

# THESE

présentée devant



n° 16423

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I  
INSTITUT DE CHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT

par

Jean-françois MUNOZ

le 13 février 1992

**METHODOLOGIE D'ETUDE DES PRODUITS PHYTOSANITAIRES  
ETUDE D'UN BASSIN VERSANT VITICOLE : L'ARDIERES (BEAUJOLAIS).  
MISE AU POINT DE METHODES ANALYTIQUES DE PESTICIDES.**

---

Membres du jury

**Danièle** C. GAUTHERON  
Alain SALIOT  
Georges MICHEL  
Christian GUYOT  
**René** BELAMIE  
Bernard ROUX  
Pierre **MEALLIER**

**Président** du jury  
Rapporteur  
Rapporteur  
Examineur  
Examineur  
Examineur  
Examineur

---

# TABLES DES MATIERES

---

'Why do <b>farmers</b> do what they do ?	2	<u>4</u>
REMERCIEMENTS	3	
TABLE DES MATIERES	4	
RESUME	9	
ABREVIATIONS	10	
<b>INTRODUCTION</b>	11	
<b>LES PESTICIDES DANS L'ENVIRONNEMENT</b>	13	
1. Bref historique de l'utilisation des produits phytosanitaires	13	
2. Définitions et pratiques agricoles	14	
3. Estimation des quantités utilisées en France	15	
4. La législation sur la protection de l'environnement	17	
5. Contamination des eaux par les produits phytosanitaires	18	
5.1 Les pollutions accidentelles	18	
5.2 Les pollutions diffuses	19	
5.2.1 Pollutions des aquifères	19	
5.2.2 Pollutions des eaux superficielles	20	
6. La dispersion des pesticides dans l'environnement	23	
6.1 Les mécanismes de dégradation	23	
6.1.1 <b>La biodégradation</b> aérobique et anaérobique	23	
6.1.2 La dégradation abiotique	23	
6.2 Les mécanismes d'immobilisation et de transfert	24	
6.2.1 Volatilisation et transport atmosphérique	24	
6.2.2 Transport et adsorption dans les sols	24	
6.2.2.1 Le transport dans les sols	24	
6.2.2.2 <b>L'adsorption</b> dans les sols	25	
6.2.3 Le transport à la surface du sol	29	
6.2.3.1 Les études de bassin versant	29	
6.2.3.2 Les études par des simulations de pluies	33	
6.3 La variabilité <b>spatio-temporelle</b> de la dissipation des pesticides	35	
<b>LE PROGRAMME D'ETUDE DU BASSIN VERSANT DE L'ARDIERES</b>	36	
1. Présentation géographique	37	
2. <b>La</b> dégradation de la qualité des eaux du bassin versant de <b>l'Ardières</b>	38	
2.1 Evolution de la population piscicole	38	
2.2 Mise en évidence de la contamination	39	
2.2.1 Inventaire des pollutions	39	
2.2.2 Qualité physico-chimique de <b>l'Ardières</b>	40	
2.2.3 Bilan hydrobiologique	40	
2.2.4 Recherches de micropolluants (1985)	41	
2.2.4.1 Etudes sur des sédiments et des bryophytes	41	
2.2.4.2 Recherches de <b>contaminants</b> et tests de toxicité	41	

