activities in oysters reared closed to the sediment is consistent with decreasing protein synthesis, and thus MT synthesis and concentrations observed in oysters reared on B (Figure 5bc). The difference of metabolic activity between oyster rearing conditions (Le Moullac et al., 2007) could also

suggest decreasing filtration rate and decreasing bioaccumulated Cd by direct and trophic pathways in oysters reared on B.

Finally, these results are highly relevant to commercial oyster production. In fact, a regular observation of Gironde Estuary inputs, dissolved and particulate (SPM and plankton) Cd concentrations in the Marennes Oléron Bay would lead to a better management of oysters cultivation. Furthermore, cultivation on the sediment surface could be an alternative limiting bioaccumulation, although mortality could be enhanced (Gagnaire et al., 2006). However, Cd concentrations in the whole young (= non commercialised) oyster tissues nearly reached the consumption level of $5 \mu\text{g.g}^{-1}$ dw (e.g. $1 \mu\text{g.g}^{-1}$ ww, EU) after 1 month ($4.3 \pm 0.4 \mu\text{g.g}^{-1}$ dw in oysters cultivated on T and $3.8 \pm 0.3 \mu\text{g.g}^{-1}$ dw in oysters cultivated on B) but are expected to decrease due to rapid growth (Rasmussen et al., 2007), highlighting the need for similar experimentations with adult oysters.

5. Conclusions

The present study pointed out the relevance of an adapted and pluridisciplinary sampling strategy to understand Cd bioaccumulation by oysters in a specific environment. Environmental geochemical parameters, metal bioaccumulation and hydrodynamic variations were surveyed and considered simultaneously. This environmental overview allowed us to better understand the factors influencing and controlling Cd distributions and bioaccumulation. In fact, cadmium partitioning was not influenced by tidal sediment resuspension on mudflat but was mainly controlled by the regional hydrodynamic and the Gironde plume inputs. Those pluridisciplinary surveys were relevant to demonstrate that in the Marennes Oléron Bay, oysters bioaccumulated Cd via direct and trophic contamination pathways.

6. Acknowledgements

The authors thank H. Derriennic, G. Oggian, C. Bossy, L. Dutruch and E. Maneux for their support during sampling, laboratory analysis and L. Lanceleur for his advices for statistical analysis. This study was supported by CYTRIX EC2CO VOTR'TRAM project and a grant from the French Ministry of Research.

7. References

- Accornero, A., Gnerre, R., Manfra, L., 2008. Sediment concentrations of trace metals in the Berre lagoon (France): An assessment of contamination. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 54, 372-385.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., 2003. Cadmium in the Lot-Garonne River system: Fluxes, predictive model and mass balance. *Journal De Physique. IV : JP*, pp. 71-74.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., Guerin, F., Masson, M., Robert, S., 2007. Budgets of Mn, Cd and Cu in the macrotidal Gironde Estuary (SW France). *Marine Chemistry* 107, 433-448.
- Barrera-Escorcia, G., Vanegas-Pérez, C., Wong-Chang, I., 2010. Filtration rate, assimilation and assimilation efficiency in *Crassostrea virginica* (Gmelin) fed with *tetraselmis suecica* under cadmium exposure. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 45, 14-22.
- Baudrimont, M., Schäfer, J., Marie, V., Maury-Brachet, R., Bossy, C., Boudou, A., Blanc, G., 2005. Geochemical survey and metal bioaccumulation of three bivalve species (*Crassostrea gigas*, *Cerastoderma edule* and *Ruditapes philippinarum*) in the Nord Médoc salt marshes (Gironde estuary, France). *Science of the Total Environment* 337, 265-280.
- Bendell, L.I., Feng, C., 2009. Spatial and temporal variations in cadmium concentrations and burdens in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) sampled from the Pacific north-west. *Marine Pollution Bulletin* 58, 1137-1143.
- Bertin, X., Chaumillon, E., Sottolichio, A., Pedreros, R., 2005. Tidal inlet response to sediment infilling of the associated bay and possible implications of human activities: The Marennes-Oléron Bay and the Maumusson Inlet, France. *Continental Shelf Research* 25, 1115-1131.
- Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Anschutz, P., 1999. A cadmium budget for the Lot-Garonne fluvial system (France). *Hydrobiologia* 410, 331-341.
- Boisson, F., Goudard, F., Durand, J.P., Barbot, C., Pieri, J., Amiard, J.C., Fowler, S.W., 2003. Comparative radiotracer study of cadmium uptake, storage, detoxification and depuration in the oyster *Crassostrea gigas*: Potential adaptive mechanisms. *Marine Ecology Progress series* 254, 177-186.
- Bougrier, S., Geairon, P., Deslous-Paoli, J.M., Bacher, C., Jonquieres, G., 1995. Allometric relationships and effects of temperature on clearance and oxygen consumption rates of *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture* 134, 143-154.
- Chiffolleau, J.F., Auger, D., Chartier, E., Michel, P., Truquet, I., Ficht, A., Gonzalez, J.L., Romaña, L.A., 2001. Spatiotemporal changes in cadmium contamination in the Seine estuary (France). *Estuaries* 24, 1029-1040.
- Comans, R.N.J., Van Dijk, C.P.J., 1988. Role of complexation processes in cadmium mobilization during estuarine mixing. *Nature* 336, 151-154.
- Coynel, A., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., 2007. Scenario of particulate trace metal and metalloid transport during a major flood event inferred from transient geochemical signals. *Applied Geochemistry* 22, 821-836.
- Dabrin, A., 2009. Mécanismes de transfert des éléments traces métalliques et réactivité estuarienne. Cas des systèmes Gironde, Charente, Seudre et Baie de Marennes Oléron. Thèse, University of Bordeaux, p. 375pp.
- Dabrin, A., Schäfer, J., Blanc, G., Strady, E., Masson, M., Bossy, C., Castelle, S., Girardot, N., Coynel, A., 2009. Improving estuarine net flux estimates for dissolved cadmium export at the annual timescale: Application to the Gironde Estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 84, 429-439.

- DeForest, D.K., Brix, K.V., Adams, W.J., 2007. Assessing metal bioaccumulation in aquatic environments: The inverse relationship between bioaccumulation factors, trophic transfer factors and exposure concentration. *Aquatic Toxicology* 84, 236-246.
- Doxaran, D., Froidefond, J.M., Castaing, P., Babin, M., 2009. Dynamics of the turbidity maximum zone in a macrotidal estuary (the Gironde, France): Observations from field and MODIS satellite data. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 81, 321-332.
- Essien, J.P., Antai, S.P., Olajire, A.A., 2009. Distribution, seasonal variations and ecotoxicological significance of heavy metals in sediments of cross river estuary mangrove swamp. *Water, Air, and Soil Pollution* 197, 91-105.
- Gagnaire, B., Soletchnik, P., Madec, P., Geairon, P., Le Moine, O., Renault, T., 2006. Diploid and triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg), reared at two heights above sediment in Marennes-Oleron Basin, France: Difference in mortality, sexual maturation and hemocyte parameters. *Aquaculture* 254, 606-616.
- Geffard, A., Amiard-Triquet, C., Amiard, J.C., Mouneyrac, C., 2001. Temporal variations of metallothionein and metal concentrations in the digestive gland of oysters (*Crassostrea gigas*) from a clean and a metal-rich site. *Biomarkers* 6, 91-107.
- Geffard, A., Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., 2002. Kinetics of metal elimination in oysters from a contaminated estuary. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology* 131, 281-293.
- Gerdes, D., 1983. The Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Part I. Feeding behaviour of larvae and adults. *Aquaculture* 31, 195-219.
- Geret, F., Cosson, R.P., 2000. The use of metallothioneins as biomarker of metal contamination: Variability between sites and organs in the oyster *Crassostrea gigas*. *Oceanologica Acta* 23, 261-271.
- Gobas, F.A.P.C., Morrison, H.A., 2000. Bioconcentration and biomagnification in the aquatic environment. In: Boethling, R.S., Mackay, D. (Ed.). *Handbook of Property Estimation Methods for Chemicals*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, pp. 189-231.
- Gonzalez, J.L., 1992. Comportement du cadmium et du mercure lors de la diagenèse précoce et flux à l'interface eau-sédiments en zone littorale. Thèse, Université Bordeaux 1, France, p. 247pp.
- Gonzalez, J.L., Boutier, B., Chiffolleau, J.F., Auger, D., Noel, J., Truquet, I., 1991. Distribution of Cd and Hg in the Bay of Marennes-Oleron. *Oceanologica Acta* 14, 559-568.
- Guarini, J.M., Blanchard, G.F., Bacher, C., Gros, P., Riera, P., Richard, P., Goulet, D., Galois, R., Prou, J., Sauriau, P.G., 1998. Dynamics of spatial patterns of microphytobenthic biomass: Inferences from a geostatistical analysis of two comprehensive surveys in Marennes-Oleron Bay (France). *Marine Ecology Progress series* 166, 131-141.
- Hédouin, L., Metian, M., Teyssié, J.L., Fichez, R., Warnau, M., 2010. Delineation of heavy metal contamination pathways (seawater, food and sediment) in tropical oysters from New Caledonia using radiotracer techniques. *Marine Pollution Bulletin*.
- Jouanneau, J.M., Boutier, B., Chiffolleau, J.F., Latouche, C., Philipps, I., 1990. Cadmium in the Gironde fluvioestuarine system: Behaviour and flow. *Science of the Total Environment* 97-98, 465-479.
- Kruzynski, G.M., 2004. Cadmium in oysters and scallops: The BC experience. *Toxicology Letters* 148, 159-169.
- Lafon, V., Petus, C., Dabrin, A., Froidefond, J.M., Doxaran, D., Maneux, E., Castaing, P., 2009. Gironde and Adour plume dynamics using MODIS imagery - dynamique des panaches de la Gironde et de l'Adour par imagerie MODIS. 31èmes Journée de

- l'Hydraulique de la SHF "Morphodynamique et gestion des sédiments dans les estuaires, les baies et les deltas", Paris, France.
- Latouche, C., 1988. Cadmium pollution in the Gironde estuary. La pollution en cadmium de l'estuaire de la Gironde 44, 15-21.
- Le Moullac, G., Fleury, P.G., Le Coz, J.R., Moal, J., Samain, J.F., 2007. Effect of sediment nearness on the metabolic enzyme activity and energy state of the oyster *Crassostrea gigas*. Aquatic Living Resources 20, 279-286.
- Lekhi, P., Cassis, D., Pearce, C.M., Ebell, N., Maldonado, M.T., Oriens, K.J., 2008. Role of dissolved and particulate cadmium in the accumulation of cadmium in cultured oysters (*Crassostrea gigas*). Science of the Total Environment 393, 309-325.
- Loring, D.H., 1991. Normalization of heavy-metal data from estuarine and coastal sediments. ICES J. Mar. Sci. 48, 101-115.
- Luengen, A.C., Raimondi, P.T., Flegal, A.R., 2007. Contrasting biogeochemistry of six trace metals during the rise and decay of a spring phytoplankton bloom in San Francisco Bay. Limnology and Oceanography 52, 1112-1130.
- Luoma, S.N., Van Geen, A., Lee, B.G., Cloern, J.E., 1998. Metal uptake by phytoplankton during a bloom in South San Francisco Bay: Implications for metal cycling in estuaries. Limnology and Oceanography 43, 1007-1016.
- Malet, N., Sauriau, P.G., Ryckaert, M., Malestroit, P., Guillou, G., 2008. Dynamics and sources of suspended particulate organic matter in the Marennes-Oléron oyster farming bay: Insights from stable isotopes and microalgae ecology. Estuarine, Coastal and Shelf Science 78, 576-586.
- Marie, V., 2005. Etude de la réponse des métallothionéines chez les bivalves, *Corbicula fluminea*, *Dreissena polymorpha* et *Crassostrea gigas*, après exposition au cadmium et au zinc. Approches in situ et expérimentales Thèse, Université Bordeaux1, p. 461.
- Marie, V., Gonzalez, P., Baudrimont, M., Bourdineaud, J.P., Boudou, A., 2006. Metallothionein response to cadmium and zinc exposures compared in two freshwater bivalves, *Dreissena polymorpha* and *Corbicula fluminea*. BioMetals 19, 399-407.
- Masson, M., 2007. Sources et transferts métalliques dans le bassin versant de la Gironde. Réactivité et mécanismes géochimiques dans l'estuaire fluvial de la Gironde. Thèse, Université Bordeaux1, p. 366.
- Masson, M., Blanc, G., Schäfer, J., 2006. Geochemical signals and source contributions to heavy metal (Cd, Zn, Pb, Cu) fluxes into the Gironde Estuary via its major tributaries. Science of the Total Environment 370, 133-146.
- Mente, E., Legeay, A., Houlihan, D.F., Massabuau, J.C., 2003. Influence of oxygen partial pressures on protein synthesis in feeding crabs. American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology 284.
- Miao, A.J., Wang, W.X., 2006. Cadmium toxicity to two marine phytoplankton under different nutrient conditions. Aquatic Toxicology 78, 114-126.
- Mouneyrac, C., Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., 1998. Effects of natural factors (salinity and body weight) on cadmium, copper, zinc and metallothionein-like protein levels in resident populations of oysters *Crassostrea gigas* from a polluted estuary. Marine Ecology Progress Series 162, 125-135.
- Ng, T.Y.T., Chuang, C.Y., Stupakoff, I., Christy, A.E., Cheney, D.P., Wang, W.X., 2010. Cadmium accumulation and loss in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* along the west coast of the USA. Marine Ecology Progress series 401, 147-160.
- Parra, M., Castaing, P., Jouanneau, J.M., Grousset, F., Latouche, C., 1999. Nd-Sr isotopic composition of present-day sediments from the Gironde Estuary, its draining basins and the WestGironde mud patch (SW France). Continental Shelf Research 19, 135-150.

- Pierron, F., Baudrimont, M., Gonzalez, P., Bourdineaud, J.P., Elie, P., Massabuau, J.C., 2007. Common pattern of gene expression in response to hypoxia or cadmium in the gills of the European glass eel (*Anguilla anguilla*). *Environmental Science and Technology* 41, 3005-3011.
- Pigeot, J., Miramand, P., Guyot, T., Sauriau, P.G., Fichet, D., Le Moine, O., Huet, V., 2006. Cadmium pathways in an exploited intertidal ecosystem with chronic cadmium inputs (Marennes-Oléron, Atlantic coast, France). *Marine Ecology Progress series* 307, 101-114.
- Price, N.M., Morel, F.M.M., 1990. Cadmium and cobalt substitution for zinc in a marine diatom. *Nature* 344, 658-660.
- Raillard, O., Menesguen, A., 1994. An ecosystem box model for estimating the carrying capacity of a macrotidal shellfish system. *Marine Ecology Progress series* 115, 117-130.
- Rasmussen, R.S., Mommissey, M.T., Cheney, D., 2007. Effect of age and tissue weight on the cadmium concentration in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Journal of Shellfish Research* 26, 173-179.
- RAZLEC-IFREMER, 2009. http://www.ifremer.fr/lerpc/reseaux/hydro/resul_hydro.htm.
- Reinfelder, J.R., Wang, W.X., Luoma, S.N., Fisher, N.S., 1997. Assimilation efficiencies and turnover rates of trace elements in marine bivalves: A comparison of oysters, clams and mussels. *Marine Biology* 129, 443-452.
- RNO, 1998. Surveillance du milieu marin. Travaux du RNO. Ifremer et Ministère de l'Aménagement du territoire et de l'Environnement.
- RNO, 2006. Surveillance du milieu marin. Travaux du RNO. Ifremer et Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable.
- Robert, S., Blanc, G., Schäfer, J., Lavaux, G., Abril, G., 2004. Metal mobilization in the Gironde Estuary (France): The role of the soft mud layer in the maximum turbidity zone. *Marine Chemistry* 87, 1-13.
- ROCCH, 2010. Bulletin de la Surveillance de la Qualité du Milieu Marin Littoral; Résultats acquis jusqu'en 2009. Edition 2010. Ifremer/RST.LER/PC/10.01/Laboratoire Environnement Ressources des Pertuis Charentais, p. 95p.
- Schäfer, J., Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Maneux, E., Etcheber, H., 2002. Ten-year observation of the Gironde tributary fluvial system: Fluxes of suspended matter, particulate organic carbon and cadmium. *Marine Chemistry* 79, 229-242.
- Soletchnik, P., Fauray, N., Razet, D., Goulletquer, P., 1998. Hydrobiology of the Marennes-Oléron bay. Seasonal indices and analysis of trends from 1978 to 1995. *Hydrobiologia* 386, 131-146.
- Soletchnik, P., Lambert, C., Costil, K., 2005. Summer mortality of *Crassostrea gigas* (Thunberg) in relation to environmental rearing conditions. *Journal of Shellfish Research* 24, 197-207.
- Strady, E., Blanc, G., Schäfer, J., Coynel, A., Dabrin, A., 2009. Dissolved uranium, vanadium and molybdenum behaviours during contrasting freshwater discharges in the Gironde Estuary (SW France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 83, 550-560.
- Turner, A., 1996. Trace-metal partitioning in estuaries: Importance of salinity and particle concentration. *Marine Chemistry* 54, 27-39.
- Yentsch, C.S., Menzel, D.W., 1963. A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. *Deep-Sea Research and Oceanographic Abstracts* 10, 221-231.
- Zhang, J., Liu, C.L., 2002. Riverine composition and estuarine geochemistry of particulate metals in China - Weathering features, anthropogenic impact and chemical fluxes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 54, 1051-1070.

8. Figures

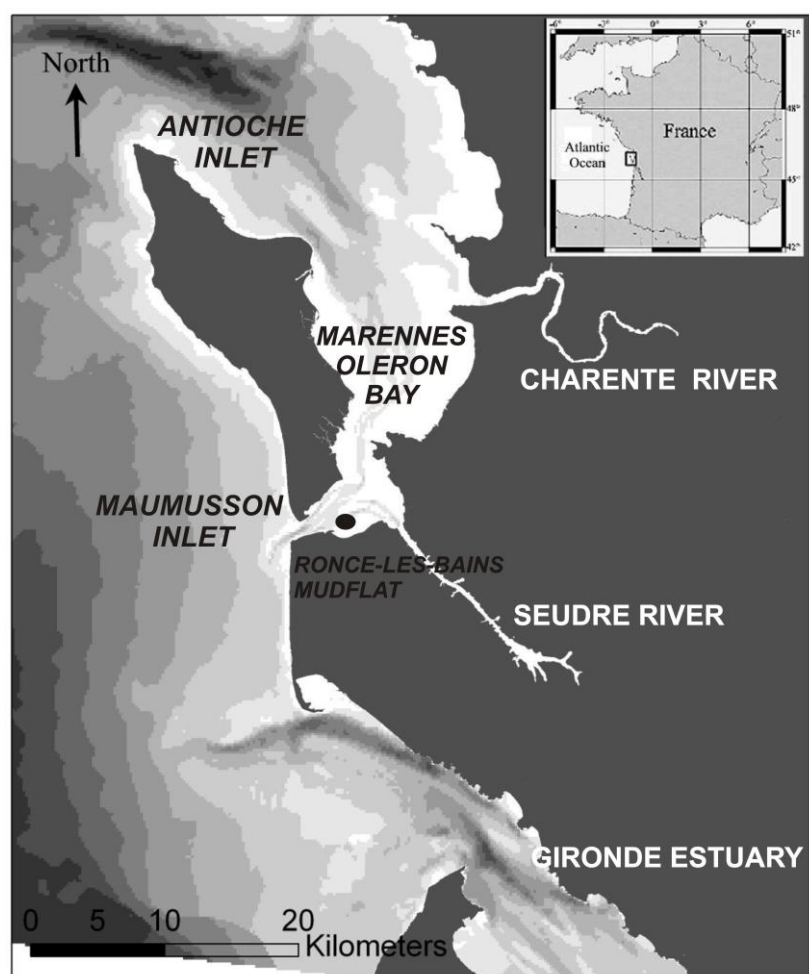


Figure III.2- 1: Figure 1: Location map of the study area and the sampling site, Ronce-Les-Bains mudflat.

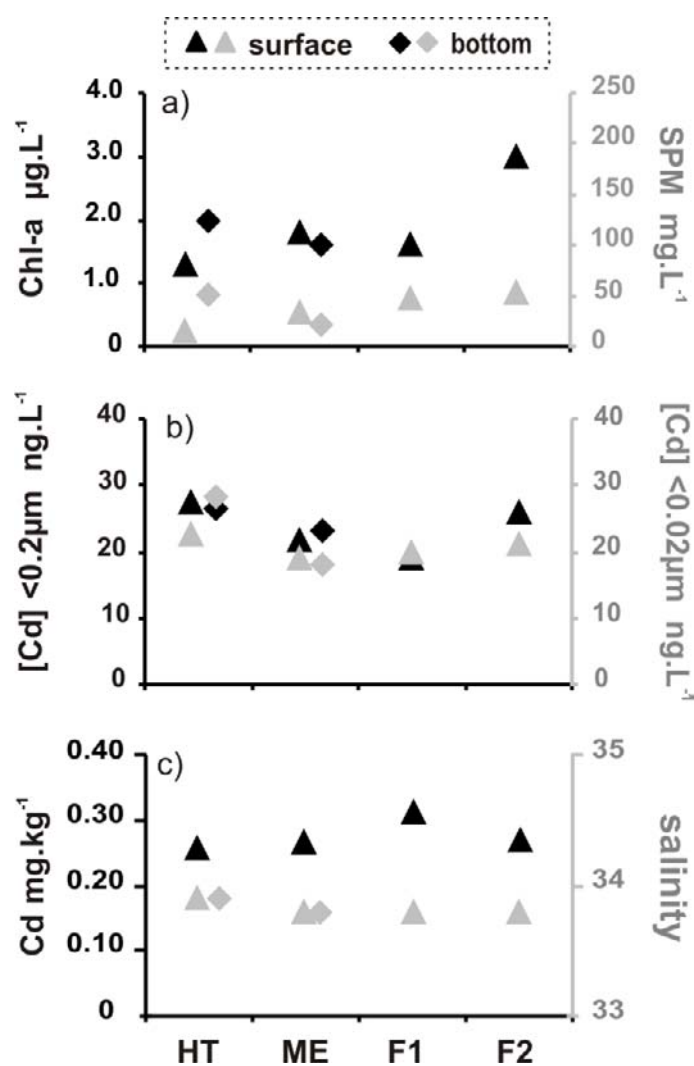


Figure III.2- 2: Figure 2: Twelve hour tidal cycle parameters variations in surface and bottom waters in high tide, mid ebb, first and second hour of flood at Ronce-Les-Bains mudflat (9th July 2009). a) SPM and Chl-a concentrations (mg.L^{-1}); b) dissolved Cd ($<0.2\mu\text{m}$ over $<0.02\mu\text{m}$) concentrations (ng.L^{-1}); c) particulate Cd concentrations (mg.kg^{-1}) over salinity.

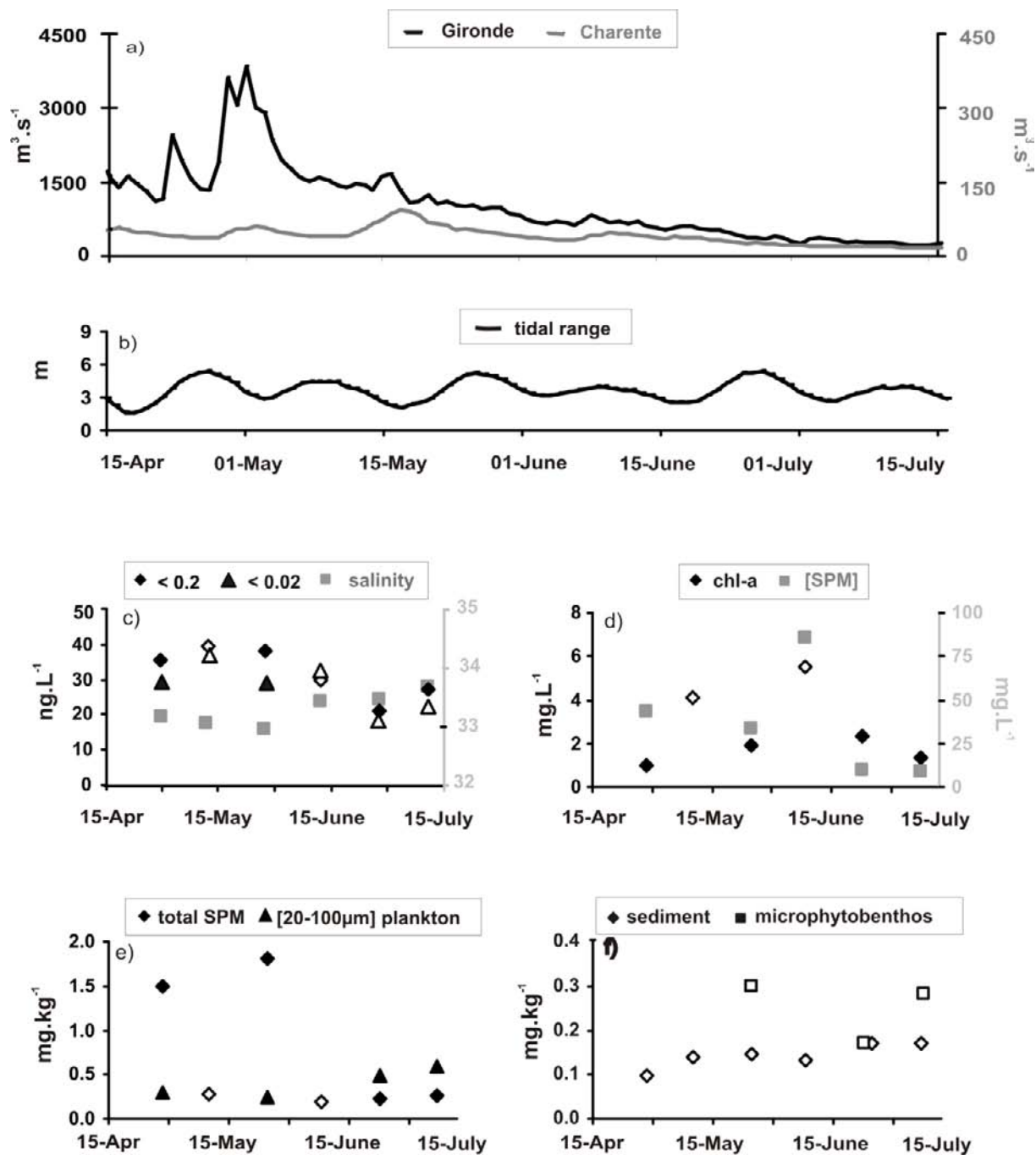


Figure III.2- 3: Figure 3: Temporal parameters variations in surface water at Ronce-Les-Bains mudflat from 15th April to 15th July 2009. a) daily Gironde Estuary over Charente River freshwater discharges ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$); b) tidal range (m); c) dissolved Cd (< 0.2 and $< 0.02 \mu\text{m}$) concentrations ($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$) over salinity; d) Chl-a over SPM concentrations ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); e) Cd concentrations in total SPM and [20-100 μm] plankton ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); f) Cd concentrations in sediments and microphytobenthos ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

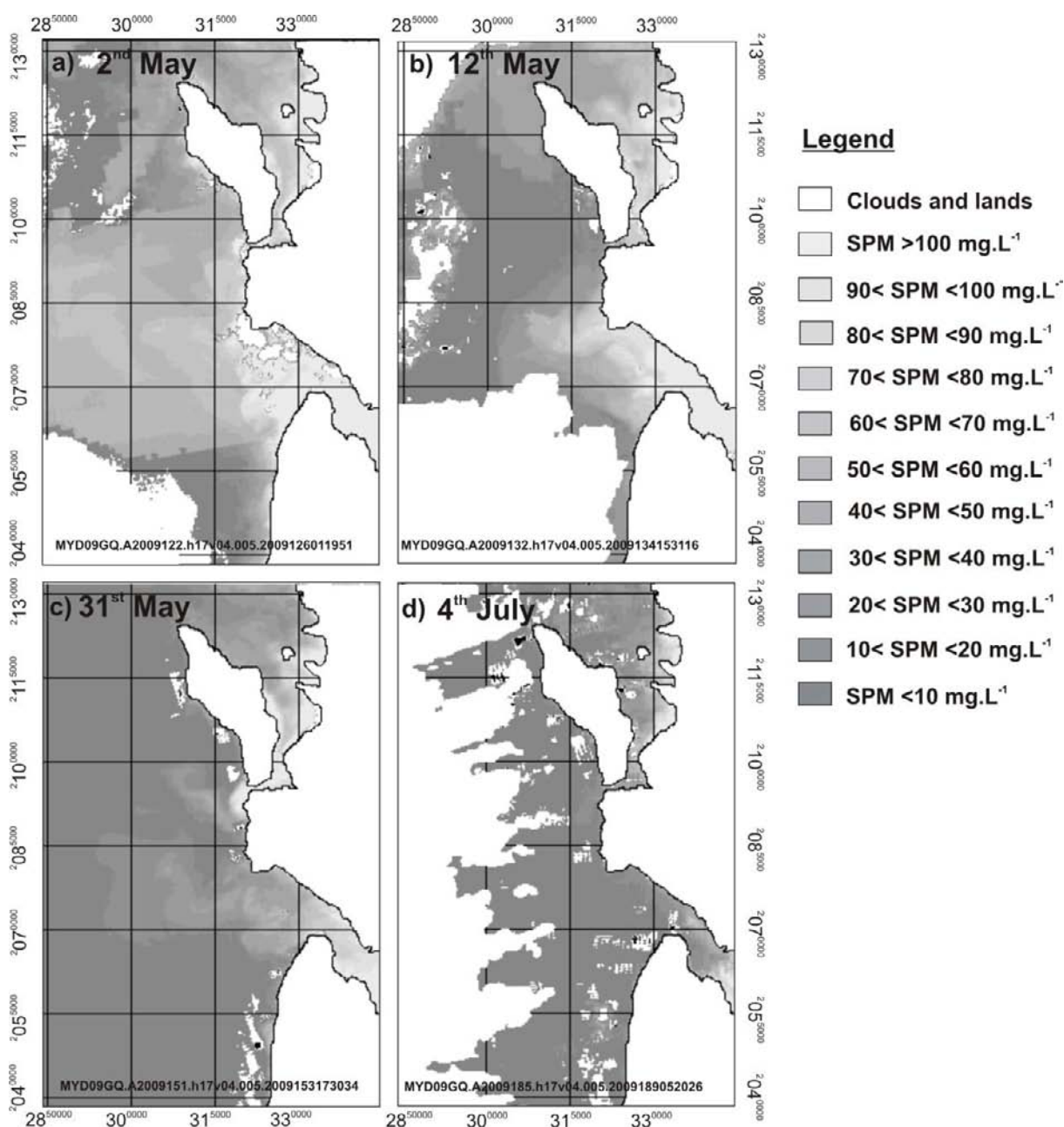


Figure III.2- 4: Figure 4: Modis satellite images of SPM distribution in the mouth of the Gironde Estuary, the coastal area and the Marennes Oléron Bay during four contrasting Gironde Estuary freshwater discharges conditions. a) 2nd May b) 12th May c) 31st may and d) 4th July.

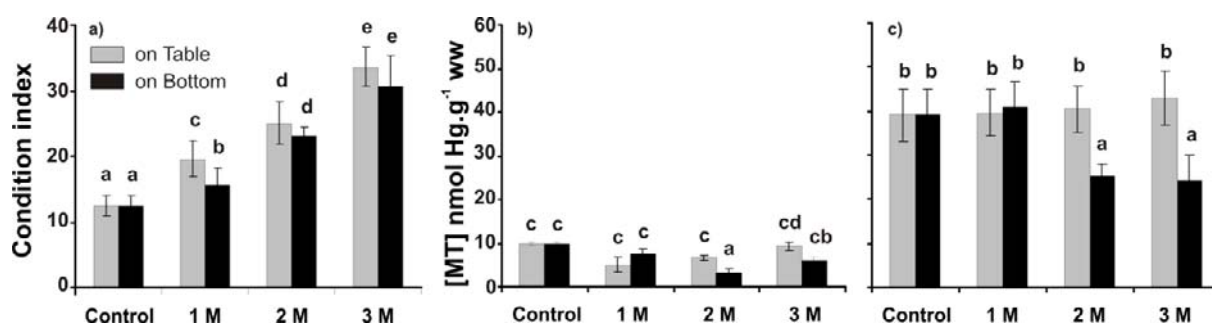


Figure III.2- 5: Figure 5: a) Condition index of oysters reared on Table (grey) and on Bottom (black) at the beginning and after one, two and three months of cultivation. b) and c) Metallothionein concentrations (nmol Hg.g⁻¹ ww) in gills (b) and digestive glands (c) of oysters reared on Table (grey) and on Bottom (black) at the beginning and after one, two and three months of cultivation. Letters correspond statistical variance method (ANOVA) and LSD test analyses, considering a probability of $p < 0.05$ as significant.

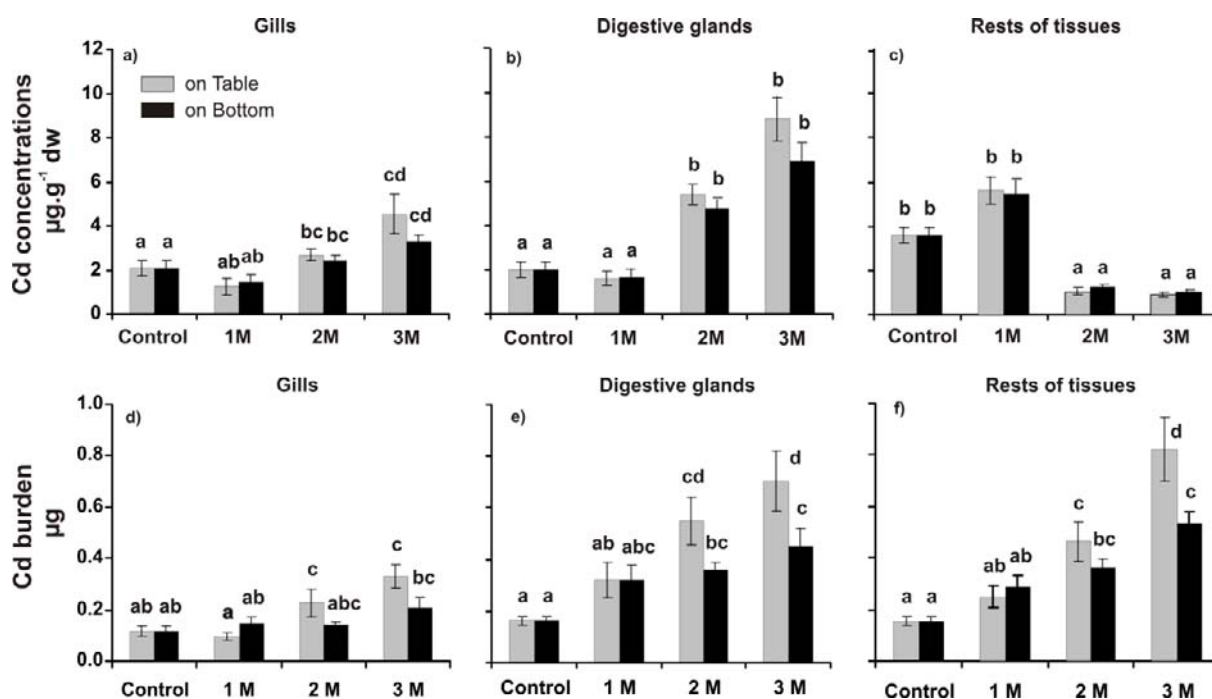


Figure III.2- 6: Figure 6: a-b-c) Cadmium concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$ dw) in gills (a), digestive glands (b) and rests of tissues (c) of oysters reared on Table (grey) and on Bottom (black) at the beginning and after one, two and three months of cultivation. d-e-f) Cadmium burdens (μg) in gills (d), digestive glands (e) and rests of tissues (f) of oysters reared on Table (grey) and on Bottom (black) at the beginning and after one, two and three months of cultivation. Letters correspond to statistical non-parametric Kruskal-Wallis test analysis, considering a probability of $p < 0.05$ as significant.

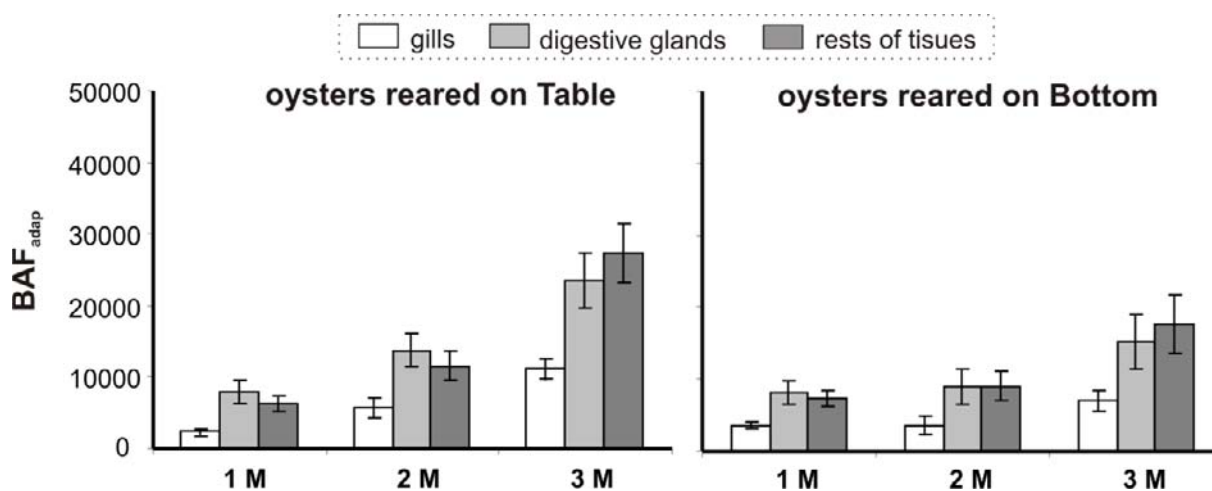


Figure III.2- 7: Comparison of Bioaccumulation factor (adapted) for oysters reared on Table and on Bottom in gills, digestive glands and rests of tissues.

		20.04.2009				26.05.2009				24.06.2009				09.07.2009			
		HT	ME	F1	F2	HT	ME	F1	F2	HT	ME	F1	F2	HT	ME	F1	F2
salinité	surface:	33.2	33.3	33		32.9	32.9	33	33	33.1	33.2	33.2		33.9	33.8	33.8	33.8
	bottom:					32.9				33.1	33.2			33.9	33.8		
Chl-a $\mu\text{g.L}^{-1}$	surface:	1	1.5	3.5		1.9	1.9	22.9	3	2.3	1.7	1.3		1.3	1.8	1.6	3
	bottom:									3.3	3.9			2	1.6		
SPM mg.L^{-1}	surface:	43	45	105		34	93	914	240	10	28	22		9	34	47	53
	bottom:									10	140			52	21		
Cd $<0.2 \mu\text{g.L}^{-1}$	surface:	0.036	0.040	0.030		0.038	0.035		0.089	0.021	0.024	0.022		0.027	0.022	0.019	0.026
	bottom:					0.043				0.020	0.018			0.027	0.023		
Cd $<0.02 \mu\text{g.L}^{-1}$	surface:	0.028	0.039	0.031		0.029	0.031		0.076	0.016	0.023	0.019		0.023	0.019	0.019	0.021
	bottom:									0.020	0.018			0.028	0.018		
Cd SPM mg.kg^{-1}	surface:	1.50	0.20	0.43		1.81	0.19		0.22	0.22	0.28			0.26	0.26	0.48	0.84
	bottom:					0.20				0.23							
Cd sed mg.kg^{-1}		0.10				0.14				0.35				0.17			

Tableau III.2- 2: Table 1: Twelve hour tidal cycle parameters variations in surface and bottom waters in high tide, mi ebb, first and second hour of flood at Ronce-Les-Bains mudflat during the four sampling date, 20th April, 26th May, 24th June and 09th July 2009.

IV. Conclusions

Cette étude menée en zone sud de la baie de Marennes Oléron a pour originalité de présenter un suivi pluridisciplinaire des paramètres environnementaux afin de caractériser la contamination en Cd des huîtres de cette baie. Ainsi, la variation temporelle de l'hydrodynamique régionale, de la distribution et du comportement en Cd et de la bioaccumulation de Cd par les huîtres a permis d'acquérir une vision globale des facteurs influençant cette contamination régionale. Pendant les trois mois d'étude, la distribution de Cd dans la baie a été très influencée par les apports de la Gironde via le pertuis sud (Maumusson). De plus, pour la première fois, nous avons pu mettre en évidence le rôle des deux voies de contamination, directe et trophique, sur la bioaccumulation en Cd des huîtres en milieu naturel. Après trois mois de contamination en Cd, les concentrations en métallothionéines des huîtres juvéniles n'ont pas augmenté, supposant des concentrations initiales suffisantes pour pallier à la contamination du milieu. D'un point de vue plus général, l'approche pluridisciplinaire et le suivi des paramètres hydrodynamiques sont des paramètres essentiels pour proposer une gestion adaptée et durable des parcs ostréicoles face à la contamination en cadmium.

Synthèse PARTIE III

Ces deux chapitres ont présenté une vision régionale oléronnaise de la pollution historique en Cd du continuum Lot-Garonne-Gironde. Les études menées ont permis de caractériser les facteurs jouant un rôle dans l'apport en Cd dans la baie et dans la bioaccumulation de ce Cd dans les huîtres. Les principaux résultats acquis durant ces études sont résumés et discutés ci-dessous :

- L'influence temporelle de la Gironde sur la contamination en Cd de la baie est observée à 3 niveaux dans la baie : dans les sédiments de surface de la zone sud, dans les MES et dans la colonne d'eau sous forme de Cd
- La dynamique interne de la baie, présentant des temps de renouvellement des eaux de l'ordre de 10 jours (Struski, 2005) a un effet de dilution sur les apports en Cd de la Gironde dans la baie. En effet, les enrichissements ponctuels en Cd des sédiments de surface et des MES sont marqués par leur caractère ponctuel, de l'échelle mensuelle à pluri-mensuelle. Ainsi, l'influence de Cd d'origine girondine sur la baie présente un aspect épisodique à l'échelle saisonnière voir annuelle, mais chronique à l'échelle décennale (RNO, 2006; Ifremer, 2010).
- La contamination des huîtres en Cd dans la zone sud de la baie est significative après trois mois de transplantation. Les concentrations de Cd bioaccumulées dans l'organisme total sont inférieures à la norme de consommation imposée par l'union européenne ($1 \mu\text{g.g}^{-1}$ pf). Pour la première fois, la voie trophique de contamination a été observée dans la contamination en Cd des huîtres en milieu naturel. Cette voie de contamination est mineure et dépend à la fois du régime trophique de l'huître et de la contamination de ces différents compartiments trophiques.
- A certaines saisons, le plancton joue un rôle essentiel sur la distribution de Cd et sur son recyclage dans la baie de Marennes Oléron (Gonzalez et al., 1991; Dabrin, 2009).

- L'influence des apports en Cd de la Charente sur les sédiments de surface dans la baie et sur le compartiment dissous et particulaire en zone sud s'est révélée infime durant les suivis effectués. Néanmoins, dans le cadre du réseau d'observation des contaminants chimiques (ROCCH), l'Ifremer a montré une contamination en Cd des huîtres plus importantes à l'embouchure de la Charente que dans la partie sud de la baie, pour ces dernières années (Ifremer, 2010). Nous tenons cependant à préciser le caractère ponctuel de cette observation, puisque depuis 2008, la surveillance est basée sur un prélèvement annuel réalisé en hiver sur des organismes dont l'âge et l'historique n'est pas communiqué. Dans la même zone, des moules très peu concentrées en Cd ont également été prélevées (Ifremer, 2010). La contamination en Cd de ces organismes filtreurs diffère sensiblement : des comparaisons en laboratoire ont montré que la contamination par voie trophique des moules est plus importante que les huîtres (Reinfelder et al., 1997). En combinant cette information aux concentrations en Cd non enrichies des sédiments de surface de la vasière de Brouage, résultant du dépôt des MES de la Charente, nous suggérons que les apports en Cd dissous de la Charente à la baie (60 à 95 kg.an⁻¹ en 2009) sont responsables de la bioaccumulation en Cd des huîtres. En effet, ces concentrations sont faibles mais fortement susceptibles d'être bioaccumulées de façon chronique par des huîtres sédentaires dans cette zone. Des études spécifiques de cette zone sont alors nécessaires pour valider ou infirmer cette hypothèse.
- Malgré une meilleure compréhension des processus globaux de la contamination en Cd de la baie, des incertitudes subsistent quant aux mécanismes plus précis à l'échelle de l'organisme, de l'accumulation des huîtres. Ainsi, il s'avère nécessaire de caractériser les mécanismes de contamination des huîtres en Cd et surtout de différencier les rôles des voies directes et trophiques dans la bioaccumulation.

Pour cela, une technique de traçage des voies de contamination en Cd des huîtres par isotopes stables de Cd a été développée et réalisée pour des niveaux de contaminations 10 fois supérieurs à l'environnement et du même ordre de grandeur que les concentrations mesurées dans la baie de Marennes Oléron. Ces résultats sont présentés dans la Partie IV Chapitre 8.

