

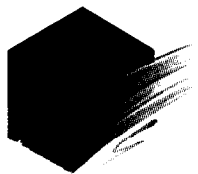
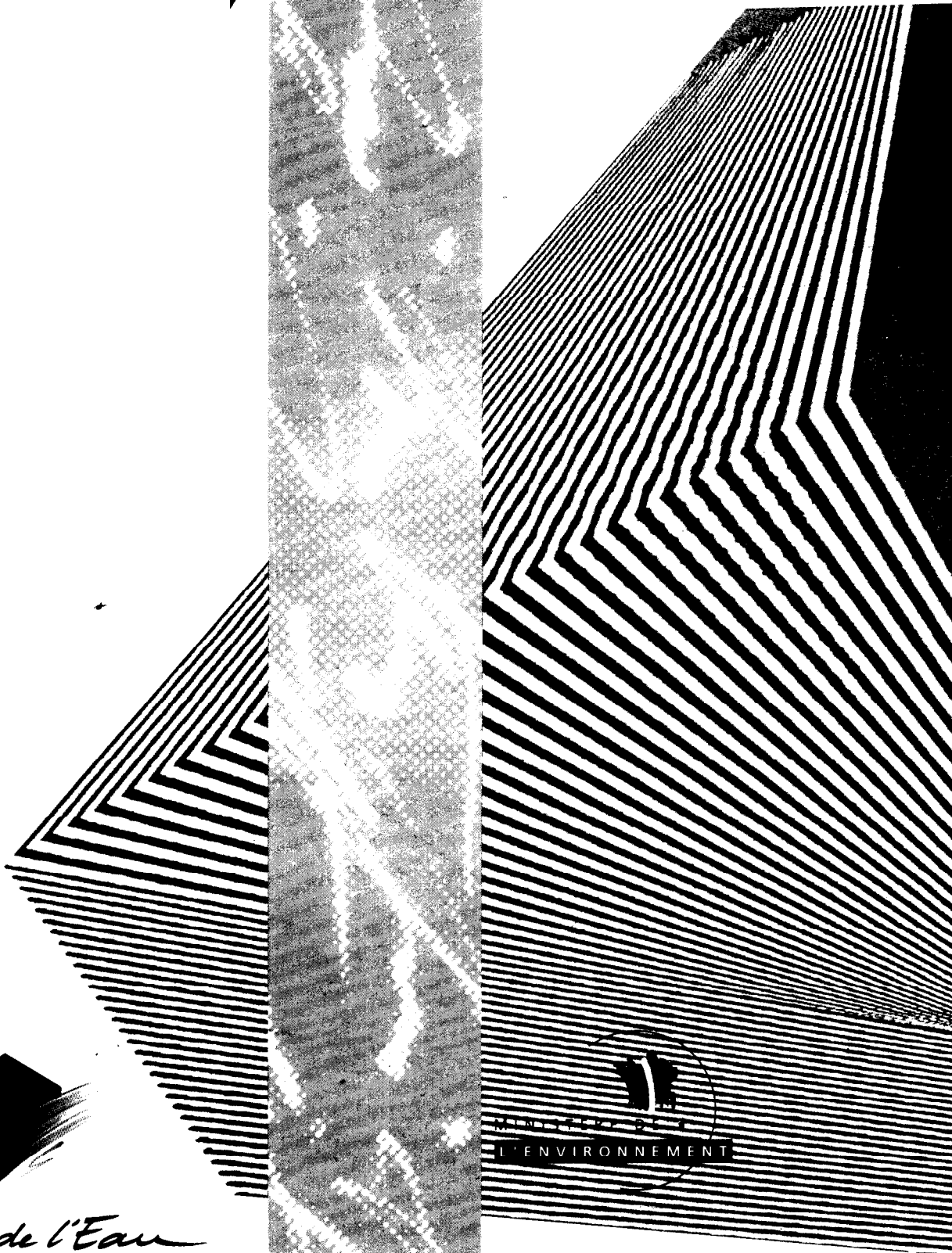


