

UNIVERSITE DE METZ
CENTRE DES SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

1 Rue des Récollets, 57000 metz



14188

D.E.A DE TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT

EVALUATION DE LA CAPACITE BIOINDICATRICE DE
Dreissena polymorpha VIS A VIS DES
PCB ET PESTICIDES ORGANOCHLORES

Mémoire présenté le 29 novembre 1989

par Alain JEANJEAN

Membres du jury :

Mademoiselle P. VASSEUR
Monsieur J.C. PIHAN
Monsieur M. BABUT

Laboratoire d'accueil :

Laboratoire d'Ecologie, UER Sciences, METZ

SOMMAIRE

<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>1 ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE</u>	2
1.1 PCBs ET PESTICIDES ORGANOCHLORES	2
1.1.1 <u>Structures chimiques</u>	2
1.1.1.1 Pesticides organochlorés	2
1.1.1.2 Biphényles polychlorés	2
1.1.2 <u>Propriétés et applications</u>	3
1.1.2.1 Pesticides Organochlorés	3
1.1.2.2 Biphényles Polychlorés (PCBs)	4
1.1.3 <u>Législation</u>	4
1.1.3.1 Pesticides organochlorés	4
1.1.3.2 Biphényles Polychlorés	5
1.1.4 <u>Contamination des écosystèmes</u>	5
1.1.4.1 Voie de pénétration dans l'écosystème	5
1.1.4.2 Distribution dans l'environnement	5
1.1.4.2.1 Distribution dans l'atmosphère	5
1.1.4.2.2 Distribution dans l'hydrosphère	8
1.1.4.2.2.1 Hydrosolubilité des organochlorés	8
1.1.4.2.2.2 Film d'hydrocarbure	8
1.1.4.2.3 Liaison avec les matières en suspension	8
1.1.4.2.4 Distribution dans les organismes	9
1.1.4.2.4.1 Bioaccumulation et Biomagnification	9
1.1.4.2.4.2 Elimination des PCBs	10
1.1.4.2.4.2.1 Elimination physique	10
1.1.4.2.4.2.2 Elimination biologique	10
1.2 LA MOULE D'EAU DOUCE (<i>Dreissena Polymorpha</i>)	12
1.2.3 <u>Répartition</u>	12
1.2.3.1 Répartition géographique	12
1.2.3.2 Abondance	13
1.2.4 Développement	13
1.2.5 <u>Durée de vie</u>	13
1.2.6 <u>Biologie</u>	14
1.2.6.1 Filtration	14
1.2.6.2 La respiration	14

1.2.7 <u>Comportement et biotope</u>	14
<u>2 MATERIEL ET METHODES</u>	15
2.1 RECOLTE ET CONDITIONNEMENT	15
2.1.1 <u>Prélevement des échantillons</u>	15
2.1.2 <u>Conditionnement</u>	15
2.2 PREPARATION DES ECHANTILLONS POUR LE DOSAGE	16
2.3 DOSAGE DES ORGANOCHLORES	16
2.3.1 <u>Pesée de la poudre</u>	16
2.3.2 <u>Extraction des organochlorés</u>	16
2.3.2.1 Dans les moules	16
2.3.2.2 Dans l'eau	17
2.3.3 <u>Purification des extraits</u>	17
2.3.4 <u>Chromatographie des extraits</u>	17
2.3.4.1 Solution standard	19
2.3.4.2 Quantification	19
2.3.5 <u>Nettoyage des instruments et qualité des produits</u>	21
2.4 TEST PROTOCOLAIRES	21
2.4.1 <u>Influence de la technique de séchage</u>	21
2.4.2 <u>Influence de la taille</u>	22
<u>3 METHODOLOGIE</u>	23
<u>Introduction</u>	23
3.1 ETUDE DU RESEAU DE LA MOSELLE	24
3.1.1 <u>Mise en oeuvre de l'étude</u>	24
3.1.1.1 Choix des stations	24
3.1.1.2 Prélevement des échantillons	24
3.1.1.3 Traitement des échantillons	24

