

THESE



n° 13618

présentée à
L'UNIVERSITE DE METZ
en vue de l'obtention du **DOCTORAT** de l'Université

(**Ecotoxicologie**)

par

Brigitte GALLISSOT

**MISE EN EVIDENCE DU POTENTIEL BIOACCUMULATEUR DES BRYOPHYTES
AQUATIQUES VIS-A-VIS DES PCB ET DES PESTICIDES ORGANOCHLORES**

Etude in situ et en laboratoire : Proposition de grilles
d'évaluation de la contamination par les organochlorés.

Soutenue le 17 novembre 1988 devant la commission d'examen

Directeur de thèse	M. NOURISSON	Professeur
Rapporteurs :	J.C. PIHAN	Professeur
	F. RAMADE	Professeur
Examineurs :	G. KECK	Professeur
	F. LANGENFELD	Ingénieur AFBRM
	C. MOUVET	Docteur en Sciences
	P. VASSEUR	Professeur

INTRODUCTION.

Les technologies modernes ont permis, grâce aux progrès des méthodes de fabrication, une expansion continue de la production industrielle et de la consommation. Jusqu'à la fin du XIX^{ème} siècle, en Europe, les nuisances consécutives à l'apparition des complexes industriels et à l'accroissement des populations urbaines étaient localisées et ne dépassaient qu'exceptionnellement les capacités autoépuratrices du milieu.

La surexploitation progressive des ressources naturelles et l'élaboration de quantités sans cesse croissantes de biens de consommation se sont progressivement accompagnées d'effets indésirables et/ou nocifs pour la biosphère.

La production de déchets solides indestructibles (céramiques, aciers inoxydables...) et de produits de synthèse peu biodégradables, voire imputrescibles (matières plastiques, composés organométalliques, certains pesticides) a longtemps été négligée. Depuis peu, on assiste à l'avènement de politiques de gestion contrôlée des déchets dont les objectifs consistent à préserver l'intégrité de notre environnement.

Certains produits industriels n'ont été assimilés à des déchets qu'à la suite de la découverte, bien souvent différée et parfois fortuite de leur écotoxicité. Les PCB en sont un exemple type. Utilisés depuis plus d'un demi siècle, les PCB et certains pesticides organochlorés à propriétés écotoxicologiques proches (DDT, Lindane, HCB...) sont bien connus pour contaminer l'hydrosphère et particulièrement les eaux continentales.

Le problème de la pollution des eaux représente de nos jours l'un des aspects les plus inquiétants de la dégradation de la biosphère. Parmi les contaminants rencontrés en milieu aquatique, en raison de leur rémanence et de leur accumulation dans la biomasse,

les PCB et les pesticides organochlorés occupent une place primordiale.

L'analyse de la contamination des systèmes dulçaquicoles fait de plus en plus appel aux organismes biologiques comme indicateurs. Les bioindicateurs classiquement utilisés appartiennent généralement au règne animal. Nos recherches se sont orientées vers l'utilisation potentielle de macrophytes aquatiques, en particulier les bryophytes en tant que bioindicateurs de pollution organochlorée.

Sur cette base, notre travail s'est déroulé en trois étapes.

- La première est réservée à l'étude bibliographique des mousses aquatiques et de l'écotoxicité d'un polluant organochloré type : les PCB. Elle fait l'objet du chapitre I.

- Après la mise au point d'un protocole analytique exposé au chapitre II, la seconde étape a consisté à appliquer la méthode des mousses aquatiques sur divers cours d'eau (Seine, Isère, Bassin Rhin-Meuse). Les résultats ont permis de proposer une grille préliminaire de qualité basée sur la contamination organochlorée des mousses (chapitre III)

- La dernière étape a porté sur la recherche des facteurs de bioaccumulation des PCB par les bryophytes aquatiques. Les chapitres IV-1 et IV-2 illustrent les paramètres de la bioaccumulation déterminés à l'aide d'expériences d'intoxications poursuivies aussi bien *in situ* qu'*in vitro*.