16899 RM



Agence de l'Eau
Rhodan-Alpin

DE
ES

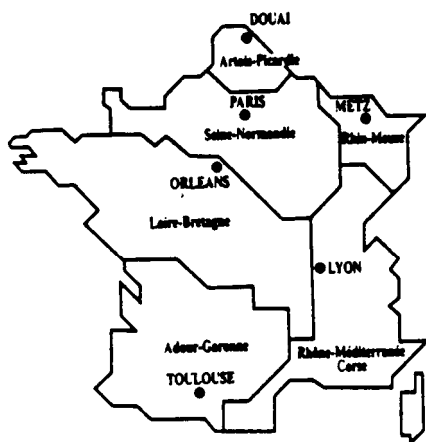


Agences de l'Eau

LE MINISTRE DE
L'ENVIRONNEMENT

BIO-ESSAIS ET BIO-INDICATEURS DE TOXICITE DANS LE MILIEU NATUREL

BIO-ESSAIS ET BIO-INDICATEURS DE TOXICITE DANS LE MILIEU NATUREL



Document **réalisé** sous la direction des Agences de l'Eau
et du Minist&re de l'Environnement

Chargé d'étude : CEMAGREF Lyon

Auteurs : Eric Vindimian et Jeanne Garric

CEMAGREF Lyon

Division biologie des **écosystèmes** aquatiques

Laboratoire **d'écotoxicologie**

3, quai **Chauveau**

69009 LYON

Mai 1993

120 francs

3 10 exemplaires

Table des matières

Introduction	2
1. Détermination de la toxicité des eaux naturelles	5
1.1. Bio-essais de toxicité ambiante	5
1.1.1. Echantillonnage	6
1.1.2. Le cas des sédiments	8
1.2. Validité des essais ambiants	9
1.3. Les bio-capteurs de toxicité	13
1.3.1. Capteurs de rythme respiratoire des poissons.	13
1.3.2. Capteur rhéotaxique	13
1.3.3. Capteur bivalve	15
1.3.4. Capteur impédancemétrique	16
1.3.5. Bioélectrode algale	16
1.3.6. Perspectives liées aux bio-capteurs	17
1.4. Choix d'une méthode d'essai	18
1.4.1. Choix de l'essai	18
1.4.2. Choix du compartiment investigué ..	18
1.4.3. Méthode d'échantillonnage ..	18
1.4.4. Définition des stations et des fréquences	19
2. Bio-indicateurs	21
2.1. Les indicateurs écologiques	23
2.1.1. Les méthodes biocénotiques utilisées en France	25
2.1.2. La méthode PICT (Pollution Induced Community Tolérance)	28
2.1.3. Les indicateurs écologiques aux Etats-Unis.. ..	28
2.1.4. Conclusion sur les indicateurs écologiques	30
2.2. Les indicateurs précoces moléculaires ..	31
2.2.1. Principaux indicateurs biochimiques utilisés.. ..	32
2.2.2. L'induction des enzymes à cytochrome P450	35
2.3. Choix d'un bio-indicateur	37
2.3.1. Choix d'un indicateur écologique ..	37
2.3.2. Choix d'un indicateur biochimique.. ..	38
3. Quelle stratégie pour les gestionnaires du milieu aquatique	40
3.1. Développer une methodologie de recherche des relations de cause à effet dans les écosystèmes . (La méthode TIE).	40
3.2. Améliorer les outils	43
3.2.1. S'affranchir des variations typologiques.. ..	43
3.2.2. Intégrer recherche, mesures et gestion.. ..	45
3.3. Les variables d'état fondamentales des écosystèmes	47
3.4. Examen synoptique de l' intérêt des différentes méthodes	52
3.5. Vers une gestion intégrée des écosystèmes	52
Conclusion	54

Introduction

Le milieu naturel subit en permanence une **série** de contraintes **liées** aux **activités** humaines. L'eau, qui est une des ressources principales de l'homme est aussi le vecteur de nombreux déchets. Les **rivières** sont, de plus, soumises à de nombreux **aménagement**s pour **améliorer** la **capacité** de **prélèvement**, utiliser l'énergie hydraulique, organiser son utilisation **récréative** ou **protéger** les populations contre les crues. Les **écosystèmes** d'eau continentale ont donc été constamment modifiés par l'action de l'homme depuis l'apparition de cette **espèce** sur la terre. Actuellement, les gestionnaires du milieu aquatique et les scientifiques, relayés par l'opinion publique dans les pays occidentaux, envisagent un contrôle plus strict de l'utilisation de l'eau qui respecte l'ensemble des **communautés** vivant dans les **écosystèmes** aquatiques.