PARTIE IV

TRAÇAGE SIMULTANE DES VOIES

DE CONTAMINATION EN

CADMIUM DES HUITRES *Crassostrea*

***gigas* PAR AJOUTS D'ISOTOPES**

STABLES

I. Introduction

Les huîtres *Crassostrea gigas* bioaccumulent Cd par les deux voies de contamination, la voie directe par transport membranaire de Cd au niveau des branchies lors de la respiration, et par voie trophique, lors de l'ingestion et la digestion de nourriture (Reinfelder et al., 1997; Boisson et al., 2003). La différenciation de ces voies de contamination a été mise en évidence par des études expérimentales utilisant les radio-isotopes, e.g. ^{109}Cd , comme contaminant (Reinfelder et al., 1997; Boisson et al., 2003). Cette technique très sensible permet de contaminer à des niveaux d'exposition proche de l'environnement, mais les autorisations et les contraintes analytiques requises pour utiliser les radio-isotopes rendent cette méthode inaccessible aux laboratoires non équipés. Ainsi, la majorité des études expérimentales sur la contamination des organismes aquatiques par les métaux traces sont basés sur des expérimentations de type dose-réponse, où les effets du métal sur l'organisme sont observés pour des concentrations présentant des niveaux d'exposition d'ordres de grandeurs supérieurs à l'environnement. En effet, des concentrations élevées de contaminants permettent de s'affranchir des limites de détection analytique et de s'assurer de la détection de la bioaccumulation et des réponses écotoxicologiques en un temps d'exposition court. Néanmoins, les résultats obtenus peuvent être critiquables quant à leur représentativité environnementale. Dans ce contexte, nous avons développé une technique de traçage des voies de contamination par ajouts d'isotopes stables, permettant de contaminer à des niveaux proches de l'environnement et pour des temps d'exposition suffisamment longs pour pouvoir observer une réponse écotoxicologique. L'ajout d'isotopes stables de Cd au lieu du Cd élémentaire (mais également pour Cu et Zn) a déjà été mis en place pour étudier la contamination des organismes d'eau douce et terrestre (Croteau et al., 2004; Croteau and Luoma, 2005, 2007; Croteau et al., 2007; Komjarova and Blust, 2008). Cependant, nos travaux offrent de nouvelles possibilités et perspectives avec :

- une technique adaptée appliquée pour la première fois à la matrice salée
- un traçage simultané des deux voies de contamination avec l'utilisation de deux isotopes stables en parallèle caractérisant chacune des voies
- une cinétique de bioaccumulation et de traçage de Cd dans les différents organes de l'huître.

Dans ce chapitre, nous présentons la méthodologie de cette technique de traçage simultané des voies de contamination d'un organisme marin par ajouts d'isotopes stables de Cd. L'eau de mer des unités a été contaminée par l'isotope ^{110}Cd pour tracer l'accumulation par voie directe et les algues ont été contaminées par l'isotope ^{112}Cd pour tracer l'accumulation par voie trophique. Nous présentons aussi les résultats de deux expérimentations menées en conditions contrôlées pour des niveaux de contamination (i) dix fois supérieurs à l'environnement (e.g. maximum Cd dissous en Gironde ; (Dabrin et al., 2009) et (ii) à des niveaux observés en baie de Marennes Oléron. Les questions scientifiques de ces études sont les suivantes :

- ✓ Quelles sont les cinétiques des voies de contamination directe et trophique en Cd chez l'huître ?
- ✓ Quels sont les organes touchés par la contamination en Cd ?
- ✓ Observe-t-on une différence entre les deux niveaux d'exposition ?
- ✓ Quelles sont les limites de la méthode utilisée ?

II. Méthodologie

1. Principe des ajouts d'isotopes stables

Le traçage simultané par ajouts d'isotopes stables de Cd repose sur la modification du rapport isotopique de différents isotopes de Cd. Le cadmium, élément de masse atomique $112,4 \text{ g.mol}^{-1}$, est composé de huit isotopes stables, d'abondances naturelles très variables (Tableau IV-1). Ainsi, dans l'environnement et dans tous corps, le rapport isotopique de deux isotopes de Cd est stable, sauf en cas de fractionnement isotopique naturel extrêmement faible et mesurable avec un spectromètre de masse très sensible type multi collecteur.

isotopes	masse atomique (g.mol^{-1})	abondance naturelle %
^{106}Cd	105,9	1,25
^{108}Cd	107,9	0,89
^{110}Cd	109,9	12,49
^{111}Cd	110,9	12,80
^{112}Cd	111,9	24,13
^{113}Cd	112,9	12,22
^{114}Cd	113,9	28,73
^{116}Cd	115,9	7,49

Tableau IV- 1: Masses atomiques et abondances naturelles des isotopes stables de cadmium

Dans nos expérimentations, nous ajoutons une quantité précise d'un isotope de Cd (e.g. ^{110}Cd , ^{112}Cd) au milieu (eau, algues), ce qui entraîne une modification de l'abondance de cet isotope dans le milieu et la modification du rapport isotopique (isotope ajouté sur un isotope non ajouté dit référence). C'est cette variation du rapport isotopique que nous allons mesurer par ICP-MS et à partir de laquelle nous allons calculer la concentration en Cd total dans le milieu. De la même manière, l'isotope de Cd accumulé par les huîtres exposées va entraîner une modification des abondances naturelles en Cd dans les huîtres et une modification du rapport isotopique. Ainsi, dans les huîtres, l'enjeu va être de différencier le cadmium naturel, déjà présent naturellement dans l'organisme, du cadmium accumulé, afin de déterminer une concentration totale.

2. Dosage par ICP-MS

La spectrométrie de masse couplée à un plasma d'ionisation permet de détecter plusieurs isotopes d'un même élément de façon juste, rapide et reproductible pour de faibles concentrations. Toutefois, la détermination des rapports isotopiques n'étant pas effectuée en routine dans le laboratoire, il a fallu régler plusieurs paramètres intrinsèques à l'ICP-MS pour obtenir des mesures d'une précision et d'une justesse optimale. Ces paramètres sont :

- le dead time ou intervalle de temps entre deux mesures/détection qui peut induire un biais dans la mesure des rapports isotopiques
- le dwell ou temps d'acquisition en ms des données sur une masse spécifique (= un isotope)
- le sweep ou le nombre de séquences de données collectées pour avoir un nombre de données statistiquement représentatif.

Le réglage de ces paramètres étant fonction de la sensibilité de l'instrument et des masses étudiées, il n'existe pas de 'règles' pour ajuster de façon optimale le dosage. Ainsi, nous nous sommes basés sur les travaux de Nygren et al. (2006) et avons réglé les paramètres en testant la stabilité du rapport isotopique $^{110/114}\text{Cd}$ et $^{112/114}\text{Cd}$ sur une gamme de concentrations large. Les isotopes utilisés pour les expérimentations en ajouts, ^{110}Cd et ^{112}Cd (Assay®, pourcentage atomique 97,36% et 98,27% respectivement) et en référence ^{114}Cd (isotope naturel) ont également été choisis suite à ces tests en fonction de leur abondance naturelle importante (donc plus facilement détectable) et de leur stabilité. Ainsi, l'isotope ^{110}Cd , ajouté dans l'eau de mer, permet de tracer l'accumulation par voie directe tandis que l'isotope ^{112}Cd , accumulé par les algues, permet de tracer l'accumulation par voie trophique.

Les minéralisats d'huîtres ont été mesurés à l'ICP-MS en effectuant une calibration externe avec une solution de Cd élémentaire à isotopie naturelle (SCP Sciences®). Tous les calculs ont été effectués à partir du nombre de coups par masse mesuré par l'appareil, selon les équations suivantes exprimées pour ^{112}Cd et transposable au ^{110}Cd . Ainsi, nous avons commencé par déterminer le rapport isotopique $(^{112/114}\text{Cd})_m$ des échantillons, correspondants au rapport du nombre de coups d'isotopes ajoutés sur l'isotope de référence ^{114}Cd (Equation IV- 1).

Equation IV- 1 $(^{112/114}\text{Cd})_m = (^{112}\text{Cd})_m / (^{114}\text{Cd})_m$

où $(^{112}\text{Cd})_m$ et $(^{114}\text{Cd})_m$ représentent les nombres de coups mesurés (m) pour les deux isotopes ^{112}Cd et ^{114}Cd .

Puis la concentration totale de Cd dans les échantillons a été calculée à partir de la concentration mono isotopique de ^{112}Cd , $[^{112}\text{Cd}]$, comme la somme de la concentration naturelle en ^{112}Cd dérivée de l'isotope de référence ^{114}Cd et de la concentration accumulée par l'ajout de l'isotope (Equation IV- 2 ; Equation IV- 3)

Equation IV- 2 $[^{112}\text{Cd}] = [^{112}\text{Cd}]_n + [^{112}\text{Cd}]_s$

où $[^{112}\text{Cd}]_n$ et $[^{112}\text{Cd}]_s$ représentent respectivement la concentration naturelle (n) et ajoutée (noté s, pour supplémentaire) en ^{112}Cd dans les échantillons.

Equation IV- 3

$$[^{112}\text{Cd}] = ((^{114}\text{Cd})_m \times (^{112/114}\text{Cd})_n) \times S_n + ((^{112}\text{Cd})_m - (^{114}\text{Cd})_m \times (^{112/114}\text{Cd})_n) \times S_s$$

où $(^{112/114}\text{Cd})_n$ représente le rapport isotopique naturel, S_n and S_s représentent respectivement la pente de la droite de calibration des isotopes présents en abondances naturelles et modifiées.

Lors de la première expérimentation, nous avons observé de la désorption de ^{112}Cd des algues dans l'eau, qui a ensuite été accumulé par voie directe et non par voie trophique. Cet aléa a été corrigé selon les équations décrites dans l'article 'Tracing Cadmium contamination kinetics and pathways in oysters (*Crassostrea gigas*) by multiple stable Cd isotope spike experiments', accepté en révisions mineures à Ecotoxicology and Environmental Safety.

3. Protocoles expérimentaux

Deux expérimentations en conditions contrôlées ont été menées (Tableau IV- 2) :

- à des concentrations 10 fois supérieures au maximum de concentrations dans l'estuaire de la Gironde, nommée VD/VT 2 (voie directe et voie trophique à $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Cd), avec l'eau de mer contaminée au ^{110}Cd à $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ et les algues contaminées au ^{112}Cd à hauteur de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour 200.10^3 cellules. L^{-1} , sur une durée de 21 jours,
- à des concentrations observées en baie de Marennes Oléron, nommées VD/VT 0,04 (voie directe et voie trophique à $0,04 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Cd), soit de l'eau de mer contaminée au ^{110}Cd à 40 ng.L^{-1} et les algues contaminées au ^{112}Cd à hauteur de $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour 200.10^3 cellules. L^{-1} (afin d'obtenir une concentration minimale absorbée de $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$) sur une durée de 14 jours.

Mis à part les niveaux de contamination (facteur 50 de différence de concentrations en Cd), la durée d'exposition et les salinités (15 et 30) le protocole des expérimentations est identique :

- 4 conditions en 3 réplicats : témoin TM, voie directe seule (VD), voie trophique seule (VT), voie directe et trophique (VD/VT)
- unités expérimentales de 10 L
- huîtres juvéniles de 18 mois, 6 par unités, en immersion continue
- pression trophique journalière de *Thalassiosira weissflogii* de 200.10^3 cellules. L^{-1} .

Le choix de l'espèce d'algues est important puisque la concentration de Cd absorbée et le transfert trophique de Cd dépend de l'espèce considérée (Nassiri, 1995; Ettajani et al., 2001). Ainsi, nous avons choisi *Thalassiosira weissflogii* en raison (i) de sa représentativité en baie de Marennes Oléron (Ifremer, 2010) (ii) de sa facilité à la maintenir en culture (iii) des références bibliographiques sur la toxicité de Cd sur cet algue (Miao et al., 2005; Miao and Wang, 2006) et (iv) aussi du fait que son transfert trophique en Cd chez l'huître n'a jamais été publié.

		VD/VT 2	VD/VT 0,040
conditions	durée	21 jours	15 jours
	température	15°C	15°C
	salinité	15	30
eau de mer		instant ocean®	plage du Truc Vert (Gironde)
contamination	eau	2 µg.L ⁻¹	0,040 µg.L ⁻¹
	algues (200.10 ³ cell.L ⁻¹)	2 µg.L ⁻¹	1 µg.L ⁻¹
suivi eau	extraction solide liquide GF-AAS et ICP-MS	journalier	journalier
suivi huîtres	prélèvements I.C., bioaccumulation, MTs	T0, T7, T14, T21	T0, T3, T7, T14

Tableau IV- 2: Synthèse des protocoles deux expérimentations réalisées

Lors de l'expérimentation VD/VT 2, les algues ont été dopées dans leur milieu de culture 24 H puis 48 H avant d'être introduites dans les unités expérimentales. Lors de la seconde expérimentation, VD/VT 0,04, cette méthode a été optimisée en dopant les algues dans leur milieu de culture 5 jours à l'avance, puis le jour de l'ajout, nous les avons séparées du milieu de culture par centrifugation, rincées à l'eau de mer pour éliminer le Cd adsorbé sur les parois, centrifugées à nouveau (deux fois) avant d'être introduites dans les unités. L'état et le comptage des cellules ont été vérifiés à chaque étape.

III. Tracing Cadmium contamination kinetics and pathways in oysters (*Crassostrea gigas*) by multiple stable Cd isotope spike experiments, Strady et al., *in press*

Cet article, de Emilie Strady, Jörg Schäfer, Magalie Baudrimont et Gérard Blanc, accepté avec révisions mineures à *Ecotoxicology and Environmental Safety*, reporte les principaux résultats de l'expérimentation VD/VT 2.

1. Résumé en français

Des expérimentations en laboratoire utilisant les isotopes stables de Cd (¹¹⁰Cd et ¹¹²Cd) ont été conduites pour caractériser séparément et simultanément l'accumulation de Cd par voie directe et trophique des différents tissus de l'huître japonaise *Crassostrea gigas*. Pour cela,

nous avons exposé des huîtres juvéniles à de ^{110}Cd ajouté à l'eau de mer (^{110}Cd : $2\text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$) et à des algues préalablement contaminées en ^{112}Cd (*Thalassiosira weissflogii*, ^{112}Cd : $2\text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ pour 35.10^3 cellules.huître $^{-1}.\text{L}^{-1}$) dans quatre conditions expérimentales contenant chacune 6 huîtres, pour une durée de 21 jours. Les niveaux d'exposition en Cd utilisés sont 10 fois supérieurs à l'environnement. Trois huîtres par condition ont été disséquées à T0, T7, T14 et T21 jours en trois parties : branchies, glandes digestives et restes, pour la détermination de la bioaccumulation en Cd et des concentrations en métallothionéines (branchies et glandes digestives seulement). Les rapports isotopiques et les concentrations en Cd ont été mesurés quotidiennement dans l'eau et de façon hebdomadaire dans les huîtres par GF-AAS et ICP-MS. La variabilité temporelle des rapports $^{110/114}\text{Cd}$ et $^{112/114}\text{Cd}$ et des concentrations en Cd ont montré des cinétiques de bioaccumulation différentes suivant les voies de contamination des différents tissus. Dans ces conditions expérimentales, le changement rapide et important des rapports isotopiques dans les branchies et glandes digestives suggère une contamination rapide par voie directe avec un transfert de Cd entre les différents organes. La contamination par voie trophique, mesurée après 14 jours, montre un transfert trophique de l'ordre de 1%. Les concentrations constantes en métallothionéines durant l'expérimentation suggèrent des concentrations initiales suffisante pour palier le niveau d'exposition en Cd.

2. Article soumis

Tracing Cadmium contamination kinetics and pathways in oysters (*Crassostrea gigas*) by multiple stable Cd isotope spike experiments

Emilie Strady^{1*}, Jörg Schäfer^{1*}, Magalie Baudrimont², Gérard Blanc¹

¹Université de Bordeaux, UMR EPOC 5805, GEMA team, Av. des facultés, 33405 Talence, France

²Université de Bordeaux, UMR EPOC 5805, GEMA team, Place du Dr B. Peyneau, 33120 Arcachon, France

*corresponding authors: e.strady@epoc.u-bordeaux1.fr; j.schaefer@epoc.u-bordeaux1.fr

Abstract:

Laboratory experiments using stable Cd isotopes (^{110}Cd and ^{112}Cd) were conducted to separately and simultaneously characterize Cd accumulation in different tissues of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) via the (i) trophic and (ii) direct pathways. For this, we exposed juvenile oysters to ^{110}Cd -spiked seawater (^{110}Cd : $2\text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$; constant level) and ^{112}Cd -spiked

food (*Thalassiossera weissflogii*, ^{112}Cd : $2\mu\text{g.l}^{-1}$ in 35.10^3 cells/oyster/liter) in four experimental treatment groups, each containing 6 oysters, for 21 days with constant trophic feeding. These Cd contamination levels were ~10 times lower than those typically used in experimental accumulation studies. Three oysters per treatment group were dissected every 7 days with separate sampling of the gills, digestive gland and the rest of the body. Metallothioneins were analysed in the digestive gland and gills. Cadmium concentrations and isotope ratios were measured in water (daily) and tissues (weekly) by GF-AAS and ICP-MS. The observed time-dependent evolution in Cd concentrations and $^{110}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ and $^{112}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ isotope ratios clearly revealed the bioaccumulation short-term kinetics and pathways of Cd contamination in the different tissues. Under the experimental conditions, significantly changed isotope ratios in gills and the digestive gland of oysters suggested rapid and efficient contamination by ^{110}Cd derived from direct exposure followed by internal Cd transfer between organs. Trophic contamination became measurable after 14 days of exposure corresponding to a trophic transfer rate of 1%. Constant metallothionein levels during the experiment suggested that the initially present metallothionein levels were sufficient to deal with the experimental Cd exposure.

Keyword: Crassostrea gigas, cadmium, stable isotope spiking, trophic direct contamination

1. Introduction

Oyster cultures are economically important in coastal areas. Oysters are filter-feeding bivalves that easily accumulate trace metals, especially cadmium (Baudrimont et al., 2005; Lekhi et al., 2008; Bendell and Feng, 2009; Christie and Bendell, 2009; Ng et al., 2010). Due to known human health effects (Bragigand et al., 2004; Cheng and Gobas, 2007; Copes et al., 2008; Widmeyer and Bendell-Young, 2008; Saratug et al., 2010), consumption of oysters has been limited to $5\mu\text{g.g}^{-1}$ dw in Europe (CE No. 466/2001). Oyster production and selling has thus become restricted to regions where cadmium oyster concentrations are below this amount. Thus, detailed knowledge of the mechanisms underlying Cd accumulation by the oyster is needed such that possible remediation strategies can be implemented.

Experimental studies of Cd bioaccumulation in oysters using radiolabelled isotope analysis have shown that contamination may occur via direct (metal uptake by the gill epithelium of the dissolved metal from the water column) and trophic (metal uptake by the digestive apparatus of metal associated to nutritive particles) pathways (Reinfelder et al., 1997; Boisson et al., 2003). This technique is very sensitive at low contamination levels, but the analytical constraints and the authorisations required to use radiolabelled isotopes make this technique inaccessible to non-labelled laboratories. Thus, most experimental studies of trace metal

contamination of marine organisms are based on dose-response experiments where exposure levels typically are orders of magnitude higher than real environmental conditions, for example in recent literature (Brinza et al., 2009; Nadella et al., 2009). Globally, such high metal exposure levels facilitate both measuring bioaccumulation and control exposure levels in seawater and detecting ecotoxicological responses to contamination with respect to sensitivity of currently applied analytical techniques such as atomic absorption spectrometry (AAS) or mass spectrometry (MS). Furthermore, analysing dissolved metals in seawater to continuously adjust exposure level during the experiment requires specific techniques and protocols to control/limit saline matrix effects, e.g. by dilution, liquid/liquid or solid/liquid extraction before AAS and MS measurements (Danielsson et al., 1982; Dabrin et al., 2009; Strady et al., 2009). Accordingly, the experimental metal exposure level may depend on analytical performances and the chosen metal exposure levels typically have been much higher than environmental values and open to criticism. In this context, we based Cd contamination experiments on single stable isotope enrichment and ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) measurements as previously studied in freshwater (Croteau and Luoma, 2007; Croteau et al., 2007; Komjarova and Blust, 2008). We improved this method by (i) developing multiple stable Cd isotope enrichment, to trace simultaneously both contamination pathways, (ii) in estuarine and marine waters after removal of the saline matrix by solid-liquid extraction. This approach aimed at using close-to environment exposure levels to (i) simultaneously trace different contamination pathways in the marine environment, (ii) determine the respective kinetics and (iii) identify related detoxification processes using protein responses.

The objective of the present work was to explore the potential of multiple stable Cd isotope spikes to simultaneously trace accumulation kinetics and pathways in gills, digestive glands and the rest of the oyster tissues exposed to direct or/and trophic contamination. For this, we exposed juvenile oysters to seawater and algae spiked with single Cd stable isotopes (e.g. ^{110}Cd in seawater and ^{112}Cd in algae) at levels only ~10 times higher than typical mid-salinity values in the Gironde Estuary (Dabrin et al., 2009), for three weeks. In fact we referenced the exposure level of the experiment to the historic polymetallic polluted Gironde Estuary (Boutier et al., 1989; Jouanneau et al., 1990; Lapaquellerie et al., 1995; Audry et al., 2007), where oyster farming has been forbidden because of high Cd contents measured in wild oysters (Boutier et al., 1989). We report and discuss time-resolved Cd accumulation in organs and the rest of the tissues obtained from changes in isotope ratios over time and on metallothionein levels observed. Finally, the role of direct and trophic pathways in the observed accumulation patterns is discussed.

2. Materials and methods

Oysters: Juvenile Pacific oysters (18 months-old, ~4 cm shell length, *Crassostrea gigas*) were coming from a farming activity in the uncontaminated area, the Arcachon Bay France (Marie, 2005). We selected 72 oysters with similar weight and shape, and introduced six of them in each experimental treatment (10 L synthetic seawater, salinity 15, [Cd] = 30 ng.L⁻¹ ; Instant Ocean®) two days before the contamination experiment and without feeding for acclimatising.

Experimental conditions: Direct and trophic pathways were traced by spiking seawater and algae with stable cadmium isotopes, ¹¹⁰Cd and ¹¹²Cd respectively (Assay®, atomic percent 97.36% and 98.27%, respectively). Seawater, initially Cd concentrated at 0.07 µg.L⁻¹, was ¹¹⁰Cd-spiked at 2 µg.L⁻¹. All oysters were fed daily with *Thalassiosira weissflogii* at a constant level (35.10³ cells.oyster⁻¹.L⁻¹, counting by Nageotte chamber) close to environmental conditions (e.g. Marennes-Oléron Bay, Malet et al., 2008; Thau Lagoon, Dupuy et al., 2000). Algae for trophic characterisation were ¹¹²Cd-spiked at 2 µg.L⁻¹ for 200.10³ cells.L⁻¹, 48h before being fed to the oysters, and were added to the experimental treatments every two days. The algae were grown in the laboratory in specific chambers containing enriched nutrient medium. Cd concentrations in the algae were determined by substituting the [Cd] in the filtered water where the algae were contaminated to the initial [Cd] added, as the algae dry weight was too low.

Globally, this feeding rate was sufficient to produce faeces and pseudo-faeces, which were collected with a Pasteur syringe, dried and kept at 4°C in the dark. Thus, six oysters per treatment were exposed to four conditions in three replicate treatments (Figure 1) : (1) Control, C; (2) SW, ¹¹⁰Cd: 2 µg.L⁻¹, enriched seawater representing the direct pathway; (3) A, ¹¹²Cd: 2 µg.L⁻¹ for 200.10³ cells.L⁻¹, enriched algae representing the trophic pathway and (4) SWA, enriched seawater and algae, representing both direct (¹¹⁰Cd: 2µg.L⁻¹) and trophic (¹¹²Cd: 2 µg.L⁻¹ for 200.10³ cells.L⁻¹) pathways.

Water control: During experiments, ¹¹⁰Cd concentrations were adjusted daily to 2 µg.L⁻¹ after Cd determination by GF-AAS (Solaar Thermo; Pd 2 g.L⁻¹ and Mg 1 g.L⁻¹ matrix modifiers, 10-fold dilution). Physico-chemical parameters were controlled daily and kept at constant level: salinity 15±0.3, temperature 15°C±1°C, pH 8.3±0.2 and O₂ (100% saturation) via an oxygen diffuser. The light conditions employed were 12 H per day under lighting and in the dark. Furthermore, 60 mL of seawater was sampled daily in every treatment, acidified (HNO₃ Ultrex, 2%), stored at 4°C in the dark, and dissolved metal was pre-concentrated and separated from the salt matrix by solid-liquid extraction (DigiSEP blue cartridges, SCP Science, functional group amino di acetate; Strady et al., 2009) prior to ICP-MS measurements (Thermo X7). This robust method provided very good reproducibility (<3%)

and accuracy (<5%) of certified seawater (CASS-4: NASS-5) and also of Milli-Q® water enriched with ^{110}Cd and ^{112}Cd .

Metal and metallothionein quantification in oyster tissues: Two oysters per treatment (or replicate) were removed before starting the experiment (T0) and after 7 days (T7), 14 days (T14) and 21 days (T21) of exposure. Each oyster was immediately dissected and separated into three parts: gills (G), digestive gland (DG) and the rest of the body (R). Aliquots representing 2/3 of G and DG masses and the whole R were kept at -20°C for metal analysis. Then they were weighed, dried at 85°C for 24h, weighed again, mineralized for 3 hours in 3 mL HNO_3 at 100°C (DigiPREP, ®SCP Sciences) and the solution obtained was stored at 4°C in the dark until analysis by GF-AAS (Thermo Solaar; using Pd 2 g.L^{-1} and Mg 1 g.L^{-1} matrix modifiers) and by ICP-MS (Thermo X7). The other aliquots representing 1/3 of the G and DG mass were stored at -80°C under N_2 -atmosphere until metallothionein (MT) analysis by the mercury-saturation-assay described by Marie et al., 2006a and using cold inorganic mercury.

Cadmium concentrations and stable isotope ratios in oysters by ICP-MS: Oyster tissue digestates were measured by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS; Thermo X7). As stable isotopes were added to seawater (^{110}Cd) and algae (^{112}Cd) to trace contamination pathways, we used external calibration with a Cd elemental solution (SCP Sciences®) calibration and did all of our calculations from isotope dwell counts (Croteau et al., 2004) according to the following equations expressed for ^{112}Cd isotope and transposable to ^{110}Cd . Firstly, we determined the isotope ratios $(^{112/114}\text{Cd})_{\text{m}}$ in samples which correspond to the dwell counts of spiked isotope over the reference isotope ^{114}Cd (equation 1)

$$(^{112/114}\text{Cd})_{\text{m}} = (^{112}\text{Cd})_{\text{m}} / (^{114}\text{Cd})_{\text{m}} \quad (1)$$

where $(^{112}\text{Cd})_{\text{m}}$ and $(^{114}\text{Cd})_{\text{m}}$ represent the measured counts for ^{112}Cd and ^{114}Cd isotopes.

Total Cd concentration in the samples was calculated from the mono-isotopic Cd concentrations $[^{112}\text{Cd}]$ as the sum of the natural concentrations derived from natural isotopes and the additional concentrations accumulated from the spikes (equation 2 and 3).

$$[^{112}\text{Cd}] = [^{112}\text{Cd}]_{\text{n}} + [^{112}\text{Cd}]_{\text{s}} \quad (2)$$

where $[^{112}\text{Cd}]_{\text{n}}$ and $[^{112}\text{Cd}]_{\text{s}}$ represent natural and spiked ^{112}Cd concentrations in the samples.

$$[^{112}\text{Cd}] = ((^{114}\text{Cd})_{\text{m}} \times (^{112/114}\text{Cd})_{\text{n}} \times S_{\text{n}} + ((^{112}\text{Cd})_{\text{m}} - (^{114}\text{Cd})_{\text{m}} \times (^{112/114}\text{Cd})_{\text{n}}) \times S_{\text{s}})^{112} \quad (3)$$

where $(^{112/114}\text{Cd})_{\text{n}}$ represents natural isotope ratios, S_{n} and S_{s} represent respectively the slopes of the natural isotopic abundance calibration curves and of the modified (spiked) isotopic abundance calibration curves.

However, one cannot exclude that ^{112}Cd from spiked algae was present in the seawater of the A (enriched algae) and SWA (enriched seawater and algae) treatments (concentrations very close to ^{110}Cd), contributing ^{112}Cd to direct contamination. Thus, we corrected this potential

^{112}Cd direct contamination from the ^{110}Cd direct signal, in A and SWA treatments, using the following equations (expressed for SWA and transposable to A treatments).

$$(^{112}\text{Cd})_s^{\text{direct SWA}} = (^{110}\text{Cd})_s^{\text{direct SWA}} \times (^{112/114}\text{Cd})_m^{\text{direct SWA}} \quad (4)$$

where $(^{112}\text{Cd})_s^{\text{direct SWA}}$ is the ^{112}Cd direct pathway counts in SWA treatments, $(^{112}\text{Cd})_s^{\text{direct SWA}}$ is the ^{110}Cd direct pathway counts in SWA treatments, and $(^{112/114}\text{Cd})_m^{\text{direct SWA}}$ is the measured isotope ratios in SWA treatments.

Thus, in SWA treatments, $(^{112/114}\text{Cd})_m^{\text{SWA}}$ isotope ratios were determined according to equation (5)

$$(^{112/114}\text{Cd})_m^{\text{SWA}} = ((^{112}\text{Cd})_m - (^{112}\text{Cd})_s^{\text{direct SWA}}) / (^{114}\text{Cd})_m \quad (5)$$

Accordingly, $[^{112}\text{Cd}]$ in SWA treatments was determined from equation (2) by substituting $[^{112}\text{Cd}]^{\text{direct}}$, as follows (6):

$$[^{112}\text{Cd}]^{\text{SWA}} = ((^{114}\text{Cd})_m \times (^{112/114}\text{Cd})_n) \times S_n + ((^{112}\text{Cd})_m - (^{114}\text{Cd})_m \times (^{112/114}\text{Cd})_n) - (^{110}\text{Cd})_s^{\text{direct SWA}} \times (^{112/114}\text{Cd})_m^{\text{direct SWA}} \times S_s^{112} \quad (6)$$

Finally, Cd concentration in SWA treatments was calculated using both ^{110}Cd and ^{112}Cd isotope concentrations according to the following equation (7):

$$[\text{Cd}]^{\text{SWA}} = [^{110}\text{Cd}]_s^{\text{SWA}} + [^{112}\text{Cd}]^{\text{SWA}} \quad (7)$$

Statistical analysis: We first checked the normality and homogeneity of error terms. When these assumptions were achieved (e.g. bio-accumulation and metallothionein), the significant effect of factors taken into account was analysed using a variance method (ANOVA) and a least square deviation test (LSD). When assumptions were not respected (e.g. isotope ratios), a non-parametric method was performed using the Kruskal-Wallis test. For all statistical results, a probability of $p < 0.05$ was considered significant.

3. Results

3.1. Experimental conditions

Cadmium concentrations were measured daily in all experimental treatments (Figure 1). In C treatments, concentrations were low and constant over the experiment (Figure 1). In SW treatments, Cd concentrations varied with a mean of $2.2 \pm 0.5 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Figure 1). In A and SWA treatments, GF-AAS measurements revealed Cd concentrations higher than expected. Simultaneous measurements by ICP-MS showed enrichment in ^{112}Cd in A and SWA treatments, probably originating from release of ^{112}Cd from contaminated algae. Thus, Cd concentrations in seawater were calculated from the ^{112}Cd isotope (equation 7) in A and SWA treatments (Figure 1).

3.2. Cadmium isotope ratios in oyster tissues

Time-dependent evolution of Cd isotope ratios $^{110}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ and $^{112}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ in gills, digestive gland and the rest of the body were measured for the different experimental conditions after 7, 14 and 21 days of exposure (Kruskall-Wallis test, $p < 0.05$; Figure 2). The $^{110}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ ratio, characterizing direct contamination, significantly changed after 7 days of exposure in gills, digestive glands and in the rest of the tissues for the SW and SWA treatments (Figure 2a,c,e). After 21 days, $^{110}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ ratios in gills from A and SWA were significantly higher than in digestive glands and the rest of the tissues. In contrast, trophic contamination characterized by $^{112}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ ratios became significantly measurable after 14 days of exposure in gills, digestive glands and the rest of the tissues for the A and SWA treatments (Figure 2b,d,f). After 21 days, the $^{112}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ ratios in gills and digestive glands were similar in magnitude.

3.3. Cadmium isotope ratios in faeces and pseudo-faeces

Since oysters did not regularly produce faeces (F) and pseudo-faeces (PF), we could not collect them daily in every treatment. Thus, we grouped F and PF of the three replicate treatments and compared their isotope composition to those of the Control treatment sampled the same day or within the same few-days-interval, when the production was too low. The $^{110}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ ratios in F and PF changed rapidly (after 3 days of exposure) and showed significantly higher enrichment in PF than in F (Kruskall-Wallis test, $p < 0.05$; Figure 3a). Higher variations occurred in F and PF from SW treatments than from SWA treatments (Figure 3a). $^{112}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ ratios in F and PF varied rapidly, significantly and with the same amplitude in A and SWA treatments (Figure 3b). However, measured $^{112}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ ratios were higher in F than in PF.

3.4. Cadmium bio-accumulation in oyster tissues

Cd concentrations in oyster tissues were measured by ICP-MS and bio-accumulation was calculated from Cd stable isotope enrichment (see 2. Material and methods). Thus, we calculated both direct (^{110}Cd) and trophic (^{112}Cd) contamination in the gills, digestive gland and rest of the body from the respective excess isotopes and corrected the data for ^{112}Cd stable isotope accumulated by the direct pathway in A and SWA treatments according to equation 7 (Figure 4).

Cadmium concentrations in gills, digestive glands and the rest of the tissues from Control oysters were constant over time (Figure 4a,b,c). After 21 days, concentrations were significantly higher in all tissues of oysters from SW and SWA treatments than in those from A treatments (ANOVA $p < 0.05$; Figure 4abc). From T14 to T21, Cd accumulated more efficiently in digestive glands than in gills, and accumulation in the rest of the body slightly increased (Figure 4). In fact, bio-accumulation in gills, which are the most exposed tissues to

the direct pathway, was 2-fold and 6-fold higher than in Control oysters after 7 days and 21 days of exposure, respectively (Figure 5). Furthermore, final Cd concentrations in gills and digestive glands were similar and tended to be higher than in the rest of the tissues.

3.5. Metallothionein levels

Metallothionein (MTs) levels in oysters were measured in gills and digestive glands at the beginning (T0) and the end (T21) of the experiment for all treatments (Figure 5). After 21 days, MT concentrations in gills and digestive glands of oysters from the SW, A, and SWA treatments were not significantly different from those in gills and digestive glands of Control oysters (ANOVA $p < 0.05$; Figure 5a,b).

4. Discussion

4.1. Stable isotope enrichment

Simultaneous tracing of direct and trophic Cd bio-accumulation oyster tissues using two stable Cd isotopes was successful. In fact, ^{110}Cd and ^{112}Cd enrichment in seawater and algae, respectively, induced rapid, important and precise stable isotope ratio variations in oyster tissues, faeces and pseudo-faeces. Cadmium concentrations were determined precisely from modified isotope ratios by isotope dilution calculation adapted to the experimental setup (equation 2). The obtained results clearly suggest that the method is well-adapted and that the response obtained is much more sensitive than what would be needed at this exposure level which is only 10 times higher than that in real coastal environments (e.g. Gironde Estuary; (Dabrin et al., 2009)). Accordingly, we suggest that the method would be sufficiently sensitive and reliable for lower contamination levels and/or exposure time, comparable to those in previous papers on single stable isotope experiments dealing with direct or trophic contamination of freshwater organisms (Croteau and Luoma, 2007, 2009). One major advantage of simultaneously tracing direct and trophic contamination pathways with two stable isotopes is the possibility of closely following and distinguishing metal pathways and re-distribution in different tissues under exactly the same experimental conditions. The tracing technique also enabled us to detect unexpected effects, such as the fact that ^{112}Cd exclusively spiked in algae also appeared as dissolved metal in seawater of experimental treatments designed to monitor both trophic contamination alone and concomitant direct and trophic contamination. Previous work on *Thalassiosira weissflogii* Cd contamination showed that 25-30 % of the metal was cell-surface-adsorbed at this contamination level (using hydroxyquiniline-5-sulphonate; Miao and Wang, 2006). The resulting potential transfer of ^{112}Cd from algae to seawater in A and SWA treatments would be expected to induce

additional direct ^{112}Cd contamination of oyster tissues, which has been corrected using equation 7.

4.2. Direct contamination pathway

Cadmium bioaccumulation in oyster tissues was more important and faster via the direct than the trophic pathway which is consistent with previous work applying different experimental conditions (Ettajani et al., 2001; Boisson et al., 2003). Kinetics of direct Cd contamination differed between tissues with accumulation being more efficient and faster in gills than in digestive glands and the rest of the tissues (see section 3.4.). Tracing direct contamination (^{110}Cd in excess) in digestive glands and the rest of the tissues after 7 days of exposure was quite unexpected. In fact, these organs and tissues are not considered closely related to mechanisms involved in direct contamination. Accordingly, $^{110}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ ratios in digestive glands and the rest of the tissues were attributed to metal redistribution by blood from the most exposed organs (gills) to less affected tissues (digestive glands and the rest of the tissues), as observed in other marine organisms (e.g. eel, Pierron et al., 2008)).

Despite important Cd bioaccumulation, metallothionein concentrations [MT] in gills and digestive glands from oysters contaminated by direct contamination did not increase throughout the experiment (Figure 5), suggesting that the initially present MT concentrations were sufficient to initiate detoxification processes and decontamination. We remind that oysters were coming from an uncontaminated farming area and were not exposed to high Cd level before the experiment. This result is clearly different from those of previous accumulation studies where metallothionein production occurred (Ettajani et al., 2001; Marie et al., 2006a; Marie et al., 2006b). This is probably due to the fact that these studies were conducted at concentration levels of $\sim 20\mu\text{g.L}^{-1}$, which is ~ 10 -fold higher than concentration levels in the present study and ~ 100 -fold higher than maximum values in the Gironde Estuary (Dabrin et al., 2009),.

Cadmium accumulation via the direct pathway was traced in faeces (F) and pseudo-faeces (PF) by significant $^{110}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ ratio variations (Figure 3). Since PF and F were immediately removed from the experimental treatment to avoid isotope equilibration with seawater, we assume that ^{110}Cd was transported via blood from gills to PF and from digestive glands to F. These assumptions are in accordance with increasing isotope ratios measured from T3 to T10, and with a stronger shift in PF than in F, probably reflecting higher ^{110}Cd levels accumulated in gills than in digestive glands (Figure 3). Thus, excretion with PF and F can be considered as one pathway of Cd elimination from gills and digestive glands. However, under the experimental conditions we could not quantify Cd excretion, due to the low recoveries of F and PF.

4.3. Trophic contamination in oysters

Tracing trophic contamination showed ^{112}Cd bio-accumulation in digestive glands, gills and in the rest of the oysters after 14 days of exposure (Figure 4). Detecting trophic contamination in gills and the rest of the tissues was quite unexpected (Nassiri, 1995) and was attributed to Cd redistribution between organs by internal mechanisms, as already discussed for direct contamination. Oysters were dissected at least 24h after feeding to avoid algae from remaining in the gills. Although one cannot exclude that Cd weakly bound to algae as remaining cell-adsorbed-Cd (Miao and Wang, 2006) could be adsorbed on gill membranes, Cd desorption by seawater in A and SWA treatments (see discussion above) would be expected to represent the major desorbable fraction and has been corrected (equation 7). Kinetics of bioaccumulation in digestive glands were lower for trophic than for direct pathways. From the start of the experiment to 7 days of exposure, we measured at the same time an increasing $^{112}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ ratio in F (T3; Figure 3) and an unchanged $^{112}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ ratio in digestive glands (T7; Figure 2). Furthermore, at this exposure level, Cd in *T. weissflogii* algae is expected to consist of ~30% soluble-Cd, ~45% insoluble-Cd and ~25% adsorbed-Cd (Miao and Wang, 2006). This may suggest Cd elimination via excretion rather than adsorption/absorption by stomach and gut membranes (Fisher et al., 1996). From T7 to T14, the $^{112}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ ratio in digestive glands increased (Figure 2), whereas it remained constant in F (Figure 3), suggesting the concomitance of both Cd absorption by membranes and Cd elimination. Finally, from T14 to T21, the ^{112}Cd accumulated in digestive glands increased considerably (Figure 4), suggesting more efficient Cd-absorption by membranes. Metallothionein concentrations in the digestive gland remained constant over time (Figure 5), indicating that no metallothionein-based decontamination mechanisms were induced in response to the exposure level within three weeks. The trophic uptake proportion of Cd in oysters was estimated at 1% during the experiment. We determined this uptake rate by estimating the accumulated ^{112}Cd in whole oyster tissues, which is the amount of ^{112}Cd in accumulated oysters from algae minus that in oysters from Control treatments, divided by the supplied enriched ^{112}Cd -algae. Previous studies have shown that trophic transfer of Cd in oysters depends on algae species and exposure level (Nassiri, 1995; Ettajani et al., 2001). In fact, at the $20\text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ Cd exposure level the trophic transfer to oysters was ~9% for *Skeletonema costatum* and ~20% for *Tetraselmis suecica*, whereas at the extremely high level of $200\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ it was ~5% for both species. Thus, by comparing studies, we can conclude that trophic Cd transfer in oysters mainly depends on algae species and that the exposure level appeared to be less significant which is consistent with trophic transfer studies conducted on mussel contamination (Wang and Fisher, 1996; Reinfelder et al., 1997; Arifin and Bendell-Young, 2000).

4.4. Simultaneous direct and trophic contamination in oysters

One of the most promising characteristics of stable isotope spike experiments is the possibility of independently tracing simultaneous direct and trophic contamination (see SWA treatments, assuming non-interaction between the two uptake routes of exposure). Isotope ratios and bio-accumulation kinetics observed for oysters exposed to both enriched seawater and algae were similar to those observed for direct-only or trophic-only exposure (Figures 2 and 5). Plotting the direct contamination [^{110}Cd] over the trophic contamination [^{112}Cd] measured in digestive glands from oysters from all experimental treatments highlights the role of different contamination pathways over time, clearly showing different trophic and direct contamination kinetics (Figure 6). Furthermore, the ‘SWA treatments’ distribution was equivalent to the sum of Cd accumulated separately via the two pathways (Figure 6a), even at the beginning of the experiment at low Cd accumulation (Figure 6b). These results may suggest (i) that internal metal redistribution mechanisms were similar, when oysters were contaminated via one or both pathways and (ii) the absence of positive or negative feedback between the different contamination pathways under the present experimental conditions. Interestingly, metallothionein levels in gills and digestive glands were again constant at the end of the experiment, even for the highest level of accumulated Cd (Figure 5).

5. Conclusions

Multiple stable isotope spike experiments are a reliable and efficient tool for simultaneously tracing contamination pathways in marine organisms under realistic experimental conditions. The respective contributions of direct and trophic contamination in gills, digestive glands, and in the rest of the bodies were clearly identified, showing that under the experimental conditions, gills and digestive glands were mainly contaminated by direct exposure. Accumulation kinetics in the juvenile oyster tissues changed over time, leading to relatively high Cd accumulation and redistribution between tissues. Constant metallothionein concentrations along the experiment suggest that the initially present metallothionein levels in the oysters were sufficient to deal with the experimental Cd exposition. To conclude, tracing contamination pathways by multiple stable isotope spikes was successful for Cd in oysters and can be transposed to other marine organisms for trace metals with at least three stable isotopes that may be measured in seawater. In perspective, the sensitive responses obtained at the concentration levels used in this work clearly suggest that the present method is suitable at even lower (i.e. environmental) concentration levels in seawater.

6. Acknowledgements

The authors thank Cécile Bossy and Régine Maury-Brachet for their advice during metal isotope analysis and GF-AAS measurements, respectively, and Catherine Pham for her English revising. Funding was provided by the INSU EC2CO CYTRIX VOTR'TRAM Project, Project 'Region Aquitaine RRLA' and a grant from the French Ministry of Research.