- Enfin, la synthèse (chapitre V) apporte au lecteur un résumé de l'ensemble de nos résultats. Nous précisons également les orientations de recherche à envisager pour affiner cette méthode d'investigation de la pollution organochlorée.

- Un index bibliographique, suivi de la présentation détaillée des données brutes et de certains documents relatifs à la toxicité des PCB et à la systématique des mousses (documents annexes) sont disponibles en fin de ce mémoire.

3.3.4 Conclusions.

Les cinétiques d'accumulation des PCB par deux espèces de bryophytes sont étudiées à partir de 4 temps de prélèvement répartis sur 10 jours. Avec des concentrations moyennes dans l'eau respectives de 212, 422 et 1810 ng/L, le facteur moyen de bioaccumulation de *Fontinalis* est 26 680 (écart-type : 5 462) et celui de *Platyhypnidium* est de 25 844 (écart-type : 12 485). L'accumulation est rapide et importante puisque 50% des concentrations à l'équilibre sont atteints en 24 heures. Les facteurs d'augmentation à l'équilibre atteignent 118 et 151 pour une concentration moyenne en PCB dans l'eau de 1810 ng/L. Les résultats montrent l'absence de différence significative entre les deux espèces. Cette tendance a également été remarquée *in situ* (voir les paragraphes précédents) où les divergences interspécifiques de potentiel bioaccumulateur sont dans la plupart des situations inférieures à un facteur 2. A niveau de contamination de l'eau égal, la comparaison des résultats obtenus *in situ* avec ceux de cette expérience indique une surestimation des potentiels mesurés *in vitro* probablement liée à une meilleure biodisponibilité.

Les cinétiques de relargage sont poursuivies sur une durée de 17 jours au cours desquels les mousses sont prélevées à 7 reprises. La dépuración des mousses est lente et seulement 50% de la contamination initiale est éliminée après 17 jours de relargage. Il n'y a pas de différences interspécifiques significatives et le facteur de contamination résiduel est important (au maximum, 67,5 fois la concentration initiale).

La qualité de l'eau utilisée pour ces expériences module la biodisponibilité des PCB pour les mousses. *In situ*, les facteurs de bioaccumulation sont plus faibles. Aussi, à niveau de pollution de l'eau égal, on peut supposer que les concentrations en PCB des mousses aquatiques prélevées *in situ* sont nettement inférieures à celles obtenues dans cette étude. Rappelons également que les dosages de PCB dans cette expérience ont été effectués sans

nettoyage préalable des bryophytes, ce qui a certainement son influence sur les concentrations en PCB dans les mousses.

La rapidité de réponse des bryophytes aquatiques à une pollution par les PCB et la lenteur des cinétiques de dépuración justifient bien leur emploi comme bioindicateur. Puisque le relargage est lent, l'effet "mémoire" des mousses échantillonnées *in situ* devra être pris en considération pour une interprétation judicieuse des résultats.

SYNTHESE ET PERSPECTIVES.

Les perspectives d'utilisation des mousses aquatiques comme bioindicateurs de pollution organochlorée des eaux superficielles ont motivé cette étude.

L'étude a porté sur des échantillons provenant de la Seine, de l'Isère et de quelques cours d'eau du Bassin Rhin-Meuse. Leur pollution par les PCB et par certains pesticides organochlorés (HCB, Lindane, a-HCH, b-HCH ainsi que le DDT et ses isomères) a permis de localiser précisément les sources de pollution .

Le recours à la technique des transferts pallie l'absence de bryophytes autochtones et permet de contrôler les durées d'exposition. Les mousses implantées dans les secteurs pollués accumulent rapidement et massivement les PCB (124 ppm de Pyralène en 4 jours) et les pesticides organochlorés (4,5 ppm de DDT après une semaine d'implantation à Grenoble).

