



HAL
open science

Pesticides et polyculture d'étang : de l'épandage sur le bassin versant aux résidus dans la chair de poisson

Angélique Lazartigues

► To cite this version:

Angélique Lazartigues. Pesticides et polyculture d'étang : de l'épandage sur le bassin versant aux résidus dans la chair de poisson. Sciences agricoles. Institut National Polytechnique de Lorraine, 2010. Français. NNT : 2010INPL073N . tel-01748845

HAL Id: tel-01748845

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01748845>

Submitted on 29 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

INRA Département PHASE
Unité de recherche Animal et Fonctionnalités des Produits Animaux
Institut National Polytechnique de Lorraine
Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires

THESE

En vue d'obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Discipline : Sciences Agronomiques

Ecole Doctorale : Ressources Procédés Produits Environnement

PESTICIDES ET POLYCULTURE D'ETANG : DE L'EPANDAGE SUR LE BASSIN VERSANT AUX RESIDUS DANS LA CHAIR DE POISSON

Thèse présentée et soutenue publiquement par :

Angélique LAZARTIGUES

Le 15 Novembre 2010

Devant le jury composé de :

Rapporteurs

Philippe GARRIGUES Directeur de recherche, *ISM*, Université Bordeaux I (*Président du jury*)

Benoît FAUCONNEAU Directeur de recherche, Centre INRA de Bordeaux

Examineurs

Stéphane BETOULLE Maître de conférences (HDR), *UR-VVC*, Université de Reims

Cécile CREN-OLIVE Chargée de recherche (HDR), *SCA*, CNRS, Lyon

Jean BRUN-BELLUT Professeur, *UR-AFPA*, Nancy Université (*Co-directeur de thèse*)

Cyril FEIDT Professeur, *UR-AFPA*, Nancy Université (*Directeur de thèse*)

Pesticides et polyculture d'étang : de l'épandage sur le bassin versant aux résidus dans la chair de poisson.

L'étang de barrage vidangeable est relié à son bassin versant et l'activité agricole peut engendrer une dissipation de pesticides dans l'environnement. Le transfert des pesticides homologués reste peu étudié. Aussi, l'objectif général de ce travail consiste à amener des connaissances relatives au devenir des pesticides en polyculture d'étang, en particulier sur la contamination de la chair des poissons proposés aux consommateurs.

Cinq sites, correspondant chacun à un étang et à son bassin versant, ont été caractérisés. Ils s'échelonnent sur un gradient d'intensification agricole sur le bassin versant allant de 0% à 85% de la surface mise en culture, principalement en colza, blé, orge et maïs. De nombreux pesticides sont présents dans l'eau, en concentrations variables selon les sites et les saisons. La somme des molécules quantifiées s'échelonne de 0,17 µg/L pour le site C-0 (mars) à 8,81 µg/L pour le site C-25 (octobre). La réponse biologique des poissons, évaluée par la recherche de huit biomarqueurs (EROD, CYP 3A, GST, CAT, SOD, GSH, GPx et AChE) chez la carpe et le gardon, a permis d'établir des différences entre les espèces et les sites étudiés, le gardon permettant une meilleure discrimination des sites. Une recherche ciblée des pesticides épandus sur grandes cultures, a été effectuée par une méthode multi-résidus, dans l'eau, les sédiments et la chair de poisson. L'isoproturon et le métazachlore présentent les concentrations les plus élevées dans l'eau (valeurs maximales de 2,69 et 0,54 µg/L respectivement). La trifluraline (0,5 à 13 µg/kg PS) et l'isoproturon (0,7 à 56,4 µg/kg PS) sont les molécules majoritaires des sédiments. Les profils de résidus dans la chair de poisson sont variables et seuls la trifluraline, l'isoproturon, le métazachlore et le carbendazime (valeurs maximales de 21 ; 0,75 ; 0,13 et 0,2 µg/kg PF, respectivement) sont quantifiés. La trifluraline est connue pour avoir un potentiel de bioaccumulation « modéré », expliquant sa concentration dans le muscle parfois supérieure à celle observée dans les sédiments. Pour les 13 autres molécules, les faibles niveaux observés en étang peuvent être expliqués par un potentiel d'accumulation faible (évalué ex-situ, compris entre 10^{-6} et 10^{-3}). Cependant, la demi-vie des molécules dans le muscle peut être de plusieurs semaines selon les espèces testées, d'où la possibilité de les quantifier dans la chair des poissons en étang.

Au final, de nombreux facteurs, liés en particulier aux caractéristiques des sites (non maîtrisables) et aux pratiques de gestion (améliorables), influencent le profil des pesticides dans le muscle et la réponse biologique des poissons.

Pesticides and polyculture pond: from spreading on watershed to residues in fish flesh.

Dam pond is connected to its watershed. Use of pesticides on watershed may lead to dissipation in the environment. Transfer of registered pesticides remains poorly studied. Thus, the main objective of this work was to improve knowledge about the fate of pesticides in polyculture pond, especially contamination of fish flesh.

Five sites, each site corresponding to a pond and its watershed, were characterized. They are placed on a gradient of crop proportion ranging from 0% to 85% of the watershed area; mainly rapeseed, wheat, barley and maize. Many pesticides are found in water, with concentration varying between sites and seasons. The sum of quantified molecules ranged from 0.17 mg / L for Site C-0 (March) to 8.81 mg / L for Site C-25 (October). The biological response of fish, assessed by evaluation of eight biomarkers (EROD, CYP 3A, GST, CAT, SOD, GSH, GPx, and AChE) in carp and roach, establish differences between species and sites studied, roach allowing better discrimination of sites. A study of 14 targeted pesticides was conducted by a multi-residues method in water, sediments and fish flesh. Isoproturon and metazachlor have the highest concentrations in water (maximum values of 2.69 and 0.54 mg / L, respectively). Trifluralin (0.5 to 13 mg / kg PS) and isoproturon (0.7 to 56.4 mg / kg PS) are the main contaminants in sediments. Profiles of residues in fish flesh are variable and only trifluralin, isoproturon, carbendazim and metazachlor (maximum values of 21, 0.75, 0.13 and 0.2 mg / kg PF, respectively) are quantified. Trifluralin is known to have a moderate potential to bioaccumulate, explaining its concentration in muscle sometimes greater than that observed in the sediments. For the remaining 13 molecules, the low levels observed in fish can be explained by a low potential to bioaccumulate (measured ex-situ, between 10^{-6} and 10^{-3}). However, the half-life of molecules in the muscle may be several weeks depending on the species tested, explaining the possibility to find molecules in fish flesh.

Finally, many factors, particularly related to site characteristics (uncontrollable) and management practices (upgradable), influence profile of pesticides in muscle and biological responses of fish.

REMERCIEMENTS

Je remercie les nombreuses institutions qui ont rendu ce travail possible. En effet, cette thèse a bénéficié du soutien financier de l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse, de la Chambre Régionale d'Agriculture de Lorraine, de la Filière Lorraine d'Aquaculture Continentale, de l'Institut National de Recherche Agronomique (Département Physiologie Animale et Systèmes d'Élevage), de la région Lorraine et de la Zone Atelier Moselle. Un appui scientifique et technique a également été apporté par l'Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques. Les agriculteurs et pisciculteurs sont aussi remerciés pour leur intérêt porté au projet et leur participation.