7. References

- Arifin, Z., Bendell-Young, L.I., 2000. Influence of a selective feeding behaviour by the blue mussel *Mytilus trossulus* on the assimilation of ^{109}Cd from environmentally relevant seston matrices. *Mar Ecol Prog Ser* 192, 181-193.
- Baudrimont, M., Schäfer, J., Marie, V., Maury-Brachet, R., Bossy, C., Boudou, A., Blanc, G., 2005. Geochemical survey and metal bioaccumulation of three bivalve species (*Crassostrea gigas*, *Cerastoderma edule* and *Ruditapes philippinarum*) in the Nord Médoc salt marshes (Gironde estuary, France). *Sci Total Environ* 337, 265-280.
- Bendell, L.I., Feng, C., 2009. Spatial and temporal variations in cadmium concentrations and burdens in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) sampled from the Pacific north-west. *Mar Pollut Bull* 58, 1137-1143.
- Boisson, F., Goudard, F., Durand, J.P., Barbot, C., Pieri, J., Amiard, J.C., Fowler, S.W., 2003. Comparative radiotracer study of cadmium uptake, storage, detoxification and depuration in the oyster *Crassostrea gigas*: Potential adaptive mechanisms. *Mar Ecol Prog Ser* 254, 177-186.
- Boutier, B., Chiffoleau, J., Jouanneau, J., Latouche, C., Phillips, I., 1989. La contamination de la Gironde par le cadmium: origine, extension, importance. Scientific and technical report, Ifremer no. 14.
- Bragigand, V., Berthet, B., Amiard, J.C., Rainbow, P.S., 2004. Estimates of trace metal bioavailability to humans ingesting contaminated oysters. *Food Chem Tox* 42, 1893-1902.
- Brinza, L., Nygård, C.A., Dring, M.J., Gavrilescu, M., Benning, L.G., 2009. Cadmium tolerance and adsorption by the marine brown alga *Fucus vesiculosus* from the Irish Sea and the Bothnian Sea. *Bioresource Technol* 100, 1727-1733.
- Cheng, W.W.L., Gobas, F.A.P.C., 2007. Assessment of human health risks of consumption of cadmium contaminated cultured oysters. *Human and Ecol Risk Assess* 13, 370-382.
- Christie, J.C., Bendell, L.I., 2009. Sources of dietary cadmium to the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Mar Environ Res* 68, 97-105.
- Copes, R., Clark, N.A., Rideout, K., Palaty, J., Teschke, K., 2008. Uptake of cadmium from Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) in British Columbia oyster growers. *Environ Res* 107, 160-169.
- Croteau, M.N., Luoma, S.N., 2007. Characterizing dissolved Cu and Cd uptake in terms of the biotic ligand and biodynamics using enriched stable isotopes. *Environ Sci Technol* 41, 3140-3145.
- Croteau, M.N., Luoma, S.N., 2009. Predicting dietborne metal toxicity from metal influxes. *Environ Sci Technol* 43, 4915-4921.

- Croteau, M.N., Luoma, S.N., Pellet, B., 2007. Determining metal assimilation efficiency in aquatic invertebrates using enriched stable metal isotope tracers. *Aquat Toxicol* 83, 116-125.
- Croteau, M.N., Luoma, S.N., Topping, B.R., Lopez, C.B., 2004. Stable metal isotopes reveal copper accumulation and loss dynamics in the freshwater bivalve *Corbicula*. *Environ Sci Technol* 38, 5002-5009.
- Dabrin, A., Schäfer, J., Blanc, G., Strady, E., Masson, M., Bossy, C., Castelle, S., Girardot, N., Coynel, A., 2009. Improving estuarine net flux estimates for dissolved cadmium export at the annual timescale: Application to the Gironde Estuary. *Estuar, Coastal and Shelf Sci* 84, 429-439.
- Danielsson, L.G., Magnusson, B., Westerlund, S., Zhang, K., 1982. Trace metal determinations in estuarine waters by electrothermal atomic absorption spectrometry after extraction of dithiocarbamate complexes into freon. *Anal Chim Acta* Vol. 144, 183-188.
- Dupuy, C., Vaquer, A., Lam-Hoi, T., Rougier, C., Mazouni, N., Lautier, J., Collos, Y., Le Gall, S., 2000. Feeding rate of the oyster *Crassostrea gigas* in a natural planktonic community of the Mediterranean Thau Lagoon. *Mar Ecol Prog Ser* 205, 171-184.
- Ettajani, H., Berthet, B., Amiard, J.C., Chevolot, L., 2001. Determination of cadmium partitioning in microalgae and oysters: Contribution to the assessment of trophic transfer. *Arch Environ Contam Toxicol* 40, 209-221.
- Fisher, N.S., Teyssié, J.L., Fowler, S.W., Wang, W.X., 1996. Accumulation and retention of metals in mussels from food and water: A comparison under field and laboratory conditions. *Environ Sci Technol* 30, 3232-3242.
- Jouanneau, J.M., Boutier, B., Chiffoleau, J.F., Latouche, C., Philipps, I., 1990. Cadmium in the Gironde fluvioestuarine system: Behaviour and flow. *Sci Total Environ* 97-98, 465-479.
- Komjarova, I., Blust, R., 2008. Multi-metal interactions between Cd, Cu, Ni, Pb and Zn in water flea *Daphnia magna*, a stable isotope experiment. *Aquat Toxicol* 90, 138-144.
- Lapaquellerie, Y., Jouanneau, J.M., Maillet, N., Latouche, C., 1995. Cadmium pollution in sediments of the Lot river (France), estimate of the mass of cadmium. Pollution en Cd dans les sédiments du Lot (France) et calcul du stock de polluant. *Environ Technol* 16, 1145-1154.
- Lekhi, P., Cassis, D., Pearce, C.M., Ebell, N., Maldonado, M.T., Oriens, K.J., 2008. Role of dissolved and particulate cadmium in the accumulation of cadmium in cultured oysters (*Crassostrea gigas*). *Sci Total Environ* 393, 309-325.
- Malet, N., Sauriau, P.G., Ryckaert, M., Malestroit, P., Guillou, G., 2008. Dynamics and sources of suspended particulate organic matter in the Marennes-Oléron oyster farming bay: Insights from stable isotopes and microalgae ecology. *Estuar, Coastal and Shelf Sci* 78, 576-586.
- Marie, V., 2005. Etude de la réponse des métallothionéines chez les bivalves, *Corbicula fluminea*, *Dreissena polymorpha* et *Crassostrea gigas*, après exposition au cadmium et au zinc. Approches in situ et expérimentales PhD thesis, Université Bordeaux1, p. 461.

- Marie, V., Gonzalez, P., Baudrimont, M., Bourdineaud, J.P., Boudou, A., 2006a. Metallothionein response to cadmium and zinc exposures compared in two freshwater bivalves, *Dreissena polymorpha* and *Corbicula fluminea*. *BioMetals* 19, 399-407.
- Marie, V., Gonzalez, P., Baudrimont, M., Boutet, I., Moraga, D., Bourdineaud, J.P., Boudou, A., 2006b. Metallothionein gene expression and protein levels in triploid and diploid oysters *Crassostrea gigas* after exposure to cadmium and zinc. *Environ Toxicol Chem* 25, 412-418.
- Miao, A.J., Wang, W.X., 2006. Cadmium toxicity to two marine phytoplankton under different nutrient conditions. *Aquat Toxicol* 78, 114-126.
- Nadella, S.R., Fitzpatrick, J.L., Franklin, N., Bucking, C., Smith, S., Wood, C.M., 2009. Toxicity of dissolved Cu, Zn, Ni and Cd to developing embryos of the blue mussel (*Mytilus trossulus*) and the protective effect of dissolved organic carbon. *Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicol and Pharmacol* 149, 340-348.
- Nassiri, Y., 1995. Approche par microscopie électronique à transmission analytique des mécanismes de toxicité et de bio-accumulation du cadmium et du cuivre chez *Skeletonema costatum*, *Tetraselmis suecica*, *Crassostrea gigas*. PhD thesis, Université de Nantes.
- Ng, T.Y.T., Chuang, C.Y., Stupakoff, I., Christy, A.E., Cheney, D.P., Wang, W.X., 2010. Cadmium accumulation and loss in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* along the west coast of the USA. *Mar Ecol Progr Ser* 401, 147-160.
- Pierron, F., Baudrimont, M., Lucia, M., Durrieu, G., Massabuau, J.C., Elie, P., 2008. Cadmium uptake by the European eel: Trophic transfer in field and experimental investigations. *Ecotoxicol Environ Safety* 70, 10-19.
- Reinfelder, J.R., Wang, W.X., Luoma, S.N., Fisher, N.S., 1997. Assimilation efficiencies and turnover rates of trace elements in marine bivalves: A comparison of oysters, clams and mussels. *Mar Biol* 129, 443-452.
- Saratug, S., Garrett, S.H., Sens, M.A., Sens, D.A., 2010. Cadmium, environmental exposure and health outcomes. *Environ Health Persp* 118, 182-199.
- Strady, E., Blanc, G., Schäfer, J., Coynel, A., Dabrin, A., 2009. Dissolved uranium, vanadium and molybdenum behaviours during contrasting freshwater discharges in the Gironde Estuary (SW France). *Estuar, Coastal and Shelf Sci* 83, 550-560.
- Wang, W.X., Fisher, N.S., 1996. Assimilation of trace elements and carbon by the mussel *Mytilus edulis*: Effects of food composition. *Limnol Oceanogr* 41, 197-207.
- Widmeyer, J.R., Bendell-Young, L.I., 2008. Heavy metal levels in suspended sediments, *Crassostrea gigas*, and the risk to humans. *Arch Environ Contam Toxicol* 55, 442-450.

8. Figures

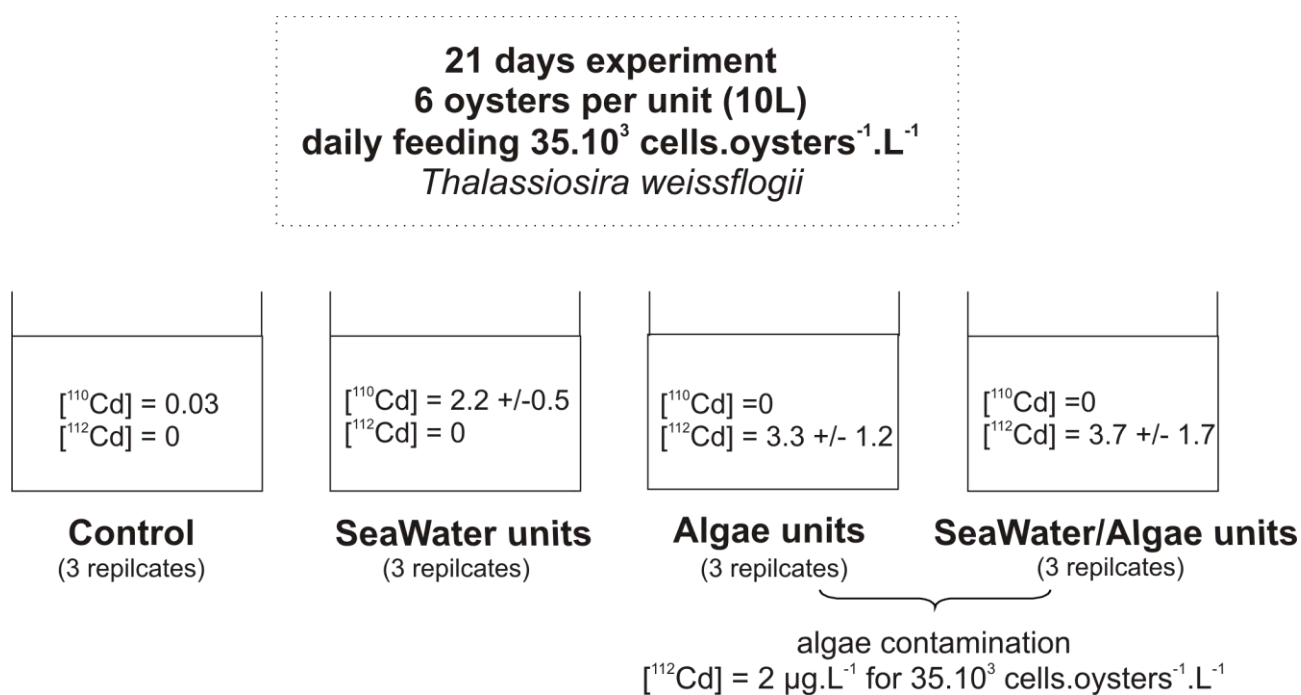


Figure IV- 1: Figure 1: Experimental procedure. The $[^{110}\text{Cd}]$ and $[^{112}\text{Cd}]$ concentrations values represent the mean concentration of $[^{110}\text{Cd}]$ and $[^{112}\text{Cd}]$ measured in seawater units over the 21 days of experiment. To notice, concentrations attempted in seawater units were $[^{110}\text{Cd}] = 2 \mu\text{g.L}^{-1}$ and $[^{112}\text{Cd}] = 0 \mu\text{g.L}^{-1}$.

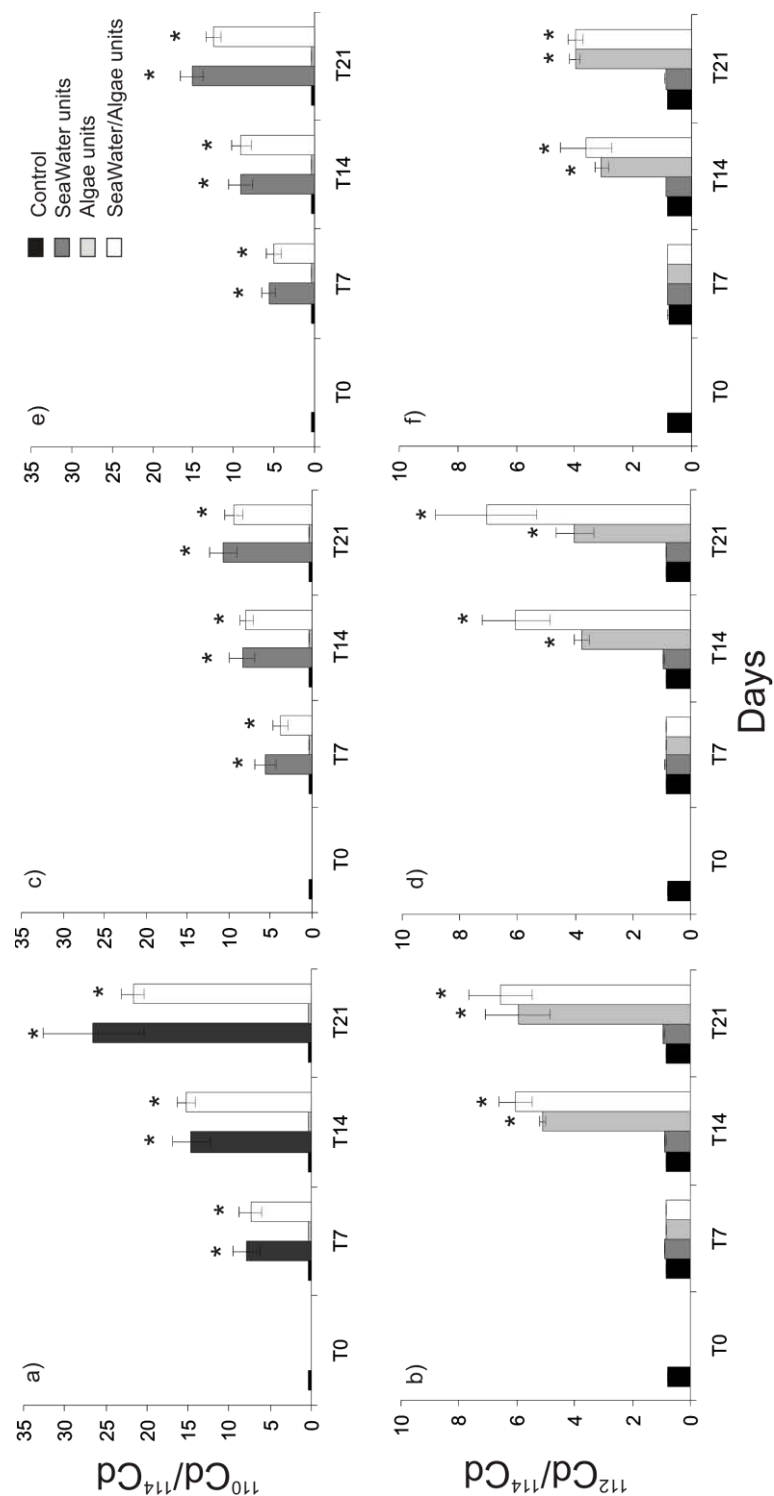


Figure IV- 2: Figure 2: Stable Cd isotopes ratio variations ($^{110}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ and $^{112}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$, mean $\pm$ SEM, n = 3) in gills (a,b) digestive glands (c,d) and rests of bodies (e,f) over experiment from Controls units (black area), Water units (dark grey area), Algae units (light grey area) and Water/Algae units (white area). Stars indicates the significance ($p < 0.05$, Kruskal-Wallis test).

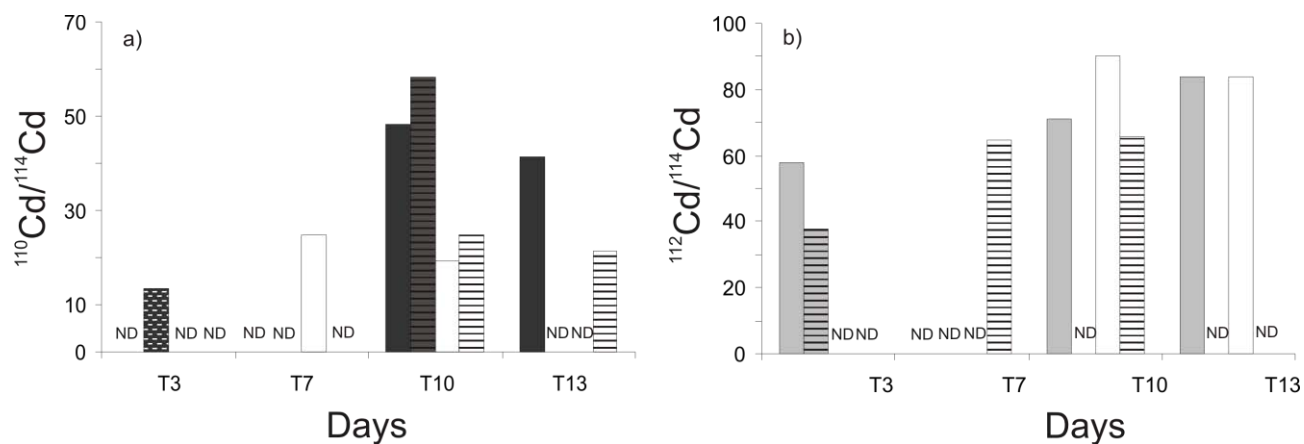


Figure IV- 3: Figure 3: Stable Cd isotopes ratio variations ($^{110}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$ and $^{112}\text{Cd}/^{114}\text{Cd}$) in faeces (full area) and pseudo-faeces (area with horizontal lines) over experiment from Controls units (black area), Water units (dark grey area), Algae units (light grey area) and Water/Algae units (white area). N.D.: not determined

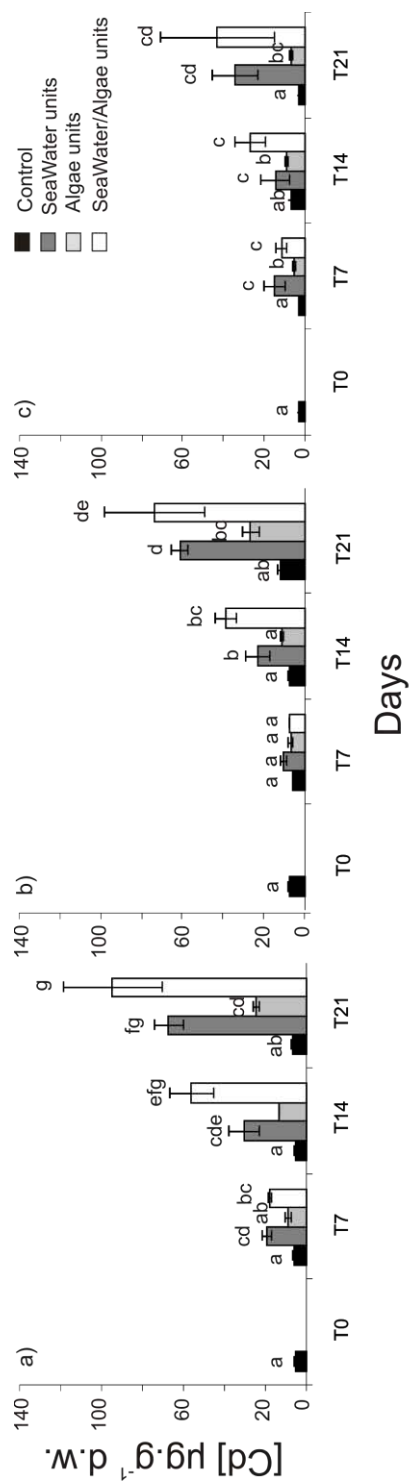


Figure IV- 4: Figure 4: Bio-accumulated Cd (µg.g⁻¹ dw, mean ± SEM, n = 3) in gills (a), digestive glands (b) and rests of bodies (c) over experiment from Controls units (black area), Water units (dark grey area), Algae units (light grey area) and Water/Algae units (white area). Concentrations were measured by ICP-MS and corrected from ¹¹²Cd isotopes measured in seawater in W and WA units. Letters indicate significant differences between mean values (p<0.01, ANOVA LSD test).

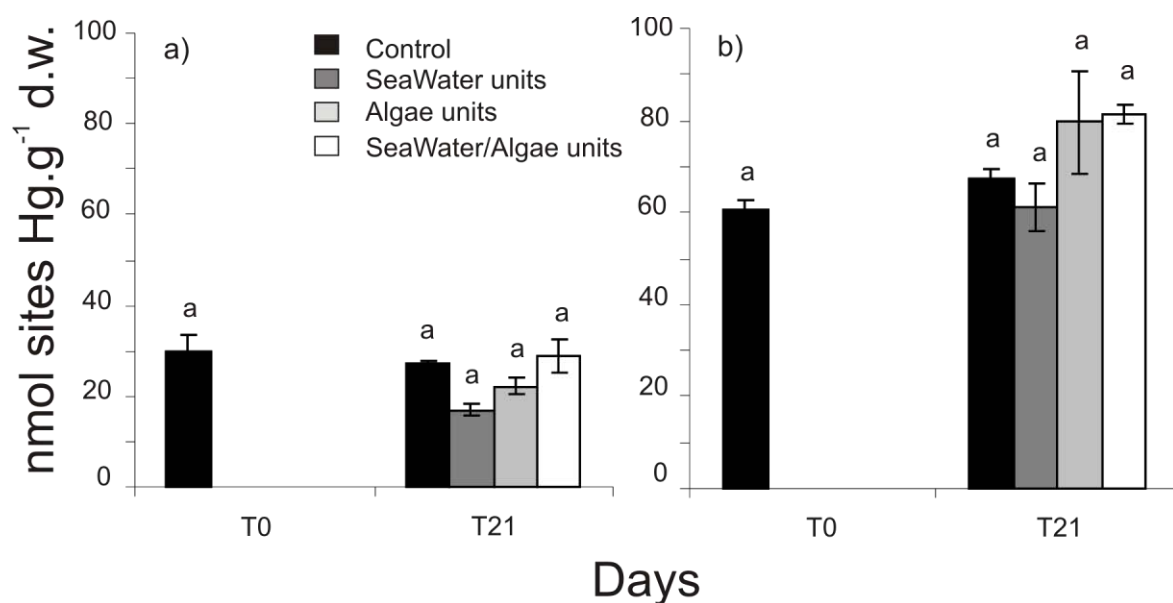


Figure IV- 5: Figure 5: Metallothioneins concentrations (nmol sites Hg.⁻¹ ww, mean $\pm$ SEM, n = 3) in gills (a) and digestive glands (b) 21 days after exposure from Controls units (black area), Water units (dark grey area), Algae units (light grey area) and Water/Algae units (white area). Letters indicate significant differences between mean values (p < 0.01, ANOVA LSD test).

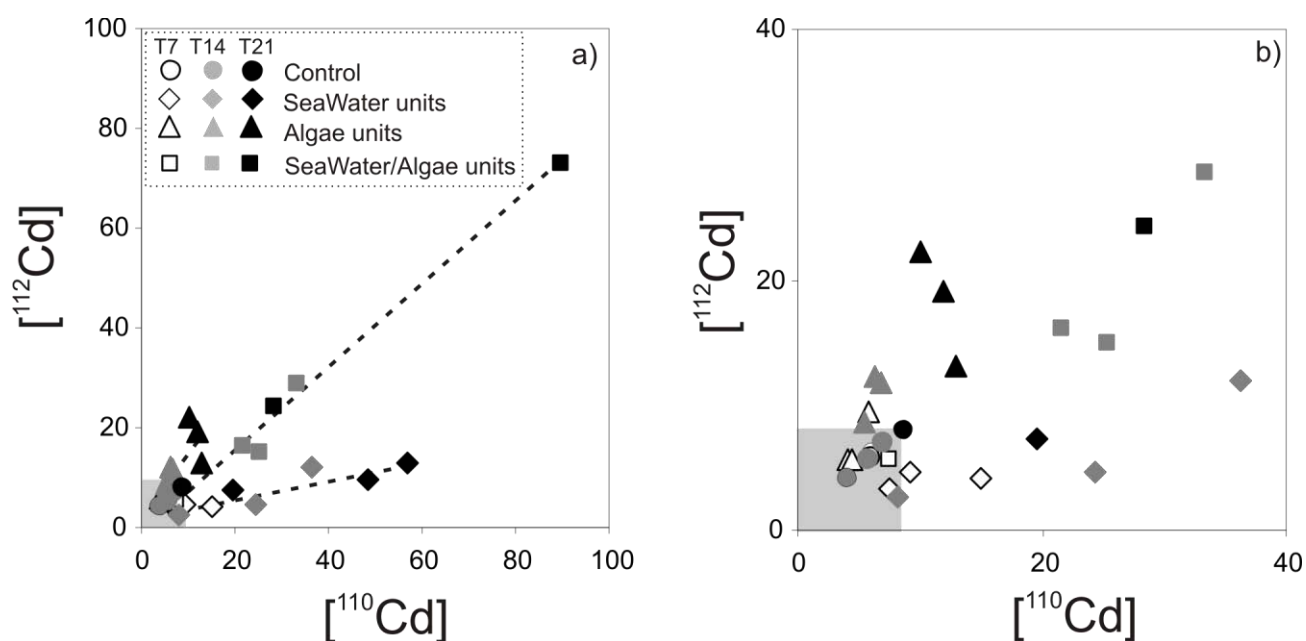


Figure IV- 6: Figure 6: a) Mean [¹¹⁰Cd] concentration (direct contamination) over mean [¹¹²Cd] concentration (trophic contamination) measured in digestive glands of oysters from Control, Water unit, Algae units and Water/Algae units after 7, 14 and 21 days of experiment. b) zoom of a). The grey area represents the natural variation content of [¹¹⁰Cd] and [¹¹²Cd] in oysters from Control

IV. Traçage des voies de contamination à un niveau d'exposition environnemental

1. Cinétique de variation des rapports isotopiques

Les rapports isotopiques $^{110/114}\text{Cd}$ et $^{112/114}\text{Cd}$ ont été mesurés dans les branchies, glandes digestives et restes du corps des huîtres des quatre conditions prélevées à T0, T3, T7 et T14 jours (Figure IV- 7). Dans les huîtres contaminées par voie directe (e.g. ^{110}Cd , 40 ng.L⁻¹, VD et VD/VT), la modification du rapport $^{110/114}\text{Cd}$ est mesurable après 3 jours dans les branchies, glandes digestives et restes du corps, avec une augmentation plus importante du rapport pour les branchies. Dans les huîtres contaminées par voie trophique, (e.g. ^{112}Cd , 1 mg.kg⁻¹, VT et VD/VT), le rapport $^{112/114}\text{Cd}$ présente une modification du rapport dans les glandes digestives après 14 jours d'exposition mais n'est pas modifié dans les branchies et les restes du corps après 14 jours. Ainsi, à des niveaux d'exposition environnementaux, le traçage par isotopes stables de Cd montre :

- une cinétique rapide de la contamination par voie directe et traçable dès 3 jours d'exposition dans les branchies, organe directement impacté par le transport membranaire, mais aussi dans les glandes digestives et restes du corps, suggérant des mécanismes internes de transfert de Cd entre les organes (via le sang ; e.g. Pierron et al., 2008)
- une faible contamination par voie trophique de la glande digestive après 14 jours alors que les autres tissus n'ont pas été atteint par l'isotope ^{112}Cd , suggérant que les mécanismes de transfert de Cd entre les organes ne sont pas encore développés.

2. Bioaccumulation de Cd dans les tissus

La bioaccumulation de Cd total a été déterminée dans les branchies, glandes digestives et restes du corps des huîtres prélevées à T0, T3, T7 et T14 jours. Les concentrations en poids sec, poids frais et les teneurs par organe ont été déterminées. Néanmoins, Cd bioaccumulé étant tellement faible en masse, nous ne mesurons pas de réelle bioaccumulation en Cd, que ce soit en concentrations ou teneurs, au cours du temps. En effet, les concentrations ou teneurs en Cd entre les conditions ne sont statistiquement pas différentes, excepté pour les concentrations et teneurs en Cd dans les branchies des huîtres exposées à la VD et VD/VT après 14 jours d'exposition. De ce fait, nous ne présentons pas ces résultats.

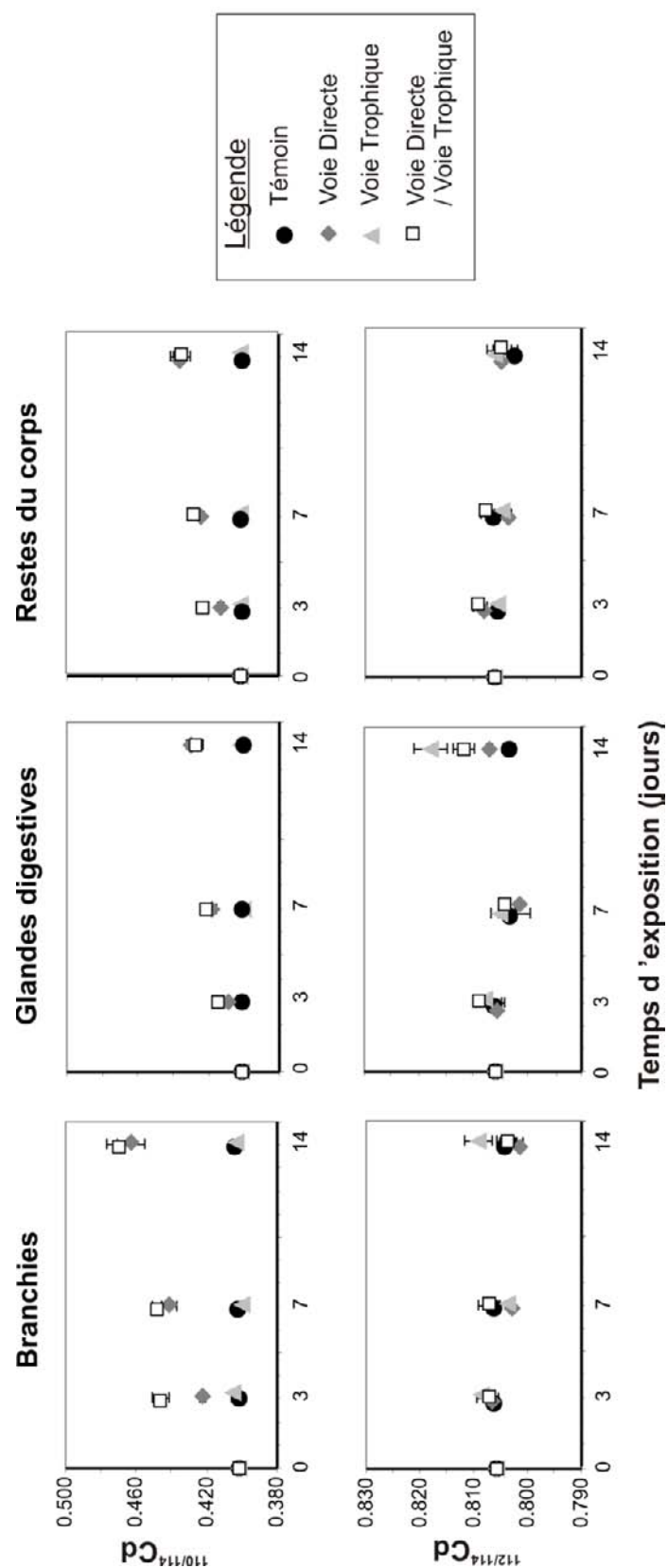


Figure IV- 7: Variations des rapports isotopiques $^{110/114}\text{Cd}$ et $^{112/114}\text{Cd}$ mesurés dans les branchies, glandes digestives et restes du corps des huîtres des quatre conditions au cours du temps. Les points sont les moyennes de 3 échantillons (n=3) et les barres verticales représentent les écarts-types.

Cependant, cette faible et statistiquement non significative bioaccumulation est réaliste puisque lors de notre transplantation à Ronce Les Bains d'huîtres juvéniles (Chapitre 7), nous n'avons pas observé de différences de bioaccumulation entre les huîtres témoins et les huîtres transplantées pendant une durée de 1 mois. La comparaison des résultats expérimentation / terrain, à des niveaux d'exposition identiques, confirme la pertinence et l'utilité du traçage isotopique puisqu'il nous permet de détecter des mécanismes de contamination dans les organes où la bioaccumulation n'est pas mesurable. Cette notion est capitale puisque de façon usuelle, nous considérons que les organismes sont contaminés par le métal une fois que nous avons pu mesurer sa bioaccumulation. Or, nous venons de montrer que les mécanismes de contamination et de régulation par transfert interne de Cd entre les organes opèrent plusieurs jours avant que Cd bioaccumulé soit détecté, pendant une durée de une à deux semaines dans notre cas, malgré un instrument de mesure très performant, l'ICP-MS.

3. Comparaison des niveaux d'exposition

La comparaison des deux expérimentations menées à des niveaux d'exposition différents (facteur 50) va nous permettre de répondre à deux questions cruciales :

- ✓ Les mécanismes de contamination en terme de cinétique, organes touchés et transferts internes de Cd, sont-ils identiques pour des niveaux d'exposition présentant une différence de facteur 50 en Cd dissous ?
- ✓ Ce facteur est-il réaliste pour étudier les mécanismes de contaminations d'un organisme et ses réponses écotoxicologiques ?

La synthèse des principaux résultats obtenus pour ces expérimentations est présentée dans le Tableau IV- 3. Nous précisons que pour comparer des durées d'exposition identiques, nous n'avons pas considéré le temps 21 jours de l'expérimentation VD/VT 2, et avons utilisé seulement les résultats des temps T7 et T14 jours.

	VD/VT 2	VD/VT 0,040
voie prépondérante de contamination	directe	directe
voie directe		
variation ^{110/114} Cd	7 jours	7 jours
tissus contaminés	B-GD-R	B-GD-R
tissu le plus contaminé	B	B
mécanismes internes de transfert	oui, 7j	oui, 7j
voie trophique		
variation ^{112/114} Cd	14 jours	14 jours
tissus contaminés	B-GD-R	GD
tissu le plus contaminé	B=GD	GD
mécanismes internes de transfert	oui, 14 jours	non
voies directes et trophiques		
différence entre une ou deux voies?	non	non
bioaccumulation en Cd total		
détection	7 jours	non détecté
organes contaminés	B-GD-R	
organe le plus touché	B	

Tableau IV- 3: Synthèse des principaux résultats des deux expérimentations (B : branchies ; GD : glandes digestives ; R : restes)

En conclusion,

- Les organes atteints par Cd sont identiques pour les deux niveaux de contamination.
- Le niveau d'exposition environnemental permet de tracer de façon réaliste la contamination en Cd malgré un temps d'exposition insuffisant pour observer la bioaccumulation.
- Un facteur 50 de contamination est un niveau d'exposition adéquat pour étudier les mécanismes de contamination des huîtres en Cd puisque ces mécanismes sont amplifiés, surtout la bioaccumulation, sans être modifiés.

V. Conclusions et perspectives

- Le traçage simultané des voies de contamination des huîtres par isotopes stables de Cd est une méthode fiable, robuste, précise et novatrice pour étudier le transfert du Cd du milieu (eau, algues) aux différents organes de l'huître. L'adaptation de cette technique aux organismes aquatiques en général et aux autres métaux traces est envisageable dans la limite où ces métaux présentent au minimum trois isotopes stables (e.g. : nickel, zinc, sélénium, molybdène, étain, plomb).
- La voie directe de contamination en Cd, très rapide (3 jours), touche essentiellement les branchies, par transport membranaire lors de la filtration pour la respiration, mais aussi les autres organes par des mécanismes de transferts internes.
- La voie trophique de contamination en Cd, lente (supérieur à 1 semaine) et faible (1% de transfert trophique) dans nos conditions expérimentales, touche essentiellement la glande digestive mais aussi les autres tissus par transferts internes. Cette voie dépend fortement de la pression trophique et des espèces d'algues choisies (Nassiri, 1995; Ettajani et al., 2001).
- Aux niveaux de contamination étudiés, en laboratoire et *in situ*, les concentrations initiales en métallothionéines chez les huîtres juvéniles semblent suffisantes pour pallier la contamination en Cd. En effet, l'induction des métallothionéines n'a été observée ni en laboratoire, ni *in situ*, ce qui suggère une absence d'impact toxique pour ces organismes aux niveaux d'exposition étudiés (et une bonne adaptation des huîtres à leur environnement)

CONCLUSIONS GENERALES

Ce travail contribue à une meilleure compréhension de la dynamique du cadmium en zones estuariennes et littorale et de son accumulation dans les huîtres *Crassostrea gigas* de la baie de Marennes Oléron. Les données utilisées sont basées sur des stratégies d'échantillonnage, d'observation et d'expérimentation pluri-disciplinaires et complémentaires : des campagnes en mer pluri-annuelles sur les estuaires de la Charente, de la Gironde et la zone littorale ; un suivi annuel des sédiments de surface de la baie de Marennes Oléron (collaboration Ifremer, Kervella 2010) ; une transplantation de trois mois d'huîtres associée au suivi du compartiment sédimentaire et colonne d'eau en zone ostréicole dans le sud de la baie ; et deux expérimentations en conditions contrôlées sur le traçage simultané des voies de contaminations des huîtres en Cd par isotopes stables de Cd. Ces données sont issues de techniques analytiques multiples et originales dont l'extraction de Cd dans l'eau de mer et le traçage par isotopes stables de Cd qui ont été développées, adaptées et mises en routine au laboratoire durant ces travaux. Les recherches réalisées ont été divisées en trois parties. La première partie, basée sur une échelle régionale, traite du comportement de Cd dans les estuaires de la Gironde et de la Charente et des flux de Cd exportés à la zone littorale et à la baie de Marennes Oléron. La deuxième partie, centrée à l'échelle de la baie de Marennes Oléron, s'intéresse à la distribution et dynamique de Cd au niveau des différents compartiments géochimiques et biologiques et à leurs rôles dans la contamination des huîtres de la baie. La troisième partie, à l'échelle de l'organisme, traite du traçage des voies directe et trophique de la contamination en Cd des huîtres à des niveaux d'exposition environnementaux.

Les principaux résultats obtenus ont été sélectionnés pour dégager les conclusions suivantes :

- Le comportement de Cd dissous et particulaire est caractéristique à chaque estuaire. En Gironde, la base de données acquises sur la distribution du Cd_d et Cd_p dans le gradient de salinité de 2003 à 2009 est exceptionnelle. Le Cd_p montre des distributions constantes dans la partie estuarienne et plus variables dans la partie littorale suivant l'intensité des processus de sorption et d'accumulation par le plancton. Les concentrations moyennes de Cd_p sur la partie estuarienne diminuent dans le temps montrant une décontamination des particules probablement en lien avec l'importance de la réhabilitation en cours du site source de Viviez. Le Cd dissous présente un comportement additif très marqué dans les moyennes salinités, qui est inversement proportionnel aux débits. Cette addition est alors contrôlée par le temps de résidence des eaux et les cinétiques de désorption et de complexation. Dans l'estuaire de la Charente, les distributions de Cd_p dépendent de la nature et

des concentrations en Cd très hétéroclites des particules issues du bassin versant de la Charente. Les échanges entre les phases particulaires et dissoutes dans l'estuaire oscillent alors suivant les concentrations en Cd_p entrants dans l'estuaire. Lorsque ces concentrations sont faibles, les phases atteignent un état stationnaire (équilibre dépendant des flux) caractérisé par des particules estuariennes quasiment désorbées en Cd et des additions de Cd_d peu prononcées. Lorsque les concentrations de Cd_p entrantes sont fortes, les phases tendent vers un état transitoire (instable) avec des particules estuariennes toujours enrichies en Cd et présentant une distribution très bruitée et des processus additifs de Cd_d associés plus développés.

- Les flux de Cd sortants des deux estuaires sont totalement différents et sont liés à la taille et au contexte de contamination environnemental de chaque structure. En Gironde, les flux nets journaliers de Cd_d sont en diminution depuis les années 1980, parallèlement à la diminution des émissions en Cd sur l'ancien site minier de Viviez en Aveyron. Les flux nets journaliers sont également influencés par les conditions hydriques annuelles du système. Lors du passage de périodes sèches à humides, le débit hydrique influe peu sur la variation des flux alors qu'en situations hydrologiques peu contrastées la dépendance du débit sur les flux est plus notable. Les flux nets annuels de Cd_d , déterminés de 2001 à 2009 varient de 4 à 7 tonnes.an⁻¹ proportionnellement au débit hydrique annuel. Environ 10 à 33% de ces flux sont susceptibles d'atteindre la baie de Marennes Oléron par le pertuis de Maumusson, suivant les estimations établies en 2007, 2008 et 2009. En Charente, les flux nets de Cd_d journaliers estimés de 2006 à 2009 sont du même ordre de grandeur que dans les années 1990. Ces flux ne varient pas dans le temps mais avec les débits. Annuellement, les flux nets de Cd_d représentent 90% des flux totaux de Cd exporté à la baie par la Charente (les 10% restants étant sous formes particulaires). La comparaison des apports de Cd_d par la Charente et par la Gironde via le pertuis de Maumusson à la baie montre que la Charente peut contribuer de 20 à 45% des apports de Cd_d à la baie selon les estimations de 2006 à 2008. Au niveau particulaire, les flux annuels de Cd_p sortant de la Gironde n'ont pu être estimés pour 2008 et 2009. En considérant les apports estimés par Dabrin (2009) en 2007, les proportions de Cd_p apportés à la baie sont respectivement de 23 à 43% par la Charente et 57 à 77% par le pertuis de Maumusson.
- En baie de Marennes Oléron, les apports de Cd sont observés dans les sédiments de surface, les particules, le plancton et sous phase dissoute. Les sédiments de

surface sont ponctuellement enrichis en Cd dans le sud de la baie uniquement. Les apports ponctuels de Cd d'origine girondine via le pertuis de Maumusson sont alors enregistrés ponctuellement dans les sédiments de surface. Par contre, les apports en Cd de la Charente ne sont pas enregistrés dans les sédiments vaseux au sud de l'embouchure composés de particules terrigènes charentaises. Les MES prélevées en zone sud baie présentent des enrichissements ponctuels en Cd_p lorsque la Gironde est en crue et que le panache de turbidité se situe à l'embouchure et étendu vers la côte oléronnaise. Lorsque les MES désorbent dans la baie, le Cd_p est transféré sous phase dissoute puis recyclé par le plancton dans la baie. Le caractère ponctuel des enrichissements observés est lié au caractère ponctuel des apports mais aussi à la forte dynamique interne de la baie qui présente des temps de renouvellement des eaux de l'ordre de 10 jours (Struski, 2005).

- Les huîtres de la zone sud de la BMO accumulent Cd par voie directe et par voie trophique. Les huîtres cultivées sur table ont bioaccumulé plus de Cd que les huîtres cultivées sur sol durant la période étudiée. La voie directe de contamination, voie majeure, ne peut pas expliquer les différences observées, les temps d'immersion étant proches. La voie trophique de contamination peut subvenir à cette différence par l'ingestion préférentielle de phytoplancton, plus contaminé en Cd que le microphytobenthos, par les huîtres cultivées sur table. La voie trophique joue alors un rôle important dans la bioaccumulation de Cd des huîtres en baie de Marennes Oléron. La différence de concentrations de métallothionéines entre les deux conditions suggère des activités métaboliques et des synthèses protéiques différentes pour les huîtres cultivées sur table et sur sol. Ces différentes activités peuvent induire des taux de filtration et d'ingestion de nourriture différents et donc des bioaccumulations de Cd spécifiques pour chaque condition. Néanmoins, sur la période de transplantation, les mécanismes de détoxification via l'induction des métallothionéines pour séquestrer Cd n'ont pas été observés dans les organes cibles (branchies et glandes digestives) de l'huître. Les huîtres *Crassostrea gigas* possèdent alors des concentrations initiales en métallothionéines suffisantes pour pallier à la contamination en Cd en baie de Marennes Oléron.
- Le traçage simultané des voies de contamination par ajouts d'isotopes stables offre une méthode fiable, robuste, précise et novatrice pour étudier le transfert de Cd du milieu aux différents organes de l'huître. En effet, jusqu'à présent, cette technique était utilisée pour le traçage d'une voie de contamination dans le milieu aquatique

d'eau douce. Par ces travaux, cette méthode a été adaptée pour tracer simultanément les voies de contamination en milieu marin (matrice salée). Les niveaux de contamination utilisés (i) dix fois supérieurs aux concentrations observées en Gironde (Dabrin et al., 2009) (ii) concentrations environnementales observées en baie de Marennes Oléron, montrent des mécanismes de transfert du Cd identiques. La voie directe de contamination en Cd, très rapide (jours), touche essentiellement les branchies, par transport membranaire lors de la filtration pour la respiration, mais aussi les autres organes par des mécanismes de transferts internes. La voie trophique de contamination en Cd, lente (supérieur à 1semaine) et faible (1% de transfert trophique) dans nos conditions expérimentales, touche essentiellement la glande digestive mais aussi les autres tissus par transferts internes. Cette voie dépend fortement de la pression trophique et des espèces d'algues choisies (Nassiri, 1995 ; Ettajani et al., 2001).