Les rejets toxiques occupent une place **à part** au sein des pollutions en tout genre qui contaminent le milieu aquatique. Si l'impact des grandes catastrophes toxiques (Seveso, Bophal, Bâle...) est fortement ressenti dans le public et contribue **à** la mauvaise image des produits chimiques et des industries qui les produisent, la notion de substance toxique, la chronicité de certains rejets et le **caractère très spécifique** de leur effet au sein des écosystèmes sont encore mal connus. La confusion avec la pollution organique, **liée** au rejet de déchets **métaboliques** humains, animaux ou **végétaux** reste forte chez de nombreux **écologues** pour lesquels la présence de toxiques n'est qu'un stade ultime dans la pollution des **écosystèmes**. Les effets **létaux** souvent provoqués par de grandes concentrations toxiques contribuent également fortement **à l'idée** de **mortalité liée** à la **présence** de toxiques, les autres types de pollution provoquant des effets moins graves de **déséquilibre** des communautés.

C'est ainsi, nous le verrons dans ce texte, que la plupart des méthodes d'évaluation biologique *in situ* de la pollution ont **été développées** par la confrontation de données physico-chimiques simples (qui en fait sont des mesures fiables de la pollution organique) avec des résultats d'investigations **poussées** sur les **biocénoses** en place. Les toxiques n'interviennent pas ou **très peu** dans le dispositif (quelques analyses de métaux apparaissent en complément) du fait même de la **difficulté** de les analyser. On aboutit alors **à** un paradoxe qui réside dans le fait que certaines méthodes biologiques, **développées** en partie pour pallier la **difficulté** des méthodes analytiques ne **résolvent** pas les **problèmes** qu'elles sont censées résoudre. Il n'en reste pas moins qu'elles apportent des informations **précieuses** sur l'**état** de santé des **écosystèmes** notamment par leur grande signification écologique.

La démarche ecotoxicologique par bio-essais apporte des **données** obtenues dans des conditions standardisées qui ne **dépendent** pas des variables physiques du milieu. Elles sont de même relativement indépendantes des variables chimiques autres que la **présence** de composés toxiques. On rencontre cependant l'**interférence** avec des **éléments** fertilisants qui peuvent fausser les **résultats** des essais biologiques. Cette **démarche** s'applique de façon **prédictive** sur des effluents ou permet d'analyser *a posteriori* la toxicité de l'eau dans un compartiment de l'**écosystème**.

Ces bio-essais sont en général des essais basés sur des **critères** de toxicité chronique ou **sublétales**, la toxicité aiguë fait appel à des méthodes classiques, bien connues des gestionnaires du milieu naturel et qui **restent** utilisables. **Néanmoins**, nous devons **préciser**, pour avoir constaté l'existence de programmes de surveillance qui doublent les **essais**

chroniques par des essais aigus, que l'information sur la toxicité **aiguë (très souvent la létalité)** est toujours incluse dans les résultats d'essais chroniques¹ .

Ces bio-essais ont maintenant une traduction moderne sous la forme de capteurs de toxicité, nous consacrerons quelques pages **à** la description de ces capteurs et **à** leur avenir possible.

La **démarche** biocénotique ou l'utilisation de biomarqueurs sont des approches plus liées aux réalités du terrain, leur résultat, quand il est strictement **lié à** la présence de toxiques est donc plus **intéressant** pour le gestionnaire qui souhaite **protéger** le milieu aquatique. En revanche la grande **dépendance** vis à vis des variables physico-chimiques et **géo-morphologiques** du milieu impose une **extrême** prudence dans l'**interprétation**. En **général**, une réponse ne peut être **donnée** de façon **précise** que si une **étude poussée** du site, avec l'utilisation de stations de **référence a été menée à bien**.