3.1.2	<u>Resultats</u>	25
3.1.2.1	Pesticides organochlorés	25
3.1.2.1.1	Hexachlorobenzène (HCB)	25
3.1.2.1.2	Lindane	25
3.1.2.1.3	DDT et dérivés	25
3.1.2.2	PCBs	27
3.1.3	<u>Conclusion</u>	30
3.2	EXPERIENCE D'ACCUMULATION/RELARGAGE "IN SITU"	31
3.2.1	<u>Matériel et méthode</u>	31
3.2.1.1	Choix du site	31
3.2.1.2	Origine des organismes transplantés	31
3.2.1.2.1	Expérience d'accumulation	32
3.2.1.2.2	Expérience de relargage	32
3.2.1.3	Définition des lots de moules	32
3.2.1.3.1	Quantité et taille des moules	32
3.2.1.3.2	Préparation des lots	32
3.2.1.4	Prélèvements	33
3.2.1.4.1	Calendrier des prélèvements	33
3.2.1.4.2	Echantillons de moules	33
3.2.1.4.3	Echantillons d'eau	33
3.2.2	<u>Résultats</u>	34
3.2.2.1	Expérience d'accumulation	34
3.2.2.1.1	Les PCBs	34
3.2.2.1.2	Pesticides organochlorés	37
3.2.2.1.2.1	DDT et dérivés	37
3.2.2.1.2.2	Hexachlorobenzène (HCB)	38
3.2.2.1.2.3	Alpha-HCH	39
3.2.2.1.2.4	Lindane (Gamma-HCH)	39
3.2.2.2	Expérience de relargage	40
3.2.2.2.1	PCBs	40
3.2.2.2.2	Pesticides organochlorés	41
3.2.2.2.2.1	Hexachlorobenzène (HCB)	42
3.2.2.2.2.2	Lindane	42
3.2.2.2.2.3	DDT et dérivés	42
3.2.3	<u>Conclusion de L'expérience</u>	43
3.3	ETUDE DE CAS PARTICULIERS	45
3.3.1	<u>Usine SEDILOR</u>	45
3.3.1.1	Méthodologie	45
3.3.1.2	Résultats	45
3.3.2	<u>Retenue du Mirgenbach</u>	46
3.3.2.1	Méthodologie	46
3.3.2.2	Résultats	47
3.3.2.2.1	Pesticides organochlorés	47
3.3.2.2.2	PCBs	47

3.4 INTOXICATION "IN VITRO" PAR LE LINDANE	49
3.4.1 <u>Origine des moules</u>	49
3.4.2 <u>Protocole expérimental</u>	49
3.3.2.1 Milieu d'exposition	49
3.3.2.2 Mise en oeuvre	49
3.4.3 <u>Concentrations utilisées</u>	49
3.4.4 <u>Résultats</u>	50
<u>4 SYNTHÈSE ET PERSPECTIVES</u>	52
<u>5 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u>	54
<u>6 ANNEXE</u>	58

INTRODUCTION

Les progrès techniques de ces dernières décennies, en matière d'industrie, ont entraîné un développement considérable de complexes industriels et de décharges dont l'impact sur l'environnement ne cesse d'être mis en cause.

Au cours de ces dernières années, grâce à l'amélioration des techniques analytiques, on a mis en évidence la présence de composés organochlorés dans le milieu naturel : les byphénils polychlorés (PCBs).

De nombreuses analyses ont détecté ces PCBs ainsi que des pesticides organochlorés, dans toutes les parties de la biosphère, jusque dans les régions arctiques et antarctiques. Ceci tend à démontrer l'importance écotoxicologique que prennent ces composés.

De part leur stabilité exceptionnelle, ces composés s'accumulent de façon considérable dans le milieu et dans les organismes vivants. Leur importance est telle qu'ils constituent actuellement l'un des contaminant-type, et représentent une sorte de modèle d'étude en matière de pollution chronique dans le domaine de l'écotoxicologie.

Les dosages des micropolluants dans les échantillons d'eau ne donnent qu'une représentation très limitée de l'état de pollution, car ils ne fournissent qu'une valeur ponctuelle et se heurtent souvent au problème de seuil de détection.

Pour pallier à cet inconvénient, on fait de plus appel à des bioindicateurs de pollution qui intègrent les polluants et donnent donc, une image plus significative de la quantité de toxique ayant transité à l'endroit considéré.

Etant donné leur intérêt, les techniques utilisant les organismes sentinelles prennent une importance considérable en écotoxicologie.

Dans ce cadre, le Laboratoire d'Ecologie de Metz a mis en marche depuis plusieurs années, un programme d'utilisation de la moule d'eau douce (*Dreissena polymorpha*) comme bioindicateur. La présente recherche en constitue un des volets.

Les capacités bioindicatrices de cet organisme ont déjà été mises en évidence en ce qui concerne certains métaux lourds (MAAROUF et al., 1988; BENYAHIA et al., 1988).

Le but de cette étude est d'évaluer la capacité bioindicatrice de *Dreissena polymorpha*, vis à vis des PCBs et pesticides organochlorés, et d'appréhender les différents problèmes inhérent à cette technique.

Il conviendra à l'avenir d'établir un système de grille de qualité permettant d'évaluer l'état de qualité du milieu étudié vis à vis de ces micropolluants, à partir des concentrations dans la moule.

4 SYNTHÈSE ET PERSPECTIVES

Cette étude a été effectuée à partir d'échantillons de la moule *Dreissena polymorpha* provenant de la Moselle.

Les mesures des PCBs et de certains pesticides organochlorés (HCB, A-HCH, B-HCH, Lindane ainsi que DDT et ses dérivés) dans les moules de vingt stations réparties sur la Moselle, ont permis de mettre en évidence un certain nombre de secteurs pollués.