Cette thèse a été réalisée à l'Unité de Recherche Animal et Fonctionnalité des Produits Animaux. Je tiens à remercier tout d'abord Guido Rychen pour son accueil au sein de son laboratoire mais également pour ses fréquents encouragements à rédiger. Merci à Cyril Feidt Jean Brun-Bellut et Marielle Thomas de m'avoir guidée et soutenue dans ce projet avec patience et persévérance. Il est souvent difficile de tomber d'accord lorsqu'on est quatre et que les pistes à explorer sont nombreuses... cela a d'ailleurs parfois causé quelques tensions mais, ce qui est certain, c'est l'ampleur de votre investissement qui a aussi donné de nombreux bons moments et je vous en remercie. Un remerciement supplémentaire à Cyril pour ses nombreux sauvetages suite à mes enlisements dans la boue, je parle aussi bien des enlisements réels que métaphoriques, bien sûr !

Mes sincères remerciements tous ceux qui ont collaboré à ce travail. Tout d'abord, toute l'équipe du Service Central d'Analyse (Solaize) qui m'a accueillie chaleureusement. Merci particulièrement à Cécile Cren-Olive, Laure Wiest, Robert Baudot et Cédric Fratta pour leur implication et leur travail qui a grandement participé à la réussite de cette thèse. Merci également à Wilfried Sanchez de l'INERIS, pour sa participation par la caractérisation des biomarqueurs. Un grand merci à l'équipe du laboratoire d'Eco-Toxicologie pour leur implication et les nombreuses heures passées sur le terrain. En particulier, Stéphane Betoulle, Vincent Felten, Séverine Paris et Aurélie Vettier, c'était une joie de travailler avec vous et... qui d'autre pourrait dire qu'il boit du champagne lors de ses sorties terrains ?

Je remercie également toutes les personnes des équipes « Domestication en aquaculture continentale » et « Micropolluants et Résidus dans la Chaîne Alimentaire » qui ont grandement participé à ce travail. Merci pour l'aide et les bons conseils, aussi bien du point de vue scientifique que technique, les discussions de couloirs, le soutien moral et pour votre amitié. Merci à Catherine Larrière et Patricia Erndt pour leur efficacité pour tout l'administratif. Un merci particulier à la Cath pour la danse des grelots. Un grand merci à Alain et Yannick, pour leur précieuse aide et leurs conseils pour les expérimentations « poisson » et aussi pour les bonnes

combines lors les expéditions terrain : c'est sûr qu'avec un bon barbecue, des bons produits locaux, un soupçon de balade et un peu de spectacle dans la boue, le terrain ça ne s'oublie pas. Christine, Claire, Fanny, Marie-Antoinette et Paméla : un grand merci également pour votre aide, soutien et conseils pour la «paillasse » mais aussi pour les rigolades à la pause café. Merci également à Damien Banas, Didier Desor, Cécile Ducoulombier, Pascal Fontaine, Yann Guiavarc'h, Stefan Jurjanz, Henri Schröder, Hervé Toussaint, pour tout le temps et les opportunités que vous m'avez accordés, que ce soit pour les discussions perso ou scientifiques ou les opportunités d'enseignement et plus généralement pour vos encouragements. Les stats, c'était un monde à part pour moi, je fais donc des remerciements à part pour Jean-Noël Gardeur, Catherine Jondreville et Yves Le Roux, qui, par leur patience, leur disponibilité et leur amabilité ont, je l'espère, réussi à me faire mettre un orteil dans ce monde. Merci à Fabrice Teletchea : les discussions et les conseils, sur tous les sujets, m'ont énormément apporté. Merci à Cindy Messana : pour ton amitié, ta joie de vivre, ta bonne humeur éternelle, ta motivation, ton aide indispensable. Je tiens à remercier ceux « de passage » qui m'ont aussi aidé, je pense en particulier à Dorine, François et Olivier. Merci également à ceux qui ont croisé ma route mais qui ont également compté et participé à la réussite de ce travail : Bernard Amiaud, Béatrice Noirtin, Séverine Piutti, Bérénice Schaerlinger, Imen, Héléna, Kévin, Servane. Les thésards et nouveaux docteurs ont une place particulière dans ces remerciements. Merci à Abdou, Abdul, Abir, Adrian, Arnaud, Aude, Awatef, Balbine, Camille, David, Frédérique, Guillemette, Stéphanie et Zelda, sans vous, ça n'aurait vraiment pas été pareil. Une mention spéciale à mes amis thésards Marie-Dorothée Castets et Julie Peiffer sans oublier bien entendu les p'tits coquins du bureau A14 : Agnès Fournier, Julien Caboche, Anaël Weissenburger et Fayçal Ounnas. Merci pour le soutien, les coups de main, les discussions (sérieuses ou non), les sorties, les délires, tous ces bons moments quasi-quotidiens passés à vos côtés qui resteront gravés dans le cœur. Un grand merci à mes amis de toujours : Adélaïde, Jérôme, Marie-Cécile. Ma mère, Laurie et David ainsi que leurs deux bouts de choux et ma grand-mère ont eu un rôle essentiel pour m'avoir soutenue, réconfortée, encouragée pendant toutes ces années. Sans vous, rien n'aurait été possible. Une pensée particulière pour celui qui ne pourra pas lire ces remerciements mais qui a contribué à faire de moi ce que je suis : mon père. Enfin, Noura Oumarou : *"Na godé maka ba i yaka bissa doukkan rayou wal nagarta da kaka wo mini. Ma sa yi na san da niké maka karou wa yaké so saye ko yata rana"*.

TABLE DES MATIERES

RESUME	<i>i</i>
SUMMARY	<i>ii</i>
REMERCIEMENTS	<i>iii</i>
TABLE DES MATIERES	<i>v</i>
LISTE DES TABLEAUX	<i>viii</i>
LISTE DES FIGURES	<i>ix</i>
LISTE DES EQUATIONS	<i>xii</i>
LISTE DES ABREVIATIONS	<i>xiv</i>
INTRODUCTION GENERALE	<i>1</i>
Chapitre A. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	<i>1</i>
A. 1. INTRODUCTION	<i>1</i>
A. 2. LE MILIEU AQUATIQUE : UN RECEPTACLE DE POLLUTION	<i>1</i>
A. 2. 1. ETAT DE CONTAMINATION DES MILIEUX AQUATIQUES EUROPEENS	<i>1</i>
A. 2. 2. DISSIPATION DES PESTICIDES DANS L'ENVIRONNEMENT	<i>5</i>
A. 2. 3. SYNTHESE 1 : DEVENIR DES PESTICIDES DANS L'ENVIRONNEMENT	<i>23</i>
A. 3. LA FAUNE PISCICOLE : UN INTEGRATEUR DE POLLUANTS	<i>25</i>
A. 3. 1. ETAT DE CONTAMINATION DES POISSONS D'EAU DOUCE EN EUROPE	<i>25</i>
A. 3. 2. VOIES D'ENTREES ET ASSIMILATION PAR LE POISSON	<i>26</i>
A. 3. 3. MECANISMES D'ACCUMULATION	<i>34</i>
A. 3. 4. PROCESSUS DE BIOTRANSFORMATION	<i>39</i>
A. 3. 5. EVALUATION EN LABORATOIRE	<i>44</i>
A. 3. 6. SYNTHESE 2 : LES XENOBIOTIQUES DANS LE POISSON TELEOSTEEN	<i>48</i>
A. 4. L'ETANG A VOCATION PISCICOLE : UN MILIEU D'ETUDE	<i>51</i>
A. 4. 1. UN SYSTEME D'ELEVAGE : LA POLYCULTURE EXTENSIVE	<i>51</i>
A. 4. 2. UN MILIEU D'ETUDE DES CONTAMINANTS	<i>53</i>
A. 4. 3. UN MILIEU SOUMIS A LA PRESSION PESTICIDE : CAS EN LORRAINE	<i>55</i>
OBJECTIFS ET HYPOTHESES DE TRAVAIL	<i>61</i>
Chapitre B. CARACTERISATION DES SITES D'ETUDE	<i>62</i>
B. 1. DEMARCHE	<i>62</i>
B. 2. CHOIX DES SITES	<i>62</i>
B. 2. 1. CRITERES DE CHOIX	<i>62</i>
B. 2. 2. PRESENTATION DES SITES	<i>63</i>
B. 3. MATERIELS ET METHODES	<i>64</i>
B. 3. 1. CARACTERISATION DES BASSINS VERSANTS	<i>64</i>
B. 3. 2. CARACTERISATION DES ETANGS	<i>65</i>
B. 4. CARACTERISATION DES PRATIQUES	<i>68</i>