2.2.5 Recherches de micropolluants (1986)	42
2.3 Bilan de ces observations	43
3. Caractérisation de la contamination et des activités humaines	43
3.1 Caractérisation des activités humaines	44
3.1.1 Evolution des activités humaines sur le bassin versant de l'Ardèche	44
3.1.1.1 Evolution démographique	44
3.1.1.2 Evolution des activités industrielles	44
3.1.1.3 Evolution des activités agricoles	44
3.1.1.4 Evolution du vignoble	45
3.1.2 Caractérisation des activités sur le sous-bassin de la Morcille	45
3.1.3 Aménagements sur le sous-bassin de la Morcille	45
3.1.3.1 Inventaire des aménagements	46
3.1.3.2 Comportement en cas dorage	46
3.1.3.3 Les aménagements a la parcelle	46
3.1.3.4 Conclusions	47
3.1.4 Enquête sur l'utilisation des produits phytosanitaires	47
3.1.4.1 Surfaces concernées par les traitements	47
3.1.4.2 Quantités utilisées	47
3.1.4.3 Périodes de traitements	47
3.2 Qualité physico-chimique de la Morcille	48
3.3 Caractérisation de la contamination par les métaux	49
3.3.1 Comparaison des teneurs métalliques entre l'amont et l'aval du bassin de la Morcille	49
3.3.1.1 Dans la rivière	49
3.3.1.2 Dans le sol	49
3.3.2 Suivi des concentrations métalliques	50
3.3.3 Dynamique des métaux dans l'eau de ruissellement	51
3.3.4 Conclusions sur les métaux	51
3.4 Etude hydrobiologique du sous-bassin de la Morcille	52
3.5 Caractérisation de la contamination par l'induction d'enzymes de détoxification chez les poissons	53
4. Conclusion	55
<b>PROTOCOLE D'ETUDE DES PESTICIDES</b>	56
1. Le bassin versant de l'Ardèche : prélèvements pendant les orages	56
2. Le sous-bassin de la Morcille : prélèvements hebdomadaires	58
3. La parcelle : expérimentation de simulation de pluie	59
3.1 Description du dispositif de simulation de pluie	59
3.2 Les expérimentations	61
3.2.1 Simulation de 1988	61
3.2.2 Simulation de 1989	61
3.2.3 Simulation de 1990	62
3.2.4 Pour les trois simulations	62
3.3 Tableau récapitulatif des études de simulation de pluie	62
<b>SELECTION DES PESTICIDES</b>	63
1. Introduction	63
2. Méthodes d'évaluation des risques	63
2.1 Les approches partielles	63
2.1.1 Le Benchmark	63
2.1.2 Le profil écotoxicologique	63
2.2 Les approches réalistes	64
2.2.1 Le "Pire cas raisonnable"	64
2.2.2 Le "Cas le pire raisonnable"	64
2.3 Les méthodes de scores	64

2.3.1 Le "concept du <b>mètre</b> étalon"	64
2.3.2 <b>La</b> méthode de Hushon	64
2.3.3 La méthode de Jouany et coll.	64
2.3.4 La méthode de sélection au Royaume Uni	65
2.3.5 <b>La</b> méthode de la CEE	65
2.4 Conclusion	65
3. Les pesticides parmi les substances prioritaires en France	66
3.1 La liste prioritaire de la CEE	66
3.2 La liste de la D.A.S.S.	66
4. Application au sous-bassin de la <b>Morcille</b>	66
4.1 Monographie des produits	66
4.1.1 Les <b>critères physicochimiques</b>	67
4.1.2 Les <b>critères</b> toxicologiques	68
4.2 Application de la méthode des scores	69
4.2.1 Les critères et les scores utilisés	69
4.2.2 Les pesticides sélectionnés	74
<b>TECHNIQUES D'ANALYSE ET MISES AU POINT</b>	78
1. Préparation de la verrerie et conditionnement des échantillons	78
1.1 Préparation de la verrerie	78
1.2 Conditionnement des échantillons	79
2. Séparation des phases soluble et <b>particulaire</b>	79
2.1 Tamisage manuelle	80
2.2 Dispositif couplant une tamiseuse mécanique avec une centrifugeuse en continu	80
2.3 Résultats	81
2.3.1 Tamisage manuel	81
2.3.2 Tamisage avec tamiseuse et centrifugeuse	82
2.4 La mesure des matières en suspension	83
3. L'analyse des pesticides	84
3.1 L'analyse des pesticides par chromatographie en phase gazeuse	85
3.1.1 La chromatographie en phase gazeuse	85
3.1.2 Description du matériel de laboratoire	86
3.2 Extraction classique à l'ampoule	87
3.2.1 Les réactifs	88
3.2.1.1 Préparation des solutions ensemencement et d'étalonnage	88
3.2.1.2 Mode opératoire du protocole d'extraction	88
3.2.1.3 Dosage par chromatographie en phase gazeuse	89
3.2.1.4 Résultats	90
4. Mise au point de l'extracteur liquide-liquide.	91
4.1 Les techniques de préconcentration	91
4.1.1 Systèmes d'extraction liquide-solide	91
4.1.2 <b>Système</b> d'extraction liquide-liquide en continu	92
4.2 L'extracteur liquide-liquide en continu	92
4.2.1 Présentation de l'appareil	92
4.2.2 Mise en route de l'extracteur liquide-liquide en continu	93
4.2.3 Présentation des tests	94
4.2.3.1 Premiers essais sur le diuron et la simazine	94
4.2.3.2 <b>Deuxième</b> essai sur le fénitrothion, le méthidathion et le folpel.	95
4.2.3.3 Résultats et interprétation	97
5. Les extractions sur les sols et les <b>matières</b> en suspension	98
5.1 Les méthodes testées	98
5.1.1 La méthode du Cemagref	99
5.1.2 Méthode d' <b>Ambus</b>	99
5.1.3 <b>La</b> méthode Luke modifié	100