Ces pollutions sont surtout visibles en aval de la ville de Metz pour les PCBs et à la station de Grévenmacher pour le Lindane.

Bien que l'ensemble des données n'ait pas fait l'objet de répétition, *Dreissena polymorpha* a montré des potentialités d'espèce bioindicatrice de ce type de micropolluant. Des vérifications ultérieures au niveau des secteurs répertoriés comme concernés devraient permettre d'identifier les sources de contamination.

Les expériences de transfert effectuées sur la station de Uckange montrent une accumulation des PCBs dans les moules transférées. Si la concentration de départ est inférieure à celle des moules autochtones, celle-ci augmente progressivement jusqu'à obtention de concentrations quasiment identiques, après 35 jours d'exposition, à celle des autochtones. Si les moules transférées présentent une concentration de départ supérieure à celle des autochtones, elles n'atteignent pas la concentration de celles-ci après le même laps de temps. Un relargage n'est pas mis en évidence.

Cet résultat amène à s'interroger sur la localisation des PCBs dans les moules, à leur forme d'intégration et à la proportion d'adsorption, notamment par le byssus (pris en compte avec les parties molles dosées dans cette étude). La réponse à ces questions permettrait d'expliquer ces différences de comportement.

Les techniques de transfert sont certainement utilisables, mais pour plus de sensibilité, l'utilisation de moules peu ou pas contaminées serait nécessaire. La prospection sur différents lacs, tel celui de la Madine, devrait permettre de trouver cette population de référence.

Les expériences effectuées sur les sites, d'une part, de la retenue du Mirgenbach, et d'autre part, de l'usine CEDILOR, mettent en évidence l'évolution différente des PCBs dans l'environnement selon leur degré de chloration.

Dans le cas de l'usine CEDILOR, les moules situées à proximité du rejet possèdent des concentrations supérieures en PCBs légers et sensiblement identiques en PCBs lourds, à celles trouvées dans les moules situées 200 m en aval du rejet. Ces valeurs laissent supposer (compte tenu de l'aspect ponctuel du prélèvement de moules), que des PCBs légers se déversent dans la Moselle dans ce secteur. Une recherche plus fine permettrait d'identifier les sources.

Dans le cas de la retenue du Mirgenbach, les concentrations en PCBs légers sont plus élevées, et celles en PCBs lourds plus faibles, dans les échantillons de moules du lac que dans ceux prélevés en Moselle, en amont de l'ouvrage de prise d'eau et en aval de l'ouvrage de rejet. Ces différences sont liées, soit à la

différence de faciès et donc de comportement des PCBs dans l'eau, soit à un phénomène plus spécifique au lac en question à savoir que les eaux transitent par le circuit de refroidissement de la centrale nucléaire de Cattenom où elles subissent une addition d'acide chlorhydrique, un échauffement et une modification de pression. L'état actuel des connaissances ne permet pas de conclure sur ce point. Une étude fine serait également envisageable.

L'expérience d'intoxication par le Lindane, effectuée au laboratoire, confirme la capacité accumulatrice de *Dreissena polymorpha* vis-à-vis de ce composé. Les concentrations très élevées utilisées dans cette expérience montrent la forte résistance des moules, en effet aucune mortalité n'a été constatée après 96 h d'exposition pour des concentrations maximales de 200ug/l, qui restent bien au-dessus de celles susceptibles d'être rencontrées dans l'environnement.

Malgré tous les problèmes techniques que cela comporte (compte tenu de la forte hydrophobicité de ces produits), il s'avère souhaitable d'effectuer de nouvelles expériences "in vitro", à des concentrations plus faibles pour mieux appréhender la cinétique d'accumulation et de relargage dont l'étude "in situ" a montré l'intérêt.

Dans l'ensemble, *Dreissena polymorpha* devrait représenter un bon bioindicateur pour les PCBs et pesticides organochlorés, du fait de sa grande résistance aux pollutions, de sa large répartition en Europe et de son facteur de concentration en ces polluants.

Dans l'optique d'établir une échelle de graduation des pollutions du milieu aquatique dulçaquicole par ces composés, à partir des concentrations trouvées dans les moules, il convient de vérifier la corrélation existante entre la concentration dans l'eau et dans le bioindicateur. Pour cela, des expériences sur l'influence de certains paramètres doivent être effectuées : le type de pollution (aigüe, chronique, par vagues successives...), la part de composés provenant de la bioconcentration et de la biomagnification, la part de l'adsorption dans les quantités présentes dans la moule (rôle du byssus), la saison de prélèvement entraînant une modification du pool lipidique.

Parallèlement à ce travail, *Dreissena polymorpha* fait l'objet d'une étude dans le but d'être utilisée comme espèce bioindicateur de pollution en métaux lourds.

L'établissement de ces multiples capacités bioindicatrices devrait permettre d'obtenir un organisme performant de détection mesure des pollutions en organochlorés et métaux lourds.