L'implantation de mousses a été faite sur des sites particulièrement contaminés par les PCB, le DDT et ses métabolites. Ces transferts qui ont résisté plusieurs semaines à de fortes concentrations illustrent bien le potentiel bioaccumulateur des mousses aquatiques ainsi que leur extraordinaire résistance à une pollution organochlorée multiforme (86 ppm de PCB dans les mousses de la Seine à Oïssel ICI, 289 ppm dans celles d'un effluent industriel de Maizières-Lès-Metz et 67 ppm de DDT dans les bryophytes du Drac à Grenoble en 1986).

Malgré quelques problèmes analytiques, l'expérience d'accumulation des PCB *in vitro* révèle que les relations entre les concentrations en micropolluants dans les mousses et dans l'eau sont linéaires pour la gamme des concentrations étudiées et pour un milieu expérimental donné.

Si l'accumulation est rapide et massive dès les premières heures (50% de l'accumulation à l'équilibre en 24 heures), l'équilibre avec l'eau n'est cependant atteint qu'après 10 jours d'exposition.

La comparaison des facteurs de bioaccumulation obtenus *in situ* (de l'ordre de 1000) et *in vitro* (environ 25 fois plus) suggère que les paramètres physico-chimiques de l'eau modifient considérablement la biodisponibilité des PCB pour les mousses aquatiques.

La dépuración est lente et faible. En 17 jours, les mousses n'ont perdu que 47% de leur concentration initiale en Pyralène.

Les expérimentations *in vitro* n'ont pas montré de différence significative entre les deux espèces *Fontinalis* et *Platyhypnidium*. Dans les études *in situ*, la comparaison des teneurs par couple d'espèces *Platyhypnidium/Cinclidotus*, *Platyhypnidium/Fontinalis* et *Fontinalis/Cinclidotus* permet de classer les potentiels bioaccumulateurs par ordre croissant suivant: *Platyhypnidium* > *Fontinalis* > *Cinclidotus*. Les divergences interspécifiques sont, pour 78% des situations, inférieures à un facteur 2.

Si la teneur en lipides de *Fontinalis* est égale à 1,6 fois celle de *Platyhypnidium* (MOUVET et al., 1988), on constate pourtant que les lipides de *Platyhypnidium* accumulent 1,2 fois mieux que ceux de *Fontinalis*. Les résultats obtenus ne permettent pas de conclure à la prépondérance du facteur lipides en tant que paramètre essentiel intervenant dans les différences interspécifiques. D'autres critères tels que la surface disponible des espèces et la composition biochimique des parois cellulaires jouent probablement un rôle fondamental dans l'accumulation des micropolluants organochlorés. Chez les algues (*Chlorella sp.*) et certaines macrophytes aquatiques (*Cladophora sp.*) ou subaquatiques (*Lythrum salicaria*), l'accumulation des PCB est un phénomène essentiellement passif dont l'amplitude est proportionnelle à la surface des végétaux, à la nature et à l'abondance des polysaccharides membranaires ainsi qu'à

la composition biochimique des cirles de protection des feuilles (BUSH *et al.*, 1986; THOMAS *et al.*, 1984; ANDERSON *et al.*, 1982). RÜHLING & TYLER (1973) ont montré que les parois cellulaires des bryophytes sont riches en polysaccharides (acide polyuronique). A leur surface, il existe donc de nombreux groupements chimiques ayant un rôle potentiel de ligand pour les molécules organochlorées.

L'accumulation des métaux lourds par les bryophytes aquatiques paraît essentiellement localisée sur les parois (SATAKE & MIYASAKA, 1984; PIHAN *et al.*, 1987) et il est probable qu'il en soit de même pour les composés organochlorés. En effet, les expériences de bioaccumulation poursuivies à l'aide de bryophytes mortes montrent que les cinétiques d'accumulation aussi bien des métaux (HUCK, 1987) que des PCB (MAIS, 1988) sont comparables à celles obtenues avec des individus vivants.