5.1.4 La <b>Méthode</b> de Mestres	100
5.2 Préparation des essais	101
5.2.1 Dosage par chromatographie en phase gazeuse	101
5.2.2 <b>Résultats</b> et interprétation	102
5.3 Conclusion	104
6. La technique d'analyse granulométrique	104
6.1 Principe de fonctionnement du granulomètre par diffraction laser	104
6.2 Principe théorique de la granulométrie par diffraction laser	105
6.3 Mode opératoire (Nonne AFNOR X 1 I-666)	106
6.4 Expression des résultats	106
RESULTATS	107
LE BASSIN VERSANT DE <b>L'ARDIERES</b> : <b>PRELEVEMENTS PENDANT LES ORAGES</b>	108
1. Caractéristiques des orages et des échantillons	108
1.1 Les précipitations	108
1.2 Les matières en suspension	108
1.2.1 Texture et granulométrie des M.E.S.	108
1.2.2 La matière organique dans les M.E.S.	110
2. Les analyses de pesticides	111
2.1 Dans les <b>échantillons</b> bruts	111
2.2 Dans la fraction soluble	111
2.3 Dans la fraction <b>particulaire</b>	112
2.4 Comparaison des analyses	113
3. Interprétations	113
3.1 La phase de transport privilégiée des pesticides	115
3.1.1 Etude du Kd	115
3.1.2 Répartition des pesticides entre les deux phases	116
4. Conclusion	117
LE SOUS-BASSIN DE IA <b>MORCILLE</b> : PRELEVEMENTS HEBDOMADAIRES	119
1. Présentation des résultats	119
2. Caractérisation des contaminations	121
2.1 Echantillons instantanés	121
2.2 Echantillons cumulés	125
3. Interprétations et conclusion	129
IA <b>PARCELLE</b> : <b>EXPERIMENTATIONS</b> DE SIMULATION DE PLUIE	131
1. Les traitements phytosanitaires sur la parcelle	131
2. Transfert de pesticides par rapport aux dates d'épandages	132
2.1 Résultats de la simulation de 1988	132
2.1.1 Les mesures de terrain	132
2.1.2 Le sol et les <b>matières</b> en suspension	132
2.1.3 Les pesticides dans <b>l'eau</b> de ruissellement	134
2.2 Bilan des simulations de 1986 à 1988	134
2.2.1 Rappels des résultats antérieurs (1986 et 1987)	134
2.2.2 Bilan	135
3. Caractérisations du transfert des <b>pesticides</b> (simulations 1989 et 1990)	137
3.1 Paramètres caractérisant les sites	137
3.2 Le pH de l'eau de ruissellement	138
3.3 Le sol et les <b>matières</b> en suspension	138
3.4 Interprétations sur les <b>paramètres</b> de terrain	143
3.5 Les analyses de pesticides dans le sol	143
3.6 Les analyses de pesticides dans l'eau de ruissellement	144
3.6.1 Dans les échantillons bruts	144