Ce travail permet de dégager quelques remarques pour une meilleure gestion de la qualité des eaux de la baie de Marennes Oléron et de la contamination en Cd des huîtres. Le contexte d'étude montre que la qualité des eaux côtières dépend de la qualité des eaux de l'amont soit des eaux de rivières, de la qualité des particules, de la gestion des sédiments de barrage, notamment hydroélectriques, du dragage des berges et des sédiments et aussi de la maîtrise et limitation des rejets anthropiques. La pluridisciplinarité des techniques et outils utilisés pendant cette thèse, prélèvements, observations par images satellites, modèles de prévisions de la qualité des eaux côtières (previmer, Ifremer), permettent d'établir un suivi du contaminant des estuaires à la baie et surtout de prévoir les périodes critiques. La gestion de la qualité des eaux de la zone littorale et de la baie dépend alors d'une gestion préventive du système amont et d'une gestion prédictive des risques.

Enfin, les résultats originaux acquis dans cette thèse permettent d'envisager de nouvelles perspectives pour les études futures :

- Le traçage simultané des voies de contamination par isotopes stables appliqué au domaine aquatique marin ouvre de nouvelles et nombreuses applications dans la compréhension des transferts de métaux du milieu à l'organisme. Cette technique est facilement adaptable à tout autre organisme aquatique. La limite provient du métal étudié. En effet, le traçage d'une voie nécessite un métal présent au minimum sous forme de deux isotopes stables et le traçage simultané nécessite lui minimum trois isotopes. Le terme minimum souligne le fait que l'abondance de

cet isotope doit être suffisante pour être détectée avec précision et que les masses de ces isotopes ne doivent pas interférer par d'autres combinaisons d'ions. Les métaux susceptibles d'être étudiés sont alors le chrome, nickel, zinc, sélénium, molybdène, étain, plomb.

- Les niveaux d'exposition utilisés pour contaminer les huîtres *Crassostrea gigas* n'ont pas amené d'induction de métallothionéines pour séquestrer ce métal. Il serait alors intéressant d'observer les éventuels effets de ces niveaux de contamination en Cd sur la physiologie de l'huître, sa croissance, etc, afin de déterminer si cet organisme est tolérant ou adapté à la contamination, en comparaison d'autres espèces.
- Dans l'estuaire de la Gironde, la décroissance temporelle des concentrations moyennes en Cd_p est un excellent modèle historique et empirique des phases de décontamination du système. Depuis la fermeture de l'usine et les premiers travaux de réhabilitation il y a plus de 20 ans, la contamination des particules en Cd_p de l'estuaire a diminué de moitié. Il serait alors très intéressant de pouvoir observer la suite de cette décroissance afin de prévoir si un système historiquement contaminé peut retrouver des niveaux de concentrations naturelles (bruit de fond géochimique) et si oui dans quel ordre de temps : 10 ans, 20 ans, etc.
- Le rôle du plancton dans le recyclage du Cd à l'embouchure de la Gironde et surtout le rôle du mésozooplancton est à affiner afin de mieux estimer son rôle dans le transfert de Cd et améliorer les flux.
- De façon générale, le rôle du compartiment sédimentaire dans le bilan de contaminants n'a pas été calculé au cours de ces travaux. En Gironde, la thèse d'Aurélié Larrose présentée prochainement est axée sur le rôle de ce compartiment dans le stock des ETM dont Cd. La mise en commun de ces travaux sera alors très intéressante pour avoir une vision d'ensemble de la dynamique des ETM dans ce système.
- En Charente, des sources de Cd ont été identifiées dans la partie estuarienne près de l'ancien site métallurgique. Des études complémentaires sont à mener pour estimer l'origine et l'impact de cette source dans l'estuaire et dans la baie. Dans la partie rivière, le bilan de Cd entre la rivière amont Chaniers et le barrage de Saint Savinien situé dans la zone de propagation de la marée présente des anomalies suggérant un piégeage de Cd dans les sédiments ou les zones de marais. Il serait alors intéressant de comprendre le rôle de ces plaines d'inondations, du rôle de l'irrigation et des sédiments de surface dans le bilan de Cd. Enfin, les forts flux

bruts de spécifiques de Cd à Chaniers nécessitent une recherche des sources potentielles de Cd dans le bassin versant de la Charente.

Bibliographie

- Abril, G., Nogueira, M., Etcheber, H., Cabeçadas, G., Lemaire, E., Brogueira, M.J., 2002. Behaviour of organic carbon in nine contrasting European estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 54, 241-262.
- Accornero, A., Gnerre, R., Manfra, L., 2008. Sediment concentrations of trace metals in the Berre lagoon (France): An assessment of contamination. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 54, 372-385.
- Allen, G.P., Castaing, P., 1977. Carte de répartition des sédiments superficiels sur le plateau continental du Golfe de Gascogne. *Bulletin Institut Géologique Bassin d'Aquitaine*.
- Allen, G.P., Sauzay, G., Castaing, P., Jouanneau, J.M., 1977. Transport and deposition of suspended sediment in the Gironde Estuary, France. In: Wiley, M. (Ed.). *Estuarine processes*, Galveston USA, pp. 63-81.
- Aminot, A., Kerouel, R., 2007. Dosage automatique des nutriments dans les eaux marines. Editions de l'Ifremer, ISBN 978-2-7592-0023-8.
- Apitz, S.E., 2008. Is risk-based, sustainable sediment management consistent with European policy? *Journal of Soils and Sediments* 8, 461-466.
- Apitz, S.E., Elliott, M., Fountain, M., Galloway, T.S., 2006. European environmental management: moving to an ecosystem approach. *Integrated Environmental Assessment and Management* 2, 80-85.
- Apitz, S.E., Power, E.A., 2002. From risk assessment to sediment management: An international perspective. *Journal of Soils and Sediments* 2, 61-66.
- Arifin, Z., Bendell-Young, L.I., 2000. Influence of a selective feeding behaviour by the blue mussel *Mytilus trossulus* on the assimilation of ¹⁰⁹Cd from environmentally relevant seston matrices. *Marine Ecology Progress series* 192, 181-193.
- Audry, S., 2003. Bilan géochimique du transport des éléments traces métalliques dans le système fluvial anthropisé Lot-Garonne-Gironde. Thèse, Université Bordeaux1, p. 441 p.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., 2003. Cadmium in the Lot-Garonne River system: Fluxes, predictive model and mass balance. *Journal De Physique. IV : JP*, pp. 71-74.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., 2004a. Cadmium transport in the Lot-Garonne River system (France) - Temporal variability and a model for flux estimation. *Science of the Total Environment* 319, 197-213.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., 2005. The impact of sulphide oxidation on dissolved metal (Cd, Zn, Cu, Cr, Co, Ni, U) inputs into the Lot-Garonne fluvial system (France). *Applied Geochemistry* 20, 919-931.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., Chaillou, G., Robert, S., 2006. Early diagenesis of trace metals (Cd, Cu, Co, Ni, U, Mo, and V) in the freshwater reaches of a macrotidal estuary. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70, 2264-2282.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., Guerin, F., Masson, M., Robert, S., 2007. Budgets of Mn, Cd and Cu in the macrotidal Gironde Estuary (SW France). *Marine Chemistry* 107, 433-448.

- Audry, S., Grosbois, C., Bril, H., Schäfer, J., Kierczak, J., Blanc, G., in press. Post-depositional redistribution of trace metals in reservoir sediments of a mining/smelting-impacted watershed (the Lot River, SW France). *Applied Geochemistry*.
- Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., Lavaux, G., 2004b. Anthropogenic components of heavy metal (Cd, Zn, Cu, Pb) budgets in the Lot-Garonne fluvial system (France). *Applied Geochemistry* 19, 769-786.
- Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Jouanneau, J.M., 2004c. Fifty-year sedimentary record of heavy metal pollution (Cd, Zn, Cu, Pb) in the Lot River reservoirs (France). *Environmental Pollution* 132, 413-426.
- Barillé, L., 1993. No influence of food quality, but ration-dependent retention efficiencies in the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 171, 91-106.
- Barillé, L., 1997. Ecophysiological deterministic model for *Crassostrea gigas* in an estuarine environment. *Aquatic Living Resources* 10, 31-48.
- Barillé, L., Prou, J., Héral, M., Razet, D., 1997. Effects of high natural seston concentrations on the feeding, selection, and absorption of the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 212, 149-172.
- Barrera-Escorcia, G., Vanegas-Pérez, C., Wong-Chang, I., 2010. Filtration rate, assimilation and assimilation efficiency in *Crassostrea virginica* (Gmelin) fed with *tetraselmis suecica* under cadmium exposure. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 45, 14-22.
- Bassoullet, P., Le Hir, P., Gouleau, D., Robert, S., 2000. Sediment transport over an intertidal mudflat: Field investigations and estimation of fluxes within the 'Baie de Marennes-Oleron' (France). *Continental Shelf Research* 20, 1635-1653.
- Baudrimont, M., Andrès, S., Metivaud, J., Lapaquellerie, Y., Ribeyre, F., Maillet, N., Latouche, C., Boudou, A., 1999. Field transplantation of the freshwater bivalve *Corbicula fluminea* along a polymetallic contamination gradient (River Lot, France): II. Metallothionein response to metal exposure. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18, 2472-2477.
- Baudrimont, M., Lemaire-Gony, S., Ribeyre, F., Métivaud, J., Boudou, A., 1997. Seasonal variations of metallothionein concentrations in the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*). *Comparative Biochemistry and Physiology - C Pharmacology Toxicology and Endocrinology* 118, 361-367.
- Baudrimont, M., Schäfer, J., Marie, V., Maury-Brachet, R., Bossy, C., Boudou, A., Blanc, G., 2005. Geochemical survey and metal bioaccumulation of three bivalve species (*Crassostrea gigas*, *Cerastoderma edule* and *Ruditapes philippinarum*) in the Nord Médoc salt marshes (Gironde estuary, France). *Science of the Total Environment* 337, 265-280.
- Bendell, L.I., 2010. Cadmium in shellfish: The British Columbia, Canada experience-A mini-review. *Toxicology Letters* in press.
- Bendell, L.I., Feng, C., 2009. Spatial and temporal variations in cadmium concentrations and burdens in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) sampled from the Pacific north-west. *Marine Pollution Bulletin* 58, 1137-1143.

- Benedetti, M.F., Mounier, S., Filizola, N., Benaim, J., Seyler, P., 2003. Carbon and metal concentrations, size distributions and fluxes in major rivers of the Amazon basin. *Hydrological Processes* 17, 1363-1377.
- Bertin, X., 2005. Morphodynamique séculaire, architecture interne et modélisation d'un système baie/embouchure tidale: le Pertuis de Maumusson et la baie de Marennes-Oléron. Thèse, Université de La Rochelle, p. 198pp.
- Bertin, X., Chaumillon, E., Sottolichio, A., Pedreros, R., 2005. Tidal inlet response to sediment infilling of the associated bay and possible implications of human activities: The Marennes-Oléron Bay and the Maumusson Inlet, France. *Continental Shelf Research* 25, 1115-1131.
- Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Anschutz, P., 1999. A cadmium budget for the Lot-Garonne fluvial system (France). *Hydrobiologia* 410, 331-341.
- Boisson, F., Goudard, F., Durand, J.P., Barbot, C., Pieri, J., Amiard, J.C., Fowler, S.W., 2003. Comparative radiotracer study of cadmium uptake, storage, detoxification and depuration in the oyster *Crassostrea gigas*: Potential adaptive mechanisms. *Marine Ecology Progress series* 254, 177-186.
- Borja, A., Valencia, V., Franco, J., Muxika, I., Bald, J., Belzunce, M.J., Solaun, O., 2004. The water framework directive: Water alone, or in association with sediment and biota, in determining quality standards? *Marine Pollution Bulletin* 49, 8-11.
- Bossy, C., Schäfer, J., Coynel, A., Dabrin, A., Masson, M., Girardot, N., Maneux, E., Lavaux, G., Lissalde, J.P., Blanc, G., 2007. Suivi de l'évolution des flux de cadmium dans le Lot et la Garonne en 2006. Rapport scientifique, Agence de l'Eau Adour-Garonne, Toulouse, France.
- Boucaud-Camou, C., Lebesnerais, P., Lubet, P., Lihmann, I., 1983. Dynamique et enzymologie de la digestion chez l'huître *Crassostrea gigas* (Thunberg). In: Ifremer, a.d.c., 75-96 (Ed.).
- Bougrier, S., Collet, B., Geairon, P., Geffard, O., Héral, M., Deslous-Paoli, J.M., 1998. Respiratory time activity of the Japanese oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 219, 205-216.
- Bougrier, S., Geairon, P., Deslous-Paoli, J.M., Bacher, C., Jonquieres, G., 1995. Allometric relationships and effects of temperature on clearance and oxygen consumption rates of *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture* 134, 143-154.
- Bourg, A.C.M., 1987. Trace metal adsorption modelling and particle-water interactions in estuarine environments. *Continental Shelf Research* 7, 1319-1332.
- Boutier, B., 1981. Synthèse des résultats de la surveillance des micropolluants dans la matière vivante. Bulletin du RNO n°17, Ministère de l'environnement, Direction de la prévention des pollutions.
- Boutier, B., Chiffolleau, J., Jouanneau, J., Latouche, C., Phillips, I., 1989. La contamination de la Gironde par le cadmium: origine, extension, importance. Scientific and technical report, Ifremer no. 14.
- Boutier, B., Chiffolleau, J.F., Auger, D., Truquet, I., 1993. Influence of the Loire River on Dissolved Lead and Cadmium Concentrations in Coastal Waters of Brittany. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 36, 133-145.
- Boutier, B., Chiffolleau, J.F., Gonzalez, J.L., Lazure, P., Auger, D., Truquet, I., 2000. Influence of the Gironde Estuary outputs on cadmium concentrations in the coastal waters: Consequences on the Marennes-Oléron bay (France). *Oceanologica Acta* 23, 745-758.

- Boyle, E., Collier, R., Dengler, A.T., Edmond, J.M., Ng, A.C., Stallard, R.F., 1974. On the chemical mass-balance in estuaries. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 38, 1719-1728.
- Boyle, E.A., Husted, S.S., Grant, B., 1982. The chemical mass balance of the amazon plume-II. Copper, nickel, and cadmium. *Deep Sea Research Part A, Oceanographic Research Papers* 29, 1355-1364.
- Bragigand, V., Berthet, B., Amiard, J.C., Rainbow, P.S., 2004. Estimates of trace metal bioavailability to humans ingesting contaminated oysters. *Food and Chemical Toxicology* 42, 1893-1902.
- Brignon, J.M., Malherbe, L., 2005. Cadmium et ses dérivés. INERIS, données technico-économiques sur les substances chimiques en France, 25p.
- Brinza, L., Nygård, C.A., Dring, M.J., Gavrilescu, M., Benning, L.G., 2009. Cadmium tolerance and adsorption by the marine brown alga *Fucus vesiculosus* from the Irish Sea and the Bothnian Sea. *Bioresource Technology* 100, 1727-1733.
- Bruland, K.W., Bertine, K., Koide, M., Goldberg, E.D., 1974. History of metal pollution in Southern California coastal zone. *Environmental Science and Technology* 8, 425-432.
- Bruland, K.W., Franks, R.P., 1983. Mn, Ni, Cu, Zn and Cd in the western North Atlantic NATO Conference Series, (Series) 4: Marine Sciences, pp. 395-414.
- Buat-Ménard, P., 1984. Fluxes of metal through the atmosphere and oceans. In: Springer-Verlag, N.J.e. (Ed.). *Changing Metal Cycles and Human Health*, pp. 43-69.
- Butler, R.A., Roesijadi, G., 2000. Metallothionein (MT) gene expression and cadmium-induced immunotoxicity in hemocytes of the eastern oyster *Crassostrea virginica*. *Marine Environmental Research* 50, 470.
- Campbell, P.G.C., Couillard, Y., 2004. Prise en charge et détoxification des métaux. *Ecotoxicologie moléculaire*. Presses de l'Université du Québec.
- Campbell, P.G.C., Errécalde, O., Fortin, C., Hiriart-Baer, V.P., Vigneault, B., 2002. Metal bioavailability to phytoplankton--applicability of the biotic ligand model. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 133, 189-206.
- Castaing, P., 1981. Le transfert à l'océan des suspensions estuariennes. Cas de la Gironde. Thèse d'état, Université de Bordeaux, p. 530.
- Castaing, P., Allen, G.P., 1981. Mechanisms controlling seaward escape of suspended sediment from the Gironde: A macrotidal estuary in France. *Marine Geology* 40, 101-118.
- Castaing, P., Jouanneau, J.M., 1979. Temps de résidence des eaux et des suspensions dans l'estuaire de la Gironde. *Journal de Recherche Océanographie* 4, 41-52.
- Cheng, W.W.L., Gobas, F.A.P.C., 2007. Assessment of human health risks of consumption of cadmium contaminated cultured oysters. *Human and Ecological Risk Assessment* 13, 370-382.
- Chiffolleau, J.F., Auger, D., Chartier, E., 1999. Fluxes of selected trace metals from the Seine estuary to the eastern English Channel during the period August 1994 to July 1995. *Continental Shelf Research* 19, 2063-2082.
- Chiffolleau, J.F., Auger, D., Chartier, E., Michel, P., Truquet, I., Ficht, A., Gonzalez, J.L., Romaña, L.A., 2001. Spatiotemporal changes in cadmium contamination in the Seine estuary (France). *Estuaries* 24, 1029-1040.
- Chiffolleau, J.F., Cossa, D., Auger, D., Truquet, I., 1994. Trace metal distribution, partition and fluxes in the Seine estuary (France) in low discharge regime. *Marine Chemistry* 47, 145-158.

- Christie, J.C., Bendell, L.I., 2009. Sources of dietary cadmium to the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Marine Environmental Research* 68, 97-105.
- Claissé, D., 1989. Chemical contamination of French coasts. The results of a ten years mussel watch. *Marine Pollution Bulletin* 20, 523-528.
- Coic, L., 2007. Etude dynamique de l'ostréiculture dans le bassin de Marennes-Oléron depuis l'introduction de l'huître japonaise *Crassostrea gigas* : de la production à la prolifération. In: IFREMER (Ed.).
- Comans, R.N.J., 1987. Adsorption, desorption and isotopic exchange of cadmium on illite: Evidence for complete reversibility. *Water Research* 21, 1573-1576.
- Comans, R.N.J., Van Dijk, C.P.J., 1988. Role of complexation processes in cadmium mobilization during estuarine mixing. *Nature* 336, 151-154.
- Copes, R., Clark, N.A., Rideout, K., Palaty, J., Teschke, K., 2008. Uptake of cadmium from Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) in British Columbia oyster growers. *Environmental Research* 107, 160-169.
- Corbett, D.R., Walsh, J.P., Marciniak, K., 2009. Temporal and spatial variability of trace metals in sediments of two adjacent tributaries of the Neuse River Estuary, North Carolina, USA. *Marine Pollution Bulletin* 58, 1739-1747.
- Coynel, A., Blanc, G., Marache, A., Schäfer, J., Dabrin, A., Maneux, E., Bossy, C., Masson, M., Lavaux, G., 2009. Assessment of metal contamination in a small mining- and smelting-affected watershed: High resolution monitoring coupled with spatial analysis by GIS. *Journal of Environmental Monitoring* 11, 962-976.
- Coynel, A., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., 2007a. Scenario of particulate trace metal and metalloid transport during a major flood event inferred from transient geochemical signals. *Applied Geochemistry* 22, 821-836.
- Coynel, A., Schäfer, J., Dabrin, A., Girardot, N., Blanc, G., 2007b. Groundwater contributions to metal transport in a small river affected by mining and smelting waste. *Water Research* 41, 3420-3428.
- Coynel, A., Schäfer, J., Hurtrez, J.E., Dumas, J., Etcheber, H., Blanc, G., 2004. Sampling frequency and accuracy of SPM flux estimates in two contrasted drainage basins. *Science of the Total Environment* 330, 233-247.
- Crane, M., 2003. Proposed development of Sediment Quality Guidelines under the European Water Framework Directive: A critique. *Toxicology Letters* 142, 195-206.
- Croteau, M.N., Luoma, S.N., 2005. Delineating copper accumulation pathways for the freshwater bivalve *Corbicula* using stable copper isotopes. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24, 2871-2878.
- Croteau, M.N., Luoma, S.N., 2007. Characterizing dissolved Cu and Cd uptake in terms of the biotic ligand and biodynamics using enriched stable isotopes. *Environmental Science and Technology* 41, 3140-3145.
- Croteau, M.N., Luoma, S.N., 2009. Predicting dietborne metal toxicity from metal influxes. *Environmental Science and Technology* 43, 4915-4921.
- Croteau, M.N., Luoma, S.N., Pellet, B., 2007. Determining metal assimilation efficiency in aquatic invertebrates using enriched stable metal isotope tracers. *Aquatic Toxicology* 83, 116-125.

- Croteau, M.N., Luoma, S.N., Topping, B.R., Lopez, C.B., 2004. Stable metal isotopes reveal copper accumulation and loss dynamics in the freshwater bivalve *Corbicula*. *Environmental Science and Technology* 38, 5002-5009.
- Dabrin, A., 2009. Mécanismes de transfert des éléments traces métalliques et réactivité estuarienne. Cas des systèmes Gironde, Charente, Seudre et Baie de Marennes Oléron. Thèse, University of Bordeaux, p. 375pp.
- Dabrin, A., Schäfer, J., Blanc, G., Strady, E., Masson, M., Bossy, C., Castelle, S., Girardot, N., Coynel, A., 2009. Improving estuarine net flux estimates for dissolved cadmium export at the annual timescale: Application to the Gironde Estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 84, 429-439.
- Dange, C., 2002. Etude du comportement des éléments traces en milieu estuarien: approche expérimentale et modélisation. Application à l'étude de la spéciation de Cd, Co et Cs dans les estuaires majeurs français (Seine, Loire, Gironde, Rhône). Thèse, Université de Reims Champagne Ardennes, p. 502.
- Danielsson, L.G., Magnusson, B., Westerlund, S., Zhang, K., 1982. Trace metal determinations in estuarine waters by electrothermal atomic absorption spectrometry after extraction of dithiocarbamate complexes into freon. *Analytica Chimica Acta* Vol. 144, 183-188.
- Danovaro, R., 2003. Pollution threats in the Mediterranean sea: An overview. *Chemistry and Ecology* 19, 15-32.
- Daskalakis, K.D., 1996. Variability of metal concentrations oyster tissue and implications to biomonitoring. *Marine Pollution Bulletin* 32, 794-801.
- Davis, J.A., 1984. Complexation of trace metals by adsorbed natural organic matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48, 679-691.
- De Groot, A.J., Salomons, W., Allersma, E., 1976. Processes affecting heavy metals in estuarine sediments. In: Burton JD, L.P. (Ed.). *Estuarine Chemistry*. Academic Press, London, pp. 131-157.
- Défi-Cadmium, Blanc, G., Dabrin, A., Schäfer, J., Coynel, A., Bossy, C., Maneux, E., Lafon, V., Strady, E., Lanceleur, L., Larrose, A., Girardot, N., Derriennic, H., Lavaux, G., Lissalde, J.P., Oggian, G., 2009. Flux métalliques de l'Estuaire de la Gironde et des fleuves Charente et Seudre. Bilan des apports en cadmium à la Baie de Marennes-Oléron. Rapport Final 2005-2008. Université Bordeaux, EPOC-GEMA/TGM, p. 54pp.
- DeForest, D.K., Brix, K.V., Adams, W.J., 2007. Assessing metal bioaccumulation in aquatic environments: The inverse relationship between bioaccumulation factors, trophic transfer factors and exposure concentration. *Aquatic Toxicology* 84, 236-246.
- Dégremont, L., Boudry, P., Ropert, M., Samain, J.F., Bédier, E., Soletchnik, P., 2010. Effects of age and environment on survival of summer mortality by two selected groups of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 299, 44-50.
- Del Amo, Y., Quéguiner, B., Tréguer, P., Breton, H., Lampert, L., 1997. Impacts of high-nitrate freshwater inputs on macrotidal ecosystems. II. Specific role of the silicic acid pump in the year-round dominance of diatoms in the Bay of Brest (France). *Marine Ecology Progress series* 161, 225-237.

- Delmotte, S., Meysman, F.J.R., Ciutat, A., Boudou, A., Sauvage, S., Gerino, M., 2007. Cadmium transport in sediments by tubificid bioturbation: An assessment of model complexity. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 71, 844-862.
- Deloffre, J., Lafite, R., Lesueur, P., Lesourd, S., Verney, R., Guézennec, L., 2005. Sedimentary processes on an intertidal mudflat in the upper macrotidal Seine estuary, France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 64, 710-720.
- Depledge, M.H., Rainbow, P.S., 1990. Models of regulation and accumulation of trace metals in marine invertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Pharmacology Toxicology and Endocrinology* 97, 1-7.
- Di Toro, D.M., Allen, H.E., Bergman, H.L., Meyer, J.S., Paquin, P.R., Santore, R.C., 2001. Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 1. Technical basis. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20, 2383-2396.
- Donard, O., 1983. Biogéochimie et hydrodynamisme d'un système estuarien macrotidal : application à l'étude du comportement du mercure et du cadmium dans l'estuaire de la Gironde. Optimisation d'une méthode de dosage de Hg total. Thèse, Université de Bordeaux I.
- Doxaran, D., Froidefond, J.M., Castaing, P., Babin, M., 2009. Dynamics of the turbidity maximum zone in a macrotidal estuary (the Gironde, France): Observations from field and MODIS satellite data. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 81, 321-332.
- Dupré, B., Viers, J., Dandurand, J.L., Polve, M., Bénézech, P., Vervier, P., Braun, J.J., 1999. Major and trace elements associated with colloids in organic-rich river waters: Ultrafiltration of natural and spiked solutions. *Chemical Geology* 160, 63-80.
- Dupuy, C., Vaquer, A., Lam-Hoi, T., Rougier, C., Mazouni, N., Lautier, J., Collos, Y., Le Gall, S., 2000. Feeding rate of the oyster *Crassostrea gigas* in a natural planktonic community of the Mediterranean Thau Lagoon. *Marine Ecology Progress series* 205, 171-184.
- Dutertre, M., Beninger, P.G., Barillé, L., Papin, M., Haure, J., 2010. Rising water temperatures, reproduction and recruitment of an invasive oyster, *Crassostrea gigas*, on the French Atlantic coast. *Marine Environmental Research* 69, 1-9.
- Edmond, J.M., Spivack, A., Grant, B.C., Ming-Hui, H., Zexiam, Chen, S., Zeng Xiushan, C., 1985. Chemical dynamics of the Changjiang estuary. *Continental Shelf Research* 4, 17-36.
- Eggemann, D.W., Manheim, F.T., Betzer, P.R., 1980. Dissolution and analysis of amorphous silica in marine sediments. *Journal of Sedimentary Petrology* 50, 215-225.
- Elbaz-Poulichet, F., Martin, J.M., Huang, W.W., Zhu, J.X., 1987. Dissolved Cd behaviour in some selected french and chinese estuaries. Consequences on Cd supply to the ocean. *Marine Chemistry* 22, 125-136.
- Elbaz-Poulichet, F., Morley, N.H., Cruzado, A., Velasquez, Z., Achterberg, E.P., Braungardt, C.B., 1999. Trace metal and nutrient distribution in an extremely low pH (2.5) river-estuarine system, the Ria of Huelva (South-West Spain). *Science of the Total Environment* 227, 73-83.
- Essien, J.P., Antai, S.P., Olajire, A.A., 2009. Distribution, seasonal variations and ecotoxicological significance of heavy metals in sediments of cross river estuary mangrove swamp. *Water, Air, and Soil Pollution* 197, 91-105.

- Etcheber, H., Relexans, J.C., Beliard, M., Weber, O., Buscail, R., Heussner, S., 1999. Distribution and quality of sedimentary organic matter on the Aquitanian margin (Bay of Biscay). *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 46, 2249-2288.
- Etcheber, H., Taillez, A., Abril, G., Garnier, J., Servais, P., Moatar, F., Commarieu, M.V., 2007. Particulate organic carbon in the estuarine turbidity maxima of the Gironde, Loire and Seine estuaries: Origin and lability. *Hydrobiologia* 588, 245-259.
- Ettajani, H., Berthet, B., Amiard, J.C., Chevolot, L., 2001. Determination of cadmium partitioning in microalgae and oysters: Contribution to the assessment of trophic transfer. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 40, 209-221.
- Exley, C., 2003. A biogeochemical cycle for aluminium? *Journal of Inorganic Biochemistry* 97, 1-7.
- FAO, 2010. FISHSTAT Plus: universal software for fishery statistical time series; <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstat/fr>.
- Feng, H., Han, X., Zhang, W., Yu, L., 2004. A preliminary study of heavy metal contamination in Yangtze River intertidal zone due to urbanization. *Marine Pollution Bulletin* 49, 910-915.
- Fernández Severini, M.D., Botté, S.E., Hoffmeyer, M.S., Marcovecchio, J.E., 2009. Spatial and temporal distribution of cadmium and copper in water and zooplankton in the Bahia Blanca estuary, Argentina. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 85, 57-66.
- Fisher, N.S., Teyssié, J.L., Fowler, S.W., Wang, W.X., 1996. Accumulation and retention of metals in mussels from food and water: A comparison under field and laboratory conditions. *Environmental Science and Technology* 30, 3232-3242.
- Förstner, U., Salomons, W., 2008. Trends and challenges in sediment research 2008: The role of sediments in river basin management. *Journal of Soils and Sediments* 8, 281-283.
- Froelich, P.N., Klinkhammer, G.P., Bender, M.L., Luedtke, N.A., Heath, G.R., Cullen, D., Dauphin, P., Hammond, D., Hartman, B., Maynard, V., 1979. Early oxidation of organic matter in pelagic sediments of the eastern equatorial Atlantic: suboxic diagenesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 43, 1075-1090.
- Froidefond, J.M., Jegou, A.M., Hermida, J., Lazure, P., Castaing, P., 1998. Variability of the Gironde turbid plume by remote sensing. Effects of climatic factors. *Oceanologica Acta* 21, 191-207.
- Gagnaire, B., Soletchnik, P., Madec, P., Geairon, P., Le Moine, O., Renault, T., 2006. Diploid and triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg), reared at two heights above sediment in Marennes-Oleron Basin, France: Difference in mortality, sexual maturation and hemocyte parameters. *Aquaculture* 254, 606-616.
- Galois, R., Blanchard, G., Seguignes, M., Huet, V., Joassard, L., 2000. Spatial distribution of sediment particulate organic matter on two estuarine intertidal mudflats: A comparison between Marennes-Oleron Bay (France) and the Humber Estuary (UK). *Continental Shelf Research* 20, 1199-1217.
- Geffard, A., Amiard-Triquet, C., Amiard, J.C., Mouneyrac, C., 2001. Temporal variations of metallothionein and metal concentrations in the digestive gland of oysters (*Crassostrea gigas*) from a clean and a metal-rich site. *Biomarkers* 6, 91-107.
- Geffard, A., Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., 2002. Kinetics of metal elimination in oysters from a contaminated estuary. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology* 131, 281-293.

- Geffard, A., Geffard, O., Amiard, J.C., His, E., Amiard-Triquet, C., 2007. Bioaccumulation of metals in sediment elutriates and their effects on growth, condition index, and metallothionein contents in oyster larvae. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 53, 57-65.
- Gerdes, D., 1983. The Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Part I. Feeding behaviour of larvae and adults. *Aquaculture* 31, 195-219.
- Geret, F., Cosson, R.P., 2000. The use of metallothioneins as biomarker of metal contamination: Variability between sites and organs in the oyster *Crassostrea gigas*. *Oceanologica Acta* 23, 261-271.
- Giamberini, L., Pihan, J.C., 1996. The pericardial glands of the zebra mussel: Ultrastructure and implication in lead detoxication process. *Biology of the Cell* 86, 59-65.
- Giguere, A., Couillard, Y., Campbell, P.G.C., Perceval, O., Hare, L., Pinel-Alloul, B., Pellerin, J., 2003. Steady-state distribution of metals among metallothionein and other cytosolic ligands and links to cytotoxicity in bivalves living along a polymetallic gradient. *Aquatic Toxicology* 64, 185-200.
- Gobas, F.A.P.C., Morrison, H.A., 2000. Bioconcentration and biomagnification in the aquatic environment. In: Boethling, R.S., Mackay, D. (Ed.). *Handbook of Property Estimation Methods for Chemicals*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, pp. 189-231.
- Gonzalez, J.-L., Thouvenin, B., Dange, C., Chiffoleau, J.-F., Boutier, B., 2006. Role of particle sorption properties in the behavior and speciation of trace metals in macrotidal estuaries: The cadmium example. *The Handbook of Environmental Chemistry*. Springer Berlin / Heidelberg, pp. 265-301.
- Gonzalez, J.L., 1992. Comportement du cadmium et du mercure lors de la diagenèse précoce et flux à l'interface eau-sédiments en zone littorale. Thèse, Université Bordeaux 1, France, p. 247pp.
- Gonzalez, J.L., Boutier, B., Chiffoleau, J.F., Auger, D., Noel, J., Truquet, I., 1991a. Distribution of Cd and Hg in the Bay of Marennes-Oleron. *Oceanologica Acta* 14, 559-568.
- Gonzalez, J.L., Jouanneau, J.M., Dominik, J., Boutier, B., 1991b. Particulate Cd and Hg fluxes to the sediment in the Marennes-Oleron Bay: origin and evolution. *Environmental Technology* 12, 209-216.
- Gouleau, D., Jouanneau, J.M., Weber, O., Sauriau, P.G., 2000. Short- and long-term sedimentation on Montportail-Brouage intertidal mudflat, Marennes-Oleron Bay (France). *Continental Shelf Research* 20, 1513-1530.
- Goulletquer, P., 1995. Cycle de reproduction naturelle de l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Bivalves Aquaculture Marine, Groupe de travail sur la Reproduction des Mollusques, <http://archimer.ifremer.fr/doc/00000/3209/>.
- Goulletquer, P., Le Moine, O., 2002. Shellfish farming and Coastal Zone Management (CZM) development in the Marennes-Oléron Bay and Charentais Sounds (Charente Maritime, France): A review of recent developments. *Aquaculture International* 10, 507-525.
- Guarini, J.M., Blanchard, G.F., Bacher, C., Gros, P., Riera, P., Richard, P., Gouleau, D., Galois, R., Prou, J., Sauriau, P.G., 1998. Dynamics of spatial patterns of microphytobenthic biomass: Inferences from a geostatistical analysis of two comprehensive surveys in Marennes-Oleron Bay (France). *Marine Ecology Progress series* 166, 131-141.

- Guieu, C., Chester, R., Nimmo, M., Martin, J.M., Guerzoni, S., Nicolas, E., Mateu, J., Keyse, S., 1997. Atmospheric input of dissolved and particulate metals to the northwestern Mediterranean. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 44, 655-674.
- Guillaumont, B., 1991. Use of satellite imagery for spatial and temporal comparisons in the intertidal zone. 19. ECSA Symp., Estuarine and Coastal Sciences Assoc., Caen.
- Guo, L., Santschi, P.H., Warnken, K.W., 2000. Trace metal composition of colloidal organic material in marine environments. *Marine Chemistry* 70, 257-275.
- Hamer, D.H., 1986. Metallothionein. *Annual Review of Biochemistry* VOL. 55, 913-951.
- Hayes, M.O., 1975. Morphology of sand accumulation in estuaries: An introduction to the symposium. *Estuarine Research* 2, 3-22.
- Hédouin, L., Metian, M., Teyssié, J.L., Fichez, R., Warnau, M., 2010. Delineation of heavy metal contamination pathways (seawater, food and sediment) in tropical oysters from New Caledonia using radiotracer techniques. *Marine Pollution Bulletin*.
- Héral, M., Bacher, C., Deslous-Paoli, J.M., 1989. La capacité biotique des bassins ostréicoles. In: Troadec, J.P. (Ed.). *L'homme et les ressources halieutiques : essai sur l'usage d'une ressource renouvelable*, Plouzané IFREMER, pp. 225-259.
- Hermida, J., Lazure, P., Froidefond, J.M., Jegou, A.M., Castaing, P., 1998. Seaward dispersion of Gironde estuarine waters on to Aquitanian continental shelf from hydrological, satellite and numeric data. *Oceanologica Acta* 21, 209-221.
- Hily, C., 1977. Characteristics and originality of the Pertuis Charentais area. *Journal de Recherche Océanographie* 2, 31-38.
- Horowitz, A.J., Elrick, K.A., Demas, C.R., Demcheck, D.K., 1991. The use of sediment-trace element geochemical models for the identification of local fluvial baseline concentrations. *Sediment and stream water quality in a changing environment. Proc. symposium, Vienna, 1991*, 339-348.
- Horowitz, A.J., Meybeck, M., Idlafkih, Z., Biger, E., 1999. Variations in trace element geochemistry in the Seine River Basin based on floodplain deposits and bed sediments. *Hydrological Processes* 13, 1329-1340.
- Idlafkih, Z., Cossa, D., Meybeck, M., 1995. Comportements des contaminants en trace dissous et particuliers (As, Cd, Cu, Hg, Pb, Zn) dans la Seine. *Hydroécologie Appliquée* 7, 127-150.
- Ifremer, 2010. Bulletin de la Surveillance de la Qualité du Milieu Marin Littoral; Résultats acquis jusqu'en 2009. Edition 2010. Ifremer/RST.LER/PC/10.01/Laboratoire Environnement Ressources des Pertuis Charentais, p. 95p.
- Irigoin, X., Castel, J., 1997. Light limitation and distribution of chlorophyll pigments in a highly turbid estuary: The Gironde (SW France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 44, 507-517.
- Jestin, H., Bassoullet, P., Le Hir, P., L'Yavanc, J., Degres, Y., 1998. Development of ALTUS, a high frequency acoustic submersible recording altimeter to accurately monitor bed elevation and quantify deposition or erosion of sediments. *Oceans Conference Record (IEEE)*, pp. 189-194.
- Jouanneau, J.M., 1982. Matières en suspension et oligo-éléments métalliques dans le système estuarien girondin: comportement et flux. Thèse, Université de Bordeaux
- Jouanneau, J.M., Boutier, B., Chiffolleau, J.F., Latouche, C., Philipps, I., 1990. Cadmium in the Gironde fluvioestuarine system: Behaviour and flow. *Science of the Total Environment* 97-98, 465-479.

- Jouanneau, J.M., Castaing, P., Grousset, F., Buat-Ménard, P., Pedemay, P., 1999. Recording and chronology of a cadmium contamination by ^{137}Cs in the Gironde estuary (SW France). Enregistrement sédimentaire et chronologie (^{137}Cs) d'une contamination en cadmium dans l'estuaire de la Gironde (France). *Earth and Planetary Science Letters* 329, 265-270.
- Jouanneau, J.M., Weber, O., Latouche, C., Vernet, J.P., Dominik, J., 1989. Erosion, non-deposition and sedimentary processes through a sedimentological and radioisotopic study of surficial deposits from the "Ouest-Gironde vasière" (Bay of Biscay). *Continental Shelf Research* 9, 325-342.
- Kagi, J.H.R., 1991. Overview of metallothionein. *Methods in Enzymology* 205, 613-626.
- Kervella, S., 2010. Dynamique des sédiments fins et mixtes des zones intertidales de la baie de Marennes-Oléron - Caractérisation des sédiments, processus hydro-sédimentaires et modélisation appliquée. Thèse, University of la Rochelle.
- Kervella, S., Robert, S., Pantet, A., Jarny, S., 2009. Characterisation of Marennes-Oléron bay superficial sediment. *European Journal of Environmental and Civil Engineering* 13, 261-281.
- Klingebiel, A., Deresseghier, A., Tesson, M., 1971. Contribution à l'étude de la circulation des masses d'eau dans le bassin de Marennes-Oléron. *Comptes Rendus de l'Académie de Sciences de Paris* 273, 1783-1786.
- Komjarova, I., Blust, R., 2008. Multi-metal interactions between Cd, Cu, Ni, Pb and Zn in water flea *Daphnia magna*, a stable isotope experiment. *Aquatic Toxicology* 90, 138-144.
- Kraepiel, A.M.L., Chiffoleau, J.F., Martin, J.M., Morel, F.M.M., 1997. Geochemistry of trace metals in the Gironde estuary. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61, 1421-1436.
- Kruzynski, G.M., 2004. Cadmium in oysters and scallops: The BC experience. *Toxicology Letters* 148, 159-169.
- Kusuki, Y., 1978. Fundamental studies on the deterioration of oyster growing grounds. 3. Sinking rates and distance of transport of the faeces of Japanese oyster. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish* 44, 971-973.
- Lafon, V., Petus, C., Dabrin, A., Froidefond, J.M., Doxaran, D., Maneux, E., Castaing, P., 2009. Gironde and Adour plume dynamics using MODIS imagery - dynamique des panaches de la Gironde et de l'Adour par imagerie MODIS. 31èmes Journée de l'Hydraulique de la SHF "Morphodynamique et gestion des sédiments dans les estuaires, les baies et les deltas", Paris, France.
- Lapaquellerie, Y., Jouanneau, J.M., Maillet, N., Latouche, C., 1995a. Cadmium pollution in sediments of the Lot river (France), estimate of the mass of cadmium. pollution en Cadmium dans les sédiments du Lot (France) et calcul du stock de polluant. *Environmental Technology* 16, 1145-1154.
- Lapaquellerie, Y., Jouanneau, J.M., Maillet, N., Latouche, C., 1995b. Cadmium pollution in sediments of the Lot river (France), estimate of the mass of cadmium. Pollution en Cd dans les sédiments du Lot (France) et calcul du stock de polluant. . *Environmental Technology* 16, 1145-1154.
- Larrose, A., Coynel, A., Schäfer, J., Blanc, G., Massé, L., Maneux, E., accepted. Assessing the current state of the Gironde Estuary by mapping priority contaminant distribution and risk potential in surface sediment. *Applied Geochemistry*.
- Latouche, C., 1988. Cadmium pollution in the Gironde estuary. La pollution en cadmium de l'estuaire de la Gironde 44, 15-21.

- Le Floch, P., 1961. Propagation de la marée dans l'Estuaire de la Seine et en Seine Maritime. Thèse, Université de Paris, p. 507.
- Le Moullac, G., Fleury, P.G., Le Coz, J.R., Moal, J., Samain, J.F., 2007. Effect of sediment nearness on the metabolic enzyme activity and energy state of the oyster *Crassostrea gigas*. *Aquatic Living Resources* 20, 279-286.
- Lekhi, P., Cassis, D., Pearce, C.M., Ebell, N., Maldonado, M.T., Orians, K.J., 2008. Role of dissolved and particulate cadmium in the accumulation of cadmium in cultured oysters (*Crassostrea gigas*). *Science of the Total Environment* 393, 309-325.
- Lemaire, E., Abril, G., De Wit, R., Etcheber, H., 2002. Distribution of phytoplankton pigments in nine European estuaries and implications for an estuarine typology. *Biogeochemistry* 59, 5-23.
- Lesueur, P., Jouanneau, J.M., Boust, D., Tastet, J.P., Weber, O., 2001. Sedimentation rates and fluxes in the continental shelf mud fields in the Bay of Biscay (France). *Continental Shelf Research* 21, 1383-1401.
- Loring, D.H., 1991. Normalization of heavy-metal data from estuarine and coastal sediments. *ICES J. Mar. Sci.* 48, 101-115.
- Loring, D.H., Rantala, R.T.T., 1992. Manual for the geochemical analyses of marine sediments and suspended particulate matter. *Earth Science Reviews* 32, 235-283.
- Luengen, A.C., Raimondi, P.T., Flegal, A.R., 2007. Contrasting biogeochemistry of six trace metals during the rise and decay of a spring phytoplankton bloom in San Francisco Bay. *Limnology and Oceanography* 52, 1112-1130.
- Luoma, S.N., 2008. Silver nanotechnologies and the environment: old problems or new challenges? Project on emerging nano technologies
- Luoma, S.N., Van Geen, A., Lee, B.G., Cloern, J.E., 1998. Metal uptake by phytoplankton during a bloom in South San Francisco Bay: Implications for metal cycling in estuaries. *Limnology and Oceanography* 43, 1007-1016.
- Malet, N., 2005. Ecologie alimentaire de l'huître *Crassostrea Gigas*: dynamique des compositions isotopiques naturelles. Thèse, Université de La Rochelle, p. 276 pp.
- Malet, N., Sauriau, P.G., Faury, N., Soletchnik, P., Guillou, G., 2007. Effect of seasonal variation in trophic conditions and the gametogenic cycle on ^{13}C and ^{15}N levels of diploid and triploid Pacific oysters *Crassostrea gigas*. *Marine Ecology Progress series* 346, 203-217.
- Malet, N., Sauriau, P.G., Ryckaert, M., Malestroit, P., Guillou, G., 2008. Dynamics and sources of suspended particulate organic matter in the Marennes-Oléron oyster farming bay: Insights from stable isotopes and microalgae ecology. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 78, 576-586.
- Mantoura, R.F.C., 1981. Organo-metalic interactions in natural waters. In: Duursma EK, D.R. (Ed.). *Marine organic chemistry*. Elsevier Amsterdam, pp. 179-212.
- Mantoura, R.F.C., Dickson, A., Riley, J.P., 1978. The complexation of metals with humic materials in natural waters. *Estuarine Coastal and Marine Sciences* 6, 387-408.
- Margoshes, M., 1957. A cadmium protein from equine kidney cortex. *Journal of the American Chemical Society* 79, 4813-4814.