B. 4. 1. GESTION DES ETANGS	68
B. 4. 3. PRATIQUES AGRICOLES SUR LES BASSINS VERSANTS	75
B. 5. CONCLUSION	82
Chapitre C. CONTAMINATION EN PESTICIDES DE L'EAU ET BIOMARQUEURS DANS LES POISSONS	80
C. 1. DEMARCHE	80
C. 2. MATERIELS ET METHODES	80
C. 2. 1. RECHERCHE MULTI-RESIDUS DE 160 PESTICIDES ET PRODUITS DE DEGRADATION DANS L'EAU	80
C. 2. 2. BIOMARQUEURS DANS LE POISSON D'ETANG	80
C. 3. PESTICIDES DANS L'EAU	84
C. 4. BIOMARQUEURS DANS LES POISSONS D'ETANG	87
C. 4. 1. BIOTRANSFORMATION DES XENOBIOTIQUES	87
C. 4. 2. PROTECTION CONTRE LE STRESS OXYDANT	89
C. 4. 3. TOXICITE NEUROMUSCULAIRE	92
C. 5. ANALYSE SIMULTANEE DES BIOMARQUEURS	93
C. 6. CONCLUSION	97
Chapitre D. CONTAMINATION DES ETANGS POUR DES PESTICIDES EPANDUS SUR LE BASSIN VERSANT	99
D. 1. DEMARCHE	99
D. 2. MATERIELS ET METHODES	99
D. 2. 1. EN ETANG	99
D. 2. 2. EN LABORATOIRE	103
D. 3. PROFILS DE CONTAMINATION EN ETANG	109
D. 3. 1. CONTAMINATION DE L'EAU	109
D. 3. 2. CONTAMINATION DES SEDIMENTS	111
D. 3. 3. CONTAMINATION DU MUSCLE DE GARDON, DE CARPE ET DE PERCHE	112
D. 4. DETERMINATION DES PARAMETRES D'ACCUMULATION ET DE DEMI-VIE DE 13 PESTICIDES DANS LE MUSCLE DE CARPE ET DE PERCHE EN LABORATOIRE	116
D. 4. 1. CINETIQUES DES CONCENTRATIONS	116
D. 4. 2. DEMI-VIES	121
D. 4. 3. BMF	122
D. 5. ANALYSE DES PROFILS DE CONTAMINATION DU MUSCLE DE POISSON ET FACTEURS INFLUANTS	125
D. 5. 1. ANALYSE SIMULTANEE DE TOUTES LES ESPECES, SITES ET TEMPS DE PRELEVEMENT	125
D. 5. 2. ANALYSE SIMULTANEE DES CARPES ET DES PERCHES AU TEMPS DE PRELEVEMENT TF	128
D. 6. CONCLUSION	129
Chapitre E. PCB ET PESTICIDES ORGANOCHLORES EN ETANG	131
E. 1. DEMARCHE	131
E. 2. MATERIELS ET METHODES	131
E. 2. 1. ECHANTILLONNAGE DES MATRICES	131
E. 2. 2. TECHNIQUES ANALYTIQUES	132

E. 3. PESTICIDES ORGANOCHLORES ET PCB EN ETANG _____	133
E. 4. CONFORMITE A LA NORME POUR LE CONSOMMATEUR _____	138
E. 5. CONCLUSION _____	139
Chapitre F. DISCUSSION GENERALE _____	140
F. 1. RAPPEL DES PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS _____	140
F. 2. INTERETS ET LIMITES DES METHODOLOGIES UTILISEES _____	140
F. 2. 1. ANALYSE MULTI-RESIDUS _____	140
F. 2. 2. EXPERIMENTATIONS EN LABORATOIRE _____	141
F. 2. 3. EXPERIMENTATION <i>IN-SITU</i> _____	142
F. 2. 4. CHOIX DES ESPECES _____	146
F. 3. EVALUATION DE LA CONTAMINATION DU MILIEU _____	147
F. 3. 1. RECHERCHE DES MOLECULES DANS LES MATRICES ABIOTIQUES _____	147
F. 3. 2. LE POISSON COMME INDICATEUR DE LA CONTAMINATION DU MILIEU _____	148
F. 4. QUELQUES FACTEURS CLES DE LA CONTAMINATION DE LA CHAIR DE POISSON EN ETANG _____	150
F. 4. 1. QUELQUES FACTEURS CLES... _____	150
F. 4. 2. ...POUR UNE MEILLEURE GESTION PISCICOLE _____	152
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES _____	155
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES _____	158
ANNEXES _____	172
ANNEXE. 1. FICHES D'ENQUETE AUPRES DES PISCICULTEURS ET AGRICULTEURS	172
ANNEXE. 2. CARTOGRAPHIE DES SITES _____	177
ANNEXE. 3. MOLECULES RECHERCHEES DANS LES ETANGS ET LIMITES DE QUANTIFICATION _____	182
ANNEXE. 4. CARACTERISTIQUES DES 14 PESTICIDES ETUDIES _____	183
ANNEXE. 5. DEMARCHE POUR EVALUER LES PARAMETRES D'ACCUMULATION ET DE DEMI-VIE LORS D'UNE EXPOSITION PAR VOIE TROPHIQUE EN LABORATOIRE. ____	186

