

LABORATOIRE D'ÉCOLOGIE ET DE ZOOLOGIE

UNIVERSITÉ PARIS-SUD



n° 11660

RAPPORT DE FIN DE CONVENTION DE RECHERCHE

AGENCE DE L'EAU SEINE-NORMANDIE n° 913661

**RECHERCHES MÉTHODOLOGIQUES SUR L'UTILISATION DE
MÉSOCOSMES ADAPTÉS A L'ÉVALUATION DE L'IMPACT
POTENTIEL DE POLLUTIONS CHIMIQUES D'ORIGINE
INDUSTRIELLE ET/OU DIFFUSE EN MILIEU AQUATIQUE**

par F. RAMADE et Th. CAQUET

Février 1993

TABLE DES MATIERES

AVANT-PROPOS	1
INTRODUCTION	2
PREMIERE PARTIE : ETUDES DE LABORATOIRE	4
I. SUBSTANCES SOUMISES A L'EXPERIMENTATION	5
I.1. Atrazine	5
I.1.1. Structure et propriétés physico-chimiques	5
I.1.2. Utilisations	5
I.1.3. Propriétés toxiques et écotoxicologiques	5
I.1.3.1. Toxicité	5
I.1.3.2. Devenir dans l'environnement	6
I.1.4. But du travail	7
I.2. Ugilec 141	7
I.2.1. Structure et propriétés physico-chimiques	7
I.2.2. Utilisations	8
I.2.3. Propriétés toxiques et écotoxicologiques	8
I.2.3.1. Toxicité	8
I.2.3.2. Devenir dans l'environnement	9
I.2.4. But du travail	9
II. EXPERIMENTATIONS REALISEES	9
II.1. Toxicité aiguë	9
II.1.1. Matériel biologique	9
II.1.2. Principe des tests	10
II.1.3. Résultats	12
II.1.3.1. Atrazine	12
II.1.3.2. Ugilec 141	12
II.2. Mise au point des méthodes analytiques	13
II.2.1. Atrazine	13
II.2.1.1. Extraction	13
II.2.1.2. Purification	14
II.2.1.3. Analyse chromatographique	15
II.2.2. Ugilec 141 et Aroclor 1254	17
II.2.2.1. Extraction	17
II.2.2.2. Purification	18
II.2.2.3. Analyse chromatographique	18
II.3. Persistance	21
II.3.1. Atrazine	21
II.3.1.1. Protocole expérimental	21
II.3.1.2. Résultats	23
II.3.2. Ugilec 141	28
II.3.2.1. Protocole expérimental	28
II.3.2.2. Résultats	29
II.4. Bioaccumulation par <i>Brachydanio rerio</i>	30
II.4.1. Atrazine	30
II.4.1.1. Protocole expérimental	30
II.4.1.2. Modélisation	31

II.4.1.3. Résultats	33
II.4.2. Ugilec 141	38
II.4.2.1. Protocole expérimental	38
II.4.2.2. Modélisation	38
II.4.2.3. Résultats	38
III. CONCLUSION	45
DEUXIEME PARTIE : MISE EN PLACE DU DISPOSITIF EXPERIMENTAL	46
I. INFRASTRUCTURE	47
II. EAU ET SEDIMENTS	48
III. VEGETAUX ET ANIMAUX	49
IV. EXPERIMENTATIONS ENVISAGES	51
IV.1. Suivi des résidus	51
IV.2. Recherche d'effets écotoxicologiques	52
IV.3. Choix des substances	53
CONCLUSION	55
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	56

INTRODUCTION

Parmi les milliers de molécules organiques de synthèse utilisées dans le monde, rares sont celles qui ont fait l'objet d'une étude sur leur impact environnemental potentiel avant ou après leur mise sur le marché. Or, de très nombreux composés sont dispersés dans l'environnement ce qui conduit à une contamination générale de ce dernier et en particulier des milieux aquatiques. C'est par exemple le cas des pesticides utilisés de façon intensive en agriculture.

A l'heure actuelle, l'homologation d'une substance chimique nouvelle au niveau communautaire nécessite la constitution d'un dossier de notification dont le contenu varie selon l'importance des tonnages commercialisés. L'évaluation du risque écotoxicologique présenté par cette substance repose pour l'essentiel sur des tests de toxicité aiguë (sur daphnie et poisson notamment) et de dégradation biotique et abiotique. Dans certains cas, des tests complémentaires peuvent être demandés par l'autorité administrative responsable. Ces tests portent sur la toxicité chronique de la substance sur des organismes aquatiques, sur sa toxicité aiguë pour divers types d'organismes (plantes supérieures, algues, vers de terre), etc.

Les tests réalisés en laboratoire sont indispensables pour le screening des molécules nouvelles. Ils sont relativement peu onéreux et aisément standardisables; cependant, du fait de la simplification excessive des conditions environnementales régnant au laboratoire, ils sont limités pour évaluer de façon précise les risques présentés par une substance pour l'environnement. Ils peuvent parfois engendrer des "faux négatifs" (substance plus dangereuse que prévue) ou au contraire des "faux positifs" (substance moins dangereuse que prévue) (Koeman, 1982). En effet, ils négligent pour la plupart les interactions potentielles entre la substance testée et les différents éléments qui composent l'écosystème (sédiments, micro-organismes, etc.). Or, il existe de nombreux exemples qui montrent que le comportement d'une molécule peut être profondément modifié en milieu naturel (adsorption sur les sédiments par exemple).