3.6.2 Dans la phase soluble	148
3.6.3 Dans la phase particulaire (M.E.S. < 50 µm)	149
3.7 Interprétations	149
3.7.1 Remarques	149
3.7.2 Bilans	151
3.7.3 La phase de transport privilégiée des pesticides	152
3.7.3.1 Les variations du Kd	152
3.7.3.2 La phase de transport privilégiée des pesticides	153
4. Conclusion sur la caractérisation du transfert des pesticides	154
<b>CONCLUSION SUR LES OBSERVATIONS DU BASSIN VERSANT DE L'ARDIERES</b>	159
1. La contamination par les pesticides	159
2. Leur mode de transfert	160
3. La persistance des pesticides	161
4. Les techniques utilisées	162
4.1 L'extracteur liquide-liquide en continu	162
4.2 La séparation des phases soluble et particulaire	162
5. Les limites de la méthodologie analytique	163
6. Conclusion et perspectives d'étude	163
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES DE LA MONOGRAPHIE DES PESTICIDES</b>	164
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	166

---

# RESUME

---

L'utilisation massive des produits phytosanitaires contre les organismes parasites a permis une augmentation de la production agricole grâce à une amélioration significative des rendements de cultures. L'appréciation du rôle joué par l'activité agricole dans la dégradation des eaux continentales nécessite une connaissance précise de l'origine de ces substances et des conditions de leur transfert depuis les zones cultivées vers les cours d'eau. Ces études doivent faire la part de la contribution des différentes sources susceptibles de polluer les milieux : agricoles, industrielles et urbaines.

L'existence d'un bassin versant exclusivement viticole (l'Andrière dans le Beaujolais) et subissant une dégradation marquée de ses écosystèmes fournissait les conditions nécessaires pour mettre en place un protocole d'étude permettant d'apporter des éléments d'appréciation sur le transfert des pesticides. Les orientations retenues sont les suivantes : établir une méthodologie d'analyse des pesticides, mettre au point un protocole d'expérimentation (simulations de pluie) et de suivi in situ des conditions de transfert, analyser la contamination et décrire les facteurs jouant un rôle dans la mobilité des pesticides.

Compte tenu du nombre élevé de pesticides utilisés sur ce bassin et des conditions analytiques limitées, une monographie des matières actives a été réalisée, à partir de laquelle, une analyse par la méthode des scores établie sur certains critères a conduit à retenir quelques composés représentatifs du bassin versant et présentant une potentialité de risque significative pour l'environnement (diuron, simazine, fénitrothion, folpel, méthidathion, captafol). L'analyse de ces composés a nécessité la mise au point de méthodes de dosage dans les eaux et les sédiments. Pour l'extraction des pesticides à l'état de traces, un extracteur liquide-liquide en continu permettant le traitement de grands volumes d'eaux a été utilisé. L'étude du transfert et de la mobilité des pesticides a orienté notre protocole sur la séparation et la caractérisation des phases soluble et particulaire, ainsi, un procédé original de séparation des matières en suspension et des particules fines d'un sédiment ou d'un sol a été mis au point.

Dans le protocole d'étude, trois niveaux d'observation ont été retenus :

- sur le bassin versant de l'Andrière, des prélèvements sur cinq rivières pendant les périodes de traitement et après des épisodes pluvieux intenses ont révélé la présence de pesticides dans les rivières, transportés préférentiellement dans la phase soluble pour des faibles taux de matières en suspension et sur la phase particulaire pour des teneurs plus élevées de M.E.S.. Des concentrations très élevées ont été détectées, notamment pour le méthidathion qui a atteint la valeur maximale de 365 µg/l.

- sur le sous-bassin de la Morcille, des prélèvements hebdomadaires instantanés ou cumulés à l'aide d'un préleveur automatique d'échantillon ont permis d'apprécier une évaluation saisonnière de la mobilité des pesticides en relation avec les variations climatiques, mais également, d'appréhender les pollutions aléatoires ou accidentelles. Les résultats montrent une relation entre la présence de pesticides dans la rivière, les périodes de traitements (printemps, été) et les événements pluvieux, mais également des contaminations en dehors des périodes d'épandage (hiver) ce qui suppose une persistance des composés plus élevée que les données généralement estimées en laboratoire.