LISTE DES TABLEAUX

Tableau A.1 : Concentrations en PCB et pesticides organochlorés dans les eaux Européennes. _____	2
Tableau A.2 : Données récentes de concentrations de PCB et pesticides organochlorés dans les sédiments en Europe. _____	2
Tableau A.3 : Concentration en pesticides polaires dans les eaux de surface européennes _____	3
Tableau A.4 : Concentration en pesticides polaires dans les sédiments de la Garonne. _____	3
Tableau A.5 : Classement de Dubus et al. (2000) des pesticides par la concentration dans l'eau de pluie et le type de transport _____	7
Tableau A.6 : Facteurs influençant les processus de dissipation des pesticides dans l'atmosphère. _____	9
Tableau A.7 : Facteurs influençant les processus de dissipation dans le sol. _____	11
Tableau A.8 : Facteurs influençant le transfert des pesticides par ruissellement de surface. _____	15
Tableau A.9 : Risques d'érosion du sol et facteurs d'influence (d'après Stone, 2000) _____	18
Tableau A.10 : Mécanismes de bioturbation et impact sur le milieu et la dissipation des contaminants organiques. _____	23
Tableau A.11 : Etat de contamination en PCB et pesticides organochlorés des poissons d'eau douce (muscle) en Europe. _____	25
Tableau A.12 : Enzymes et co-facteurs impliqués dans les différents processus de biotransformation des xénobiotiques (d'après la synthèse de Giulio et Hinton, 2008) _____	39
Tableau B.1 : Relevé des pratiques en étang selon les enquêtes réalisées auprès des pisciculteurs. _____	69
Tableau B.2 : Bilan hydraulique théorique estimé pour les étangs durant le cycle étudié. _____	70
Tableau B.3 : Gains et pertes d'eau de l'étang du site C-45 sur le cycle 2009 (d'après Gosset, 2009) _____	72
Tableau C.1 : Descriptif succinct des méthodes utilisées pour le dosage de 6 biomarqueurs hépatiques (Sanchez, 2007) _____	83
Tableau C.2 : Nombre de pesticides quantifiés et détectés dans l'eau, sur 157 molécules recherchées. _____	86
Tableau C.3 : Concentrations de pesticides et métabolites quantifiés dans l'eau des 5 sites étudiés, sur 160 molécules recherchées _____	86
Tableau C.4 : Molécules dont la concentration dans l'eau se positionne comme variable illustrative associée à un axe de l'ACP/CHA générale. _____	95
Tableau D.1 : Dates de prélèvement des poissons et des sédiments. _____	100
Tableau D.2 : Limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) des 13 pesticides dans la chair de poisson. _____	105
Tableau D.3 : Concentration de pesticides présents dans l'aliment non contaminé et contaminé. _____	106
Tableau D.4 : Concentration des 13 pesticides dans l'eau après 5 jours et 18 jours d'expérience. _____	106
Tableau D.5 : Résultats du modèle statistique rendant compte de l'effet temps pour les différentes molécules et espèces testées. _____	107
Tableau D.6 : Concentrations des 14 pesticides recherchés dans l'eau de surface des 5 sites étudiés (sortie d'étang) _____	110
Tableau D.7 : Valeurs des constantes cinétique d'épuration (K_2) et des demi-vies (DT50) pour les 13 pesticides recherchés dans la carpe, la perche, et valeurs attendues (valeurs théoriques) selon l' US-EPA (1996). _____	121
Tableau D.8 : BMF et BMF_K pour les muscles de carpe et de perche. _____	122
Tableau D.9 : Répartition des individus selon leur espèce, site et année de capture dans les classes de l'ACP/CHA. _____	125
Tableau D.10 : Description de l'ACP effectuée sur les niveaux de contamination des carpes et des perches au temps de prélèvement TF. _____	128
Tableau E.1 : Concentrations de pesticides et de PCB-I retrouvés dans l'eau, les sédiments et le muscle de poisson, pour l'ensemble des 5 sites étudiés en 2008-2009 (TF). _____	134
Tableau E.2 : Paramètres de corrélation entre concentrations de PCB-NDL et PCB-DL dans le muscle de poisson (Mahé et al., 2010) _____	138
Tableau F.1 : Facteurs mis en évidence lors de l'étude comme ayant une action sur les niveaux de résidus dans la chair de poisson en étang. _____	151
Tableau X2.1 : Calculs de la durée de la phase d'exposition pour les 13 molécules étudiées. _____	188
Tableau X2.2 : Données écotoxicologiques pour les 13 pesticides étudiés (Agritox, 2007) _____	189

LISTE DES FIGURES

Figure A.1 : Nombre de stations de mesures en 2003, 2004 et 2005 classées par indice de qualité (IFEN, 2005 à 2007)	4
Figure A.2 : Molécules déclassantes pour les stations de mesures en France (métropolitaine et DOM) et molécules à forte fréquence d'apparition	4
Figure A.3 : Dépôts secs et humides annuels de pesticides à Strasbourg (d'après Sauret et al., 2009)	8
Figure A.4 : Variabilité des valeurs de demi-vie de différents pesticides dans les sols	13
Figure A.5 : Dissipation des pesticides et taux de transfert vers le milieu aquatique. (d'après la synthèse de Voltz et Louchart, 2001)	14
Figure A.6 : Pertes de pesticides sous forme soluble en fonction du Log Koc des molécules (d'après Wauchope, 1978)	18
Figure A.7 : Diagramme de Hjulström (1935)	19
Figure A.8 : Profil vertical saisonnier pour les CB28 (a) et CB180 (b) dans un lac de forte profondeur (Jurado et al., 2007)	20
Figure A.9 : Sorption d'une molécule organique hydrophobe apolaire sur une particule de sédiment (adaptée d'après Björklund et al., 2000 et Gdaniec-Pietryka et al., 2007)	22
Figure A.10 : Dissipation des pesticides dans l'environnement	24
Figure A.11 : Voies d'entrées et devenir des xénobiotiques chez le poisson téléostéen (adapté de Mackay et Fraser, 2000)	26
Figure A.12 : Relation entre le log Kow de molécules organiques et leur assimilation branchiale par <i>Oncorhynchus mykiss</i> . (Figure adaptée de DiGiulio et Hinton, 2008)	29
Figure A.13 : Circulation d'eau à travers les branchies et circulation sanguine du poisson téléostéen (adaptée de Evans, 1987)	30
Figure A.14 : Absorption intestinale des composés nutritifs et du CB153 chez <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Adaptée de Gobas et al., 1999).	31
Figure A.15 : Absorption intestinale de contaminants organiques (Gobas et al., 1993)	32
Figure A.16 : Relation entre le log Kow des molécules PCB et leur assimilation intestinale (Gobas et al., 1988)	33
Figure A.17 : Déterminisme de la distribution et de l'élimination des xénobiotiques chez le poisson téléostéen en fonction de la voie d'entrée (adaptée de Di Giulio et Hinton, 2008).	34
Figure A.18 : Bioamplification de Polluants Organiques Persistants dans le réseau trophique de la truite grise du lac Ontario en 1992. (adaptée de Niimi, 1996)	37
Figure A.19 : Paramètres agissant sur les processus de bioaccumulation d'un xénobiotique (Norström et Letcher, 1996)	38
Figure A.20 : Schéma récapitulatif de l'action du système cytochrome P-450 (d'après Estabrook et al., 1978)	41
Figure A.21 : Chambre de contention pour la détermination du BCF en laboratoire (Kennedy, 1990)	44
Figure A.22 : Flux de CB101 dans le réseau trophique de <i>Salvelinus namaycush</i> dans le lac Ontario en 1982-1986 (adaptée de Campfens et Mackay., 1997)	49
Figure A.23 : Devenir des xénobiotiques dans le poisson téléostéen et paramètres influant sur chaque processus (sont représentés en rouge les apports, en blanc les pertes par transformation/dilution, en vert les pertes par excrétion).	50
Figure A.24 : Cycle de gestion d'un étang piscicole. (Schéma de Banas, 2001)	53
Figure A.25 : Pression pesticide en Lorraine (d'après Joulin et al., 2006)	55
Figure A.26 : Proportion de chaque assolement sur les terres arables de Lorraine en 2008 (d'après INSEE, 2010 et Agreste, 2009)	56
Figure A.27 : Quantité de pesticides épandues sur les grandes cultures en Lorraine (2000-2001) et sensibilité des eaux de surface sur la période de culture (Joulin et al., 2006).	57
Figure A.28 : Potentiel de contamination des eaux de surfaces et localisation des zones regroupant les étangs en Lorraine (d'après Joulin et al., 2006)	59
Figure A.29 : L'étang comme modèle pour l'évaluation de la contamination des milieux aquatiques	60
Figure B.1 : Localisation géographique, photographie et caractéristiques des sites.	63
Figure B.2 : Localisation des sites sur la carte de potentiel de risque de contamination des eaux de surface par les produits phytosanitaires (Adaptée de Joulin et al., 2006)	64