D'autre part, le choix de l'espèce test est toujours très discuté. En effet, les espèces choisies sont souvent des espèces non-indigènes ou en tout cas non représentatives de celles rencontrées dans les écosystèmes naturels (poissons tropicaux ou truites arc-en-ciel d'élevage par exemple). Très souvent il s'agit de clones (daphnies par exemple) dont la sensibilité est différente de celle des formes sauvages. De façon général, le choix des espèces de référence est beaucoup plus guidé par des considérations de facilité d'élevage et de manipulation que sur leur représentativité en tant que bioindicateur écotoxicologique.

Enfin, ces tests n'apportent aucun renseignement sur les effets des molécules à des niveaux d'organisation biologique supérieurs à l'individu (populations, communautés, etc.). Il est donc très difficile d'extrapoler les données expérimentales obtenues au laboratoire aux problèmes de pollution de l'environnement.

Certaines recherches ont été réalisées sur des milieux aquatiques naturels (lacs, étangs, rivières) afin d'aborder à un niveau réel les effets de certaines perturbations. L'intérêt de ces travaux est limité car ils ne sont pas reproductibles (il n'existe pas deux écosystèmes naturels semblables) et l'interprétation des résultats est souvent très délicate (absence de témoin de référence). En outre, ces expériences sont critiquables sur le plan éthique car il est regrettable de contaminer volontairement un milieu naturel.

Etant donné l'insuffisance des techniques actuelles, il est donc nécessaire de développer de nouvelles méthodologies permettant l'étude du devenir et des éventuels effets écotoxicologiques des substances chimiques nouvelles dans l'environnement. Depuis quelques années, divers auteurs ont proposé l'emploi de mésocosmes, écosystèmes artificiels placés dans des conditions environnementales naturelles (Crossland, 1982; Odum, 1984; Cairns, 1988). Ces dispositifs présentent en théorie certains des avantages des tests de laboratoire (contrôle du niveau de contamination et, dans une certaine mesure, de la composition des communautés d'êtres vivants présentes). En outre, ils sont soumis aux conditions environnementales naturelles et présentent de ce fait un réalisme écologique important. Ils permettent en outre de disposer d'informations écotoxicologiques sur des espèces difficiles à élever au laboratoire et d'étudier les éventuels processus de restauration de peuplements perturbés par une pollution (Voshell, 1989; Caquet, 1990; Ramade, 1992).

L'utilisation courante de tels dispositifs se heurte actuellement à trois difficultés principales :

- le coût des expérimentations : plus le nombre et le degré de complexité des mésocosmes est élevé et plus le coût des expérimentations est important voire prohibitif.
- la faible répétabilité des systèmes : deux mésocosmes expérimentaux mis en place simultanément peuvent parfois évoluer de façons différentes même en l'absence de contamination.
- la faible reproductibilité des résultats : il n'existe pas de mésocosme standard, pas plus qu'il n'existe d'écosystème standard. De ce fait, les résultats sont difficilement reproductible d'un laboratoire à l'autre.

Aux Etats-Unis, l'Agence de protection de l'Environnement (EPA) préconise l'emploi de systèmes de grande taille très coûteux (Touart, 1988). Au niveau européen, des recommandations ont été édictées par la SETAC en ce qui concerne la conception et l'utilisation de mésocosmes pour évaluer l'écotoxicité des pesticides en milieu aquatique (SETAC, 1992). Dans notre laboratoire, nous étudions depuis le milieu des années 1980 la conception de systèmes expérimentaux représentatifs des écosystèmes naturels.

Grâce au soutien de l'Agence, nous avons pu cette année mettre en place l'infrastructure nécessaire pour mener à bien cette recherche destinée à mettre au point des mésocosmes d'un coût abordable afin de proposer un outil fiable pour les gestionnaires de l'environnement. Parallèlement, nous avons initié diverses expérimentations au laboratoire afin de mieux connaître les substances choisies pour être testées dans nos mésocosmes

CONCLUSION

Notre dispositif expérimental est à présent opérationnel. Les expérimentations devraient se dérouler en deux phases. La première, débutant mi-avril concernera l'atrazine; la seconde, prévue pour le début du mois de mai, aura pour objet l'hexachlorobenzène. La poursuite de ce programme de recherche nécessite la prolongation de soutien de l'Agence de l'Eau Seine-Normandie, dont la demande est jointe à ce rapport.

Ces travaux devraient permettre de définir les bases de systèmes standardisés susceptibles d'être utilisés à l'avenir pour évaluer de la façon la plus précise possible le devenir et les effets écotoxicologiques des pesticides et des autres molécules toxiques dans les milieux aquatiques. L'effort de standardisation porte à la fois sur les caractéristiques physiques des systèmes (dimensions, forme), sur les organismes présents (nombre volontairement limité d'espèces représentatives des principales communautés) ainsi que sur les paramètres physico-chimiques, biochimiques, toxicologiques et écotoxicologiques mesurés.