- Marie, V., 2005. Etude de la réponse des métallothionéines chez les bivalves, *Corbicula fluminea*, *Dreissena polymorpha* et *Crassostrea gigas*, après exposition au cadmium et au zinc. Approches in situ et expérimentales Thèse, Université Bordeaux1, p. 461.
- Marie, V., Gonzalez, P., Baudrimont, M., Bourdineaud, J.P., Boudou, A., 2006a. Metallothionein response to cadmium and zinc exposures compared in two freshwater bivalves, *Dreissena polymorpha* and *Corbicula fluminea*. *BioMetals* 19, 399-407.
- Marie, V., Gonzalez, P., Baudrimont, M., Boutet, I., Moraga, D., Bourdineaud, J.P., Boudou, A., 2006b. Metallothionein gene expression and protein levels in triploid and diploid oysters *Crassostrea gigas* after exposure to cadmium and zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25, 412-418.
- Martin, D.J., Rainbow, P.S., 1998a. Haemocyanin and the binding of cadmium and zinc in the haemolymph of the shore crab *Carcinus maenas* (L.). *Science of the Total Environment* 214, 133-152.
- Martin, D.J., Rainbow, P.S., 1998b. The kinetics of zinc and cadmium in the haemolymph of the shore crab *Carcinus maenas* (L.). *Aquatic Toxicology* 40, 203-231.
- Martin, J.L., Sornin, J.M., Delmas, D., El Sayed, M., Berthet, B., 1989. La biodéposition dans les aires conchylicoles. Son rôle dans la concentration de matière organique et de contaminants potentiels. Son impact sur le sédiment. IFREMER, p. 60.
- Martin, J.M., Meybeck, M., 1979. Elemental mass-balance of material carried by major world rivers. *Marine Chemistry* 7, 173-206.
- Martino, M., Turner, A., Nimmo, M., Millward, G.E., 2002. Resuspension, reactivity and recycling of trace metals in the Mersey Estuary, UK. *Marine Chemistry* 77, 171-186.
- Mason, A.Z., Jenkins, K.D., 1995. Metal detoxification in aquatic organisms. Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. A Tessier and DR Turner, John Wiley and Sons, New York, pp. 479-608.
- Masson, M., 2007. Sources et transferts métalliques dans le bassin versant de la Gironde. Réactivité et mécanismes géochimiques dans l'estuaire fluvial de la Gironde. Thèse, Université Bordeaux1, p. 366.
- Masson, M., Blanc, G., Schäfer, J., 2006. Geochemical signals and source contributions to heavy metal (Cd, Zn, Pb, Cu) fluxes into the Gironde Estuary via its major tributaries. *Science of the Total Environment* 370, 133-146.
- Mente, E., Legeay, A., Houlihan, D.F., Massabuau, J.C., 2003. Influence of oxygen partial pressures on protein synthesis in feeding crabs. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 284.
- Meybeck, M., 1987. (River transport of dissolved material in earth sciences). *Les transports fluviaux en solution dans les sciences de la Terre*. 41, 19-36.
- Miao, A.J., Wang, W.X., 2006. Cadmium toxicity to two marine phytoplankton under different nutrient conditions. *Aquatic Toxicology* 78, 114-126.
- Miao, A.J., Wang, W.X., Juneau, P., 2005. Comparison of Cd, Cu, and Zn toxic effects on four marine phytoplankton by pulse-amplitude-modulated fluorometry. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24, 2603-2611.

- Michel, P., Boutier, B., Chiffoleau, J.F., 2000. Net fluxes of dissolved arsenic, cadmium, copper, zinc, nitrogen and phosphorus from the Gironde Estuary (France): Seasonal variations and trends. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 51, 451-462.
- Middelburg, J.J., van der Weijden, C.H., Woittiez, J.R.W., 1988. Chemical processes affecting the mobility of major, minor and trace elements during weathering of granitic rocks. *Chemical Geology* 68, 253-273.
- Miramand, P., Fichet, D., Bentley, D., Guary, J.C., Caurant, F., 1998. Heavy metal concentrations (Cd, Cu, Pb, Zn) at different levels of the pelagic trophic web collected along the gradient of salinity in the Seine Estuary. *Comptes Rendus de l'Academie de Sciences - Serie IIa: Sciences de la Terre et des Planetes* 327, 259-264.
- Miramand, P., Guyot, T., Huet, V., Pigeot, J., 2001. Le cadmium dans les espèces planctoniques et suprabenthiques collectées dans l'estuaire et dans le panache de la Gironde. In: Ifremer, A.d.c. (Ed.). *Océanographie du golfe de Gascogne*, 2-6 avril 2000, Biarritz, France.
- Monbet, P., 2001. Comportements des métaux (cuivre, plomb et cadmium) dans un estuaire à fort caractère agricole; bilan de masse. Cas de la Maie de morlaix. Thèse, Université de Bretagne Occidentale, p. 196.
- Morel, F.M.M., 1983. *Principles of Aquatic Chemistry*.
- Morford, J.L., Emerson, S., 1999. The geochemistry of redox sensitive trace metals in sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 63, 1735-1750.
- Morton, B., S., 1983. feeding and digestion in bivalvia. In: Wilbur, A.S.a.K. (Ed.). *The Mollusca*. Academic press, New York, p. 64.
- Mouneyrac, C., Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., 1998. Effects of natural factors (salinity and body weight) on cadmium, copper, zinc and metallothionein-like protein levels in resident populations of oysters *Crassostrea gigas* from a polluted estuary. *Marine Ecology Progress Series* 162, 125-135.
- Muller, F.L.L., 1996. Interactions of copper, lead and cadmium with the dissolved, colloidal and particulate components of estuarine and coastal waters. *Marine Chemistry* 52, 245-268.
- Murphy, J., Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 27, 31-36.
- Nadella, S.R., Fitzpatrick, J.L., Franklin, N., Bucking, C., Smith, S., Wood, C.M., 2009. Toxicity of dissolved Cu, Zn, Ni and Cd to developing embryos of the blue mussel (*Mytilus trossolus*) and the protective effect of dissolved organic carbon. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology* 149, 340-348.
- Nassiri, Y., 1995. Approche par microscopie électronique à transmission analytique des mécanismes de toxicité et de bio-accumulation du cadmium et du cuivre chez *Skeletonema costatum*, *Tetraselmis suecica*, *Crassostrea gigas*. Thèse, Université de Nantes.
- Nelson, D.M., Treguer, P., Brzezinski, M.A., Leynaert, A., Queguiner, B., 1995. Production and dissolution of biogenic silica in the ocean: revised global estimates, comparison with regional data and relationship to biogenic sedimentation. *Global Biogeochemical Cycle* 9, 359-372.
- Ng, T.Y.T., Chuang, C.Y., Stupakoff, I., Christy, A.E., Cheney, D.P., Wang, W.X., 2010. Cadmium accumulation and loss in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* along the west coast of the USA. *Marine Ecology Progress series* 401, 147-160.

- Nicholson, F.A., Smith, S.R., Alloway, B.J., Carlton-Smith, C., Chambers, B.J., 2003. An inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales. *Science of the Total Environment* 311, 205-219.
- Nriagu, J.O., 1989. A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. *Nature* 338, 47-49.
- Nriagu, J.O., Pacyna, J.M., 1988. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature* 333, 134-139.
- Nygren, U., Ramebäck, H., Berglund, M., Baxter, D.C., 2006. The importance of a correct dead time setting in isotope ratio mass spectrometry: Implementation of an electronically determined dead time to reduce measurement uncertainty. *International Journal of Mass Spectrometry* 257, 12-15.
- Olivie-Lauquet, G., Allard, T., Benedetti, M., Muller, J.P., 1999. Chemical distribution of trivalent iron in riverine material from a tropical ecosystem: A quantitative EPR study. *Water Research* 33, 2726-2734.
- Paquin, P.R., Gorsuch, J.W., Apte, S., Batley, G.E., Bowles, K.C., Campbell, P.G.C., Delos, C.G., Di Toro, D.M., Dwyer, R.L., Galvez, F., Gensemer, R.W., Goss, G.G., Hogstrand, C., Janssen, C.R., McGeer, J.C., Naddy, R.B., Playle, R.C., Santore, R.C., Schneider, U., Stubblefield, W.A., Wood, C.M., Wu, K.B., 2002. The biotic ligand model: a historical overview. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 133, 3-35.
- Parra, M., Castaing, P., Jouanneau, J.M., Grousset, F., Latouche, C., 1999. Nd-Sr isotopic composition of present-day sediments from the Gironde Estuary, its draining basins and the WestGironde mud patch (SW France). *Continental Shelf Research* 19, 135-150.
- Patterson, C.C., Settle, D.M., 1974. Reduction of orders of magnitude errors in lead analyses of biological materials and natural waters by evaluating and controlling the extent and sources of industrial lead contamination introduced during sample collecting, handling and analyses. *Natl Bur Stand Spec Publ*, 321-351.
- Pierron, F., Baudrimont, M., Gonzalez, P., Bourdineaud, J.P., Elie, P., Massabau, J.C., 2007. Common pattern of gene expression in response to hypoxia or cadmium in the gills of the European glass eel (*Anguilla anguilla*). *Environmental Science and Technology* 41, 3005-3011.
- Pierron, F., Baudrimont, M., Lucia, M., Durrieu, G., Massabau, J.C., Elie, P., 2008. Cadmium uptake by the European eel: Trophic transfer in field and experimental investigations. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 70, 10-19.
- Pigeot, J., 2001. Approche écosystémique de la contamination métallique du compartiment biologique benthique des littoraux charentais: exemple du bassin de Marennes Oléron. Thèse, Université de La Rochelle, p. 315.
- Pigeot, J., Miramand, P., Guyot, T., Sauriau, P.G., Fichet, D., Le Moine, O., Huet, V., 2006. Cadmium pathways in an exploited intertidal ecosystem with chronic cadmium inputs (Marennes-Oléron, Atlantic coast, France). *Marine Ecology Progress series* 307, 101-114.
- Point, D., 2004. Spéciation et biogéochimie des éléments traces métalliques dans l'estuaire de l'Adour. Thèse, Université de Pau et des Pays de l'Adour (France), p. 338.
- Point, P., Lavaud, S., 2005. Approche économique du dommage causé par le cadmium à la conchyliculture dans l'estuaire de la Gironde. *Cahier technique n°4/4*, Agence de l'Eau Adour Garonne, pp. 27-28.

- Pouliquen, M., 1975. Etude minéralogique et sédimentologique des sédiments du littoral vendocharentais et de la vasière ouest-Gironde: application à la connaissance de l'origine et de la dynamique des vases dans la baie de Marennes-Oléron. Thèse, Université Bordeaux 1, France, p. 163.
- Price, N.M., Morel, F.M.M., 1990. Cadmium and cobalt substitution for zinc in a marine diatom. *Nature* 344, 658-660.
- Pritchard, D., W., 1967. What is an estuary: physical viewpoint. In: GH, L. (Ed.). *Estuaries*. American Association for the Advancement of Science, Washington,, pp. 3-5.
- Ragueneau, O., Savoye, N., Del Amo, Y., Cotten, J., Tardiveau, B., Leynaert, A., 2005. A new method for the measurement of biogenic silica in suspended matter of coastal waters: Using Si:Al ratios to correct for the mineral interference. *Continental Shelf Research* 25, 697-710.
- Ragueneau, O., Tréguer, P., Leynaert, A., Anderson, R.F., Brzezinski, M.A., DeMaster, D.J., Dugdale, R.C., Dymond, J., Fischer, G., François, R., Heinze, C., Maier-Reimer, E., Martin-Jézéquel, V., Nelson, D.M., Quéguiner, B., 2000. A review of the Si cycle in the modern ocean: Recent progress and missing gaps in the application of biogenic opal as a paleoproductivity proxy. *Global and Planetary Change* 26, 317-365.
- Raillard, O., Menesguen, A., 1994. An ecosystem box model for estimating the carrying capacity of a macrotidal shellfish system. *Marine Ecology Progress series* 115, 117-130.
- Rainbow, P.S., 1995. Physiology, physicochemistry and metal uptake - A crustacean perspective. *Marine Pollution Bulletin* 31, 55-59.
- Rasmussen, R.S., Mommissy, M.T., Cheney, D., 2007. Effect of age and tissue weight on the cadmium concentration in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Journal of Shellfish Research* 26, 173-179.
- RAZLEC-IFREMER, 2009. http://www.ifremer.fr/lerpc/reseaux/hydro/resul_hydro.htm.
- Reinfelder, J.R., Wang, W.X., Luoma, S.N., Fisher, N.S., 1997. Assimilation efficiencies and turnover rates of trace elements in marine bivalves: A comparison of oysters, clams and mussels. *Marine Biology* 129, 443-452.
- Renfrew, C., Bahn, P.G., 1991. *Archeology, theories and practice*.
- RNO, 1998. Surveillance du milieu marin. Travaux du RNO. Ifremer et Ministère de l'Aménagement du territoire et de l'Environnement.
- RNO, 2000. Surveillance du milieu marin. Travaux du RNO. Ifremer et Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable.
- RNO, 2006. Surveillance du milieu marin. Travaux du RNO. Ifremer et Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable.
- Robert, S., 2003. Bilan géochimique des éléments traces métalliques dans l'Estuaire de la Gironde. Réactivité interne et anthropisation. Thèse, Université Bordeaux 1.
- Robert, S., Blanc, G., Schäfer, J., Lavaux, G., Abril, G., 2004. Metal mobilization in the Gironde Estuary (France): The role of the soft mud layer in the maximum turbidity zone. *Marine Chemistry* 87, 1-13.
- ROCCH, 2010. Bulletin de la Surveillance de la Qualité du Milieu Marin Littoral; Résultats acquis jusqu'en 2009. Edition 2010. Ifremer/RST.LER/PC/10.01/Laboratoire Environnement Ressources des Pertuis Charentais, p. 95p.

- Roesijadi, G., 1992. Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquatic Toxicology* 22, 81-114.
- Roesijadi, G., Robinson, W., 1994. Metal regulation in aquatic animals: mechanisms of uptake, accumulation and release. In: MD and OG Lewis Publishers, B.R. (Ed.). *Aquatic toxicology: molecular, biochemical and cellular perspectives*, pp. 387-420.
- Roesijadi, G., Unger, M.E., 1993. Cadmium uptake in gills of the mollusc *Crassostrea virginica* and inhibition by calcium channel blockers. *Aquatic Toxicology* 24, 195-206.
- Ross, J.M., Sherrell, R.M., 1999. The role of colloids in trace metal transport and adsorption behavior in New Jersey Pinelands streams. *Limnology and Oceanography* 44, 1019-1034.
- Rossi, N., Jamet, J.L., 2008. In situ heavy metals (copper, lead and cadmium) in different plankton compartments and suspended particulate matter in two coupled Mediterranean coastal ecosystems (Toulon Bay, France). *Marine Pollution Bulletin* 56, 1862-1870.
- Saari, H.K., 2008. Dynamique saisonnière des transferts particuliers dans les systèmes fluviaux-estuariens : application des radioisotopes à courtes périodes : ^{234}Th , ^7Be et ^{210}Pb . Thèse, Université de Bordeaux1.
- Santore, R.C., Di Toro, D.M., Paquin, P.R., Allen, H.E., Meyer, J.S., 2001. Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 2. Application to acute copper toxicity in freshwater fish and *Daphnia*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20, 2397-2402.
- Saratug, S., Garrett, S.H., Sens, M.A., Sens, D.A., 2010. Cadmium, environmental exposure and health outcomes. *Environmental Health Perspectives* 118, 182-199.
- Sauriau, P.-G., Mouret, V., Rince, J.-P., 1989. Trophic system of wild soft-bottom molluscs in the Marennes-Oleron oyster-farming bay. *Oceanologica acta Paris* 12, 193-204.
- Schäfer, J., Blanc, G., 2002. Relationship between ore deposits in river catchments and geochemistry of suspended particulate matter from six rivers in southwest France. *Science of the Total Environment* 298, 103-118.
- Schäfer, J., Blanc, G., Audry, S., Cossa, D., Bossy, C., 2006. Mercury in the Lot-Garonne River system (France): Sources, fluxes and anthropogenic component. *Applied Geochemistry* 21, 515-527.
- Schäfer, J., Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Maneux, E., Etcheber, H., 2002. Ten-year observation of the Gironde tributary fluvial system: Fluxes of suspended matter, particulate organic carbon and cadmium. *Marine Chemistry* 79, 229-242.
- Schäfer, J., Eckhardt, J.D., Berner, Z.A., Stüben, D., 1999. Time-dependent increase of traffic-emitted platinum-group elements (PGE) in different environmental compartments. *Environmental Science and Technology* 33, 3166-3170.
- Schropp, S.J., Graham Lewis, F., Windom, H.L., Ryan, J.D., Calder, F.D., Burney, L.C., 1990. Interpretation of metal concentrations in estuarine sediments of Florida using aluminum as a reference element. *Estuaries* 13, 227-235.
- Shatkin, G., Shumway, S.E., Hawes, R., 1997. Considerations regarding the possible introduction of the pacific oyster (*Crassostrea gigas*) to the Gulf of Maine: A review of global experience. *Journal of Shellfish Research* 16, 463-477.

- Shaw, T.J., Gieskes, J.M., Jahnke, R.A., 1990. Early diagenesis in differing depositional environments: The response of transition metals in pore water. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 54, 1233-1246.
- Sholkovitz, E.R., Boyle, E.A., Price, N.B., 1978. The removal of dissolved humic acids and iron during estuarine mixing. *Earth and Planetary Science Letters* 40, 130-136.
- Sidoumou, Z., Gnassia-Barelli, M., Romeo, M., 1997. Cadmium and calcium uptake in the mollusc *Donax rugosus* and effect of a calcium channel blocker. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 58, 318-325.
- Simkiss, K., Taylor, M.G., 1989. Convergence of cellular systems of metal detoxification. *Marine Environmental Research* 28, 211-214.
- Slauenwhite, D.E., Wangersky, P.J., 1991. Behaviour of copper and cadmium during a phytoplankton bloom: a mesocosm experiment. *Marine Chemistry* 32, 37-50.
- Soletchnik, P., Faury, N., Razet, D., Goulletquer, P., 1998. Hydrobiology of the Marennes-Oléron bay. Seasonal indices and analysis of trends from 1978 to 1995. *Hydrobiologia* 386, 131-146.
- Soletchnik, P., Goulletquer, P., Geairon, P., Razet, D., 1996a. Seuil de production de pseudo-fécès de l'huître creuse du Pacifique : *Crassostrea gigas* (Thunberg) dans des conditions de faibles charges particulières. *Haliotis* 25, 13-24.
- Soletchnik, P., Goulletquer, P., Héral, M., Razet, D., Geairon, P., 1996b. Evaluation of the energetic budget of the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*, in Marennes-Oléron Bay (France). *Aquatic Living Resources* 9, 65-73.
- Soletchnik, P., Lambert, C., Costil, K., 2005. Summer mortality of *Crassostrea gigas* (Thunberg) in relation to environmental rearing conditions. *Journal of Shellfish Research* 24, 197-207.
- Sornin, J.M., 1981. Processus Sédimentaire et biodéposition liés à différents modes de conchyliculture (Baie de Cancale, Anse de l'Aiguillon et Bassin de Marennes-Oléron). Gironde. Thèse, Institut des Sciences de la Nature de l'Université de Nantes, Nantes, p. 188.
- Sottolichio, A., Castaing, P., 1999. A synthesis on seasonal dynamics of highly-concentrated structures in the Gironde estuary. *Comptes Rendus de l'Académie de Sciences - Serie IIa: Sciences de la Terre et des Planètes* 329, 795-800.
- Stallard, R.F., Edmond, J.M., 1981. Geochemistry of the Amazon. 1. Precipitation chemistry and the marine contribution to the dissolved load at the time of peak discharge. *Journal of Geophysical Research* 86, 9844-9858.
- Stanisière, J.-Y., Dumas, F., Plus, M., Maurer, D., Robert, S., 2006. Caractérisation des composantes hydrodynamiques d'un système côtier semi-fermé : Le Bassin de Marennes-Oléron. In: Ifremer, R. (Ed.).
- Stillman, M.J., 1995. Metallothioneins. *Coordination Chemistry Reviews* 144, 461-511.
- Strady, E., Blanc, G., Schäfer, J., Coynel, A., Dabrin, A., 2009. Dissolved uranium, vanadium and molybdenum behaviours during contrasting freshwater discharges in the Gironde Estuary (SW France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 83, 550-560.
- Strady, E., Masson, M., Dabrin, A., Furusho, Y., Henry, J.-Y., Schäfer, J., Blanc, G., 2007. Détermination de V, Co, Ni, Cu, Mo, Cd et U dissous dans l'eau de mer par extraction en phase solide au moyen de cartouches d'extraction de métaux. Application à l'Estuaire de la Gironde. Poster. Spectr'Atom 2007, Pau, France.

- Struski, C., 2005. Modélisation des flux de matières dans la baie de Marennes-Oléron: couplage de l'hydrodynamisme, de la production primaire et de la consommation par les huîtres. Thèse, Université de La Rochelle, p. 340 p.
- Sturgeon, R.E., Desaulniers, J.A.H., Berman, S.S., Russell, D.S., 1982. Determination of trace metals in estuarine sediments by graphite-furnace atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 134, 283-291.
- Tanguy, A., Moraga, D., 2001. Cloning and characterization of a gene coding for a novel metallothionein in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (CgMT2): A case of adaptive response to metal-induced stress? *Gene* 273, 123-130.
- Templeton, D.M., Ariese, F., Cornelis, R., Danielsson, L.G., Muntau, H., Van Leeuwen, H.P., Łobiński, R., 2000. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC recommendations 2000). *Pure and Applied Chemistry* 72, 1453-1470.
- Tesson, M., 1973. Aspects dynamiques de la sédimentation dans la baie de Marennes-Oléron. Thèse, Université Bordeaux1, France, p. 128pp.
- Theodosi, C., Markaki, Z., Tselepides, A., Mihalopoulos, N., 2010. The significance of atmospheric inputs of soluble and particulate major and trace metals to the eastern Mediterranean seawater. *Marine Chemistry* 120, 154-163.
- Thomas, G., Kantin, R., Heral, M., 1999. La Charente, un estuaire conchylicole. The Charente (France), a shellfish culture estuary. Ifremer, pp. 20-25.
- Thorne, L.T., Nickless, G., 1981. The relation between heavy metals and particle size fractions within the Severn Estuary (U.K.) inter-tidal sediments. *Science of the Total Environment* 19, 207-213.
- Thurman, E.M., 1985. Organic chemistry of natural waters. Martinus Nijhoff. Martinus Nijhoff, Dr W. Junk Publ., Dordrecht.
- Toth, J.R., Ingle, J.D., 1977. Determination of mercury in manganese nodules and crusts by cold-vapor atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 92, 409-412.
- Tueros, I., Borja, A., Larreta, J., Rodríguez, J.G., Valencia, V., Millán, E., 2009. Integrating long-term water and sediment pollution data, in assessing chemical status within the European Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin* 58, 1389-1400.
- Turner, A., 1996. Trace-metal partitioning in estuaries: Importance of salinity and particle concentration. *Marine Chemistry* 54, 27-39.
- Turner, A., Millward, G.E., 2002. Suspended particles: Their role in Estuarine biogeochemical cycles. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 55, 857-883.
- Turner, A., Millward, G.E., Bale, A.J., Morris, A.W., 1992. The solid-solution partitioning of trace metals in the southern North Sea-in situ radiochemical experiments. *Continental Shelf Research* 12, 1311-1329.
- Turner, A., Millward, G.E., Bale, A.J., Morris, A.W., 1993. Application of the K_D concept to the study of trace metal removal and desorption during estuarine mixing. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 36, 1-13.
- USDA, 2008. Characterization of the cadmium health risk, concentrations and ways to minimize cadmium residues in shellfish: sampling and analysis of cadmium in US west coast bivalve

- shellfish. Cooperative state research education and extension service award No.2004-51110-02156, p. Final report. 48 pp.
- Valdès, J., Román, D., Guiñez, M., Rivera, L., Morales, T., Ávila, J., Cortés, P., 2009. Distribution and temporal variation of trace metal enrichment in surface sediments of San Jorge Bay, Chile. *Environmental Monitoring and Assessment*, 1-13.
- van Calsteren, P.V.C., Thomas, L., 2006. Uranium-series dating applications in natural environmental science. *Earth-Science Reviews* 75, 155-175.
- Vasak, M., 1991. Metal removal and substitution in vertebrate and invertebrate metallothioneins. *Methods in Enzymology* 205, 452-458.
- Vercauteren, K., Blust, R., 1999. Uptake of cadmium and zinc by the mussel *Mytilus edulis* and inhibition by calcium channel and metabolic blockers. *Marine Biology* 135, 615-626.
- Viarengo, A., 1989. Heavy metals in marine invertebrates: mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. *Aquatic Toxicology* 1, 145-157.
- Waalkes, M.P., Goering, P.L., 1990. Metallothionein and other cadmium-binding proteins: Recent developments. *Chemical Research in Toxicology* 3, 281-288.
- Wallace, W.G., Lee, B.G., Luoma, S.N., 2003. Subcellular compartmentalization of Cd and Zn in two bivalves. I. Significance of metal-sensitive fractions (MSF) and biologically detoxified metal (BDM). *Marine Ecology Progress series* 249, 183-197.
- Wallace, W.G., Luoma, S.N., 2003. Subcellular compartmentalization of Cd and Zn in two bivalves. II. Significance of trophically available metal (TAM). *Marine Ecology Progress series* 257, 125-137.
- Wang, W.X., Fisher, N.S., 1996. Assimilation of trace elements and carbon by the mussel *Mytilus edulis*: Effects of food composition. *Limnology and Oceanography* 41, 197-207.
- Wells, M.L., Kozelka, P.B., Bruland, K.W., 1998. The complexation of 'dissolved' Cu, Zn, Cd and Pb by soluble and colloidal organic matter in Narragansett Bay, RI. *Marine Chemistry* 62, 203-217.
- Wen, L.S., Santschi, P.H., Tang, D., 1997. Interactions between radioactively labeled colloids and natural particles: Evidence for colloidal pumping. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61, 2867-2878.
- Widmeyer, J.R., Bendell-Young, L.I., 2008. Heavy metal levels in suspended sediments, *Crassostrea gigas*, and the risk to humans. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 55, 442-450.
- Windom, H.L., Schropp, S.J., Calder, F.D., Ryan, J.D., Smith Jr, R.G., Burney, L.C., Lewis, F.G., Rawlinson, C.H., 1989. Natural trace metal concentrations in estuarine and coastal marine sediments of the Southeastern United States. *Environmental Science and Technology* 23, 314-320.
- Wrench, J.J., Measures, C.I., 1982. Temporal variations in dissolved selenium in a coastal ecosystem. *Nature* 299, 431-433.
- Xu, H., Zhang, J., Ren, J.L., Liu, C.L., 2002. Aluminum in the macrotidal Yalujiang estuary: Partitioning of Al along the estuarine gradients and flux. *Estuaries* 25, 608-621.
- Yang, M., Sanudo-Wilhelmy, S.A., 1998. Cadmium and manganese distributions in the Hudson River estuary: Interannual and seasonal variability. *Earth and Planetary Science Letters* 160, 403-418.
- Yentsch, C.S., Menzel, D.W., 1963. A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. *Deep-Sea Research and Oceanographic Abstracts* 10, 221-231.

- Zhang, J., Liu, C.L., 2002. Riverine composition and estuarine geochemistry of particulate metals in China - Weathering features, anthropogenic impact and chemical fluxes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 54, 1051-1070.
- Zwolsman, J.J.G., Van Eck, B.T.M., Van Der Weuden, C.H., 1997. Geochemistry of dissolved trace metals (cadmium, copper, zinc) in the Scheldt estuary, southwestern Netherlands: Impact of seasonal variability. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, pp. 1635-1652.



Dissolved uranium, vanadium and molybdenum behaviours during contrasting freshwater discharges in the Gironde Estuary (SW France)

Emilie Strady, Gérard Blanc, Jörg Schäfer*, Alexandra Coynel, Aymeric Dabrin

Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC, Av. des facultés, 33405 Talence cedex, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 February 2009

Accepted 5 May 2009

Available online 13 May 2009

Keywords:

uranium

vanadium

molybdenum

salinity gradient

Gironde Estuary

net fluxes

ABSTRACT

Understanding trace metal behaviour in estuarine environments requires sampling strategies and analytical methods adapted to strong physical and geochemical gradients. In this study, we present a specific sampling strategy covering a wide range of hydrological conditions during nine cruises in 2003–2007 to characterise the behaviour of three dissolved metals (uranium, vanadium and molybdenum) in surface and bottom water along the salinity gradient of the highly turbid macrotidal Gironde Estuary using a solid–liquid extraction. Uranium behaved conservatively whatever the water discharges observed. The slight dissolved U depletion compared to the theoretical dilution line between the fluvial and marine end-members occasionally observed in the low salinity range (0–3) was attributed to the mixing of different water bodies of the Gironde tributaries. In contrast, dissolved V behaviour was largely influenced by the hydrological conditions, showing increasingly pronounced addition with decreasing freshwater discharges, (i.e. increasing residence times of water and particles in the estuary). This addition of dissolved V in the low- to mid-salinity range was attributed to desorption processes observed in the Maximum Turbidity Zone (MTZ). The distribution of dissolved Mo concentrations along the salinity gradient was highly variable. Apparent conservative, and non-conservative behaviours were observed and were related to the concomitance of desorption from SPM, inputs from sediments for additive distribution and biological uptake and removal into sediments for subtractive distribution. Based on the whole database (2003–2007), annual net fluxes to the coastal ocean were estimated for dissolved U ($15.5\text{--}16.6\text{ t yr}^{-1}$) and V ($31.3\text{--}36.7\text{ t yr}^{-1}$).

© 2009 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Estuaries play a major role in geochemical cycles of trace metals. Processes occurring in these mixing environments with various physical and chemical gradients affect the partitioning between particulate and dissolved phases reactivity and bio-availability of metals. Understanding trace metal behaviour is crucial for the assessment of potential impacts on the coastal ocean. In oxic aquatic freshwater environments, uranium (U), vanadium (V) and molybdenum (Mo) are present in their soluble oxidized state: U(VI) as bicarbonates complex in majority (Osmond and Ivanovich, 1992), V(V) as $\text{VO}_2(\text{OH})^{2-}$ (Sadiq, 1988) and Mo(VI) as MoO_4^{2-} (Collier, 1985).

In most studied estuaries, U behaved conservatively along the salinity gradient (Windom et al., 2000). However, in few cases, some local depletion was observed in the low salinity range, and

was attributed to changes in alkalinity (Toole et al., 1987; Van Den Berg et al., 1991; Sarin and Church, 1994). Few papers have reported on V geochemistry in estuarine environments suggesting generally conservative behaviour (e.g. Scheldt and Rhine estuaries, Van der Sloot et al., 1985; Tamar Estuary, Van Den Berg et al., 1991). However, local subtraction was also observed and was attributed to local O_2 depletion in the water column (Shiller and Mao, 1999), as its solubility is more important in oxic environments (Wehrli and Stumm, 1989; Emerson and Husted, 1991). In sediments, V may be released from pore water during Organic Matter (OM) degradation (Audry et al., 2006). Although, V is not considered as a priority pollutant (Directive 2000/60/EC, European Council, 2000), it may have inhibitory effect on enzymatic activity (Jandhyala and Hom, 1983) and its concentration levels in bivalves is surveyed along the French coast (French National Mussel Watch programme RNO, 2006). In contrast, Mo is well known for its toxic effects (e.g. Goldberg et al., 2002), although it is also essential for N_2 -fixing cyanobacteria (Bortels, 1930; Fogg and Wolfe, 1954). Dissolved Mo abundance and biological activity are lower in the marine parts of estuaries (Howarth and Cole, 1985), reflecting its conservative

* Corresponding author.

E-mail address: j.schaefer@epoc.u-bordeaux1.fr (J. Schäfer).

behaviour observed in most estuaries. However, Mo removal from estuarine waters has also been observed (Dalai et al., 2005) and release into sediment pore water during early diagenesis followed by resuspension may locally and temporarily add dissolved Mo to the water column of the Gironde Estuary (Audry et al., 2007).

In this study we present dissolved U, V and Mo concentrations and distributions along the salinity gradient of the Gironde Estuary, which are much less documented than those of other more commonly studied elements (e.g. Cd, Cu, etc.). Although the estuarine behaviour of dissolved U, V and Mo has been studied in several estuaries, further investigations are required during contrasting hydrological conditions to (1) document and compare their respective behaviours along the salinity gradient of the same estuary, (2) report on their responses to variations in hydrological conditions and/or (3) present the net fluxes estimates of U, V, Mo exported out of the Gironde Estuary.

2. Study area and methods

2.1. Gironde Estuary

The Gironde Estuary is one of the largest (625 km²) fluvio-estuarine systems of the European Atlantic Coast (Fig. 1). Its main tributaries, the Garonne and Dordogne Rivers, account for a mean annual freshwater input of 820 m³ s⁻¹ (1990–2007 period; Port Autonome Bordeaux). The Gironde Estuary is a partially mixed to well-mixed meso- to macrotidal estuary with tidal amplitude of 1.5–5.5 m (Hayes, 1975). During tidal cycle ocean water inputs have been estimated 30–40 times higher than fluvial inputs (Allen et al., 1977). The estimated residence time of fluvial water varies from a few days during flood events to ~86 days during low freshwater discharge (Castaing and Jouanneau, 1979; Saari et al., 2008). The asymmetrical progression of the tidal wave towards the upstream of the estuary and the residual density circulation induce a pronounced permanent Maximum Turbidity Zone (MTZ) with Suspended Particulate Matter (SPM) concentrations in surface waters superior to 1 g l⁻¹ (Castaing, 1981). The total suspended sediment mass in the MTZ has been estimated at ~5 × 10⁶ tons (Jouanneau and Latouche, 1981).

2.2. Sampling

During 2003–2007, nine cruises were performed along the salinity gradient of the Gironde Estuary (0–34) onboard the RV “Côtes de la Manche”, covering different seasons and a wide range of hydrological situations. The cruises included stable low water discharge situations (September 2006; $Q = 169 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$; GIMERCAD2) and a flood period (March 2007; $Q = 2600 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$; GIMERCAD3; Fig. 1), with an average annual freshwater discharge of ~750 m³ s⁻¹ during the 2003–2007 period (Fig. 1).

At each sampling point, salinity, temperature, pH and oxygen level were measured with a multi-parameter probe (YSI 6920) calibrated the same day. Surface water (1 m below air-water interface) and bottom water (1 m above water-sediment interface) were sampled with decontaminated 5-l Niskin bottles and immediately transferred into acid pre-cleaned PP bottles (500 ml), previously rinsed with estuarine water of the site. Then, 130 ml were immediately filtered through 0.2 µm Nucleopore[®] polycarbonate filters and split into two aliquots. One aliquot (125 ml) was acidified (ultrapure HNO₃, 1/1000) to a pH < 2 and stored in an acid pre-cleaned PP bottle at 4 °C in the dark until trace metal analysis. The second aliquot (5 ml) was stored in a PP bottle at –20 °C until dissolved inorganic phosphate (DIP) analysis. Clean techniques were used to minimize contamination during sampling, handling and onboard analysis (Patterson and Settle, 1976).

Suspended Particulate Matter (SPM) concentrations were determined by filtration (Whatman GF/F, 0.7 µm, pre-weighed) of precise water volumes. Filters were then dried onboard at 50 °C until constant weight and re-weighed in the laboratory. SPM for Particulate Organic Carbon (POC) analysis was retrieved by pumping and centrifugation of important volumes of estuarine waters (up to 400 l), as described in Schäfer et al. (2002) and dried at 45 °C.

2.3. Laboratory analysis

2.3.1. Dissolved U, V and Mo analyses by solid–liquid extraction and ICP-MS

Analysing dissolved trace metals in estuarine waters has to deal with (1) low and variable concentrations along the salinity

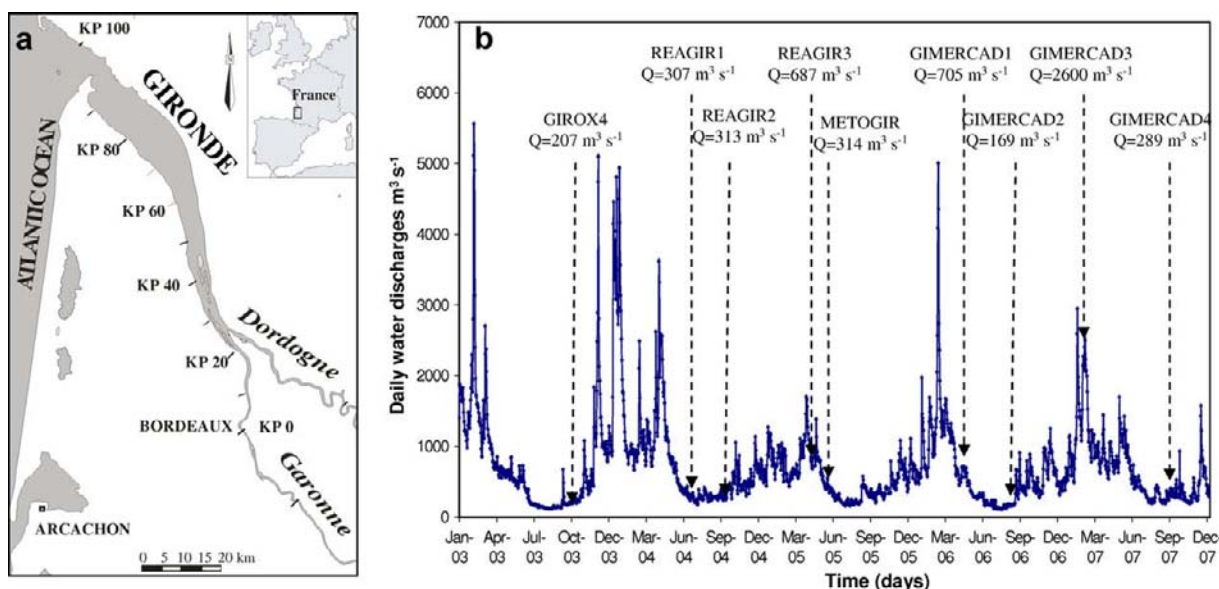


Fig. 1. a) Map of the Gironde Estuary and its two major tributaries, the Garonne and Dordogne Rivers; b) daily water discharge in the Gironde Estuary from January 2003 to December 2007. The nine sampling cruises are indicated by arrows.

gradient, (2) changing sample matrixes due to estuarine processes (e.g. flocculation, OM degradation etc.) and (3) the presence of the salt matrix, known to induce significant physical and chemical interferences during ICP-MS analyses. Several adapted methods have been used to separately study U, V and Mo in estuarine environments, based on metal specific procedures and material. For example, Windom et al. (2000) and Sarin and Church (1994) measured U by ion-exchange combined to alpha counting and by isotope-dilution followed by ICP-MS quantification, respectively. Dissolved V concentrations were analysed using different techniques such as catalytic colorimetric methods (Shiller and Mao, 1999) and separation/preconcentration by Chelex 100[®] resin prior to ICP-AES measurements (Auger et al., 1999). Dilution of the saline matrix prior to direct ICP-MS measurement was used to determine dissolved Mo concentrations (Dalai et al., 2005). However, dilution only limits the physical interferences and cannot be applied to elements with too low concentrations and/or affected by isobaric interferences.

In this study, we analysed simultaneously dissolved U (U_D), V (V_D) and Mo (Mo_D) after matrix separation and preconcentration by solid-liquid extraction, using DigiSEP Blue[®] cartridges (SCP SCIENCE), with amino-di-acetate as the functional group. The setup consisted on a 6 ml DigiSEP Blue[®] cartridge coupled to an acid pre-cleaned PP reservoir (70 ml) at the top and to a peristaltic pump (Gilson; 2 ml mn^{-1}) and tub at the bottom. The matrix separation/preconcentration procedure is based on the method reported by Kingston et al. (1978) and is divided into four steps (Fig. 2). Each step and parameter (flow rate, pH, reagent volumes, preconcentration factors, etc.) of the procedure was controlled and optimised to obtain low blank values, best recoveries and reproducibility of metal analyses (Table 1). The evolution of the ("single-use") cartridge performances during multiple-use and -regeneration cycles of the same cartridge (more than 50 separation-regeneration cycles) has also been assessed (Table 1). This rapid and economic matrix separation and preconcentration technique has proven to be

Table 1

Quality control of the solid-liquid extraction. Blank values ($\mu g l^{-1}$), detection limit (3σ of blank values, $n = 160$), reproducibility between cartridges and for multiple use, measured metal concentrations ($\mu g l^{-1}$) and recoveries are presented for U, V and Mo.

		U	V	Mo
Blank values $n = 160$	mean	0.001	0.002	0.010
	standard deviation	0.002	0.004	0.011
Detection limit 3σ		0.001	0.016	0.010
Reproducibility between cartridges	RSD	2%	1%	5%
Multiple use ($n = 50$)	RSD	<10%	<10%	<10%
CASS-4 $n = 18$	certified values	3	1.18 ± 0.16	8.78 ± 0.86
	measured values	2.7 ± 0.17	1.17 ± 0.10	6.2 ± 0.7
	recovery	90%	100%	66%
	reproducibility RSD	6%	9%	11%
NASS-5 $n = 9$	certified values	2.6	1.2	9.6 ± 1.0
	measured values	2.55 ± 0.31	1.15 ± 0.12	6.93 ± 0.97
	recovery	98%	96%	72%
	reproducibility RSD	12%	10%	14%

reliable and adapted for the simultaneous determination of U_D , V_D and Mo_D in estuarine and coastal seawater samples.

Concentrations of U_D , V_D and Mo_D were then measured by ICP-MS (Thermo X7) with external calibration under standard conditions. Accuracy and analytical precision were continuously quality checked for all the cartridges used by analysis of international certified reference materials (CASS-4; NASS-5; Table 1). This method provided quantitative recoveries (>97%) and excellent precision (Table 1) for U_D and V_D , when using the same cartridge several times (25–50 times) and for different cartridges (Table 1). Molybdenum showed lower recoveries of 66% (CASS-4, $n = 19$) and 70% (NASS-5, $n = 9$). However, suitable precision and reproducibility between cartridges allowed correcting Mo_D concentrations to 100% recovery. This correction did not modify the observed distribution of Mo_D along the Gironde Estuary salinity gradient, where dissolved Mo concentrations varied by a factor of ~30 (Fig. 5).

2.3.2. Particulate Organic Carbon (POC) and Dissolved Inorganic Phosphate (DIP) analyses

Representative aliquots (~50 mg) of dry, homogenized SPM samples were acidified with HCl (2 M) to remove carbonates and dried at 60 °C for 24 h. Samples were then analysed with a LECO CS-125 analyser with precision better than 5%, according to the method described in Etcheber et al. (1999). POC contents are expressed as percentage of dry weight of SPM, abbreviated as POC%. DIP was analysed within a month after sampling according to the ascorbic acid-molybdate blue method (Murphy and Riley, 1962) and measured spectrophotometrically.

3. Results

3.1. Hydrological conditions

Based on the freshwater discharges of both major tributaries (Garonne and Dordogne Rivers), the hydrological situations during the 9 cruises between September 2003 and October 2007 can be classified into 4 contrasting water level types: exceptional drought (<200 $m^3 s^{-1}$: 09/27/03, GIROX4; 09/07/06, GIMERCAD2), typical low freshwater discharge (~300 $m^3 s^{-1}$: 07/18/04, REAGIR1; 10/09/04, REAGIR2; 07/08/05, METOGIR; 10/01/07, GIMERCAD4), low/mean water discharge (~700 $m^3 s^{-1}$: 05/10/05, REAGIR3; 05/12/06, GIMERCAD1) and flood (~2600 $m^3 s^{-1}$: 03/04/07, GIMERCAD3) were observed.