Figure B.3 : Points de prélèvement d'eau pour les analyses physico-chimiques, sur les 5 étangs d'étude	68
Figure B.4 : Relevé bathymétrique de l'étang du site C-45 (d'après Gosset, 2009)	71
Figure B.5 : Différents types de gains et pertes d'eau de l'étang du site C-45 pour le cycle complet (production, vidange, remplissage)	71
Figure B.6 : Paramètres physico-chimiques de l'eau, mesurés en étang.	73
Figure B.7 : Occupation des sols pour les 4 sites présentant des parcelles en culture et proportion de chaque culture pour l'année de récolte 2008.	76
Figure B.8 : Rotations de cultures et utilisation du sol hors période de culture pour 4 bassins versants (établies à partir des récoltes 2003 à 2009).	77
Figure B.9 : Itinéraire technique des applications de pesticides pour les cultures de blé tendre, de colza et de maïs.	80
Figure B.10 : Quantités totales de matières actives épandues sur les 4 bassins versants agricoles durant les deux cycles de production piscicole étudiés.	81
Figure B.11 : Quantités de matières actives épandues rapportées à la superficie du bassin versant (A) et de l'étang (B) pour les 4 bassins versants agricoles durant les deux cycles de production piscicole étudiés.	82
Figure C.1 : Présentation des données sous forme de boîte à moustaches	83
Figure C.2 : Somme des concentrations de pesticides quantifiés dans l'eau des 5 sites étudiés sur 157 pesticides recherchés	85
Figure C.3 : Activité EROD chez la carpe (<i>C. carpio</i>) et le gardon (<i>R. rutilus</i>) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.	88
Figure C.4 : Activité CYP 3A chez la carpe (<i>C. carpio</i>) et le gardon (<i>R. rutilus</i>) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.	88
Figure C.5 : Activité GST chez la carpe (<i>C. carpio</i>) et le gardon (<i>R. rutilus</i>) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.	89
Figure C.6 : Activité GPx chez la carpe (<i>C. carpio</i>) et le gardon (<i>R. rutilus</i>) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.	90
Figure C.7 : Activité CAT chez la carpe (<i>C. carpio</i>) et le gardon (<i>R. rutilus</i>) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.	91
Figure C.8 : Activité SOD chez la carpe (<i>C. carpio</i>) et le gardon (<i>R. rutilus</i>) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.	91
Figure C.9 : Activité GSH chez la carpe (<i>C. carpio</i>) et le gardon (<i>R. rutilus</i>) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.	92
Figure C.10 : Activité AChE chez la carpe (<i>C. carpio</i>) et le gardon (<i>R. rutilus</i>) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.	93
Figure C.11 : Plan 1/2 de l'analyse simultanée des biomarqueurs par ACP/CHA chez la carpe et le gardon.	94
Figure C.12 : Plan 1/3 de l'analyse simultanée des biomarqueurs par ACP/CHA chez la carpe et le gardon.	95
Figure C.13 : Plan 1/2 des analyses des biomarqueurs dans chaque espèce par ACP/CHA.	96
Figure D.1 : Points de prélèvement de l'eau et des sédiments pour chaque site d'étude en vue des analyses de pesticides	100
Figure D.2 : Gradient d'éluion utilisé pour la méthode de recherche multi-résidus par LC-MS-MS.	101
Figure D.3 : Représentaion des concentrations musculaires sous forme de boîte à moustache et abréviations utilisées pour le nom des molécules.	102
Figure D.4 : Concentrations de 14 pesticides dans les sédiments des 5 sites étudiés en 2007-2008 (T0) et 2008-2009 (TF).	111
Figure D.5 : Concentrations de pesticides dans le muscle de gardon à T0 et TF pour les 5 sites	113
Figure D.6 : Concentrations de pesticides dans le muscle de carpe à T0 et TF pour les 5 sites	114
Figure D.7 : Concentrations de pesticides dans le muscle de perche à T0 et TF pour les 5 sites	115
Figure D.8 : Cinétiques des concentrations de pesticides dans les muscles de <i>C. carpio</i> et <i>P. fluviatilis</i> .	120
Figure D.9 : Log (BMF) en fonction du log(Kow)	123
Figure D.10 : Comparaison du BMF (logarithme) et de la demi-vie (DT50, jours) des 13 pesticides étudiés avec les valeurs issues de la littérature pour d'autres molécules	124
Figure D.11 : Plan 1/2 de l'analyse simultanée des niveaux de contamination musculaire par ACP/CHA chez la carpe, la perche et le gardon.	126

Figure D.12 : Plan 1/3 de l'analyse simultanée des niveaux de contamination musculaire par ACP/CHA chez la carpe, la perche et le gardon. _____	126
Figure D.13 : Evolution des profils de contamination entre T0 et TF sur le plan 1/2 l'ACP réalisée chez la carpe, la perche et le gardon. _____	127
Figure E.1 : Concentration de pesticides organochlorés dans le muscle de poissons pêchés à TF. _____	136
Figure E.2 : Concentration de PCB dans le muscle de poissons pêchés à TF. _____	137
Figure E.3 : Application de la corrélation de Mahé et al. (2010) aux concentrations de PCB-NDL retrouvées dans les muscles des poissons pêchés dans notre étude. _____	139
Figure F.1 : Niveau d'intégration écosystémique et facilité d'interprétation des données selon les dispositifs expérimentaux _____	144
Figure F.2 : Optimisation du dispositif expérimental en étang _____	145
Figure F.3 : Temps entre l'épandage sur le bassin versant et la présence de résidus dans la chair de poisson pour la trifluraline et l'isoproturon. _____	152
Figure F.4 : Facteurs clés de la contamination en étang. _____	154
Figure X1.1 : Liste des molécules recherchées dans les différentes matrices (eau, sédiment, muscle de poisson) et limites de quantification (LOQ) associées aux dosages dans ces matrices. _____	182
Figure X.2.1 : Volume ventilatoire de <i>C. carpio</i> en fonction de sa masse. _____	190