L'intérêt des mousses aquatiques est donc multiple. Leur bon potentiel bioaccumulateur ainsi que leur résistance à des fortes concentrations de micropolluants organochlorés permet d'envisager leur utilisation pour la surveillance de la pollution organochlorée des cours d'eau. Les cinétiques d'accumulation montrent que si l'accumulation est rapide, l'équilibre avec l'eau ne semble cependant atteint qu'après deux semaines. Le relargage est lent. La méthode est donc bien une méthode intégratrice. Sur le plan méthodologique, elle est rapide (prélèvement et transferts aisés) et peu onéreuse. Toutefois, les données actuelles sont trop fragmentaires pour envisager la constitution de grilles de qualité de l'eau à partir de la contamination organochlorée des mousses.

Les perspectives sont vastes. Si le potentiel de la méthode est large (surveillance conjointe de la micropollution métallique et organochlorée), les mécanismes de l'accumulation et la localisation cellulaire des micropolluants organochlorés sont encore inconnus. Un autre domaine de recherche consisterait à étudier les paramètres physico-chimiques de l'eau (pH, teneur en carbone organique et abondance des particules en suspension) susceptibles d'influencer la biodisponibilité des organochlorés pour les mousses et par conséquent, leur bioaccumulation. L'étude non pas d'une période

d'accumulation et de relargage mais de plusieurs vagues successives de pollution et de dépollution permettrait une interprétation judicieuse des données récoltées *in situ*.

THESE DE L'UNIVERSITE DE METZ (U.E.R. DE SCIENCES)

Nom : GALLISSOT

Date de soutenance

Prénoms : Brigitte

17 novembre 1988

TITRE : MISE EN EVIDENCE DU POTENTIEL BIOACCUMULATEUR DES BRYOPHYTES AQUATIQUES
VIS-A-VIS DES PCB ET DES PESTICIDES ORGANOCHLORES.

Etude *in situ* et en laboratoire : Proposition de grilles d'évaluation de la contamination par les organochlorés.

RESUME : La pollution organochlorée de quelques cours d'eau français (Seine, Isère, Rhin, Rhône) a été étudiée à l'aide de bryophytes aquatiques autochtones et implantées. L'analyse des échantillons a permis de localiser précisément diverses sources de pollution par les PCB, le Lindane et ses isomères, l'HCB et le DDT et ses métabolites.

L'implantation sur des sites particulièrement contaminés a montré la bonne résistance des bryophytes à une pollution multiforme (289 ppm de PCB dans des mousses implantées dans un effluent industriel, 67 ppm de DDT et ses métabolites dans les mousses du Drac à Grenoble).

Une durée de transfert de 6 jours semble suffisante pour obtenir une bonne analogie entre les concentrations en micropolluants dans les mousses autochtones et celles des transférées. La moitié des concentrations à l'équilibre est atteinte en 24 heures.

Les cinétiques d'accumulation et de relargage des PCB par les bryophytes ont été étudiées *in situ* et en laboratoire. L'accumulation est rapide et l'équilibre est atteint après 10 jours d'incubation. La dépuratation est lente. En 17 jours de relargage, les bryophytes éliminent seulement 47% des concentrations initiales en PCB.

Les différences interspécifiques sont inférieures à un facteur 2. Des grilles de qualité basées sur la contamination organochlorée des bryophytes aquatiques sont proposées.

MOTS-CLES : Macrophytes aquatiques ; Résidus organochlorés ; PCB ; DDT ; Bioaccumulation ; Relargage ;
Fontinalis antipiretica ; *Platyhypnidium riparoides*.

LABORATOIRE DE RECHERCHE : Laboratoire d'Ecologie de l'Université De Metz

DIRECTEUR DE RECHERCHE : Pr. Michel NOURISSON.