Sans chercher **à** substituer une **méthode** par une autre, les **résultats** n'ayant pas la même valeur, il est utile de montrer les **éventuelles** corrélations entre ces deux approches. Les travaux de l'US EPA dans ce domaine peuvent nous éclairer et nous permettront de valider les **résultats** des essais de toxicité ambiante.

Nous verrons également que le **problème** de la contamination des écosystèmes aquatiques par des composés toxiques ne peut être **résolu** uniquement par le contrôle des effluents et la surveillance du milieu aquatique. L'**état de santé** de la victime ne suffit pas en **général** à trouver le criminel, pas plus que son casier judiciaire ne prouve qu'il est l'auteur du délit **considéré**. Il faut donc mettre en place des **methodologies** capables de mettre en évidence les relations de cause **à** effet au sein des écosystèmes aquatiques, il existe déjà quelques méthodes qu'il serait utile d'appliquer et de valider en France tout en continuant la recherche dans ce domaine.

Ce rapport **répond à** un cahier des charges **précis** qui vise à choisir un (ou plusieurs) bio-essai(s) pour la surveillance **in situ** des rejets toxiques et un (ou une panoplie de) bio-indicateur(s) susceptibles d'indiquer le niveau de contamination du milieu. Nous proposons donc de **répondre** dans cet ordre **à** ces deux questions et **d'élargir le débat** en apportant quelques informations **supplémentaires**, puis en examinant le plus objectivement possible, à l'aide d'outils statistiques **évolués**, la panoplie globale des méthodes applicables **à** la gestion **écologique** des écosystèmes aquatiques. Enfin, nous ajouterons quelques **réflexions** sur la **stratégie** que devraient adopter, **à** notre avis, les gestionnaires du milieu aquatique pour implanter de façon rationnelle des outils pertinents de **bio-évaluation**.

Ce rapport fait suite **à l'étude** inter-agence sur les bio-essais sur effluents confiée **à** Jeanne Garric et **publiée** en **1992²**, **étude à** laquelle nous nous **réfèrerons** souvent. Notre étude ne constitue pas une revue de **détail** du sujet dont bien des aspects ont **déjà été** traités par ailleurs. Nous avons choisi de **présenter** un ensemble de méthodes appartenant **à** divers secteurs scientifiques **complémentaires** en envisageant plus **précisément** quelle pourrait être la contribution de chacune **à** la **problématique posée** du contrôle des rejets **in situ** et de la surveillance du milieu naturel.

Pour garder l'essentiel nous avons choisi des méthodes en **général validées** et **déjà** utilisées pour la gestion des **écosystèmes** aquatiques bien qu'elles représentent souvent

¹Que le lecteur averti veuille bien nous excuser d'avoir rappelé ici cette **vérité** triviale qui veut que les morts du premier jour soient encore morts **à** la fin du conflit!

² Garric J. **Ferard JE. & Vindimian E.** (1992) Essais biologiques pour l'**évaluation** de la toxicité chronique des rejets. Rapport Cemagref, Groupe Inter-agences, 220 **F, 112p.**

l'aboutissement de recherches **très récentes**. Les nombreuses techniques, issues de la littérature scientifique, qui ne sont pas **listées** ici, n'ont pas **été écartées** pour d'autres raisons que des raisons pragmatiques. Notre proposition **d'intégrer** la recherche au sein des actions de surveillance du milieu naturel prouve bien que nous n'avons voulu écarter *a priori* aucune possibilité d'apporter des informations sur l'**état** de **santé** des **écosystèmes** par quelque moyen que ce soit.

Conclusion

Nous avons parcouru, dans ce rapport, un ensemble de méthodes visant la surveillance du milieu naturel soumis à des rejets potentiellement toxiques. Cette **étude** fait elle-même suite à une étude plus approfondie concernant le contrôle **écotoxicologique** de ces rejets.