LISTE DES EQUATIONS

Équation 1: Calcul du BCF si 80% à 95% du temps nécessaire à l'obtention de l'équilibre est atteint

$$BCF_K = \frac{K_1}{K_2} \quad \text{-----} \quad 45$$

Équation 2: Calcul du BCF si l'équilibre est atteint

$$BCF = \frac{C_t}{C_e} \quad \text{-----} \quad 45$$

Équation 3: Calcul de la demi-vie dans le tissu étudié

$$DT50_t = \frac{\ln 2}{K_2} \quad \text{-----} \quad 45$$

Équation 4: Calcul du BMF si l'équilibre est atteint

$$BMF = \frac{C_T}{C_a} \quad \text{-----} \quad 46$$

Équation 5: Calcul du BMF_K si 80% à 95% du temps nécessaire à l'obtention de l'équilibre est atteint

$$BMF_K = \frac{K_1}{K_2} \quad \text{-----} \quad 46$$

Équation 6: Calcul du BMF_K par la méthode de Tomy et al. (2004, 2007)

$$BMF_K = \frac{\alpha F}{K_2} \quad \text{-----} \quad 46$$

Équation 7: Calcul de l'assimilation par la méthode de Tomy et al. (2004, 2007)

$$\alpha(t) = \frac{n_m}{n_a} \quad \text{-----} \quad 46$$

Équation 8 : Bilan hydraulique d'un étang de barrage sur un cycle de production

$$V_e = Q_i - Q_0 \quad \text{-----} \quad 66$$

Équation 9 : Calcul du volume d'un étang de barrage

$$V_e = S_e \times \frac{H_e}{2} \quad \text{-----} \quad 66$$

Équation 10 : Volume d'eau entrant sur un cycle de production

$$Q_i = V_P + V_R + V_D + V_N \quad \text{-----} \quad 66$$

Équation 11 : Volume d'eau sortant sur un cycle de production

$$Q_0 = V_T + V_S + V_F + V_I \quad \text{-----} \quad 66$$

Équation 12 : Calcul détaillé de α

$$\alpha(t) = \frac{n_m}{n_a} = \frac{\frac{m_{mol,m}}{M_{mol}}}{\frac{m_{mol,a}}{M_{mol}}} = \frac{m_{mol,m}}{m_{mol,a}} = \frac{C_{mol,m} \times m_m}{C_{mol,a} \times m_a} \quad \text{-----} \quad 108$$

Équation 13: Estimation du K_2 par le K_{ow}

$$\text{Log}(K_2) = -0,414 \times \text{Log}(K_{ow}) + 1,47 \quad (R^2 = 0,95) \quad \text{-----} \quad 187$$

Équation 14: Equation cinétique reliant K_2 à la concentration dans le poisson

$$\frac{C_f}{C_{f,e}} = 1 - e^{-K_2 t} \quad \text{_____} \quad 187$$

Équation 15: Calcul de t_{80} et de t_{95}

$$t_{80} = \frac{1,6}{K_2}, \quad t_{95} = \frac{3,0}{K_2} \quad \text{_____} \quad 187$$

Équation 16 : Calcul de la dose perçue par le poisson lors d'une contamination par l'eau

$$D = C_e \times V_g \times 24 \quad \text{_____} \quad 190$$

Équation 17 : Modèle de Yamamoto (1991) pour le calcul du volume ventilatoire absolu

$$V_{ga} = 1,035226 W^{0,771371} \quad \text{_____} \quad 191$$

Équation 18 : Calcul de V_g à partir du Modèle de Yamamoto (1991)...

$$V_g = \frac{3 \times 60 \times V_{ga}}{W} \quad \text{_____} \quad 191$$

LISTE DES ABREVIATIONS

2,4-D : Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique	DT50eau : Demi-vie dans l'eau
AChE : Acétylcholinestérase	DT50sed : Demi-vie dans les sédiments
ACP : Analyse en Composante Principale	DT50sol : Demi-vie dans le sol
Ah : Aryl hydrocarbure	E ₀ : Taux d'assimilation des xénobiotiques
AMPA : Acide aminométhylphosphonique	ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène
AZOX : Azoxystrobine	EROD : 7-Ethoxyrésorufine-O-dééthylase
BAF : Facteur de bioaccumulation	FLUR : Fluroxypyr
BCF : Facteur de bioconcentration	FMO : Flavin containing monooxygenase
BChE : butyryl-cholinestérase	GPx : Glutathion peroxydase
BMF : Facteur de bioamplification	GSH : Glutathion réduit
BSAF : Facteur de bioaccumulation à partir du sédiment.	GST : Glutathion-S-Transférase
CARB : Carbendazime	H : Constante de Henry
CAT : Catalase	HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
CHA : Classification Hiérarchique Ascendante	HCB : Hexachlorobenzène
CLOM : clomazone	HCH : Hexachlorocyclohexane
CORPEN : Comité d'Orientation pour des Pratiques agricoles respectueuses de l'Environnement	IFEN : Institut Français de l'Environnement
CYP : Cytochrome P450	I PRO : Iprodione
CYP 3A : cytochromes P450-3A	ISOP : Isoproturon
DCE : Directive cadre sur l'eau	K _d : Coefficient de sorption au sol
DDD : Dichlorodiphényldichloroéthane	K _{oa} : Coefficient de partage entre l'octanol et l'air
DDE : Dichlorodiphényldichloroéthène	K _{oc} : Coefficient de sorption au sol normalisé à la teneur en carbone organique du sol
DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane	K _{ow} : Coefficient de partage octanol/eau
DEA : Déséthyl-Atrazine	K _{wa} : Coefficient de partage entre l'eau et l'air
DIA : Diméthyl-isopropyl-Atrazine	LOD : Limite de détection
DIFL : Diflufenican	LOQ : Limite de quantification
DIME : Diméthachlore	MESO : Mésosulfuron-méthyl
DT50 : Demi-vie	META : Métazachlore
DT50air : Demi-vie dans l'air	

MFO : mixed function mono-oxygenase
MG : Matières grasses
NAPR : Napropamide
OCDD : octachloro-dibenzo-p-dioxine
ONF : Office National des Forêts
PAC : Politique Agricole Commune
PBDE : Polybromodiphényléther
PCB : Polychlorobiphényles
PCB-I : Polychlorobiphényles indicateurs
PCB-NDL : Polychlorobiphényles de type
« non dioxin like »
PF : Poids frais
pH : Potentiel hydrogène
pKa : potentiel d'acidité
PS : Poids sec

PV : Poids vif
Pv : Pression vapeur
QUIZ : Quinalofop
S : Solubilité dans l'eau
SIG : Système d'information géographique
SOD : Superoxyde dismutase
T0 : 1^{ère} campagne d'échantillonnage
TEQ : Toxic Equivalent Quantity
TF : 2^{ème} campagne d'échantillonnage
THIF : thifensulfuron-méthyl
TRIF : Trifluraline
UDPGT : Uridine Diphosphate Glucuronyl-
transférase
US-EPA : United State Environment
Protection Agency