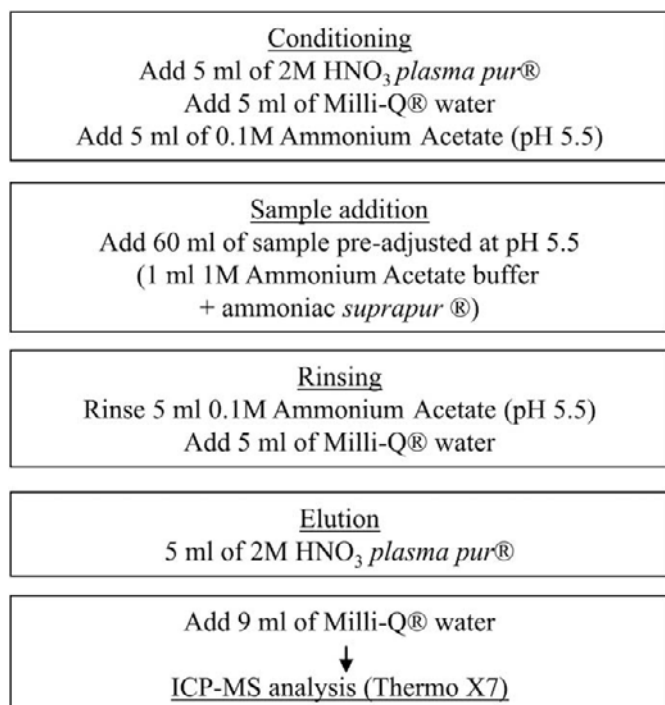


Fig. 2. Protocol steps of the solid-liquid extraction using DigiSEP Blue[®] cartridge.

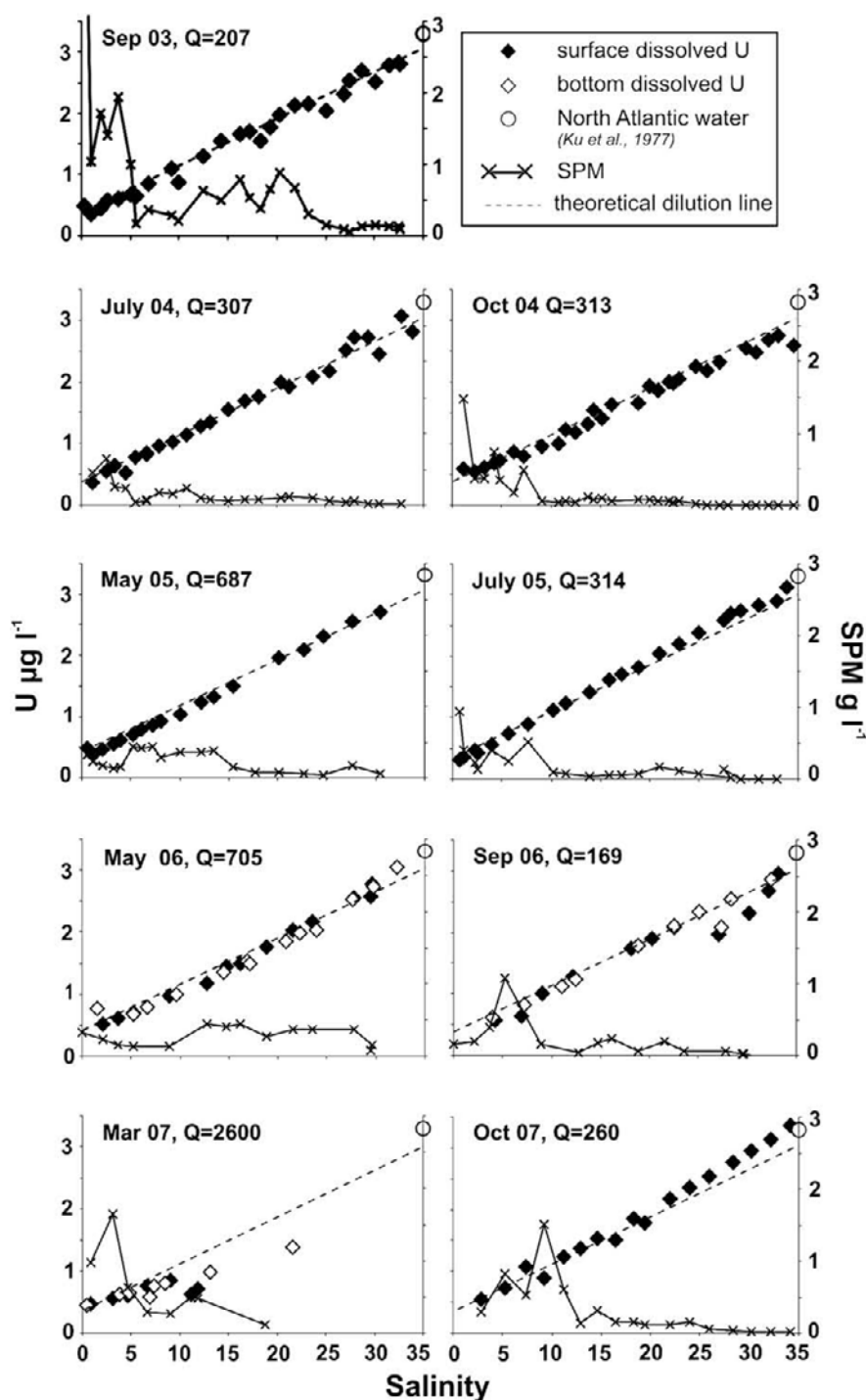


Fig. 3. U_D and SPM distribution along the salinity gradient (0–35) of the Gironde Estuary during the nine sampling cruises (freshwater discharges, Q in $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$). The lines in the graphics represent the theoretical dilution lines between the freshwater and seawater end-members. Deviation of measured concentrations from these lines suggests either addition or subtraction.

3.2. SPM and DIP distribution along the salinity gradient

Relation between spatial distribution and concentrations of SPM, hydrological conditions and intrusion of saline waters in the Gironde Estuary are well-documented (Jouanneau et al., 1983; Elbaz-Poullichet et al., 1984; Sottolichio and Castaing, 1999). In the present study, maximum SPM concentrations in surface water (6000 mg l^{-1} ; September 2003) were generally

observed during severe drought level and the presence of the MTZ is mainly localized from freshwater to a mid-salinity range to $S = 15\text{--}20$ due to low fluvial water discharges (Figs. 3–5). In May 2005 and 2006 (REAGIR3, GIMERCAD1), maximum concentrations were observed at mid-salinity range, probably caused by low/mean water levels. Afterwards, concentrations decreased roughly until values less than 10 mg l^{-1} (seawater end-member; Figs. 3–5).

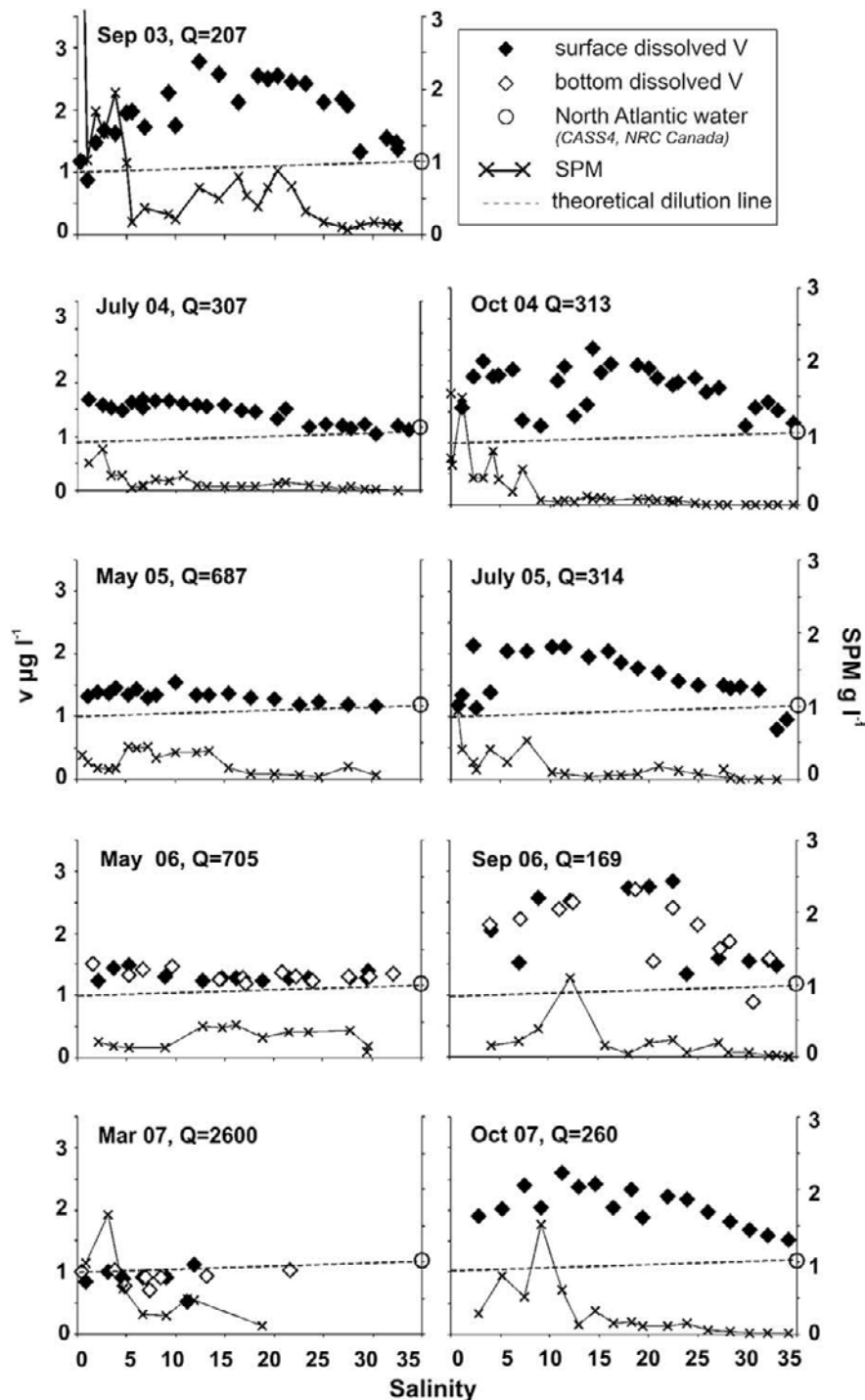


Fig. 4. V_p and SPM distribution along the salinity gradient (0–35) of the Gironde Estuary during the nine sampling cruises (freshwater discharges, Q in $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$). The lines in the graphics represent the theoretical dilution lines between the freshwater and seawater end-members. Deviation of measured concentrations from these lines suggests either addition or subtraction.

In October 2007, DIP concentrations along the salinity gradient showed a typical bell-shaped distribution, with decreasing concentrations towards the higher salinity corresponding to seawater dilution (Fig. 6; Deborde et al., 2007).

3.3. Uranium distribution along the salinity gradient

Dissolved U concentrations measured for the 9 longitudinal profiles ranged from 0.32 to $3.37 \mu\text{g l}^{-1}$ and were similar for both

surface and bottom water of the same salinity (Fig. 3). (s.d. < 5%; cf. May 2006, October 2006, September 2007). Note that these concentrations are in the same range as those observed by Windom et al. (2000) in other estuaries. In the Gironde Estuary, U_p concentrations at the main freshwater end-member (Garonne River, contributing $\sim 70\%$ of freshwater and $\sim 80\%$ of dissolved U) were clearly lower ($0.50 \pm 0.10 \mu\text{g l}^{-1}$) than the seawater end-member ($3.3 \pm 0.3 \mu\text{g l}^{-1}$; $S = 34.1$), which reached slightly lower concentrations than typical values of North Atlantic oceanic

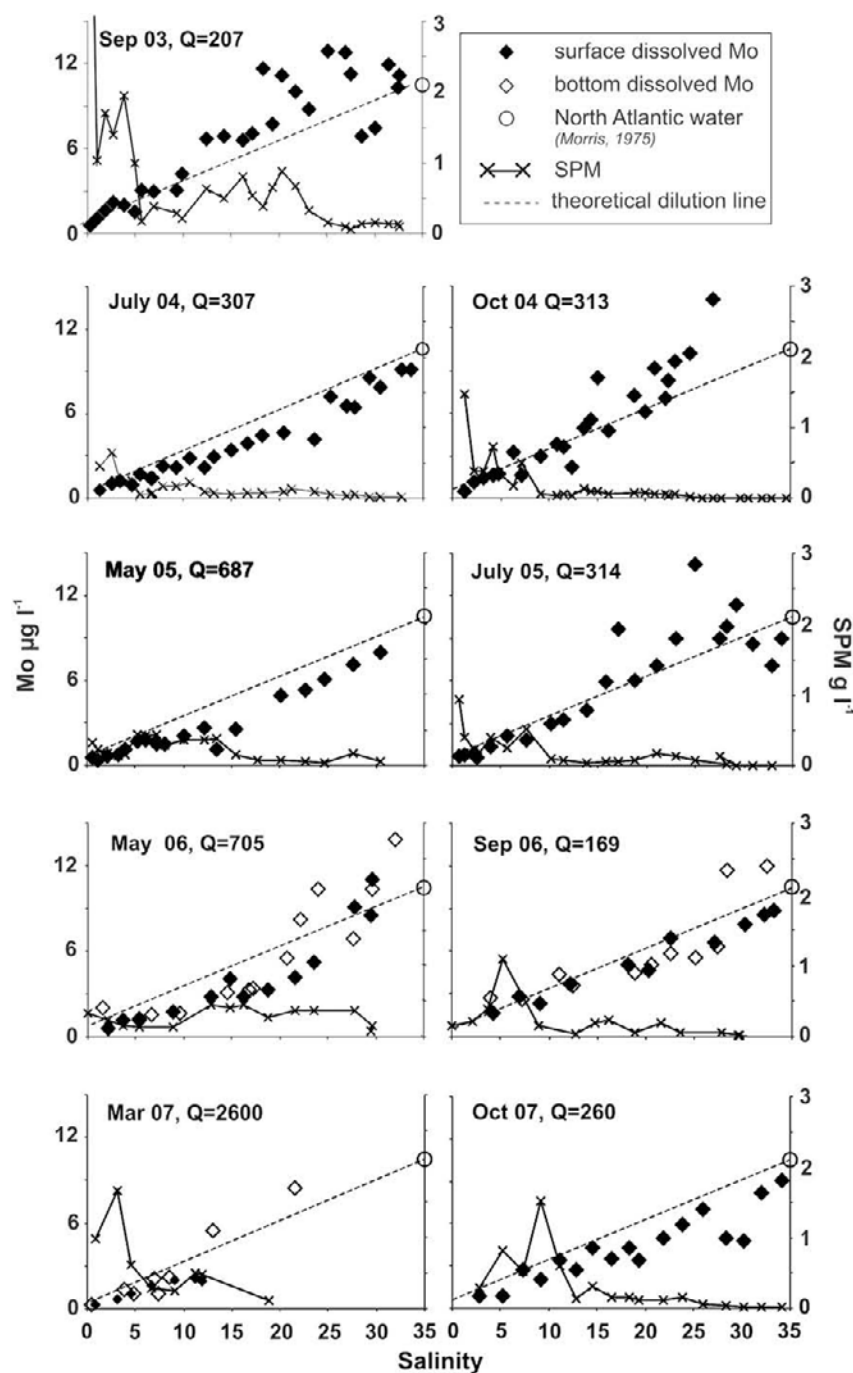


Fig. 5. Mo_D and SPM distribution along the salinity gradient (0–35) of the Gironde Estuary during the nine sampling cruises (freshwater discharges, Q in $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$). The lines in the graphics represent the theoretical dilution lines between the freshwater and seawater end-members. Deviation of measured concentrations from these lines suggests either addition or subtraction.

water ($3.36 \mu\text{g l}^{-1}$, Ku et al., 1977), whatever the hydrological situation. Between these two end-members, U_D concentrations followed the theoretical dilution line indicating conservative behaviour whatever the hydrological situation and the MTZ position/intensity. Only at few points in the low salinity range, U_D concentrations plotted below the dilution line (Fig. 3). The differences between measured and expected values ($\sim 0.25 \mu\text{g l}^{-1}$) cannot be explained by analytical uncertainties (Table 1) suggesting that this represents a local and/or temporal anomaly (cf. 4. Discussion).

3.4. Vanadium distribution along the salinity gradient

Dissolved V concentrations were similar in surface and bottom water of the same salinity (s.d. < 6%; cf. May 2006, October 2006, September 2007; Fig. 4). They ranged from $0.89 \mu\text{g l}^{-1}$ to $2.76 \mu\text{g l}^{-1}$ (Fig. 4), which is higher than those measured in the English Channel (0.76 – $1.43 \mu\text{g l}^{-1}$; Auger et al., 1999) and on the Louisiana Shelf (0.32 – $1.70 \mu\text{g l}^{-1}$; Shiller and Mao, 1999). The V_D concentration levels were rather similar (1.0 – $1.5 \mu\text{g l}^{-1}$) in the freshwater and seawater end-members (North Atlantic Coastal Ocean values

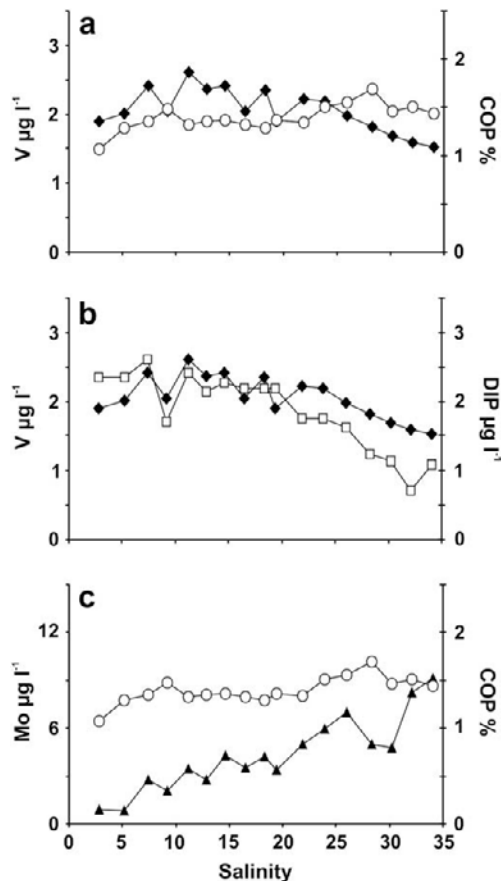


Fig. 6. Relation between a) V_D (black diamond; $\mu\text{g l}^{-1}$) and POC% (white circle), b) V_D (black diamond; $\mu\text{g l}^{-1}$) and DIP (white square) and c) Mo_D (black triangle; $\mu\text{g l}^{-1}$) and POC% (white circle) along the Gironde Estuary salinity gradient (0–35) during October 2007.

$\sim 1.18 \mu\text{g l}^{-1}$, e.g. CASS-4; Morris, 1975) and followed (conservative; e.g. March 2007) or not (non-conservative) the theoretical dilution lines.

3.5. Molybdenum distribution along the salinity gradient

Along the salinity gradient, high spatial differences (factor 30) were observed for both surface and bottom dissolved Mo concentrations (Fig. 5). Surface values ranged from $0.32 \pm 0.2 \mu\text{g l}^{-1}$ at the freshwater end-member to $9.16 \pm 2.0 \mu\text{g l}^{-1}$ at the seawater end-member (North Atlantic Oceanic water $10.5 \mu\text{g l}^{-1}$; Morris, 1975), which are in the same range than those observed in the Chao Phraya River Estuary (0.02 – $11.2 \mu\text{g l}^{-1}$; Dalai et al., 2005). However, in September 2003, October 2004 and July 2005, higher local values (until $14.1 \mu\text{g l}^{-1}$) were observed at high-salinity range (Fig. 5). Between both end-members, Mo_D showed very different distribution patterns with 1) Mo_D concentrations following the theoretical dilution line (conservative behaviour; e.g. July 2004, September 2006), 2) Mo_D subtraction in the mid-salinity range (May 2005, May 2006, October 2007) or 3) Mo_D addition in the mid- to high-salinity range (September 2003, October 2004; Fig. 5). Like U_D and V_D , Mo_D concentrations showed similar distribution patterns in surface and bottom water. However, bottom water values were lower during May 2006 and September 2006, representing 70–100% of surface water concentrations, whereas during March 2007 bottom water values were higher.

4. Discussion

4.1. Uranium

The sampling strategy applied during contrasting freshwater discharges showed profiles where surface and bottom U_D followed the theoretical dilution line between the marine and freshwater end-members, suggesting globally conservative behaviour in the Gironde Estuary, except for locally and temporarily apparent subtraction in the low salinity range (Fig. 3). Conservative U behaviour is coherent with what has been observed for most estuaries (e.g. Windom et al., 2000). However, local subtraction has also been reported in the Amazon shelf (Swarzenski et al., 1995), in the Savannah Estuary (Windom et al., 2000), and in Delaware and Chesapeake estuaries (Sarin and Church, 1994), where it was attributed to important U sequestration in salt marshes (Church et al., 1996). In the Gironde Estuary, previous studies have reported both conservative behaviour inferred from dissolved ^{238}U activities measured in the Gironde fluvial-estuarine system (Saari et al., 2008) and non-conservative U behaviour suggesting U_D removal in the low salinity range (Smith et al., 2001; Audry et al., 2007). This apparent U_D variation may probably reflect variable contributions of the Dordogne River ($0.2 \pm 0.1 \mu\text{g l}^{-1}$; Masson, 2007) or the Garonne River ($0.6 \pm 0.1 \mu\text{g l}^{-1}$; pers. comm.) draining U -rich areas with Permian outcrops (Coynel et al., 2007). However, these anomalies are rather small and do not affect the overall distribution of U_D along the salinity gradient (Fig. 3). The eight U_D profiles obtained during severe drought level to mean freshwater discharge closely followed the dilution line, with increasing amplitude of concentrations (up to 13%) towards the higher salinity (seawater end-member October 2004: $2.7 \mu\text{g l}^{-1}$; October 2007: $3.3 \mu\text{g l}^{-1}$; Fig. 7). Those variations could be attributed to (1) destabilization of uranyl carbonate complex and/or (2) biological uptake and/or (3) U adsorption to metal oxides at the water-sediment interface during tidal flooding over intertidal mud flats (Barnes and Cochran, 1993; Shaw et al., 1994; Church et al., 1996). The equation of the relation $U/\text{salinity}$ (Fig. 7) is slightly different from that reported by Audry et al. (2007), as the authors based the relation on water sampled from salinity 0–19 and on higher riverine end-member concentrations (see discussion above). Thus, the hypothesis of U sequestration by the sediment of the Gironde Estuary up to 50% (Audry et al., 2007) could be considered as over-estimated, as no clear subtractive behaviour was observed along the salinity gradient during the nine cruises discussed here. However, similar surface and bottom U_D concentrations (Fig. 3) support the work of Audry

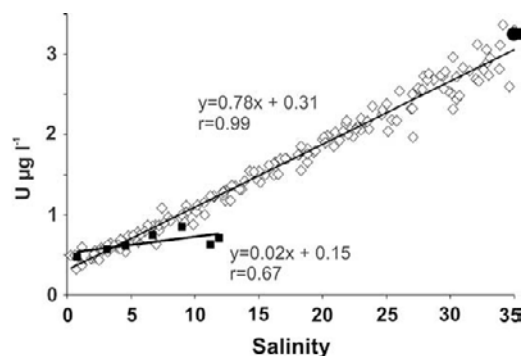


Fig. 7. Distributions of U_D concentrations ($\mu\text{g l}^{-1}$) measured along the salinity gradient. White diamonds represent concentrations measured during drought level to medium freshwater discharge conditions. Black squares represent concentrations measured during the flood event (March 2007). Black circle corresponds to the U_D of North Atlantic Oceanic water.

et al. (2007) reporting (1) negligible inputs of U from sediments, soft mud and dredging-related resuspension (estimated at 0.5%, 0.3% and 0.2%, respectively, of annual fluvial inputs) and (2) inefficient U sequestration.

During the flood event (March 2007), the distribution showed lower concentrations with larger amplitude (from salinity 1–12; Fig. 7) suggesting a non-conservative and un-equilibrated distribution. In fact, during floods, the water residence time in the estuary is greatly reduced, and may be not sufficient to allow complete mixing of freshwater masses of different origins (Dordogne and Garonne Rivers) and saltwater bodies, inducing a more 'noisy' distribution between the two end-members.

4.2. Vanadium

V_D behaviour along estuarine salinity gradients is few documented and has never been studied in the Gironde Estuary. The present data set aims at documenting V_D behaviour in this estuary for contrasting freshwater discharges. Distributions of V_D in the Gironde Estuary followed non-conservative behaviour. During drought and very low water discharge, the summits of the bell-shaped concentration curves (similar to those observed for Cd; Kraepiel et al., 1997; Michel et al., 2000) along the salinity gradient reached values of up to ~3-fold higher than values expected for conservative mixing (Fig. 4). Moreover, during mean river discharge and especially during flood, the V_D distribution along the salinity gradient followed the theoretical dilution line, probably due to a higher dilution of added V_D . This V_D behaviour is original and clearly different from those reported for the Rhine, Scheldt (Van der Sloot et al., 1985) and Tamar estuaries (Van Den Berg et al., 1991), where V_D behaviour was non-conservative at low salinity and conservative in the mid- to high-salinity range. The sampling strategy revealed sensitivity of apparent V_D behaviour to freshwater discharge, i.e. addition becoming more visible during low freshwater discharge.

Vanadium addition in both, surface and bottom waters of the Gironde Estuary suggests that V dissolution prevails over sequestration (September 2006, Fig. 4), even in bottom water of the MTZ which may be strongly O_2 -depleted during low discharges (Robert et al., 2004; Audry et al., 2006). In the water column, increasing V_D during drought to low/mean freshwater discharge may reflect (1) release from OM degradation and/or (2) desorption from SPM. In general, OM degradation in the MTZ results in decreasing POC in surface SPM. Thus, increasing V_D with decreasing POC was reported to result from OM degradation processes in the Tyro and Bannock Basins (Van der Weijden et al., 1990). However, no such relationship between V_D and POC occurred during different situations (e.g. October 2007, typical low water level, Fig. 6a), suggesting that OM degradation in the water column did not release V_D , in contrast to the soft mud of the Gironde Estuary freshwater reaches (Audry et al., 2006). In this estuary, additive phosphate behaviour along the salinity gradient has been attributed to predominance of desorption over OM degradation (Deborde et al., 2007). As $VO_2(OH)^{2-}$ and HPO_4^{2-} are two oxi-anions stereochemically close, we compared their distribution during October 2007 (Fig. 6b). Increasing V_D and phosphate concentrations suggest that V_D addition may be due to desorption processes occurring in the water column. The V desorption efficiency in the MTZ was experimentally assessed by mixing freshwater SPM with river water and low salinity estuarine water ($S < 2$; pers. comm.), suggesting that 10–50% of particulate V may be desorbed from Garonne River particles by saline estuarine waters, depending on salinity and solid/liquid mixing proportions (reflecting SPM concentrations). Applying this range of potential desorption to the V_D data of the different profiles in the estuary and to particulate V fluxes in the Garonne River, suggested that desorption of 10–20% of particulate V entering the estuary may

explain the observed addition in the salinity gradient and the resulting net V_D fluxes at the estuary mouth (see below). Accordingly, long water and particle residence time during low discharge may result in maximum V_D desorption from SPM and explain the observed maximum V_D concentrations in the mid-salinity range.

4.3. Molybdenum

Few studies have reported distribution of Mo_D along estuarine salinity gradients (Head and Burton, 1970; Dalai et al., 2005; Audry et al., 2007). Based on monthly monitoring profiles on the Chao Phraya Estuary, Dalai et al. (2005) have reported a strong linear relationship between salinity and Mo_D , suggesting conservative behaviour. In the present study, the sampling strategy revealed a wide range of different Mo_D behaviours: rather conservative (July 2005, September 2006; Audry et al., 2007), additive (September 2003, October 2004) and subtractive (July 2004, May 2005, May 2006 and October 2007; Fig. 5). During severe drought, both subtractive (September 2006) and additive (September 2003) profiles were observed, suggesting that hydrological conditions alone cannot explain Mo_D distributions along the salinity gradient of the Gironde Estuary (which was observed for V_D distribution). Therefore, intra-estuarine processes were investigated in order to better understand the variable Mo_D behaviours.

4.3.1. Additive Mo distribution

The possible processes contributing to additional Mo_D in the estuary are 1) OM degradation in the MTZ, 2) Mo_D release from reductive processes in the MTZ, 3) Mo_D desorption from SPM and 4) inputs from sediment. During early diagenesis, Mo is partly released from OM degradation into the soft mud pore water and from reduction of Mn-oxides (Robert, 2003; Audry et al., 2006). The first hypothesis of Mo release associated to OM degradation in the MTZ (such as early diagenesis), was investigated by comparing POC and Mo_D (as for V, part 4.2.). Distributions did not exhibit close correlation (Fig. 6c), suggesting low Mo_D release from OM mineralisation in the downstream part of MTZ, where addition occurred. Reductive dissolution of Mn-oxides and increasing Mn^{2+} concentrations (Mn_D) in bottom water (reduction of Mn_xO_y to Mn^{2+} ; e.g. Froelich et al., 1979) were reported for the Gironde Estuary (e.g. Audry et al., 2006). As Mo release from Mn-oxides reduction occurs in the Gironde Estuary sediments (Robert, 2003), we tested this hypothesis for the present data set from the MTZ. For this, we plotted Mo_D and Mn_D concentrations (measured by solid-liquid extraction and GF-AAS measurement) in the Gironde sediments together with the respective values in surface and bottom water of the nine profiles (Fig. 8). In the sediments, two relationships linking Mo_D to OM degradation on the one hand and to Mn-oxides reduction on the other were clearly established (Fig. 8a; Robert, 2003). Although Mn_D concentrations in the water column were clearly lower than in the sediment, Mo_D tended to increase with increasing Mn_D , as observed in the sediment. The relationship however was not significant (Fig. 8b). Accordingly, OM degradation and reductive processes in the MTZ may probably play a minor role in the observed Mo_D addition.

Maximum Mo adsorption on oxide minerals occurs in oxic environment at pH 3–5 and at low ionic strength (Wedepohl, 1978; Shimmield and Price, 1986; Goldberg et al., 1996; Goldberg and Forster, 1998). Thus, in estuarine waters with pH ~7–8 and increasing ionic strength, Mo is likely to be desorbed from SPM to the water (Jones, 1975; Smedley et al., 2002). We estimated the excess Mo concentrations to those expected from the theoretical mixing line to 30–40% of the theoretical value (up to 110% in October 2004). The experimentally assessed potential desorption of Mo from Garonne River SPM suggested that 10–50% of particulate

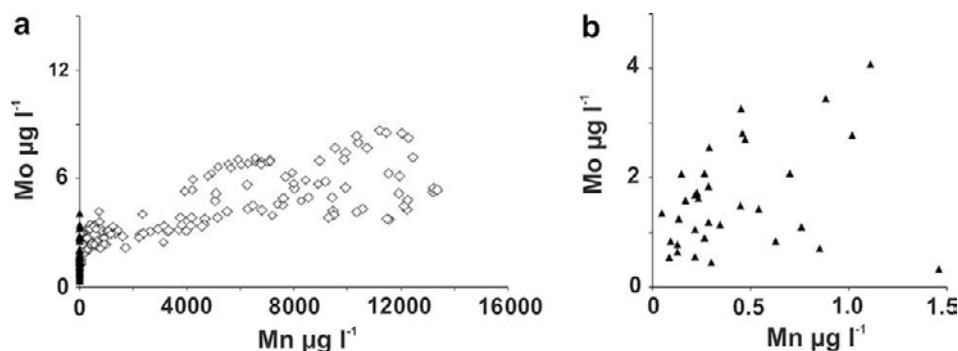


Fig. 8. a) Mo_D and Mn_D concentrations ($\mu\text{g l}^{-1}$) measured in the MTZ for the nine profiles (black triangle) and in the sediments (white diamond) of the Gironde Estuary. The dotted line shows Mo_D release from OM degradation and the dashed line the Mo_D release from reduction of Mn-oxides in sediments (Robert, 2003). b) Zoom on Mo_D and Mn_D concentrations ($\mu\text{g l}^{-1}$) in surface water of the MTZ during the nine profiles (black triangle).

Mo concentrations may be desorbed in the turbidity gradient, depending on SPM concentrations (pers. comm.). In contrast to the case of V, the potential Mo desorption from fluvial SPM cannot account for the 'excess Mo_D ' along the salinity gradient, even when assuming the maximum potential desorption of 50%. Thus, in the Gironde Estuary, SPM desorption probably contributes to Mo_D addition, but is far from being the only/dominant process involved.

In contrast to U_D and V_D , higher Mo_D concentrations were observed in bottom water than in surface water for $S \leq 10$, during the flood (March 2007; Fig. 6), and also during subtractive distribution in May and September 2006 along the whole salinity gradient, suggesting Mo_D release from sediment to the water column (estimated to 0.17 t year by Audry et al., 2006). This may probably be attributed to (1) release of interstitial water and/or (2) resuspension of Mo-rich particles, which may be degraded in the water column. Suboxic sediments were reported to show Mo enrichments in polyframboids (iron sulfide microniches) together with low levels of redox sensitive metals (e.g. U, V), suggesting Mo sequestration from porewater even before pyrite concretion form by sulphate reduction (Elbaz-Poulichet et al., 2005; Tribouillard et al., 2008). In the Gironde sediments, intense sulphate reduction provides enough sulphide ($>0.1 \mu\text{M}$) to support precipitation of authigenic Mo sulfides (with or without Fe; Zheng et al., 2000; Audry et al., 2006, 2007). Thus, assuming that Mo-rich particles may theoretically form in the sub-oxic zone of Gironde sediments, remobilisation of surface sediment (e.g. dredging activity) could transfer these particles into the oxic bottom water, where their dissolution may induce addition of Mo_D , whereas U_D and V_D remain unchanged.

4.3.2. Subtractive Mo distribution

Subtractive Mo behaviour was observed in July 2004, May 2005, May 2006 and October 2007 (Fig. 5). Possible explanations for the apparent Mo_D subtraction are (1) biological uptake and/or (2) Mo sequestration by sediments. Molybdenum is known as a central component of several enzymes essential to N_2 -fixing cyanobacteria plankton (e.g. Bortels, 1930; Fogg and Wolfe, 1954; Marino et al., 2003). Thus, local Mo_D depletion in high Mo_D -concentrated seawater can be connected to temporary phytoplankton uptake (e.g. Manheim and Landergren, 1978), as observed in the Southampton Waters (Head and Burton, 1970). In the Gironde Estuary, Chlorophyll-a distribution along the salinity gradient suggests primary production from spring to beginning of autumn, except in the MTZ (Irigoien and Castel, 1997). Accordingly, primary production in spring and autumn may also contribute to the Mo_D subtraction observed downstream from the MTZ in July 2004, May 2005, May 2006, September 2006 and October 2007 (Fig. 5).

In the Gironde Estuary, Mo removal from sediment porewater was observed but considered negligible for the water column as Mo_D distribution was close to the theoretical dilution line (Audry et al., 2007). However, we revised this hypothesis and considered that Mo sequestration could influence Mo distribution because (1) variable Mo behaviours including subtraction were observed for the present data set and (2) precipitation of authigenic Mo is possible (see discussion part 4.3.1.). Still, quantifying Mo removal remains difficult as the approach described by Li and Chan (1979) cannot be applied (Mo-salinity relationship intercept corresponds to negative concentrations). We proposed then a different method to estimate the daily 'deficit Mo' over a whole profile by subtracting the observed Mo_D concentrations to the theoretical concentrations given by the conservative distribution between end-members. The removal rate R (kg d^{-1}), defined as: $R = Q \cdot d\text{Mo}$, where Q is the daily river water input into the estuary ($690 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, May 2005), and $d\text{Mo}$ the mean 'Mo deficit' over the salinity gradient ($1.23 \mu\text{g l}^{-1}$, May 2005), was of 73 kg d^{-1} . This removal represents more than seven times the dissolved fluvial inputs (10 kg d^{-1} , unpublished data) and points out the major role of the ocean end-member on the Gironde Mo_D distribution. However, this removal rate was not estimated over a year because of the highly dynamic Mo_D distributions.

4.3.3. Molybdenum balance

For the nine profiles, Mo_D distributions changed from addition to subtraction, showing concentrations with similar distances from the theoretical dilution line (e.g. September 2003 and 2006, Fig. 6). Daily Mo_D addition may be estimated from the difference between net Mo_D fluxes at the estuary mouth (Boyle et al., 1974, 1982; see next Section 4.4.) and daily gross Mo_D fluxes entering the estuary. In July 2005, addition observed was of 190 kg d^{-1} (e.g. net fluxes 200 kg d^{-1} , gross fluxes 10 kg d^{-1}) which suggested that, at the daily timescale, Mo_D addition (July 2005) and subtraction (May 2005, 73 kg d^{-1}) over three months may be relatively of the same order. Assuming that none of these processes prevails, one may suppose that addition and subtraction widely counterbalance each others and that the resulting mass balance is not very different from what would be expected from conservative behaviour. Accordingly, the observed highly dynamic Mo_D behaviour probably results from the concomitance of reversible release/sequestration cycles involving SPM, biological uptake and water-sediment exchanges, and their kinetic balances with respect to water residence time (up to 3 months; Castaing and Jouanneau, 1979; Saari et al., 2008). Physical estuarine phenomena such as tidal currents, tidal bore, flood events or dredging play an important role on

estuarine sediment resuspension and may therefore act as key factors influencing the Mo_D distribution between the riverine and ocean end-members of this estuary.

4.4. Estimation of net fluxes to the coastal ocean

Estuaries play a major role in trace metal transport at the continent–ocean interface. Dissolved and particulate metal fluxes entering the Gironde Estuary (gross fluxes) have been well-documented due to long-term high-resolution observation at the different fluvial entries (e.g. Schäfer et al., 2002; Masson et al., 2006). However, estimating metal fluxes exported to the coastal area (net fluxes) is more difficult, as it depends on the metal behaviour. Furthermore, the existing net flux estimates only take into account dissolved net fluxes of elements with conservative (e.g. U) or additive behaviour (e.g. Cd; Michel et al., 2000). In the case of a strictly conservative behaviour (U) the dissolved net fluxes are equivalent to the dissolved gross fluxes. From the gross fluxes calculated on the Garonne River at the upstream limit of tidal influence, we estimated annual U net fluxes of 13.2 t yr^{-1} , 15.5 t yr^{-1} , 6.5 t yr^{-1} , 8.0 t yr^{-1} and 8.2 t yr^{-1} , respectively, in 2003, 2004, 2005, 2006 and 2007.

In the case of additive metal behaviour, flux estimates are based on an assumed conservative distribution in the 20–35 salinity range leading to a theoretical concentration at $S = 0$ (C_0). The net flux is then estimated from the following equation: $F_{\text{net}} = Q_{\text{dwd}} \times C_0$, with Q_{dwd} : daily water discharge at the instant t and C_0 : theoretical concentration at salinity 0 (Boyle et al., 1974, 1982; Meybeck, 1992; Michel et al., 2000). Accordingly, V_D daily net fluxes estimated from the different profiles ranged from 46 kg d^{-1} (July 2004) to 207 kg d^{-1} (March 2007). Although extrapolation to the annual timescale probably bears important uncertainty, the orders of magnitude of annual V_D net fluxes were estimated from the relation between daily water discharges and daily net fluxes measured during the sampling campaigns (equation type potency, $y = 65,447 x^{-0.565}$, $R = 0.88$). The results obtained suggest that during the studied period, annual V_D net fluxes were rather similar from one year to the other: 33.6 t yr^{-1} (2003), 36.7 t yr^{-1} (2004), 31.3 t yr^{-1} (2005), 32.3 t yr^{-1} (2006) and 33.5 t yr^{-1} (2007). In contrast, Mo_D annual net fluxes were not estimated because of the variable behaviour of this element. However, we estimated daily net Mo_D fluxes from additive metal profiles (Fig. 6) to 150 kg d^{-1} and 200 kg d^{-1} for severe drought water discharges (September 2003) and low water discharge (July 2005) respectively. Those increasing daily net fluxes with low, increasing freshwater discharges ($\sim 100 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) reflect the relevance of sediment resuspension processes on the Gironde Estuary Mo_D balance.

5. Conclusion

The sampling strategy described in this paper pointed out the relevance of monitoring during contrasting water discharge situations in order to understand the variability of trace metal distribution. The acquisition of the present rare database on U_D , V_D and Mo_D behaviour in estuarine environments allows distinguishing three different distribution patterns for these oxy-anions in the Gironde Estuary. Uranium showed a permanently conservative behaviour, whereas the apparent V_D was more or less additive as a function of river water discharges, involving residence time and V_D desorption from SPM in the MTZ. Molybdenum distribution was highly variable suggesting both additive and subtractive behaviours implying concurrent and/or reversible processes occurring simultaneously with different kinetics.

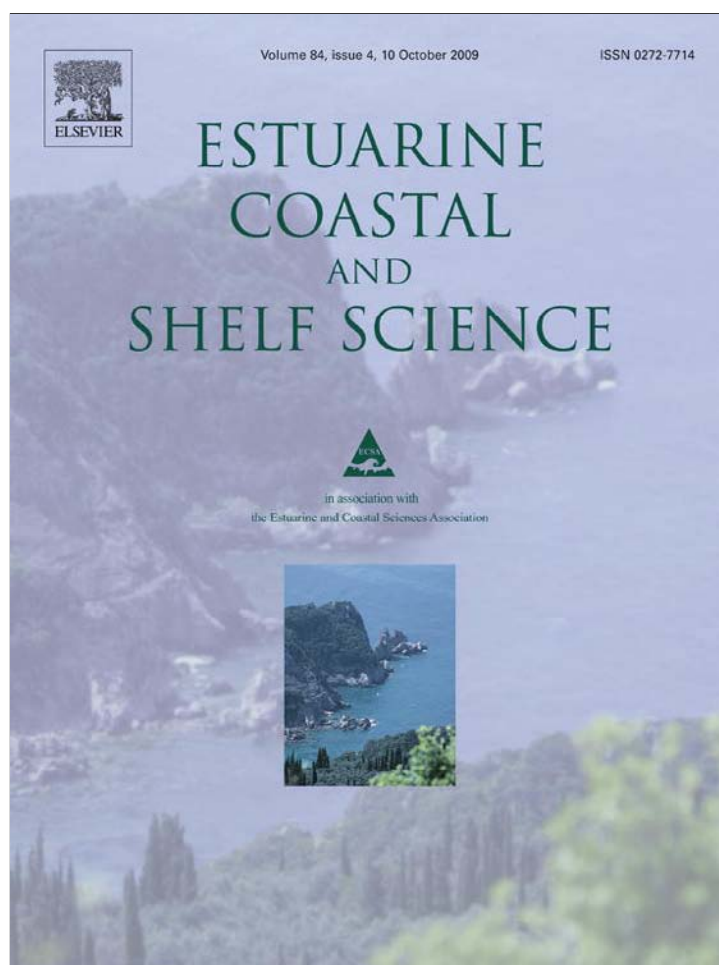
Acknowledgements

The authors thank the captains and the crews of the R.V. “Côtes de la Manche” (INSU CIRMAT), M. Masson, S. Castelle and N. Girardot, C. Bossy, J.P. Lissalde and our Master students for their support during sampling and H. Derriennic and G. Lavaux for laboratory analyses. This study was supported by the Agence de l'Eau Adour/Garonne (DefiCadmium), the CG17, CG33, the 'Entente Lot' and the INSU CNRS EC2CO CYTRIX (VOTR)TRAM project).