Les bio-essais et les bio-indicateurs de toxicité dans le milieu naturel peuvent être classés en quatre grandes **catégories** : les essais ecotoxicologiques au laboratoire, les bio-capteurs, les indicateurs écologiques et les indicateurs biochimiques. Les essais ecotoxicologiques au laboratoire sont les mêmes que ceux sur effluents avec des protocoles simplifiés, il n'y a pas lieu de proposer d'autres techniques que celles qui ont **été proposées** par Jeanne Garric et Al. en 1992. L'implantation de bio-capteurs de **toxicité in situ** est une voie d'avenir qu'il conviendrait d'explorer dans un proche avenir. En **matière** de bio-indicateur l'induction des enzymes à cytochrome **P450** constitue notre choix pour un indicateur biochimique. Nous proposons **également** l'utilisation d'investigations sur les **oligochètes** pour leur intérêt écologique.

Une réflexion sur la place de chacune de ces méthodes permet de montrer que les informations sont **complémentaires**, l'implantation d'une **procédure** de contrôle de rejets ou de surveillance d'un **écosystème** aquatique devra tenir compte des **caractéristiques** des différentes méthodes possibles pour **déterminer** celles qui **répondent** aux questions posées.

Nous avons proposé également le **développement** de méthodes dont le but est de préciser les relations de cause à effet dans l'intoxication des **écosystèmes**. Il convient **d'intégrer** plus étroitement la recherche en **écotoxicologie** et la gestion des **écosystèmes** pour mettre en place les synergies qui permettront de disposer rapidement de meilleurs outils pour une gestion plus **éclairée**, cela au **bénéfice** aussi bien des gestionnaires que de la communauté scientifique et bien entendu du milieu aquatique.

Nous proposons qu'au sein d'actions **intégrant** recherche et gestion des **écosystèmes** des méthodes complémentaires soient **implantées** pour :

- **Etablir** une **diagnose écologique** des perturbations du milieu au moyen d'indicateurs écologiques.
- Caractériser les risques liés au rejet de substances ou d'effluents toxiques et le contrôle des rejets s'y **déversant** au moyen d'essais ecotoxicologiques au laboratoire et d'analyses physico-chimiques.
- Surveiller le comportement de ces rejets dans le milieu au moyen d'essais ambiants sur eau et **sédiment**, installer des **systèmes** d'alarme basés sur des **réponses** biochimiques ou physiologiques si possible automatisées.
- Mettre en évidence des relations de cause à effet dans les **phénomènes d'éco-intoxication** au moyen de **démarches** intégrant chimie et biologie dans un ensemble coordonné.

L'**ensemble** de ces propositions constitue un guide **à l'intérieur** duquel les gestionnaires pourront choisir les méthodes qu'ils souhaitent appliquer. Nous **espérons** avoir aussi réussi à apporter une sensibilisation au **problème** de la nécessité **d'améliorer** les méthodes de bio-évaluation tout en réalisant des aujourd'hui des programmes de surveillance basés sur les meilleures technologies disponibles.

Résumé

La surveillance des substances toxiques dans le milieu aquatique repose actuellement sur des analyses chimiques, dont on sait malheureusement qu'elles ne **représentent** jamais qu'une vision partielle de la **qualité**, et dont l'**interprétation** reste **délicate**. Il convient donc, en complément de ces analyses, de développer des "systèmes d'alerte" biologiques, qui indiqueraient un impact toxique ou un risque d'impact.

L'objet de cette étude était dans cet esprit de dégager les critères de choix de **bio-essais** (démarche **standardisée**, pratiquée en laboratoire sur échantillons **prélevés** dans le milieu). Un certain nombre de méthodes sont ainsi passées en revue et **commentées**, montrant au passage qu'on ne peut proposer de méthode **passé-partout**, ou en **d'autres** termes **qu'il n'y** a pas tant de redondance que **complémentarité** entre différents bioessais et entre bio-indicateurs. Les lacunes où les points à développer sont également mentionnés.