- sur une parcelle viticole, des essais de simulation de pluie ont contribué à étudier la susceptibilité au ruissellement des produits phytosanitaires. Les résultats d'une première série de trois simulations réalisées à des dates précises par rapport aux périodes d'applications mettent en évidence la présence de ces composés dans les eaux de ruissellement à des concentrations supérieures aux normes de potabilité. Lors d'une deuxième série d'expérimentations plus approfondies, l'étude du rapport des concentrations de pesticides entre les phases soluble et particulaire montre qu'au début du ruissellement la phase de transport préférentielle des pesticides est soit particulaire, soit à peu près répartie entre les deux fractions, puis, au cours de l'expérimentation, c'est la phase soluble qui devient prédominante dans le transport des composés. Le taux de matières en suspension régit la mobilité de ces composés entre les deux phases par les phénomènes d'adsorption/désorption.

L'ensemble de ces observations montre que les composés recherchés sont présents dans les cours d'eau et sur les parcelles longtemps après leur utilisation et dépassant même leur période connue de persistance. L'étude de la répartition de ces composés entre les phases soluble et particulaire dans les eaux de ruissellement est fonction du taux de matières en suspension.

Les pesticides constituent donc une source majeure dans la dégradation de la qualité des eaux du bassin versant de l'Andrière, notamment par les pollutions diffuses lors d'événements météorologiques générateurs de ruissellement.

---

# INTRODUCTION

---

Une parcelle agricole est un milieu artificiel où un déséquilibre est **créé** par regroupement de certaines espèces végétales favorisant ainsi la concentration de leurs prédateurs. La lutte contre ces **espèces** nuisibles conduit à l'utilisation des pesticides, mais ces produits ne sont pas appliqués exclusivement sur l'organisme-cible, et l'activité biocide s'exerce alors sur toutes les composantes de **l'écosystème** qui sont liées entre elles par un vecteur principal, l'eau. Aussi, la modernisation et la croissance soutenue de la productivité agricole depuis les trente dernières années ne sont pas sans dangers pour l'homme et son environnement. Cette situation a conduit les chercheurs et les responsables de la gestion de la qualité de l'environnement à entreprendre des études sur le transfert et le devenir des pesticides dans le milieu et sur l'impact que ces produits pouvaient avoir sur la qualité des eaux et spécialement des eaux de surface.

En France, la mise en cause des produits phytosanitaires dans la dégradation de la qualité de l'environnement, notamment par les pollutions diffuses a été soulignée par les Ministères de **l'Environnement** et de l'Agriculture dans un rapport sur les activités agricoles et la qualité des eaux (**Hénin**, 1980). La France se situe en tête des consommateurs mondiaux, en deuxième ou troisième position après les Etats-Unis et le Japon, avec quelques 450 matières actives homologuées qui entrent dans la composition de plus de 3500 spécialités commerciales (**Bélamie** et coll., 1988), ce qui représente en quantité par année environ 100000 tonnes de matières actives (U.I.P.P., 1991).

De nombreuses études ont **révélé** la contamination des eaux souterraines et des eaux superficielles par des produits phytosanitaires. Récemment, en 1989, la recherche de triazines (atrazine, **simazine**) dans des zones de **captage** de 21 départements a permis de détecter en différents lieux, des teneurs qui **dépassent** la norme de potabilité de **0,1 µg/l** et qui peuvent aller jusqu'à plusieurs **microgrammes** par litre (**Tricard**, 1990).

Une étude consacrée au transfert des triazines sur un bassin versant de la Marne a mis en évidence la présence d'atrazine et de simazine à des concentrations parfois alarmantes (environ 2 **µg/l**), non seulement sur la Marne elle-même, mais également dans chacun de ses principaux affluents (C.G.E., 1990).