References

- Allen, G.P., Sauzay, G., Castaing, P., Jouanneau, J.M., 1977. Transport and deposition of suspended sediments in the Gironde Estuary, France. In: Wiley, M. (Ed.), *Estuarine Processes*. Academic Press, New York, pp. 63–81.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., Chaillou, G., Robert, S., 2006. Early diagenesis of trace metals (Cd, Cu, Co, Ni, U, Mo, and V) in the freshwater reaches of a macrotidal estuary. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70, 2264–2282.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., Robert, S., 2007. Effect of estuarine sediment resuspension on early diagenesis, sulphide oxidation and dissolved molybdenum and uranium distribution in the Gironde Estuary, France. *Chemical Geology* 238, 149–167.
- Auger, Y., Bodineau, L., Leclercq, S., Wartel, M., 1999. Some aspects of vanadium and chromium chemistry in the English Channel. *Continental Shelf Research* 19, 2003–2018.
- Barnes, C.E., Cochran, J.K., 1993. Uranium geochemistry in estuarine sediments: controls on removal and release processes. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 57, 555–569.
- Bortels, H., 1930. Über die Bedeutung des Molybdäns für stickstoffbindende Nostocaceen. *Archeology. Microbiology* 11, 155–186.
- Boyle, E.A., Collier, R., Dangler, A.T., Edmond, J.M., Ng, A.C., Stallard, R.F., 1974. On the chemical mass-balance in estuaries. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 38, 1719–1728.
- Boyle, E.A., Huested, S.S., Grant, B., 1982. The chemical mass-balance of the Amazon plume. II. Copper, nickel and cadmium. *Deep-Sea Research* 29, 1355–1364.
- Castaing, P., Jouanneau, J.M., 1979. Temps de résidence des eaux et des suspensions dans l'estuaire de la Gironde. *Journal Recherche Océanographie* IV, 41–52.
- Castaing, P., 1981. Le transfert à l'océan des suspensions estuariennes. *Cas de la Gironde. Thèse d'état Sciences Naturelles Université Bordeaux I*, 530 pp.
- Church, T.M., Sarin, M.M., Fleisher, M.Q., Ferdelman, T.G., 1996. Salt marshes: an important coastal sink for dissolved uranium. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 60, 3879–3887.
- Collier, R.W., 1985. Molybdenum in the Northeast Pacific Ocean. *Limnology and Oceanography* 30, 1351–1354.
- Coyne, A., Schäfer, J., Dabrin, A., Girardot, N., Blanc, G., 2007. Groundwater contributions to metal transport in a small river affected by mining and smelting waste. *Water Research* 41, 3420–3428.
- Dalai, T.K., Nishimura, K., Nozaki, Y., 2005. Geochemistry of molybdenum in the Chao Phraya River Estuary, Thailand: Role of suboxic diagenesis and porewater transport. *Chemical Geology* 218, 189–202.
- Deborde, J., Anschütz, P., Chaillou, G., Etcheber, H., Commarieu, M.-V., Lécroart, P., Abril, G., 2007. The dynamics of phosphorus in turbid estuarine systems: example of the Gironde Estuary (France). *Limnology and Oceanography* 52, 862–872.
- Directive 2000/60/EC of the European parliament and of the council. Official Journal of the European Communities, 2000.
- Elbaz-Poulichet, F., Holliger, P., Huang, W.W., Martin, J.M., 1984. Lead cycling in estuaries, illustrated by the Gironde Estuary, France. *Nature* 308, 409–414.
- Elbaz-Poulichet, F., Seidel, J.L., Jézéquel, D., Metzger, E., Prévot, F., Simonucci, C., Sarazin, G., Viollier, E., Etcheber, H., Jouanneau, J.M., Weber, O., Radakovitch, O., 2005. Sedimentary record of redox-sensitive elements (U, Mn, Mo) in a transitory anoxic basin (the Thau lagoon, France). *Marine Chemistry* 95, 271–281.
- Emerson, S.R., Huested, S.S., 1991. Ocean anoxia and the concentrations of molybdenum and vanadium in seawater. *Marine Chemistry* 34, 177–196.
- Etcheber, H., Relexans, J.C., Beliard, M., Weber, O., Buscail, R., Heussner, S., 1999. Distribution and quality of sedimentary organic matter on the Aquitanian margin (Bay of Biscay). *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 46, 2249–2288.
- Fogg, G.E., Wolfe, M., 1954. Nitrogen metabolism of blue green algae. *Symposium Society for General Microbiology* 4, 99–125.
- French National Mussel Watch programme RNO, Ifremer, Bulletin 2006. <<http://www.ifremer.fr/envlit/documents/bulletins/rno>>.
- Froelich, P.N., Klunkhammer, G.P., Bender, M.L., Luedtke, N.A., Heath, G.R., Cullen, D., Dauphin, P., Hammond, D., Hartman, B., Maynard, V., 1979. Early oxidation of organic matter in pelagic sediments of the eastern equatorial Atlantic: suboxic diagenesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 43, 1075–1090.
- Goldberg, S., Forster, H.S., Godfrey, C.L., 1996. Molybdenum adsorption on oxides, clay minerals and soils. *Soil Science Society of America Journal* 60, 425–432.
- Goldberg, S., Forster, H.S., 1998. Factors affecting molybdenum adsorption by soils and minerals. *Soil Sciences* 163, 109–114.

- Goldberg, S., Lesch, S.M., Suarez, D.L., 2002. Predicting molybdenum adsorption by soils using soil chemical parameters in the Constant Capacitance Model. *Soil Science Society of America Journal* 66, 1836–1842.
- Hayes, M.O., 1975. Morphology of sand accumulation in estuary: an introduction to the symposium. In: Cronin, L.E. (Ed.), *Estuarine Research*, vol. II. Academy Press, New York, pp. 3–22.
- Head, P.C., Burton, J.D., 1970. Molybdenum in some ocean and estuarine waters. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 50, 439–448.
- Howarth, R.W., Cole, J.J., 1985. Molybdenum availability, nitrogen limitation, and phytoplankton growth in natural waters. *Science* 229, 653–655.
- Irigoin, X., Castel, J., 1997. Light limitation and distribution of chlorophyll pigments in a highly turbid estuary: the Gironde (SW France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 44, 507–517.
- Jandhyala, B.S., Hom, G.J., 1983. Physiological and pharmacological properties of vanadium. *Life Sciences* 33, 1325–1340.
- Jones, G.B., 1975. Molybdenum in a nearshore and estuarine environment, North Wales. *Estuarine and Coastal Marine Science* 2, 185–189.
- Jouanneau, J.M., Latouche, C., 1981. The Gironde Estuary. In: Fürchtbauer, H., Lisitzyn, A.P., Millerman, J.D., Seibold, E. (Eds.), *Contribution to Sedimentology*. Schweizerbart, E. Stuttgart, pp. 1–115.
- Jouanneau, J.M., Etcheber, H., Latouche, C., 1983. Impoverishment and decrease of metallic elements associated with suspended matter in the Gironde Estuary. *NATO Conference Series*, 4. *Marine Sciences* 9, 245–263.
- Kingston, H.M., Barnes, I.L., Brady, T.J., Rains, T., 1978. Separation of eight transition elements from alkali and alkaline earth elements in estuarine and seawater with chelating resin and their determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Analytical Chemistry* 50, 64–70.
- Kraepiel, A.M.L., Chiffoleau, J.F., Martin, J.M., Morel, F.M.M., 1997. Geochemistry of trace metals in the Gironde Estuary. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61, 1421–1436.
- Ku, T.L., Knauss, K.G., Mathieu, G.G., 1977. Uranium in open ocean: concentration and isotopic composition. *Deep-Sea Research* 24, 1005–1017.
- Li, Y.H., Chan, L.-H., 1979. Desorption of Ba and ²²⁶Ra from river-borne sediments in the Hudson Estuary. *Earth Planetary Science Letters* 43, 343–350.
- Manheim, F.T., Landergrén, S., 1978. Molybdenum. *Handbook of Geochemistry*. V. II/5, Sections 42 B–O. Springer-Verlag, Berlin.
- Marino, R., Howarth, R.W., Chan, F., Cole, J.J., Likens, G.E., 2003. Sulfate inhibition of molybdenum-dependent nitrogen fixation by planktonic cyanobacteria under seawater conditions: A non-reversible effect. *Hydrobiologia* 500, 277–293.
- Masson, M., 2007. Sources et transferts métalliques dans le bassin versant de la Gironde. Réactivité et mécanismes géochimiques dans l'estuaire fluvial de la Gironde, PhD thesis, Université Bordeaux1, 366 pp.
- Masson, M., Blanc, G., Schäfer, J., 2006. Geochemical signals and source contributions to heavy metal (Cd, Zn, Pb, Cu) fluxes into the Gironde Estuary via its major tributaries. *Science of the Total Environment* 370, 133–146.
- Meybeck, M., 1992. Etablissement des flux polluants. Rapport inter-agences. Agence de l'eau. December 1992.
- Michel, P., Boutier, B., Chiffoleau, J.F., 2000. Net fluxes of dissolved arsenic, cadmium, copper, zinc nitrogen and phosphorus from the Gironde Estuary (France): seasonal variations and trends. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 51, 451–462.
- Morris, A.W., 1975. Dissolved molybdenum and vanadium in the northeast Atlantic Ocean. *Deep-Sea Research and Oceanographic Abstracts* 22, 49–54.
- Murphy, J., Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 27, 31–36.
- Osmond, J.K., Ivanovich, M., 1992. Uranium-series mobilization and surface hydrology. In: Ivanovich, M., Harmon, R.S. (Eds.), *Uranium Series Disequilibrium*, second ed., pp. 259–289.
- Patterson, C.C., Settle, D.M., 1976. The reduction of orders of magnitude errors in lead analyses of biological materials and natural waters by evaluating and controlling the extent and sources of industrial lead contamination introduced during sample collecting, handling, and analysis. *National Bureau of Standards Special Publication* 422, 321–351.
- Robert, S., 2003. Bilan géochimique des éléments traces métalliques dans l'estuaire de la Gironde. Réactivité interne et anthropisation. PhD thesis, Institut National Polytechnique de Toulouse, Toulouse, 342 pp.
- Robert, S., Blanc, G., Schäfer, J., Lavau, G., Abril, G., 2004. Metal mobilization in the Gironde Estuary (France): the role of the soft mud layer in the maximum turbidity zone. *Marine Chemistry* 87, 1–13.
- Saari, H.K., Schmidt, S., Huguet, S., Lanoux, A., 2008. Spatio temporal variation of dissolved ²³⁸U in the Gironde fluvial estuarine system (France). *Journal of Environmental Radioactivity* 99, 426–435.
- Sadiq, M., 1988. Thermodynamic solubility relationships of inorganic vanadium in the marine environment. *Marine Chemistry* 23, 87–96.
- Sarin, M.M., Church, T.M., 1994. Behaviour of uranium during mixing in the Delaware and Chesapeake estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 39, 619–631.
- Schäfer, J., Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Maneux, E., Etcheber, H., 2002. Ten year observation of the Gironde tributary fluvial system: fluxes of suspended matter, particulate organic carbon and cadmium. *Marine Chemistry* 79, 229–242.
- Shaw, T.J., Sholkovitz, E.R., Klinkhammer, G., 1994. Redox dynamics in the Chesapeake Bay: the effect on sediment/water uranium exchange. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 58, 2985–2995.
- Shiller, A.M., Mao, L., 1999. Dissolved vanadium on the Louisiana Shelf: effect of oxygen depletion. *Continental Shelf Research* 19, 1007–1020.
- Shimmield, G.B., Price, N.B., 1986. The behaviour of molybdenum and manganese during early sediment diagenesis offshore Baja California, Mexico. *Marine Chemistry* 19, 261–280.
- Smedley, P.L., Nicolli, H.B., Macdonald, D.M.J., Barros, A.J., Tullio, J.O., 2002. Hydro-geochemistry of arsenic and other inorganic constituents in groundwaters from La Pampa, Argentina. *Applied Geochemistry* 17, 259–284.
- Smith, K.J., Organo, C., Leon Vintro, L., Mitchell, P.L., 2001. Evidence for the non-conservative behaviour of uranium in the Gironde Estuary (France) during low river discharge. In: d'Elbée, J., Prouzet, P. (Eds.), *Océanographie du Golfe de Gascogne*, Actes de Colloques 31, VIIIth International Colloquium on the Oceanography of the Biscay Gulf, 4–6 April 2000. Editions Ifremer, Biarritz, pp. 297–302.
- Sottolichio, A., Castaing, P., 1999. A synthesis on seasonal dynamics of highly-concentrated structures in the Gironde Estuary. *Comptes Rendus de l'Académie de Sciences – Serie IIa: Sciences de la Terre et des Planètes* 329, 795–800.
- Swarzenski, P.W., McKee, B.A., Booth, J.G., 1995. Uranium geochemistry on the Amazon Shelf: chemical phase partitioning and cycling across a salinity gradient. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 59, 7–18.
- Toole, J., Baxter, M.S., Thomson, J., 1987. The behaviour of uranium isotopes with salinity change in three UK estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 25, 283–297.
- Tribovillard, N., Lyons, T.W., Riboulleau, A., Bout-Roumazielle, V., 2008. A possible capture of molybdenum during early diagenesis of dysoxic sediments. *Bulletin Société Géologique de France* 179, 3–12.
- Van Den Berg, C.M.G., Khan, S.H., Daly, P.J., Riley, J.P., Turner, D.R., 1991. An electrochemical study of Ni, Sb, Se, Sn, U and V in the estuary of the Tamar. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 33, 309–322.
- Van der Sloot, H.A., Hoede, D., Wijkstra, J., 1985. Anionic species of V, As, Se, Mo, Sb, Te and W in the Scheldt and Rhine estuaries and the Southern Bight (North Sea). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 21, 633–651.
- Van der Weijden, C.H., Middelburg, J.J., De Lange, G.J., Van der Sloot, H.A., Hoede, D., Woittiez, J.R.W., 1990. Profiles of the redox-sensitive trace elements As, Sb, V, Mo and U in the Tyro and Bannock Basins (eastern Mediterranean). *Marine Chemistry* 31, 171–186.
- Wedepohl, K.H., 1978. Molybdenum 42. *Handbook of Geochemistry*, vol. II-2. Springer Verlag, Heidelberg.
- Wehrli, B., Stumm, W., 1989. Vanadyl in natural waters: adsorption and hydrolysis promote oxygenation. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 53, 69–77.
- Windom, H., Smith, R., Niencheski, F., Alexander, C., 2000. Uranium in rivers and estuaries of globally diverse smaller watersheds. *Marine Chemistry* 68, 307–321.
- Zheng, Y., Anderson, R.F., van Geen, A., Kuwabara, J., 2000. Authigenic molybdenum formation in marine sediments: a link to pore water sulfide in the Santa Barbara Basin. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 64, 4165–4178.



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/copyright>



Contents lists available at ScienceDirect

Estuarine, Coastal and Shelf Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ecss



Improving estuarine net flux estimates for dissolved cadmium export at the annual timescale: Application to the Gironde Estuary

Aymeric Dabrin, Jörg Schäfer*, Gérard Blanc, Emilie Strady, Matthieu Masson, Cécile Bossy, Sabine Castelle, Naïg Girardot, Alexandra Coynel

Université de Bordeaux, UMR 5805, EPOC, 33405 Talence, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 April 2009

Accepted 16 July 2009

Available online 23 July 2009

Keywords:

cadmium

Gironde Estuary

long term monitoring

annual dissolved net flux

ABSTRACT

Dissolved Cd (Cd_D) concentrations along the salinity gradient were measured in surface water of the Gironde Estuary during 15 cruises (2001–2007), covering a wide range of contrasting situations in terms of hydrology, turbidity and season. During all situations dissolved Cd concentrations displayed maximum values in the mid-salinity range, reflecting Cd addition by chloride-induced desorption and complexation. The daily net Cd_D fluxes from the Gironde Estuary to the coastal ocean were estimated using Boyle's method. Extrapolating Cd_D concentrations in the high salinity range to the freshwater end member using a theoretical dilution line produced 15 theoretical Cd concentrations (Cd_D^0), each representative of one distinct situation. The obtained Cd_D^0 concentrations were relatively similar ($\sim 201 \pm 28 \text{ ng L}^{-1}$) when freshwater discharge Q was $> 500 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ ($508 \leq Q \leq 2600 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$), but were highly variable ($340 \pm 80 \text{ ng L}^{-1}$; $247\text{--}490 \text{ ng L}^{-1}$) for low discharge situations ($169 \leq Q \leq 368 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$). The respective daily Cd_D net fluxes were $5\text{--}39 \text{ kg day}^{-1}$, mainly depending on freshwater discharge. As this observation invalidates the existing method of estimating annual Cd_D net fluxes, we proposed an empirical model, using representative Cd_D^0 values and daily freshwater discharges for the 2001–2007 period. Subsequent integration produced reliable Cd_D net flux estimates for the Gironde Estuary at the annual timescale that ranged between $3.8\text{--}5.0 \text{ t a}^{-1}$ in 2005 and $6.0\text{--}7.2 \text{ t a}^{-1}$ in 2004, depending on freshwater discharge. Comparing Cd_D net fluxes with the incoming Cd_D fluxes suggested that the annual net Cd_D addition in the Gironde Estuary ranged from 3.5 to 6.7 t a^{-1} , without any clear temporal trend during the past seven years. The annual Cd_D net fluxes did not show a clearly decreasing trend in spite of an overall decrease by a factor ~ 6 in Cd gross fluxes during the past decade. Furthermore, in six years out of seven (except 2003), the annual Cd_D net fluxes even exceeded river borne total (dissolved + particulate) gross Cd fluxes into the estuary. These observations were attributed to progressive Cd desorption from both suspended particles and bottom sediment during various sedimentation–resuspension cycles induced by tidal currents and/or continuous dredging (navigation channel) and diverse intra-estuarine sources (wet deposition, urban sources, and agriculture). Provided that gross fluxes remain stable over time, dissolved Cd exportation from the Gironde Estuary to the coastal ocean may remain at the present level for the coming decade and the estuarine sedimentary Cd stock is forecast to decrease slowly.

© 2009 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Hydrological, sedimentological and biogeochemical processes in estuarine systems strongly modify the quantity and the quality of river borne matter transported from the continent to the coastal ocean. Despite the need for reliable annual net flux data, estuarine net flux estimates are only available for the large minority of the global estuaries and cover very few, mostly dissolved, elements.

These estimates are usually valid for one particular day or distinct hydrological situation and, thus, extrapolation from the daily to the annual timescale suffers from many uncertainties due to hydrological variations and complex estuarine processes.

The Gironde Estuary (southwest France) is affected by historic metallic (e.g. Cd, Zn, Hg; Audry et al., 2004a; Schäfer et al., 2006) contamination due to former Zn ore treatment in the industrial basin of Decazeville, that was stopped after a major pollution accident in 1986 (Jouanneau et al., 1999). Despite decreasing Cd inputs due to ongoing remediation efforts since the early 1990s, the Lot-Garonne River system still contributes up to 80% to the annual Cd gross fluxes into the Gironde Estuary (Schäfer et al., 2002b; Audry et al., 2004a).

* Corresponding author.

E-mail address: j.schaefer@epoc.u-bordeaux1.fr (J. Schäfer).

Moreover, important Cd stocks in the Lot River reservoir sediments (~ 200 t, Lapaquellerie et al., 1995) may be mobilized by flood events and/or dredging activities (e.g. Blanc et al., 1999; Audry et al., 2004b; Coynel et al., 2007). Numerous studies evidenced non-conservative behaviour of Cd along the salinity gradients in estuaries, bays or deltas (Boyle et al., 1982; Elbaz-Poulichet et al., 1987; Windom et al., 1988; Shiller and Boyle, 1991; Boutier et al., 1993; Chiffoleau et al., 1994; Wen et al., 1999; Tang et al., 2002). Typical profiles show a mid-salinity maximum in dissolved Cd (Cd_D) reflecting the balance between chloride-induced desorption/complexation processes and dilution by seawater (e.g. Comans and van Dijk, 1988; Elbaz-Poulichet et al., 1996). Chloride induced-desorption is probably the major phenomenon that govern Cd behaviour in estuaries. However, several studies (e.g. Florence, 1989; Baeyens et al., 1997; Waeles et al., 2005) have shown that organic ligands contribute also to keep Cd in solution in the high-salinity part of the estuaries. Dissolved Cd addition is particularly efficient in macrotidal estuaries due to relatively long particle residence times (Dyer, 1994). Several studies have reported Cd_D addition along the salinity gradient of the Gironde Estuary, suggesting that $\sim 90\%$ of the Cd gross fluxes are dissolved due to estuarine biogeochemical processes, thus increasing Cd availability to aquatic organisms (e.g. Jouanneau et al., 1990; Kraepiel et al., 1997; Boutier et al., 2000; Michel et al., 2000; Audry et al., 2007a,b; Lekhi et al., 2008). Although Cd concentrations in oysters from the Gironde Estuary have decreased from $\sim 100 \mu\text{g g}^{-1}$ (dry weight) in the early 1980s to $10\text{--}26 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in 2006 (Claisse et al., 1992; RNO, French National Mussel Watch Program, 2006), they still are ~ 25 times the average level measured along the entire French Atlantic and Mediterranean coasts (Boutier et al., 1989) and clearly exceed the current European consumption safety level for Cd in marine bivalves ($5 \mu\text{g g}^{-1}$, dry weight; CE No. 466/2001). As a consequence, oyster (bivalve) recovery and production are forbidden in the Gironde Estuary, i.e. this case of compromised/affected ecosystem health goes along with social and economic effects. Furthermore, part of the water and particles exported from the Gironde Estuary to the coastal ocean reach the Marennes-Oléron Bay, i.e. one of Europe's most important oyster production zones, where Cd concentrations in oysters are clearly higher than in other bays along the French coast (Heral et al., 1982; Boutier et al., 2000; IFREMER, 2002). Therefore, precise estimates of annual dissolved Cd export from the Gironde Estuary to the coastal zone are essential to assess Cd sources and inputs into the Marennes-Oléron Bay. Reliable Cd_D net flux estimates need concentration data in the estuarine high-salinity range, where Cd_D values follow a theoretical mixing line. Extrapolation of this dilution line to $S=0$, produces a theoretical freshwater Cd_D concentration (Cd_D^0), that may be multiplied by the daily freshwater discharge (Q_f) to estimate daily Cd_D net flux (Boyle et al., 1974). Integration of 365 discrete daily Cd_D net fluxes would then provide precise annual flux estimates, but this "ideal" strategy also would be far too expensive and time-consuming. Accordingly, the existing estimates of Cd_D net fluxes in the Gironde Estuary and other estuaries are based on few measurement campaigns, each providing one daily ("snapshot") dataset, i.e. one Cd_D^0 value. Therefore, extrapolation of these daily Cd_D net flux estimates to the annual timescale may imply important uncertainty. Elbaz-Poulichet et al. (1987) estimated an annual net Cd_D flux of 14 t a^{-1} (37 kg day^{-1}) based on one measurement campaign in October 1982. Boutier et al. (2000) estimated annual Cd_D net fluxes in 1991 to 11 t a^{-1} (44 kg day^{-1}), based on one Cd_D^0 value, i.e. one measurement campaign. During five sampling campaigns in the hydrological year 1997–1998, Michel et al. (2000) obtained similar daily Cd_D net fluxes for contrasting seasons/discharges and concluded that daily Cd_D net fluxes ($\sim 17 \text{ kg day}^{-1}$) out of the Gironde Estuary would be constant throughout the year. Since the early nineties, Cd gross fluxes into the Gironde estuary have

decreased probably due to ongoing remediation in the watershed and apparently changing hydrological conditions (Schäfer et al., 2002a,b; Masson et al., 2006) suggesting profound changes in the Cd budget of the Gironde Estuary. There is, however, at present no estimate of recent annual Cd_D net fluxes in the Gironde Estuary taking into account potential interannual and seasonal variations.

This work is based on a unique data set of dissolved Cd distributions along the Gironde Estuary salinity gradient, obtained from 15 measurement campaigns over 7 years (2001–2007) covering contrasting hydrological situations (e.g. freshwater discharges, tidal coefficients) and seasons. The aim of this study is to provide recent data on Cd_D net fluxes and to evaluate the variability and long-term evolution of Cd_D export from the Gironde Estuary to the coastal ocean. Based on the relationship between Cd_D distribution along the salinity gradient and freshwater discharge we propose an improved method of extrapolating daily Cd_D net fluxes to the annual timescale. Additionally, we compare recent Cd_D addition and net fluxes to historic data to assess the response of the estuarine Cd budget to generally decreasing gross inputs.

2. Study area

The physical, geochemical and hydrological characteristics of the Gironde Estuary (~ 170 km length, $\sim 80\,000 \text{ km}^2$ watershed surface area; Fig. 1) have been well defined in several studies (Elbaz-Poulichet et al., 1984; Li et al., 1994; Sottolichio and Castaing, 1999; Schäfer et al., 2002b). The Gironde Estuary has a mean annual freshwater discharge of $\sim 1000 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ with typical water and particle residence times of $\sim 20\text{--}90$ days and $\sim 1\text{--}2$ years, respectively (Jouanneau and Latouche, 1981). During the tidal cycle, ocean water fluxes at the estuary mouth are 30–40 times higher than fluvial inputs (Allen et al., 1977). Asymmetrical progression of the tidal wave toward the upstream estuary induces a pronounced maximum turbidity zone (MTZ), where concentrations of suspended particulate matter (SPM) exceed 1 g L^{-1} in surface water and several hundreds of g L^{-1} in bottom water. This MTZ is typically located in the low salinity region and migrates up and down estuary with seasonal river flow variations (Sottolichio and Castaing, 1999). Sediment resuspension generally occurs during erosion periods at mid-ebb and mid-flood while tidal slacks are sedimentation periods. As a consequence of sedimentation, the navigation channel ($\sim 18 \text{ km}^2$) of the estuary is continuously dredged by the Bordeaux Autonomous Harbour (P.A.B.). The dredged sediments are either dispersed in the water column on-site or transported downstream within the estuary and deposited in distinct zones, where they are dispersed and/or resuspended by tidal currents (Audry et al., 2007a,b).

3. Material and methods

3.1. Sampling

Samples were collected during 15 cruises within the Gironde Estuary between March 2001 and November 2007 along the salinity gradient onboard the RV "Côtes de la Manche" (INSU). These sampling campaigns cover a wide range of freshwater discharges (Table 1), which were calculated as the sum of the daily flows of the Garonne and Dordogne Rivers (Fig. 2). Sampling of surface and bottom water in the estuarine salinity gradient was performed with acid-cleaned Niskin Bottles, thoroughly rinsed with estuarine water from the site. The samples were immediately filtered through cellulose acetate syringe filters (Sartorius®, $0.2 \mu\text{m}$ porosity). Aliquots for trace metals measurements were transferred into 125 mL acid-cleaned polypropylene bottles, acidified (pH 1; HNO_3 Baker ultrapure) and stored in the dark at 4°C .

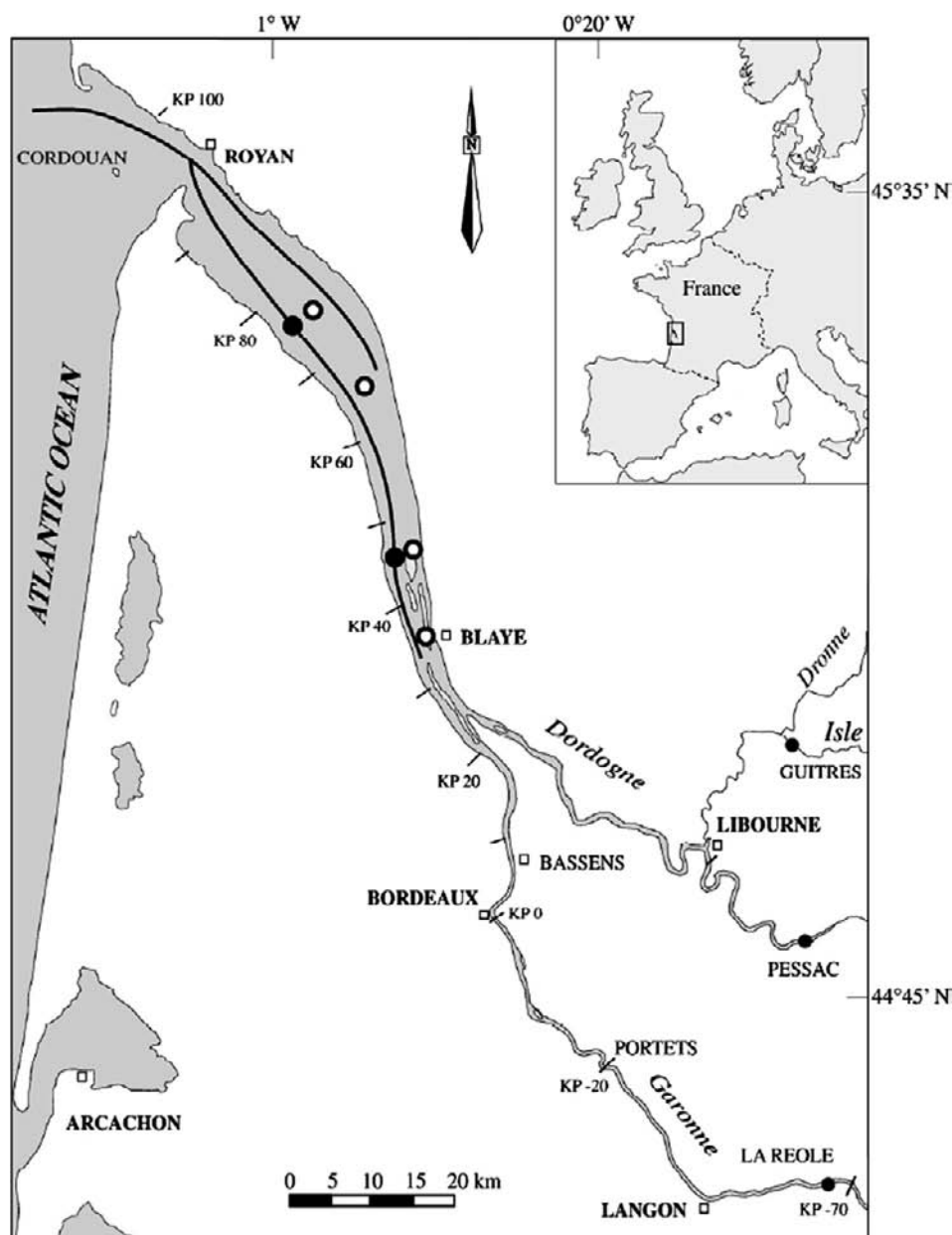


Fig. 1. Map of the Gironde Estuary. Kilometric Points (KP) = distance (km) from the city of Bordeaux.

3.2. Sample analyses

Determination of SPM concentrations was performed by filtration using dry pre-weighed filters (Durieux glass-fibre, 0.7 μm porosity) as described elsewhere (e.g. Audry et al., 2004a; Masson et al., 2006). The filters were dried to constant weight (50 °C) and re-weighed. Analyses of dissolved metals were performed after matrix separation and preconcentration by liquid–solid extraction, to avoid interferences induced by major cations during instrumental analysis. In this work, we used commercially available cartridges (DigisEP Blue®; SCP Science) with amino-diacetate as the functional group that has strong affinities to several divalent transition metal cations (e.g. Cd, Cu, Co, etc.). The samples (50 mL) with pH adjusted to 5.3 ± 0.1 were passed (flowrate 2 mL min⁻¹) through the acid-cleaned and conditioned column (0.1 M ammonium acetate buffer; pH 5.3). Then the cartridges were rinsed with 5 mL of buffer solution and trace metals were eluted with nitric acid (2 M, SCP-Science plasmasurePlus). Dissolved Cd concentrations were measured using

ICP-MS (X7, Thermo) with external calibration. Column blanks were performed by passing 50 mL Milli-Q water under identical conditions, parallel to the samples and certified reference materials. Methodological blanks obtained for Cd were generally lower than 2 ng L⁻¹ and were systematically subtracted from results obtained for the other samples. Detection limit (3.3 times the standard deviation of blank values; $n = 56$) was 6 ng L⁻¹. Reproducibility and accuracy of the method were assessed by analyzing certified reference seawater (CASS-4; Cd: 26 ± 3 ng L⁻¹) and estuarine water (SLEW-3; Cd: 48 ± 4 ng L⁻¹). For both reference materials, reproducibility was generally better than 3% (rsd; $n = 25$) and accuracy was respectively 99% and 98% of the certified values.

3.3. Cd_f determination

The commonly applied method for estimating dissolved metal net fluxes (Boyle et al., 1974) is based on the dissolved element distribution in the high salinity zone. According to Boyle et al.

Table 1

Names, dates, area of sampling (KP values) and mean discharges of the 15 cruises. Salinity range used for establishment of the apparent dilution line, number of points used for each regression, equations of the dilution lines, and the resulting theoretical Cd_0 concentrations ($ng\ L^{-1}$, bold numbers) at $S = 0$ and daily Cd net flux estimates ($kg\ day^{-1}$). All the relationships are statistically significant at the 95% confidence level.

Cruise		Discharge ($m^3\ s^{-1}$)	PK range	Salinity range	Linear regression	<i>n</i>	<i>R</i> ²	Daily flux ($kg\ day^{-1}$)
<i>Flood events</i>								
Gimet 2	March 2001	2040	0–100	15–29	$[Cd] = -6.4 (\pm 3.4)[S] + \mathbf{222} (\pm 79)$	8	0.79	39 (± 14)
Gimercad 3	March 2007	2600	0–85	12–26	$[Cd] = -3.8 (\pm 2.9)[S] + \mathbf{160} (\pm 56)$	4	0.77	36 (± 13)
<i>Intermediate freshwater discharge</i>								
Gimet 3	June 2001	546	0–100	17–32	$[Cd] = -6.4 (\pm 2.7)[S] + \mathbf{230} (\pm 65)$	6	0.92	11 (± 3.1)
Girox 1	February 2002	508	0–100	18–32	$[Cd] = -4.5 (\pm 0.7)[S] + \mathbf{176} (\pm 19)$	9	0.97	8 (± 0.8)
Reagir 3	May 2005	687	0–100	15–30	$[Cd] = -5.7 (\pm 0.5)[S] + \mathbf{219} (\pm 11)$	6	0.99	13 (± 0.7)
Gimercad 1	May 2006	705	0–100	19–30	$[Cd] = -5.0 (\pm 1.4)[S] + \mathbf{202} (\pm 37)$	6	0.96	12 (± 2.3)
<i>Low freshwater discharge</i>								
Girox 2	September 2002	368	0–100	23–31	$[Cd] = -4.8 (\pm 1.1)[S] + \mathbf{247} (\pm 31)$	7	0.96	8 (± 1.0)
Girox 4	September 2003	207	0–100	27–33	$[Cd] = -13.0 (\pm 1.2)[S] + \mathbf{490} (\pm 38)$	6	0.99	9 (± 0.7)
Reagir 1	July 2004	310	0–100	20–34	$[Cd] = -7.6 (\pm 1.6)[S] + \mathbf{296} (\pm 44)$	9	0.96	8 (± 1.2)
Reagir 2	October 2004	304	0–100	21–31	$[Cd] = -8.5 (\pm 3.2)[S] + \mathbf{324} (\pm 88)$	6	0.93	9 (± 2.3)
Metogir 1	July 2005	304	0–100	25–34	$[Cd] = -10.2 (\pm 1.5)[S] + \mathbf{367} (\pm 46)$	7	0.99	10 (± 1.2)
Reagir 4	November 2005	319	0–90	17–31	$[Cd] = -6.3 (\pm 5.3)[S] + \mathbf{264} (\pm 120)$	6	0.93	7 (± 3.3)
Gimercad 2	September 2006	169	0–100	23–33	$[Cd] = -10.4 (\pm 1.8)[S] + \mathbf{399} (\pm 53)$	10	0.95	6 (± 0.8)
Gimercad 4	October 2007	305	0–100	24–34	$[Cd] = -10.4 (\pm 2.3)[S] + \mathbf{400} (\pm 69)$	6	0.98	11 (± 1.8)
Gimercad 5	November 2007	209	0–100	23–30	$[Cd] = -7.2 (\pm 3.4)[S] + \mathbf{273} (\pm 105)$	4	0.98	5 (± 1.9)

(1974, 1982), the instant net flux (F_t) of a dissolved element X across an isohaline S at a time t is:

$$F_t = Q_t \left([X] - [S] \frac{d[X]}{d[S]} \right)$$

where [S] is salinity, [X] the concentration of the element of interest, and Q_t the freshwater discharge at time t. If the relation between the dissolved element concentration and the salinity is linear (conservative behaviour), $d[X]/d[S]$ is constant and equal to the slope of the segment representing this relation in the concentration-salinity diagram. In this case, for any salinity [S] belonging to the linearity range, $[X]_S - [S] * (d[X]_S/d[S])$ is constant and equal to the intercept $[X]_0$ of the straight line extrapolated from this segment, and the net instant flux of the element through any isohaline in the linearity range is:

$$F_t = Q_t [X]_0$$

As perfect linearity is rarely observed in any salinity range, a linear regression technique is applied to obtain the most probable

intercept, which is then used to estimate the net instant flux of any dissolved element. The salinity range used for this calculation should be representative of the geographic zone selected and should include the isohaline through which the flux estimation is to be made. The salinity range was determined in order to maximize the correlation coefficient. Daily net flux (F_{NET}) can be estimated as:

$$F_{NET} = Q_{fw} [X]_0$$

where Q_{fw} is the daily river discharge.

4. Results

4.1. Hydrologic conditions

The fifteen cruises are representative of a 7-years period covering contrasting hydrologic conditions and different seasons (Fig. 2, Table 1). Except for 2003, two campaigns per year were performed. Freshwater discharges during the different sampling cruises ranged from $169\ m^3\ s^{-1}$ (September 2006) to $2600\ m^3\ s^{-1}$ (March 2007).

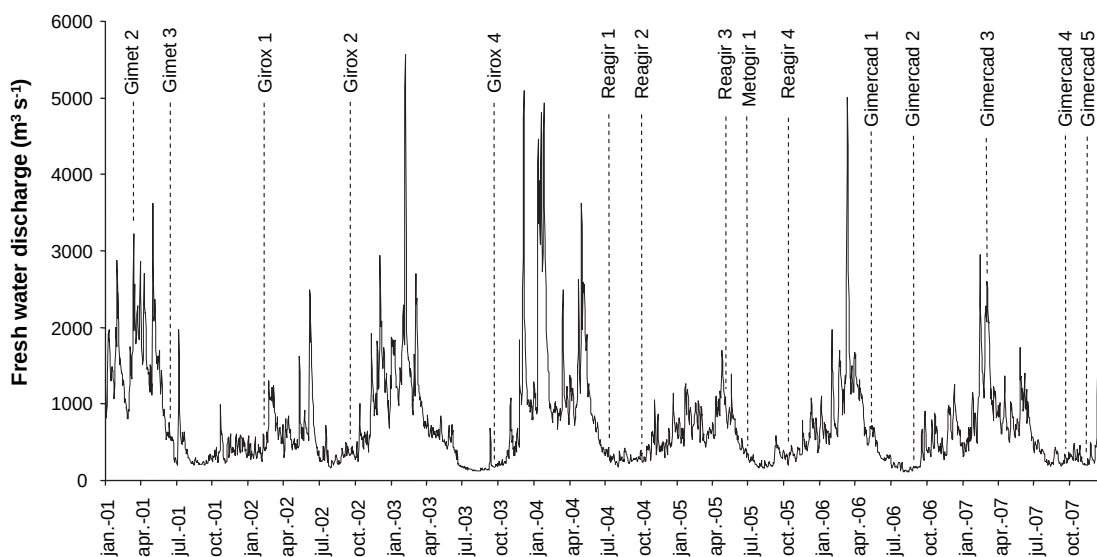


Fig. 2. Freshwater discharges of the Gironde Estuary during the 2001–2007 period.

Based on freshwater discharge data, the studied hydrological situations may be classified as follows: (a) low freshwater discharge during summer and autumn ($<500 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$; September 2002, September 2003, July 2004, October 2004, July 2005, November 2005, October 2007 and November 2007), (b) intermediate discharge during the winter/spring period ($500\text{--}700 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$; June 2001, February 2002, May 2005 and June 2006) and (c) the flood events ($>2000 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$; March 2001, March 2007). Although the sampled periods cover a very wide range of discharge situations in the Gironde Estuary, the discharge range from 750 to $2000 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ has not been sampled. During the 2001–2007 period, hydrological situations with freshwater discharges comprised between 750 and $2000 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ only occurred during $\sim 25\%$ of the time. Accordingly, the sampled periods represent hydrological situations covering $\sim 75\%$ of the time during 2001–2007.

4.2. Dissolved Cd distribution along the salinity gradient

The Cd_D concentrations of the first 2 cruises (Gimet 2, Gimet 3) have already been presented in an earlier study with a different focus (Audry et al., 2007a,b) and are presented here together with original data obtained during 13 additional cruises to increase the representativity of the present work. Dissolved Cd (Cd_D) concentrations in surface waters along the salinity gradient displayed a similar distribution during all 15 cruises (Fig. 3). In the freshwater reaches, Cd_D concentrations were generally close to 20 ng L^{-1} (Fig. 3; Audry et al., 2007a,b). In the low-salinity range ($S < 15$), dissolved Cd concentrations increased with salinity reaching maximum values of 98 ng L^{-1} (November 2007) to 166 ng L^{-1} (September 2003) in the mid-salinity range ($S \sim 15\text{--}20$). In contrast, in the high-salinity range ($S > 20$), Cd_D behaved conservatively, i.e. showed a linear decrease with salinity (Fig. 3). The dissolved Cd concentrations obtained for bottom water profiles fit with the concentrations in surface waters, except during the flood event (March 2007) when bottom water concentrations were higher and more variable.

5. Discussion

5.1. Cadmium chlorocomplexation and variations of the maximum Cd_D values

The Cd_D concentrations observed for the 15 profiles ($8\text{--}166 \text{ ng L}^{-1}$; Fig. 3) were in the same range as those measured during the previous decade (Kraepiel et al., 1997; Boutier et al., 2000; Michel et al., 2000). The maximum values were higher than those reported for heavily industrialised/urbanised estuaries, such as the Seine (Chiffoleau et al., 1999), the Loire (Waeles et al., 2004) and the Scheldt Estuaries (Zwolsman et al., 1997), but they were clearly lower than those of in the Rio Tinto, which is severely impacted by acid-mine drainage (Braungardt et al., 2003) or in the Mersey Estuary, which drains a heavily populated and highly industrialised area (Martino et al., 2002).

The observed dissolved Cd distributions of all the campaigns showed typical non-conservative behaviour of Cd as observed in other macrotidal estuaries, e.g. the Tay (Owens and Balls, 1997), the Charente (Boutier et al., 2000), the Loire (Boutier et al., 1993; Waeles et al., 2004), the Scheldt (Zwolsman et al., 1997) and the Seine Estuaries (Chiffoleau et al., 1994, 1999). The commonly observed dissolved Cd addition in the low salinity range ($S < 15$) has been attributed to chloride-induced desorption of particle-bound Cd and formation of stable dissolved chlorocomplexes (e.g. Elbaz-Poulitchet et al., 1987; Comans and van Dijk, 1988; Turner et al., 1993; Turner, 1996). The apparently conservative behaviour in the mid- to high-salinity range ($\sim$ linear decrease in Cd_D

concentrations with increasing salinity) may be attributed to dilution of mid-salinity high Cd_D waters by oceanic, low Cd_D water. This, in turn, suggests that the suspended particles in the high salinity range are depleted in easily desorbable Cd.

Like the low- to intermediate discharge situations, both flood situations (March 2001 and March 2007) showed a clear increase in the low-salinity range, but the mid-salinity maximum was much less defined, i.e. the data were more scattered than during low discharge situations (Fig. 3). This may suggest that floods modify the typical Cd_D distribution along the salinity gradient, eventually due to (a) local resuspension of bottom sediment (Sottilichio and Castaing, 1999) enriched in dissolved and particulate Cd (Audry et al., 2006) and/or (b) very short water residence times (~ 20 days, Jouanneau and Latouche, 1981) with incomplete mixing of “fresh” Cd-rich and “old” Cd-depleted particles. In fact, fluvial inputs of dissolved and particulate Cd by the Garonne, Dordogne and Isle Rivers are at maximum during floods (Schäfer et al., 2002b; Masson et al., 2006). The particle fluxes from the watershed to the estuary during major flood events (e.g. $\sim 0.8\text{--}1 \text{ Mt}$ in 6 days in February 2003; Coynel et al., 2007) may be equivalent to $20\text{--}25\%$ of the particle mass in the MTZ ($4\text{--}5 \text{ Mt}$; Jouanneau et al., 1990). This may modify the composition of the estuarine particle pool, especially for reactive carrier phases and associated elements that undergo profound changes in the estuarine geochemical gradients, inducing local heterogeneities in particle composition and reactivity. This hypothesis may be supported by the similarity between Cd_D concentrations in surface and bottom water profiles during low-and intermediate discharge (Fig. 3), suggesting that the water column was well-mixed under these hydrologic conditions. In contrast, during the floods, clear Cd_D concentration differences between surface and bottom water were observed and attributed to (a) the impact of sediment remobilisation including porewater release into the water column and/or (b) incomplete mixing and variable residence times of different water masses and particles.

Although freshwater discharges during the different cruises varied by a factor 16, maximum Cd_D concentrations in the mid-salinity range of each profile showed only little variability, ranging from 98 ng L^{-1} to 166 ng L^{-1} (Fig. 3). Interestingly, there was no systematic difference in the maximum Cd_D for the different types of hydrological situations. This observation is not what would have been expected, presuming dilution of dissolved Cd in the estuary by freshwater inputs during floods. In fact, one would have expected maximum Cd_D mid-salinity levels during low water discharge, when long residence times of water (up to 3 months), and particles (>2 years) should account for most efficient Cd desorption (Jouanneau and Latouche, 1981). Furthermore, neither the position nor the SPM concentration level in the MTZ seem to control maximum Cd_D concentrations in the Gironde Estuary (Fig. 3).

5.2. Temporal variations in the theoretic Cd_D concentrations at zero salinity

The theoretic Cd_D concentrations at zero salinity (Cd_D^0) obtained from applying Boyle's method to the different longitudinal profiles are reported in Table 1. During the flood events, Cd_D^0 concentrations were 222 ng L^{-1} in March 2001 ($2040 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) and 160 ng L^{-1} in March 2007 ($2600 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$). This is in good agreement with Cd_D^0 (206 ng L^{-1}) obtained from previously reported data on dissolved Cd concentrations in the Gironde Estuary during a comparable hydrologic situation in 1994 ($Q = 2100 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$; Kraepiel et al., 1997). For intermediate freshwater discharge conditions (2001–2007 period), Cd_D^0 concentrations ranged from 176 ng L^{-1} (February 2002; $Q = 508 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) to 230 ng L^{-1} (June 2001; $Q = 546 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$), i.e. were rather similar to those observed during floods.