Les bioessais et les bio-indicateurs de toxicité dans le milieu naturel peuvent ainsi être classés en quatre grandes catégories : les essais écotoxicologiques au laboratoire, les bio-capteurs, les indicateurs **écologiques** et les indicateurs biochimiques. Les essais écotoxicologiques au laboratoire sont les mêmes que ceux sur effluents avec des protocoles **simplifiés**. L'implantation de bio-capteurs de toxicité **in situ** est une voie d'avenir qu'il conviendrait d'explorer dans un proche avenir. En matière de bio-indicateur plusieurs voies sont possibles, mais méritent des **développements** avant de pouvoir être **utilisées** en routine.

AGENCE DE L'EAU ADOUR-GARONNE

90, rue du Férétra
31078 TOULOUSE CEDEX
Tél. : 61 36 37 38
Fax : 61 36 37 28

AGENCE DE L'EAU ARTOIS-PICARDIE

764, boulevard Lahure
59508 DOUAI
Tél. : 27 99 90 00
Fax : 27 99 90 15

AGENCE DE L'EAU LOIRE-BRETAGNE

Avenue Buffon
B.P. 6339
45063 ORLEANS LA SOURCE-CEDEX2
Tél. : 38 51 73 73
Fax : 38 51 74 74

AGENCE DE L'EAU RHIN-MEUSE

Route de Lessy
ROZÉRIEULLES
B.P. 19
57161 MOULINS-LES-METZ CEDEX
Tél. : 87 34 47 00
Fax : 87 60 49 85

AGENCE DE L'EAU RHONE-MEDITERRANEE-CORSE

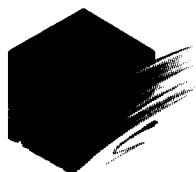
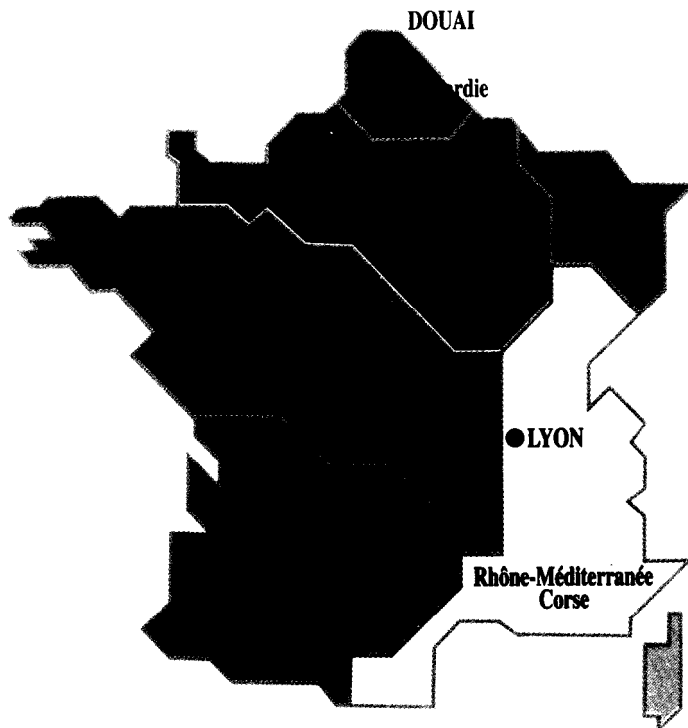
31, rue Jules-Guesde
69310 PIERRE-BÉNITE
Tél. : 72 39 48 48
Fax : 78 51 64 71

AGENCE DE L'EAU SEINE-NORMANDIE

51, rue Salvador-Allende
92027 NANTERRE CEDEX
Tél. : (1) 41 20 16 00
Fax : (1) 41 20 16 09

MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT DIRECTION DE L'EAU

14, boulevard du Général-Leclerc
92524 NEUILLY-SUR-SEINE CEDEX
Tél. : (1) 40 81 21 22
Fax : (1) 40 81 30 01 - (1) 40 81 83 89



Agences de l'Eau



Secrétariat : Office International de l'Eau, 21 rue de Madrid - 75008 PARIS

Tél : (1) 45 22 14 67 - Fax : (1) 40 08 01 45