L'appréciation du rôle joué par l'activité agricole dans la dégradation de la qualité des eaux **nécessite** une connaissance précise de l'origine de ces substances et peut être difficile à établir dans le cas de régions regroupant à la fois des activités agricoles, industrielles et urbaines. L'étude de bassins versants à vocation exclusivement agricole peut permettre l'étude du comportement des **pesticides** et de leurs conditions de transfert vers les milieux aquatiques.

Sur le bassin versant de **l'Ardières**, situé dans le vignoble du Beaujolais, les observations d'une dégradation des édifices biologiques sans rapport avec les paramètres classiques de la qualité des eaux, et, de la présence de **contaminants** d'origine agricole dans les rivières, ont désigné ce bassin comme un exemple de territoire rural contaminé par les produits phytosanitaires.

Un programme d'étude a été établi retenant le bassin versant de **l'Ardières** comme un terrain expérimental d'étude.

Pour les pesticides, les objectifs principaux consistaient à caractériser la contamination et à préciser les facteurs essentiels de transfert vers les milieux récepteurs.



L'élaboration du protocole d'étude consacré aux pesticides prend en compte **différents** niveaux d'observation :

□ sur l'ensemble du bassin versant de l'**Andières** (220 **km<sup>2</sup>**) par des prélèvements en période d'orage sur l'**Andières** et ses principaux tributaires, afin de confirmer les contaminations mises en **évidence** dans les études précédentes.

□ **à l'échelle** d'un sous-bassin (4 **km<sup>2</sup>**), la Morcille, par un échantillonnage hebdomadaire de cette rivière afin d'apporter une évaluation **saisonnière** du transfert des pesticides en relation avec les variations climatiques, et également pour **appréhender** les pollutions aléatoires ou accidentelles.

□ au niveau de la parcelle (quelques **m<sup>2</sup>**), par des simulations de pluie, afin de préciser l'aptitude des pesticides **à** quitter le territoire rural en étudiant leur **susceptibilité** au ruissellement.

Dans un premier chapitre, une étude bibliographique sur les pesticides présente une description **générale** de leur utilisation, fournit des exemples de pollutions ponctuelles et diffuses et décrit les **différentes** voies de dispersion dans l'environnement en développant plus précisément les mécanismes d'immobilisation dans le sol et les transferts de pesticides par ruissellement.

Dans le deuxième chapitre, après une présentation du protocole d'étude global du bassin versant de l'**Andières**, sont **présentées** les études mettant en évidence la dégradation biologique et la contamination des eaux de rivières, puis les études sur la caractérisation d'une contamination par les métaux, les effets toxiques sur les populations biologiques et la description des activités humaines et agricoles.

Le troisième chapitre est consacré au protocole d'étude des pesticides pour les trois niveaux d'observation. Il décrit les dispositifs d'échantillonnage, et la méthodologie analytique utilisée dans le traitement des échantillons.

Le quatrième chapitre présente l'étape préalable dans cette étude: la sélection des pesticides à rechercher. Après un exposé de quelques méthodes existantes, est présenté la monographie des **pesticides** utilisés sur le sous-bassin de la **Morcille**, puis est développée **la** méthode des scores qui a permis de retenir un nombre limité de composés.

Le cinquième chapitre expose les techniques d'analyses utilisées pour la recherche des **pesticides** et la caractérisation des M.E.S.. Les mises au point pour l'analyse des pesticides sont détaillées : la validation d'une méthode d'extraction dans les eaux, une comparaison de 4 méthodes d'extraction dans les sédiments, et l'utilisation d'une technique de préconcentration avec l'extracteur liquide-liquide en continu.

Le sixième et dernier chapitre présente les résultats obtenus par les trois protocoles d'observations, sur la contamination des eaux de rivières du bassin versant de l'**Andières** par **les** pesticides et sur leur mode de transfert de la parcelle vers les cours d'eaux par l'étude de la répartition entre les phases soluble et **particulaire**.

La conclusion propose un bilan de l'ensemble des observations sur la contamination, le mode de transfert et la persistance des pesticides, et, sur les techniques utilisées et les limites de notre méthodologie analytique.