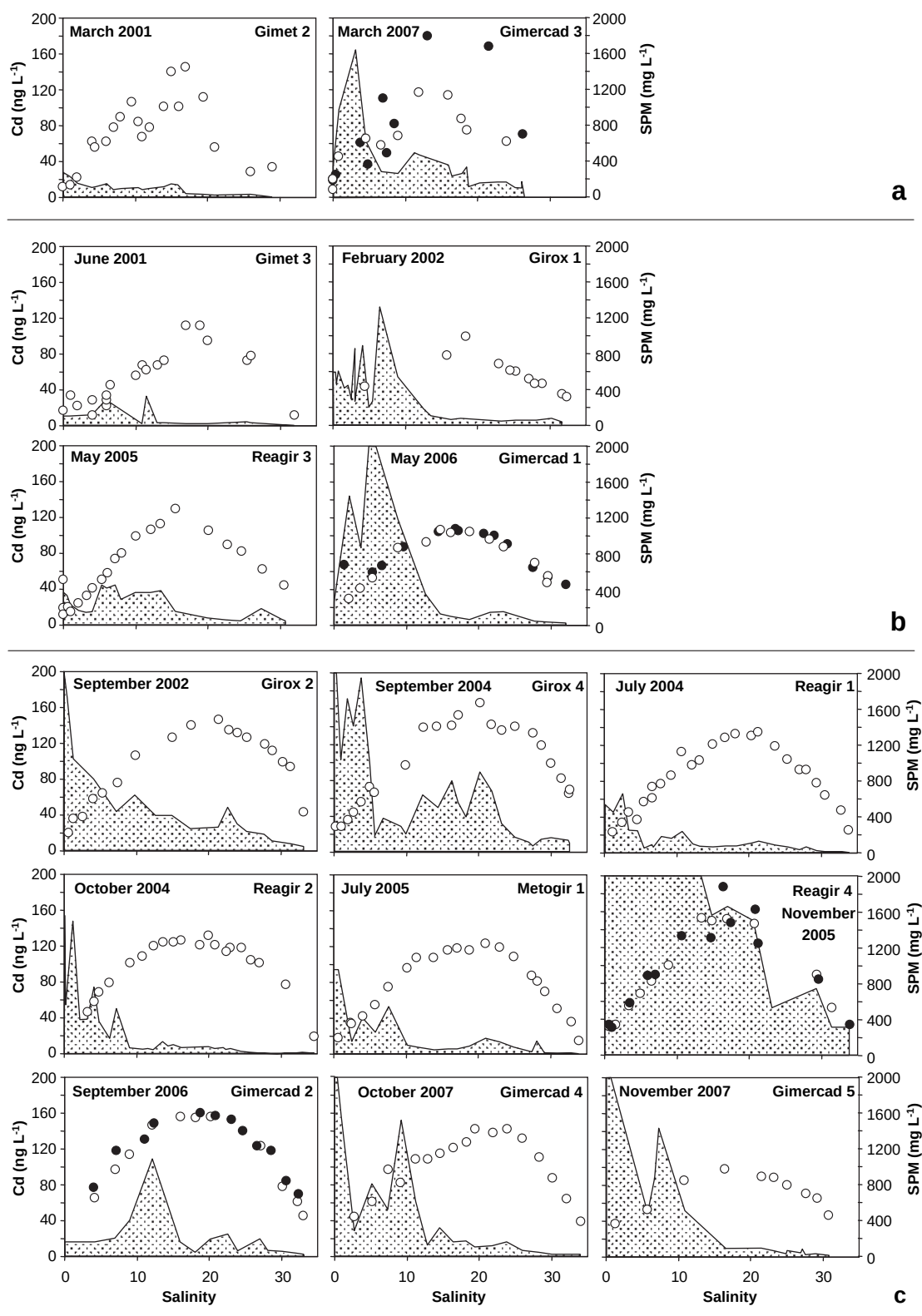


Fig. 3. Distribution of dissolved Cd and suspended particulate matter along the salinity gradient for (a) flood events, (b) intermediate discharge and (c) low discharge. Dotted areas represent surface water SPM concentrations, open circles represent Cd_D concentrations in surface water and full circles represent Cd_D in bottom water. Note that the Cd_D values for the Gimet 2 and 3 cruises (March and June 2001) are from Audry et al. (2007a).

In contrast, clearly higher Cd_D^0 values may be deduced from older data measured during intermediate freshwater discharge in 1984 ($Cd_D^0 = 1000 \text{ ng L}^{-1}$, $Q = 600 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$; Jouanneau et al., 1990) and in 1991 ($Cd_D^0 = 504 \text{ ng L}^{-1}$, $Q = 1010 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$; Boutier et al., 2000). These

results are consistent with strongly reduced emissions after the stop of the ore treatment activity (1987) and gradually decreasing particulate Cd concentrations of SPM in the fluvial-estuarine system, which is further supported by sedimentary records in Lot River

reservoir lakes (e.g. Audry et al., 2004b) and in the flood-tidal dock at Bordeaux (Grousset et al., 1999).

During low freshwater discharge ($Q < 500 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$), Cd_D^0 concentrations varied by a factor ~ 2 and ranged from 247 ng L^{-1} (September 2002; $Q = 368 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) to 490 ng L^{-1} (September 2003; $Q = 207 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$; Table 1; Fig. 4a). To our knowledge, this is the most complete (9 campaigns) data set on Cd_D^0 values covering most low freshwater discharge situations in the same estuary during consecutive years (2002–2007). This dataset is the first to show the great variability of the Cd_D^0 concentration during low freshwater discharge ($Q < 500 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$; Fig. 4a). The observed variations probably reflect the balance of desorption efficiency, residence time of water and particles in the estuary and mixing of fresh- and seawater. Such non-steady state conditions may eventually result from several factors. First, variations in the input of freshwater particles (rich in desorbable Cd) or urban particles from Bordeaux may enhance addition, especially during low discharge, when particle residence time in the estuary is long (Sottolichio and Castaing, 1999). Second, variable Cd_D release may be due to sediment and/or fluid mud resuspension by tidal currents and/or dredging (Robert et al., 2004; Audry et al., 2007a,b). Third, O_2 -depletion in the bottom of the water column during low freshwater discharge (Abril et al., 1999) could eventually induce removal processes, e.g. by sulphide precipitation, as reported for the Scheldt Estuary (Zwolsman et al., 1997) temporarily and locally limiting Cd addition. However, the well-mixed Gironde Estuary generally displays relatively high oxygen concentrations in most of the water column

(too high for sulphide precipitation), despite seasonal hypoxic conditions in the fluid mud layer during pronounced low discharge conditions, (IFREMER, 1994; Abril et al., 1999). This is consistent with sulphide oxidation in the bottom of the water column induced by resuspension of anoxic sediments (Audry et al., 2007b).

Plotting Cd_D^0 concentrations over daily water discharge separates the recent (2001–2007) data into two major domains (Fig. 4a). The first relates to the low discharge period ($Q < 500 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) for which Cd_D^0 values were very variable ($247\text{--}490 \text{ ng L}^{-1}$). The second domain ($Q > 500 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) regroups the flood events and intermediate freshwater discharge periods for which Cd_D^0 values were less variable ($201 \pm 28 \text{ ng L}^{-1}$).

Plotting daily Cd_D net fluxes over daily water discharge shows how much Cd_D net fluxes are controlled by discharge (Fig. 4b). These results are clearly different from those of Michel et al. (2000) reporting rather constant daily Cd_D net fluxes in the Gironde Estuary whatever the freshwater discharge. This fundamental difference may eventually be attributed to different observation periods. The results of Michel et al. (2000) are based on one relatively dry hydrological year (1997/1998) following a succession of very wet years with numerous intense floods (1992, 1994, 1996; Schäfer et al., 2002b). Assuming that (a) a major part of the MTZ had been expelled out of the estuary in 1996 and the preceding wet years and (b) the MTZ may not have been well installed/renewed in 1997/1998 due to low discharge, one cannot exclude that at that time the desorbable Cd stock in estuarine suspended particles was too low to buffer discharge-induced variations, e.g. due to dilution. Accordingly, this observation period may be considered as probably not representative of present day (2001–2007) conditions that correspond to a series of dry to average years with few isolated intense floods (Masson et al., 2007), which is not favourable to particle expulsion out of the estuary. Although the existing dataset does not allow a definitive conclusion on this point, it is evident that the hypothesis of constant daily Cd_D net fluxes cannot be applied to obtain reliable flux estimates at the annual timescale.

5.3. Daily Cd_D net fluxes

During 2001–2007, daily Cd_D net fluxes, classically estimated from the product of Cd_D^0 and the respective daily freshwater discharge, ranged from 5 kg to 39 kg (Fig. 4b). These values are of the same order as net Cd_D net fluxes reported for the Seine (11 kg day^{-1} ; Chiffolleau et al., 1999), one of the most metal contaminated estuaries in the world (Meybeck et al., 2004) and the Loire Estuaries (14 kg day^{-1} ; Waeles et al., 2004). Comparing the recent daily Cd_D net flux estimates for the Gironde Estuary to those obtained in 1982 (37 kg day^{-1} for $400 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$; Elbaz-Poullichet et al., 1987), 1984 (54 kg day^{-1} for $Q = 600 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$; Jouanneau et al., 1990) and 1992 (44 kg day^{-1} for $Q = 1000 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$; Boutier et al., 2000) shows that daily Cd_D net fluxes have decreased by a factor 3–5 during the past two decades. This probably reflects stepwise reduction of emissions in the Decazeville watershed and is in good agreement with progressive decontamination of the system discussed above. Although during the nineties alternation of dry and wet hydrological years induced some variability of particulate Cd inputs into the Gironde Estuary ($2.5\text{--}23.0 \text{ t a}^{-1}$ with a mean of 12.4 t a^{-1} ; 1991–1999 period; Schäfer et al., 2002b), frequency of these variations was similar to the particle residence time in the estuary (1–2 years; Castaing and Jouanneau, 1979), which may have “smoothed” Cd_D addition resulting in more or less constant Cd_D net fluxes. In contrast, since 2000 dissolved Cd fluxes from the source to the estuary have decreased due to remediation (Audry et al., 2004b) and particulate Cd transport in the fluvial-estuarine system clearly changed due to increasingly frequent and long low discharge periods. For example, succession of 2–3 dry years

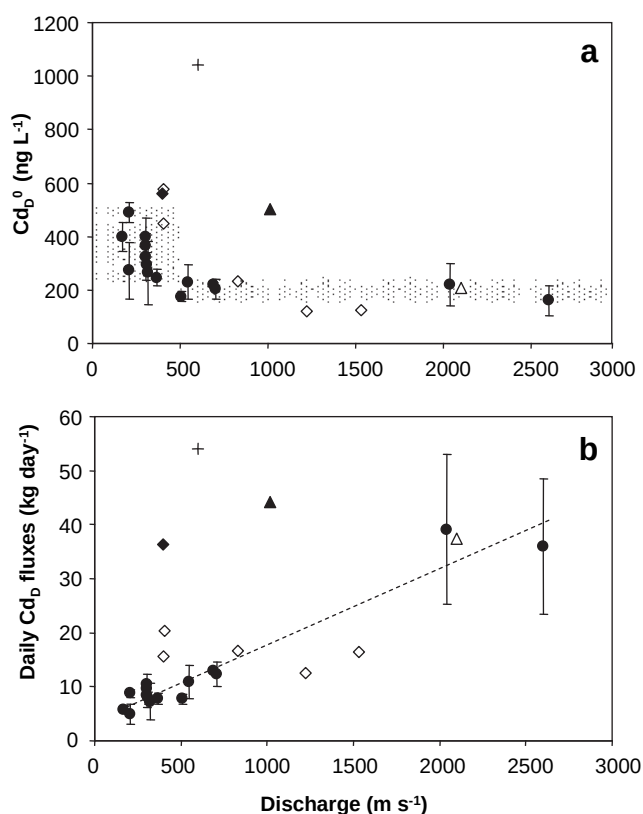


Fig. 4. Theoretic Cd_D^0 concentrations (a) and daily Cd_D flux (b) over the whole range of discharges observed. Full circles correspond to the data of this study (2001–2007), full diamond corresponds to 1982 data (Elbaz-Poullichet et al., 1987), the cross corresponds to 1984 data (Jouanneau et al., 1990), full triangle corresponds to 1991 data (Boutier et al., 2000), open triangle corresponds to 1994 data (Kraepiel et al., 1997), and open diamonds correspond to 1997–1998 data (Michel et al., 2000). The linear correlation refers only to the data of this study (2001–2007).

followed by extreme flood events resulted in erosion and destabilisation of ancient Lot River sediment, enhanced by flood management (e.g. dam opening; Coynel et al., 2007). These processes contributed to temporarily very high Cd transport into the estuary followed by relatively long periods with very low Cd_D fluxes (Schäfer et al., 2002b; Coynel et al., 2007; Masson et al., 2007). Extremely long low discharge periods without renewal/expulsion of MTZ particles (e.g. July 2004–November 2006; Fig. 2) one might expect the estuarine SPM in the MTZ to become depleted in desorbable Cd, resulting in decreasing addition and temporarily reduced net fluxes. Replenishment and/or exchange of estuarine SPM during the following flood would then restore the estuarine stock in desorbable Cd. Accordingly, the point of time of a sampling campaign with respect to depletion/replenishment periods may eventually explain the observed variability of Cd_D^0 values during the studied low discharge situations.

5.4. Annual Cd_D net flux estimation

The major part (up to 95%, unpublished data) of particulate Cd (Cd_P) exposed to the estuarine salinity gradient is transferred to the dissolved phase before/while exported to the coastal ocean (Kraepiel et al., 1997). In fact, typical annual average Cd_P concentrations (weighted by SPM fluxes) at the entry of the Gironde Estuary during the 1990–2005 period were 4–4.5 mg kg⁻¹ (after Schäfer et al., 2002b; Masson et al., 2006), whereas typical particulate Cd concentration in MTZ particles are ~0.4–0.5 mg kg⁻¹ (Kraepiel et al., 1997; Audry et al., 2007a). Assuming that Cd_D may easily enter the aquatic food chain and potentially impact the marine resources (e.g. oysters; Lekhi et al., 2008), it is important to quantify Cd_D net fluxes. Ideally, annual net flux estimates should result from integration of daily net fluxes, but in reality only few daily flux estimates exist even for the most intensively observed estuaries. Thus, daily net flux estimates have to be extrapolated and the choice of the appropriate extrapolation method will determine the quality of annual net flux estimates. Some pioneer studies on net Cd_D fluxes in the Gironde Estuary used one Cd_D^0 value multiplied by the mean annual freshwater discharge (Elbaz-Poulichet et al., 1982) or by the annual freshwater discharge of the respective year (e.g. Boutier et al., 2000). This in turn requires low seasonal variability of Cd_D^0 compared to the variability of the river water discharge. However, both, the observation that Cd_D^0 values varied with freshwater discharge during 1997/1998 (Michel et al., 2000) and the present dataset show that random Cd_D^0 values may be too variable to produce reliable Cd_D net flux estimates at the annual scale. In fact, multiplying the three different Cd_D^0 values reported by Michel et al. (2000) in 1997 by annual discharge would produce Cd_D net flux estimates of 2.5–12.2 t a⁻¹, depending on the Cd_D^0 value used. Such high uncertainty seems to invalidate the method proposed by Boutier et al. (2000). This and the high variability of Cd_D^0 values obtained from our 2001–2007 dataset supports the idea that reliable annual Cd_D net flux estimates cannot be obtained from random single Cd_D^0 values especially, when they were obtained during low

discharge (Fig. 4a). However, the dataset also suggests that for freshwater discharge >500 m³ s⁻¹ in the Gironde Estuary, Cd_D^0 values were relatively stable (i.e. 201 ± 28 ng L⁻¹) and did not seem to change much during the past decade (Fig. 4a). Extrapolation of Cd_D net fluxes to the annual scale needs taking into account these discharge-dependent features. Accordingly, we suggest using different Cd_D^0 for different discharge situations. For discharge >500 m³ s⁻¹, Cd_D^0 value of 201 ± 28 ng L⁻¹ should provide satisfactory daily Cd_D net flux estimates. For discharge <500 m³ s⁻¹, a range of Cd_D net fluxes could be estimated, by using the lowest and the highest Cd_D^0 value observed ($^{Min}Cd_D^0(Q_i < 500) = 247 \pm 31$ ng L⁻¹; $^{Max}Cd_D^0(Q_i < 500) = 490 \pm 38$ ng L⁻¹). This would produce an estimated range of the annual Cd_D net fluxes as follows:

$$\begin{aligned}^{Min}F_{NET}Cd_D &= (Cd_D^0(Q_i > 500) * \sum Q_i(Q_i > 500)) \\ &+ (^{Min}Cd_D^0(Q_i < 500) * \sum Q_i(Q_i < 500)) \\ ^{Max}F_{NET}Cd_D &= (Cd_D^0(Q_i > 500) * \sum Q_i(Q_i > 500)) \\ &+ (^{Max}Cd_D^0(Q_i < 500) * \sum Q_i(Q_i < 500))\end{aligned}$$

The annual Cd_D net flux estimates for the 2001–2007 period obtained by this method suggest that annual Cd_D net flux ranged from 3.8–5.0 t a⁻¹ in 2005 to 6.0–7.2 t a⁻¹ in 2004, depending on interannual variations in freshwater inputs (Table 2; Fig. 5). The differences between the minimum and maximum annual Cd_D net flux estimates ranged through 0.8–1.3 t a⁻¹, with uncertainties mainly related to the duration of low freshwater discharge situations.

5.5. Annual net Cd addition

The annual Cd_D fluxes at the upstream limit of the salinity gradient (F_i : incoming fluxes; Audry et al., 2007a,b) were estimated as follows:

$$F_i = Cd_{S=0} * \sum Q_i$$

where Q_i represents the daily freshwater discharges and $Cd_{S=0}$ represents the average Cd_D concentration measured at $S = 0$ for the different campaigns ($Cd_{S=0} = 17 \pm 5$ ng L⁻¹). The annual net Cd_D addition was estimated from the difference between F_{NET} and F_i for each year (Table 2). The resulting annual Cd_D addition in the salinity gradient of the Gironde Estuary ranged through 3.5–5.7 t a⁻¹ using $^{Min}F_{NET}$ and through 4.7–6.7 t a⁻¹ using $^{Max}F_{NET}$. This suggests that Cd_D addition provides Cd_D amounts 11–16-fold higher than the incoming flux (F_i), depending on freshwater discharge. Furthermore, Cd_D addition did not seem to show a clearly decreasing trend during the observation period, despite of the generally decreasing contamination of the Lot-Garonne-Gironde fluvial-estuarine system (Fig. 5).

Dredging activities (Audry et al., 2007a,b), ongoing reload of the MTZ by Cd-rich particles from sedimentary stocks in the watershed

Table 2
Annual Cd_D net flux, net addition and annual freshwater inputs in the Gironde Estuary during the 2001–2007 period. Annual Cd_D dissolved net fluxes are statistically significant at the 95% confidence level.

	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
$^{Min}F_{NET}Cd_D$ (t a ⁻¹)	6.0 (±0.8)	4.4 (±0.6)	5.0 (±0.7)	6.0 (±0.8)	3.8 (±0.5)	4.3 (±0.6)	4.4 (±0.6)
$^{Max}F_{NET}Cd_D$ (t a ⁻¹)	7.0 (±0.8)	5.7 (±0.6)	5.8 (±0.7)	7.2 (±0.8)	5.0 (±0.5)	5.4 (±0.6)	5.6 (±0.6)
Min Net addition	5.7	4.0	4.6	5.5	3.5	3.9	4.0
Max Net addition	6.6	5.3	5.4	6.7	4.7	5.0	5.2
Annual freshwater inputs (km ³)	28.8	20.8	24.3	28.0	17.7	20.6	21.0

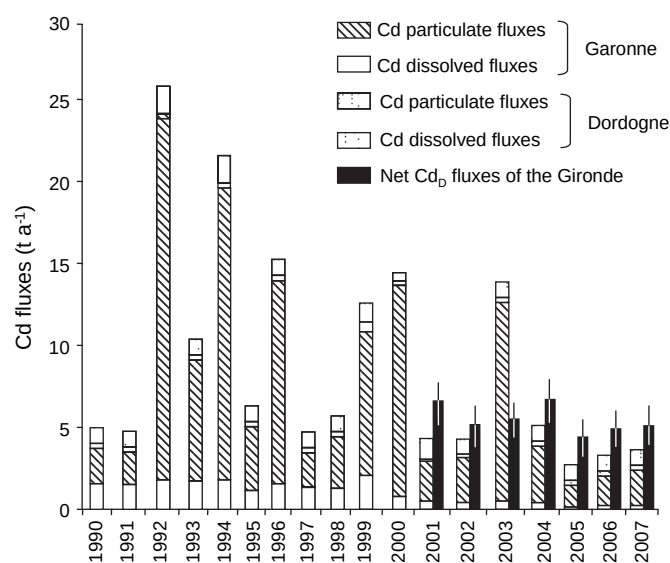


Fig. 5. Dissolved and particulate annual Cd fluxes in the Garonne and Dordogne River for the 1990–2007 period (1990–1999: Schäfer et al., 2002a,b; 2000–2002: Masson et al., 2006; 2003–2007: unpublished data) and dissolved annual Cd_D net fluxes in the Gironde Estuary for the 2001–2007 period. The errors bars represent the minimum and maximum flux estimates taking into account the 95% confidence intervals in each of these fluxes.

during flood events (Coynel et al., 2007) and/or progressive release of the estuarine Cd stock due to tidal resuspension of the bottom sediment (Robert et al., 2004) could eventually explain this relatively constant dissolved Cd net addition in the Gironde Estuary.

5.6. Comparison between the annual Cd_D net fluxes and the gross total Cd inputs

Estuarine mass balances need reliable estimates of gross fluxes, i.e. fluxes derived from the upstream watershed and net fluxes, i.e. fluxes leaving the estuary towards the coastal ocean. The existing observation methods allow precise and reliable estimates of gross fluxes, which are at the origin of net fluxes, but it is widely accepted that estuarine processes widely decouple gross and net fluxes (Zwolsman et al., 1997; Monbet, 2006). Accordingly, comparison of gross and net fluxes reasonably integrates larger (e.g. annual) timescales.

The annual freshwater fluxes entering the Gironde Estuary are derived from the sum of dissolved and particulate fluxes in the major tributaries, i.e. the Garonne, the Dordogne and the Isle Rivers. However, the Garonne River accounts for the majority of the highly variable and discharge-dependent SPM and Cd fluxes entering the Gironde Estuary, whereas the Dordogne River typically contributes $1.2 \pm 0.3 \text{ t a}^{-1}$ (Schäfer et al., 2002b; Fig. 5). For the 2001–2007 period, the total annual Cd gross fluvial inputs were clearly lower and less variable than during 1990–2000 ($2.8\text{--}5.1 \text{ t a}^{-1}$; Fig. 5) except for 2003 (13.9 t a^{-1}), when a major flood remobilised important stocks of Cd-polluted sediment in the Lot River contributing $\sim 90\%$ to the high annual gross fluxes into the estuary (Coynel et al., 2007). The annual gross Cd_D fluxes also tended to decrease during the observation period (2001–2007: from 0.5 to 0.2 t a^{-1}). In contrast, annual Cd_D net fluxes did not show any decreasing trend and were higher than annual gross total Cd fluxes in six years out of seven (Fig. 5), with a difference of $\sim 1.4 \pm 0.4 \text{ t a}^{-1}$. This difference has become visible only recently, due to the decreasing overall Cd budget of the Gironde Estuary and may reflect different sources of increasing relative importance. Atmospheric Cd wet deposition ($\sim 7 \text{ ng cm}^{-2} \text{ a}^{-1}$; Maneux et al., 1999) would contribute $\sim 0.05 \text{ t a}^{-1}$

to the estuary surface and $\sim 0.2 \text{ t a}^{-1}$ to the adjacent watersheds. Diffuse inputs (e.g. by agriculture), urban wastewater, runoff and aerosols would also be expected to represent non-negligible Cd sources to the estuary.

The average particulate Cd concentration ($0.57 \pm 0.18 \text{ mg kg}^{-1}$, $n = 91$; unpublished data) in the muddy sediments (silt and clay $>80\%$) of the Gironde Estuary covering $\sim 400 \text{ km}^2$ (Kapsimalis et al., 2004), tend to be higher than that of SPM in the water column of the downstream estuary ($0.44 \pm 0.04 \text{ mg kg}^{-1}$, $n = 546$, unpublished data; Kraepiel et al., 1997). Assuming that tidal currents, dredging, etc. may eventually erode the uppermost 10 cm of these sediments and using the average concentration values in sediment and SPM, the expected Cd desorption in the salinity gradient would suggest a potential release of $\sim 2.6 \text{ t}$ of Cd_D. However, erosion of deeper sediment layers with higher Cd concentrations (Robert et al., 2004) cannot be excluded, which would imply a higher sedimentary Cd stock potentially recycled. Without fundamental changes in estuarine functioning, recycling of the sedimentary Cd stock in the Gironde Estuary and diverse Cd inputs from diffuse sources may be sufficient to maintain the Cd budget of the Gironde Estuary at the present level for another decade. Assuming that the present annual Cd budget of the Gironde Estuary is close to steady state, one may reasonably expect that (a) the present empirical model for Cd_D net flux estimates at the annual timescale will still be valid during this period and (b) Cd_D net fluxes to the coastal ocean are forecast to decrease slowly, even when the ongoing inputs of Cd from the watershed continue to decrease.

6. Conclusion

The present work provides a very complete and recent dataset on dissolved Cd concentrations in the salinity gradient of the Gironde Estuary covering seven years and contrasting hydrological situations. Although Cd_D concentrations along the salinity gradient followed the classical pattern, the data support substantial improvement in quantitative understanding of Cd behaviour in this system. Maximum Cd_D concentrations in the mid-salinity range were independent from discharge and average SPM concentration. For a given cruise and salinity, Cd_D concentrations in surface bottom water were similar, except during floods, suggesting limited mixing and heterogeneous water and particle residence times. Comparing recent and historic data clearly indicated a decrease by a factor 3–5 in daily Cd_D net fluxes during the past two decades, mainly reflecting emission control in the Decazeville watershed. The present data revealed that during 2001–2007 daily Cd_D net fluxes depended strongly on discharge, which is the contrary of the hypothesis (Cd_D net fluxes independent from discharge; Michel et al., 2000) established for the previous decade. Therefore, the commonly applied method of estimating annual Cd_D net fluxes for the Gironde Estuary is not valid anymore for the present conditions. Taking into account discharge-dependent daily Cd_D net fluxes, we proposed a new empirical model for Cd_D net flux estimates in the Gironde Estuary at the annual timescale.

Comparing annual gross Cd fluxes to annual Cd_D net fluxes obtained from the model revealed that neither annual Cd_D addition nor Cd_D net fluxes showed a clear trend during 2001–2007 despite of decreasing gross fluxes. This and the fact that Cd_D net fluxes systematically exceeded total gross fluxes imply inputs by various diffuse sources. These inputs were negligible in former Cd budgets, but have become significant due to decreasing fluxes from the major source in the Decazeville basin. These sources and Cd release from the sedimentary stock may keep the Cd budget of the Gironde Estuary at the present level for at least another decade, suggesting slow decontamination of the estuary, i.e. decreasing sedimentary Cd stocks. If Cd_D fluxes to the coastal ocean are forecast to decrease

slowly, further work is needed to (a) quantify inputs from intra-estuarine sources and (b) optimize management and control of total Cd inputs to accelerate the clean-up of this system and minimize future impact on the coastal zone.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge the captains and crew members of the RV “Côtes de la Manche” (INSU), and the following colleagues for sampling assistance, contribution to field work and analytical support: S. Audry, S. Robert, G. Lavaux and J.P. Lissalde. The support by the INSU, the CIRMAT committee and P. Morin is acknowledged.

References

- Abril, G., Etcheber, H., Le Hir, P., Bassoulet, P., Boutier, B., Frankignoulle, M., 1999. Oxic/anoxic oscillations and organic carbon mineralization in an estuarine maximum turbidity zone (The Gironde, France). *Limnology and Oceanography* 44, 1304–1315.
- Allen, G.P., Sauzay, G., Castaing, J., Jouanneau, J.M., 1977. Transport and deposition of suspended sediment in the Gironde Estuary, France. In: Wiley, M. (Ed.), *Estuary Process*. Academic Press, New York, pp. 63–81.
- Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., 2004a. Anthropogenic components on heavy metal budgets (Cd, Zn, Cu and Pb) in the Lot-Garonne fluvial system (France). *Applied Geochemistry* 19, 469–486.
- Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Jouanneau, J.M., 2004b. Fifty-year sedimentary record of heavy metal pollution (Cd, Zn, Cu, Pb) in the Lot River reservoirs (France). *Environmental Pollution* 132, 413–426.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., Chaillou, G., Robert, S., 2006. Early diagenesis of trace metals (Cd, Cu, Co, Ni, U, Mo and V) in the freshwater reaches of a macrotidal estuary. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70, 2264–2282.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., Guérin, F., Masson, M., Robert, S., 2007a. Budgets of Mn, Cd, Cu in the macrotidal Gironde Estuary (SW France). *Marine Chemistry* 107, 433–448.
- Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., Robert, S., 2007b. Effect of estuarine sediment resuspension on early diagenesis, sulfide oxidation and dissolved molybdenum and uranium distribution. *Chemical Geology* 238, 149–167.
- Baeyens, W., Goeyens, L., Monteny, F., Elskens, M., 1997. Effect of organic complexation on the behaviour of dissolved Cd, Cu and Zn in the Scheldt Estuary. *Hydrobiologia* 366, 81–90.
- Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Anschutz, P., 1999. A cadmium budget for the Lot-Garonne fluvial system (France). *Hydrobiologia* 410, 331–341.
- Boutier, B., Chiffolleau, J.F., Jouanneau, J.M., Latouche, C., Phillips, I., 1989. La contamination de la Gironde par le cadmium: origine, extension, importance. Scientific and technical report, Ifremer no. 14.
- Boutier, B., Chiffolleau, J.F., Auger, D., Truquet, I., 1993. Influence of the Loire River on dissolved lead and cadmium concentrations in coastal waters of Brittany. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 36, 133–145.
- Boutier, B., Chiffolleau, J.F., Gonzalez, J.L., Lazure, P., Auger, D., Truquet, I., 2000. Influence of the Gironde estuary outputs on cadmium concentrations in the coastal waters: consequences on the Marennes-Oléron Bay (France). *Oceanologica Acta* 23, 745–757.
- Boyle, E.A., Collier, R., Dengler, A.T., Edmond, J.M., Ng, A.C., Stallard, R.F., 1974. On the chemical mass-balance in estuaries. *Geochimica Cosmochimica Acta* 38, 1719–1728.
- Boyle, E.A., Huested, S.S., Grant, B., 1982. The chemical mass balance of the Amazon plume-II. Copper, nickel and cadmium. *Deep Sea Research* 29, 1355–1364.
- Braungardt, C.B., Achterberg, E.P., Elbaz-Poulchiet, F., Morley, N.H., 2003. Metal geochemistry in a mine-polluted estuarine system in Spain. *Applied Geochemistry* 18, 1757–1771.
- Castaing, P., Jouanneau, J.M., 1979. Temps de résidence des eaux et des suspensions dans l'estuaire de la Gironde. *Journal de Recherche en Océanographie*, 41–52.
- Chiffolleau, J.F., Cossa, D., Auger, D., Truquet, I., 1994. Trace metal distribution, partition and fluxes in the Seine estuary (France) in low discharge regime. *Marine Chemistry* 47, 145–158.
- Chiffolleau, F., Auger, D., Chartier, E., 1999. Fluxes of selected trace metals from the Seine estuary to the eastern English Channel during the period August 1994 to July 1995. *Continental Shelf Research* 19, 2063–2082.
- Claissé, D., Joanny, M., Quintin, J.Y., 1992. Le Réseau National d'Observation de la qualité du milieu marin (RNO). *Analysis* 20, 719–722.
- Comans, R.N.J., van Dijk, C.P.J., 1988. Role of complexation processes in cadmium mobilization during estuarine mixing. *Nature* 336, 151–154.
- Coynel, A., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., 2007. Scenario of particulate trace metal and metalloid transport during a major flood event inferred from transient geochemical signals. *Applied Geochemistry* 22, 821–836.
- Dyer, K.R., 1994. Estuarine sediment transport and deposition. *Sediment Transport and Depositional Processes*, 193–218.
- Elbaz-Poulchiet, F., Huang, W.W., Jednacak-Biscan, J., Martin, J.M., Thomas, A.J., 1982. Trace metal behaviour in the Gironde Estuary. *Thalassia Jugoslavica* 18, 61–95.
- Elbaz-Poulchiet, F., Holliger, P., Huang, W.W., Martin, J.M., 1984. Lead cycling in estuaries, illustrated by the Gironde Estuary, France. *Nature* 308, 409–414.
- Elbaz-Poulchiet, F., Martin, J.M., Huang, W.W., Zhu, J.X., 1987. Dissolved Cd behaviour in some selected French and Chinese Estuaries. Consequences on Cd supply to the ocean. *Marine Chemistry* 22 (2–4), 125–136.
- Elbaz-Poulchiet, F., Garnier, J.M., Guan, D.M., Martin, J.M., Thomas, A.J., 1996. The conservative behaviour of trace metals (Cd, Cu, Ni and Pb) and as in the surface plume of stratified estuaries: example of the Rhone River (France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 42 (3), 289–310.
- Florence, T.M., 1989. Electrochemical techniques for trace elements speciation in waters. In: Batley, G.E. (Ed.), *Trace Element Speciation: Analytical Methods and Problems*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, pp. 77–116.
- Grousset, F.E., Jouanneau, J.M., Castaing, P., Lavaux, G., Latouche, C., 1999. A 70 year record of contamination from industrial activity along the Garonne River and its tributaries (SW France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 48, 401–414.
- Heral, M., Razet, D., Deslous-Paoli, J.M., Berthomé, J.P., Garnier, J., 1982. Caractéristiques saisonnières de l'hydrobiologie du complexe estuarien de Marennes Oléron. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes* 46, 97–119.
- IFREMER, 1994. Estuaire de la Gironde. Livre Blanc, Final Report (Brest), Agence de l'Eau Adour Garonne.
- IFREMER, 2002. Résultats de la surveillance de la qualité du milieu marin littoral Départements Gironde, Landes et Pyrénées Atlantiques, Arcachon, 60 pp.
- Jouanneau, J.M., Latouche, C., 1981. The Gironde Estuary. 115 pp.
- Jouanneau, J.M., Boutier, B., Latouche, C., Phillips, I., 1990. Cadmium in the Gironde fluvio-estuarine system: behaviour and flow. *Science of the Total Environment* 97/98, 465–469.
- Jouanneau, J.M., Castaing, P., Grousset, F., Buat-Menard, P., Pedemay, P., 1999. Recording and chronology of cadmium by ¹³⁷Cs in the Gironde Estuary (SW France). *Comptes Rendus de l'Académie de Sciences, Sciences de la Terre et des Planètes* 329, 265–270.
- Kapsimalis, V., Massé, L., Tastet, J.P., 2004. Tidal impact on modern sedimentary facies in the Gironde Estuary, Southwestern France. *Journal of Coastal Research* SI 41, 1–11.
- Kraepiel, A.M.L., Chiffolleau, J.F., Martin, J.M., Morel, F.M.M., 1997. Geochemistry of trace metals in the Gironde estuary. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61, 1421–1436.
- Lapaquellerie, Y., Jouanneau, J.M., Maillet, N., Latouche, C., 1995. Pollution en Cd dans les sédiments du Lot (France) et calcul du stock de polluant. *Environmental Technology* 16, 1421–1436.
- Lekhi, P., Cassis, D., Pearce, C.M., Ebell, N., Maldonado, M.T., Oriens, K.J., 2008. Role of dissolved and particulate cadmium in the accumulation of cadmium in cultured oysters (*Crassostrea gigas*). *Science of the Total Environment* 393 (2–3), 309–325.
- Li, Z.H., Nguyen, K.D., Brun-Cottan, J.C., Martin, J.M., 1994. Numerical simulation of the turbidity maximum transport in the Gironde Estuary (France). *Oceanologica Acta* 17, 479–500.
- Maneux, E., Grousset, F.E., Buat-Ménard, P., Lavaux, G., Rimmelin, P., Lapaquellerie, Y., 1999. Temporal patterns of the wet deposition of Zn, Cu, Ni, Cd and Pb: the Arcachon lagoon (France). *Water, Air, and Soil Pollution* 114, 95–120.
- Martino, M., Turner, A., Nimmo, M., Millward, G.E., 2002. Resuspension, reactivity and recycling of trace metals in the Mersey Estuary, UK. *Marine Chemistry* 77, 171–186.
- Masson, M., Blanc, G., Schäfer, J., 2006. Geochemical signals and source contributions to heavy metal (Cd, Zn, Pb, Cu) fluxes into the Gironde Estuary via its major tributaries. *Science of the Total Environment* 370, 133–146.
- Masson, M., Schäfer, J., Blanc, G., Pierre, A., 2007. Seasonal variations and annual fluxes of arsenic in the Garonne, Dordogne and Isle Rivers, France. *Science of the Total Environment* 373, 196–207.
- Meybeck, M., Horowitz, A.J., Grosbois, C., 2004. The geochemistry of seine river basin particulate matter: distribution of an integrated metal pollution index. *Science of the Total Environment* 328, 219–236.
- Michel, P., Boutier, B., Chiffolleau, J.F., 2000. Net fluxes of dissolved arsenic, cadmium, copper, zinc, nitrogen and phosphorous from the Gironde Estuary (France): seasonal variations and trends. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 51, 451–462.
- Monbet, P., 2006. Mass balance of lead through a small macrotidal estuary: the Morlaix River Estuary (Brittany, France). *Marine Chemistry* 98, 59–80.
- Owens, R.E., Balls, P.W., 1997. Dissolved trace metals in the Tay Estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 44, 421–434.
- RNO, 2006. Bulletin de Surveillance du milieu marin, travaux du Réseau National d'Observation de la Qualité du Milieu Marin. Ifremer.
- Robert, S., Blanc, G., Schäfer, J., Lavaux, G., Abril, G., 2004. Metal mobilization in the Gironde Estuary (France): the role of the soft mud layer in the maximum turbidity zone. *Marine Chemistry* 87, 1–13.
- Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., Guérin, F., Lapaquellerie, Y., Lavaux, G., Lissalde, J.P., Masson, M., Maillet, N., Robert, S., 2002a. Budget of the metal inputs into the Gironde Estuary: Cd desorption process in the salinity gradient (Bilan des apports métalliques à l'estuaire de la Gironde: processus de désorption de cadmium dans le gradient de salinité). Final scientific report, Liteau Program.
- Schäfer, J., Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Maneux, E., Etcheber, H., 2002b. Ten-year-observation of the Gironde tributary fluvial system: fluxes of suspended matter, particulate organic carbon and cadmium. *Marine Chemistry* 79, 229–242.

- Schäfer, J., Blanc, G., Audry, S., Cossa, D., Bossy, C., 2006. Mercury in the Lot-Garonne River system (France): sources, fluxes and anthropogenic component. *Applied Geochemistry* 21, 515–527.
- Shiller, A.M., Boyle, E.A., 1991. Trace elements in the Mississippi River Delta outflow region: behaviour at high discharge. *Geochimica Cosmochimica Acta* 55, 3241–3251.
- Sottolichio, A., Castaing, P., 1999. A synthesis on seasonal dynamics of highly-concentrated structures in the Gironde Estuary. *Comptes Rendus de l'Academie de Sciences, Sciences de la Terre et des Planetes* 329, 795–800.
- Tang, D., Warnken, K.W., Santschi, P.H., 2002. Distribution and partitioning of trace metals (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) in Gavelston Bay waters. *Marine Chemistry* 78, 29–45.
- Turner, A., Millward, G.E., Bale, A.J., Morris, A.W., 1993. Application of the KD concept to the study of trace metal removal and desorption during estuarine mixing. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 36, 1–13.
- Turner, A., 1996. Trace-metal partitioning in estuaries: importance of salinity and particle concentration. *Marine Chemistry* 54, 27–39.
- Waeles, M., Riso, R.D., Maquer, J.F., Le Corre, P., 2004. Distribution and chemical speciation of dissolved cadmium and copper in the Loire estuary and North Biscay continental shelf, France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 59, 49–57.
- Waeles, M., Riso, R.D., Le Corre, P., 2005. Seasonal variations of cadmium speciation in the Penzé Estuary, NW France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 65, 143–152.
- Wen, L.S., Santschi, P., Gill, G., Paternostro, C., 1999. Estuarine trace metal distribution in Gavelston Bay: importance of colloidal forms in the speciation of the dissolved phase. *Marine Chemistry* 63, 185–212.
- Windom, H., Smith Jr., R., Rawlinson, C., Hungspreugs, M., Dharmvanij, S., Wattayakorn, G., 1988. Trace metal transport in a tropical estuary. *Marine Chemistry* 24, 293–305.
- Zwolsman, J.J.G., Van Eck, B.T.M., Van Der Weijden, C.H., 1997. Geochemistry of dissolved trace metals (cadmium, copper, zinc) in the Scheldt estuary, south-western Netherlands: impact of seasonal variability. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61, 1635–1652.

Mécanismes biogéochimiques de la contamination en cadmium des huîtres de la baie de Marennes Oléron

La baie de Marennes Oléron, premier site ostréicole français, est influencée par la pollution polymétallique historique de l'estuaire de la Gironde avec des concentrations en cadmium dans les huîtres proches de la limite de consommation européenne (RNO 2006; $5 \mu\text{g.g}^{-1}$ ps, EC No.466/2001). Ces travaux de recherche pluri-disciplinaires ont pour objectif de caractériser le comportement des ETM en zone côtière et les mécanismes de contamination en ETM des huîtres, spécifiquement en Cd, dans la baie de Marennes Oléron. Pour cela, sept missions océanographiques en période contrastée ont permis de caractériser la spéciation des ETM à l'embouchure des estuaires de la Charente et de la Gironde ainsi qu'au Pertuis de Maumusson. Une étude spatio-temporelle complémentaire des sédiments de surface de la baie de Marennes Oléron a montré un enrichissement des sédiments de surface en Cd dans la zone sud baie, confirmant la connexion des eaux girondines et l'apport en Cd particulaire à la baie par le Pertuis de Maumusson. Cette zone sud a ainsi été choisie pour mener une transplantation d'huîtres pendant trois mois. L'hydrodynamique régionale, observée par imagerie satellite, a présenté un rôle important dans la distribution et la variation temporelle des concentrations en Cd dissous et particulaires minérales de la baie. La bioaccumulation en Cd des différents organes d'huîtres cultivées sur table a été plus importante que celle des huîtres cultivées directement sur le sol, suggérant le faible rôle de la diffusion de Cd par la remise en suspension des sédiments de surface et du microphytobenthos sur la bioaccumulation. De plus, le temps d'immersion étant relativement proche entre les deux conditions, nous suggérons que la voie trophique via le plankton pélagique participe à la contamination des huîtres en plus de la voie directe. Cette contribution de la voie trophique a été confirmée lors d'expérimentations en conditions contrôlées en laboratoire par le développement d'une méthode de traçage simultané des voies de contamination directe et trophique par ajouts d'isotopes stables de Cd, conduites pour des concentrations 10 fois supérieures à l'environnement et des concentrations réalistes observées en baie de Marennes Oléron (40 ng.l^{-1} et $\sim 0.7 \text{ mg.kg}^{-1}$).

The Marennes-Oléron Bay, hosting the largest oyster production in France, is influenced by the historic polymetallic pollution of the Gironde Estuary, with cadmium levels in oysters close to the consumption limit level ($5 \mu\text{g.g}^{-1}$ dw, EC No.466/2001). The aim of this pluridisciplinary work was to characterize the behaviour of trace metals in the coastal zone and the mechanisms of Cd contamination in oysters in the Marennes Oléron Bay. Seven oceanographic cruises were conducted during contrasting season to characterize trace metals behaviour and speciation in the Gironde and Charente estuaries and the coastal zone. Then, a spatial and temporal study of trace metals in the surface sediments of the Marennes-Oléron Bay showed punctual Cd-enriched sediments in the southern part, reflecting the connexion with the Gironde waters and the particulate Cd inputs via the Maumusson inlet. Thus, this area was chosen to study Cd bioaccumulation in oysters over a three months transplantation. The regional hydrodynamic, observed by satellite images, played an important role on Cd speciation and the temporal variability of dissolved and particulate Cd concentrations. Cadmium bioaccumulation in organs of oysters reared on tables at 60 cm height was more important than in oysters reared near the sediment, suggesting the absence of Cd released during tidal suspension from sediment and microphytobenthos. Furthermore, as the immersion time was closed between the two rearing conditions, we suggested Cd bioaccumulation via the direct pathway and also via trophic pathway of contamination by pelagic plankton ingestion. This trophic pathway of Cd contamination was validated during laboratory experiments using a simultaneous tracing of Cd direct and trophic pathways in oysters by stable isotope spikes at concentrations 10-fold higher than the Gironde Estuary and at realistic concentrations observed in the Marennes-Oléron Bay.