INTRODUCTION GENERALE

Au cours du siècle dernier, les activités anthropiques, poussées par les avancées technologiques, ont conduit à des augmentations des niveaux de contaminants¹ organiques dans l'environnement. L'agriculture en est une source importante en raison de l'usage généralisé de pesticides pour protéger les cultures et améliorer leur rendement. En effet, depuis les années 40, l'agriculture s'est intensifiée et les pratiques ont profondément changé. En particulier, la plupart des usages de pesticides inorganiques (cuivre, arsenic, fer, soufre, acides) ont progressivement été remplacés par des pesticides organiques. Ces derniers regroupent de nombreuses familles chimiques, aux comportements variés aussi bien dans leur action que dans leur devenir environnemental. Les processus de dissipation au sein des matrices environnementales et biologiques sont complexes. Les études portant sur la dissipation des pesticides mettent en avant la répartition et la transformation des molécules depuis leur émission, en insistant sur l'influence de nombreux paramètres, liés entre autres à la nature même de la molécule employée, aux conditions d'application ou encore aux processus biotiques et abiotiques subis dans les différentes matrices réceptrices. Mais, à ce jour, les mécanismes régissant le devenir des pesticides organiques sont assez mal connus et non généralisables à toutes les molécules. Parmi les milieux récepteurs, les milieux aquatiques sont particulièrement touchés par ces composés. Dans un souci de santé humaine et de protection de l'environnement, l'amélioration de la qualité de l'eau de surface et des sédiments vis-à-vis des contaminants organiques est devenue un enjeu majeur en Europe. Cela a d'ailleurs conduit à l'interdiction ou à la restriction d'usage de nombreuses molécules. La présence d'une multi-contamination dans les milieux aquatiques cause potentiellement des problèmes de toxicité et/ou de présence de résidus dans les tissus pour les organismes non cibles tels que les poissons. En découle, malgré l'absence de réglementation, des interrogations en termes de sécurité alimentaire, liées à la présence de ces résidus dans la chair des poissons exposés. En particulier, les systèmes d'élevage et de production de poissons d'eau douce se situent souvent en zone agricole et subissent donc une pression pesticide pouvant se répercuter sur la qualité des produits aquacoles proposés aux consommateurs. Cependant, les techniques analytiques actuelles ne permettent pas de rechercher tous les résidus de contaminants organiques présents dans la chair de poisson et dans son milieu de vie. Les recherches actuelles se concentrent essentiellement sur les polychlorobiphényles (PCB²) et pesticides organochlorés qui, malgré leur

¹ Un contaminant est défini ici comme une substance présente dans le milieu en concentration supérieure à la concentration correspondant au bruit de fond naturel. Cette définition n'implique pas les conséquences sur le milieu ou le biota.

² Les PCB sont des molécules largement étudiées dans la littérature portant sur le devenir des contaminants organiques. Ainsi, elles serviront de référence même si leur utilisation est interdite.

interdiction d'usage depuis les années 70, sont fréquemment retrouvés en grande quantité dans les matrices environnementales et biologiques. De plus, de nombreux paramètres influencent l'entrée et le devenir des contaminants organiques dans le poisson et il reste difficile à ce jour de décrire avec précision les mécanismes mis en jeu pour toutes les molécules, les interactions entre molécules restant également inconnues.

Dans ce contexte, cette thèse a pour objectif général de caractériser le devenir de pesticides dans les matrices environnementales (eau, sédiments) et biologiques (chair de poisson) pour un milieu aquatique particulier : l'étang à vocation piscicole.

Dans un premier temps, une synthèse bibliographique permettra de donner un aperçu de l'état de contamination des milieux et des poissons. Les connaissances relatives à la dissipation des contaminants organiques, de la source aux milieux aquatiques ainsi qu'à leur devenir dans la faune piscicole seront également abordées. Enfin, le choix de l'étang à vocation piscicole comme milieu d'étude sera justifié. Ce travail préliminaire permettra de mieux préciser les objectifs.

Dans un deuxième temps, cinq sites d'études, correspondant chacun à un étang et son bassin versant, seront décrits. Cette partie concernera aussi bien la topographie des sites que les pratiques agricoles et piscicoles présentes. Ce travail permettra ainsi de caractériser des facteurs pouvant, d'après la littérature, influencer sur le devenir des pesticides et les niveaux de contamination des milieux et de la faune.

Dans un troisième temps, une recherche non ciblée de pesticides (et produits de dégradation) dans l'eau d'étang sera réalisée pour différentes saisons. Cette approche généraliste sera complétée en évaluant le niveau de contamination global des étangs au travers de l'étude de plusieurs biomarqueurs chez les poissons.

Après cette évaluation générale, l'étude se concentrera sur quelques pesticides parmi ceux épanchés sur les bassins versants étudiés. Tout d'abord, les niveaux de contaminations de l'eau, des sédiments et des muscles de poissons seront déterminés par une analyse multi-résidus. Ensuite, les paramètres d'accumulation et de demi-vie de ces molécules dans le muscle de poisson seront déterminés après une exposition par voie alimentaire. Enfin, les données produites lors de cette thèse seront analysées de façon à mettre en relation les niveaux de contamination des poissons aux caractéristiques des sites.

Pour clore ce travail de thèse, les niveaux de contamination de PCB et de pesticides organochlorés seront explicités pour les sites étudiés. Cette dernière partie permettra d'évaluer la conformité à la norme vis-à-vis de ces molécules pour le consommateur.

Chapitre A. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

A. 1. INTRODUCTION

Des centaines de pesticides organiques sont actuellement autorisés pour une utilisation en agriculture. De par la faible proportion de molécules étudiées en comparaison de la grande variété de molécules existantes, il est difficile de décrire un comportement général, applicable à tous les pesticides. Cependant, ce chapitre présente un état des lieux des connaissances actuelles sur le devenir des contaminants organiques. Ainsi, cette synthèse concerne de nombreux pesticides homologués mais également des molécules interdites d'utilisation telles que les polychlorobiphényles (PCB).

Cette synthèse bibliographique vise à préciser les objectifs et l'intérêt de ce travail de thèse. Cet état de l'art général apportera tout d'abord des données concernant la contamination des milieux aquatiques en Europe. Puis, les mécanismes généraux de dissipation dans l'environnement seront explicités en tenant compte des nombreux facteurs mis en jeu. Le devenir dans le milieu aquatique sera également décrit. Ensuite, une fois les niveaux de contaminants dans les poissons d'eau douce en Europe établis, les connaissances actuelles sur les mécanismes d'entrée et d'accumulation dans les poissons seront synthétisés. Enfin, le choix des étangs de barrage à vocation piscicole pour l'étude du devenir des pesticides sera justifié.

A. 2. LE MILIEU AQUATIQUE : UN RECEPTACLE DE POLLUTION

A. 2. 1. ETAT DE CONTAMINATION DES MILIEUX AQUATIQUES EUROPEENS

Cette première partie vise à dresser un état de la contamination des milieux aquatiques (eau et sédiments) en Europe, à partir de données récentes. Le tableau A.1 montre les concentrations de PCB, de pesticides organochlorés et de leurs produits de dégradation dans les eaux de surface. Les données récentes pour ces molécules sont rares. Ces molécules hydrophobes sont peu présentes sous forme dissoute et sont plutôt dosées dans les particules ou les sédiments (Tableau A.2).

Tableau A.1 : Concentrations (ng/L) en PCB et pesticides organochlorés dans les eaux Européennes.

Lieu	Période	n	p,p'-DDT	p,p'-DDE	p,p'-DDD	alpha-HCH	gamma-HCH	HCB	Somme PCB-NDL	Référence
France										
Rivière Moselle	2007-2008	29	8 (12)	5 (1)	5 (1)	5 (2)	9 (12)	9 (1)	34 (82)	<i>AERM, 2010</i>
Grèce										
Lac Polyfytos	2005	4							94	<i>Katsoyiannis, 2006</i>

Tableau A.2 : Concentrations ($\mu\text{g}/\text{kg}$ poids sec) de PCB et pesticides organochlorés dans les sédiments en Europe. Les PCB-NDL sont les PCB n° IUPAC 28, 52, 101, 138, 153, 180. Les PCB-I sont les PCB-NDL et le CB118.

Lieu	Période	n	p,p'-DDT	p,p'-DDE	p,p'-DDD	alpha-HCH	gamma-HCH	HCB	Somme PCB-I	Somme PCB-NDL	Référence
Belgique											
Rivière Scheldt	2000	2	3,5 (1,1)	5,9 (0,6)	5,8 (0,8)			1,02 (0,02)			<i>Covaci et al., 2005</i>
Espagne											
Lac Albufera		121	0,3 (0,2)	0,8 (0,2)	0,5 (0,4)		0,09 (0,03)	0,03 (0,01)			<i>Peris et al., 2005</i>
Grèce											
Lac Polyfytos	2005	4								67	<i>Katsoyiannis, 2006</i>
Italie/Suisse											
Lac Majeur	2004-2006	22-27							11		<i>Vives et al., 2007 Guzzella et al., 2008</i>
Pologne											
Réservoir Sulejowski	2006	3								3,6 (0,9)	<i>Waszak et Dabrowska, 2009</i>
Roumanie											
Delta Danube	2002	9	0,5 (0,3)	2,8 (2,5)	3,4 (4)	1,1 (0,9)	2 (1)	< 0,2	< 2		<i>Covaci et al., 2006</i>
Slovénie/ Croatie/ Bosnie											
Rivière Save	2005-2006	20	0,4 (0,5)	0,2 (0,2)	0,11 (0,09)		0,04 (0,03)	0,2 (0,3)		1,8 (0,7)	<i>Heath et al., 2009</i>
France											
Rivière Rhône et affluents	2005-2006	15							17 (10)		<i>Babut et Miège, 2007</i>

Les pesticides polaires sont fréquemment recherchés dans les eaux de surface européennes. Une étude récente (Loos *et al.*, 2009) récapitule les données sur 122 points de mesures répartis sur une trentaine de grands fleuves. Afin de les comparer aux données régionales (Lorraine), les données relatives à la Moselle sont également exposées (Tableau A.3). Ces molécules polaires sont rarement recherchées dans le sédiment, bien qu'elles soient présentes dans cette matrice (Hela *et al.*, 2005 ; Devault *et al.*, 2007 ; Devault *et al.*, 2009). A titre d'exemple, des pesticides polaires (et quelques produits de dégradation) dans les sédiments de la Garonne (France) sont donnés dans le Tableau A.4.

Tableau A.3 : Concentration (ng/L) en pesticides polaires dans les eaux de surface européennes (n étant le nombre de points de mesure)

Lieu	Période	n	2,4-D	Atrazine	Atrazine déséthyl	Simazine	Terbutylazine	Isoproturon	Référence
Europe									
30 fleuves	2002-2007	122	22	3	7	10	9	52	<i>Loos et al., 2009</i>
France									
Rivière Moselle	2007-2008	29	4 (4)	29 (5)	29 (5)			60 (90)	<i>AERM, 2010</i>
Espagne									
Rivière Ebro	2006	26		147 (181)		26 (30)	95 (54)		<i>Farré et al., 2007</i>

Tableau A.4 : Concentration ($\mu\text{g/kg}$ poids sec) en pesticides polaires dans les sédiments de la Garonne.

Lieu	Période	n	Atrazine	Atrazine déséthyl	Simazine	Terbutylazine	Metazachlore	Isoproturon	Référence
France									
Rivière Garonne	2005	22	0,3 (0,2)	0,4 (0,2)	0,3 (0,2)	0,2 (0,1)	0,4 (0,3)	1,8 (1,9)	<i>Devault et al., 2007</i> <i>Devault et al., 2009</i>

Les milieux aquatiques sont influencés par les activités anthropiques et leur contamination en pesticides est, à ce titre, suivie régulièrement par les réseaux de surveillance européens. En France, l'Institut Français de l'Environnement (IFEN, 2002 à 2007) a régulièrement observé la présence de pesticides dans les masses d'eau³. Les teneurs mesurées sont parfois très faibles mais traduisent néanmoins une dispersion importante des pesticides et une présence généralisée dans les milieux aquatiques, pouvant causer des effets délétères (figure A.1). L'IFEN constate ainsi chaque année au moins une fois la présence de molécules sur plus de 90% des points de leur réseau de surveillance phytosanitaire des cours d'eau. Ceux-ci sont classés de « très bonne qualité » à « mauvaise qualité » selon la concentration en pesticides (figure A.1).

Les qualités « moyenne » à « mauvaise », qui représentent 40 à 50% des points de mesure sur le réseau, sont souvent dues à quelques molécules (figure A.2). Ces dernières sont fréquemment retrouvées dans les eaux de surface à des concentrations dépassant la limite de 0,7 $\mu\text{g/L}$, limite déclassante pour une station de mesures.

³ La masse d'eau est le découpage territorial élémentaire des Milieux aquatiques destiné à être l'unité d'évaluation de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE).

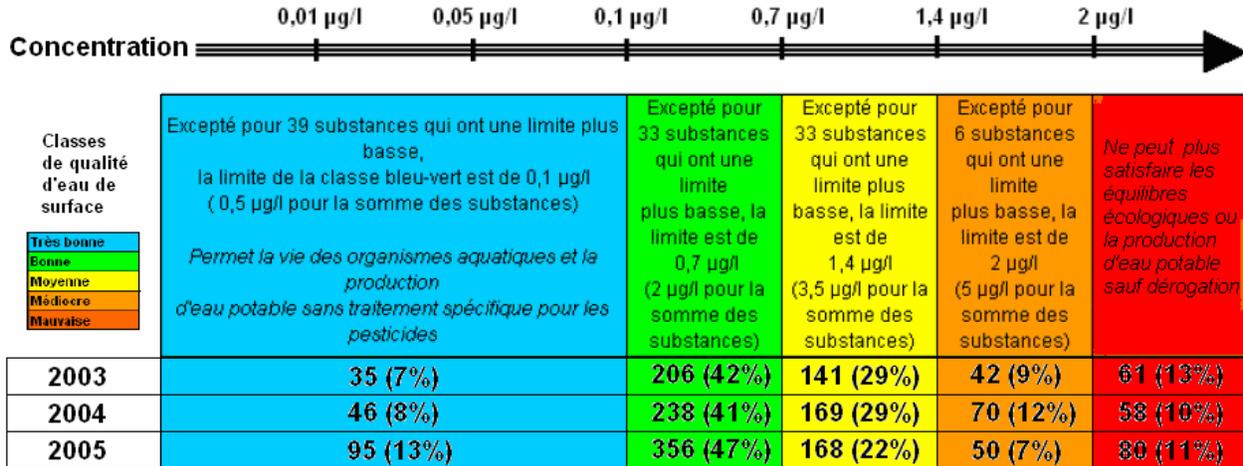


Figure A.1 : Nombre de stations de mesures en 2003, 2004 et 2005 classées par indice de qualité (IFEN, 2005 à 2007)

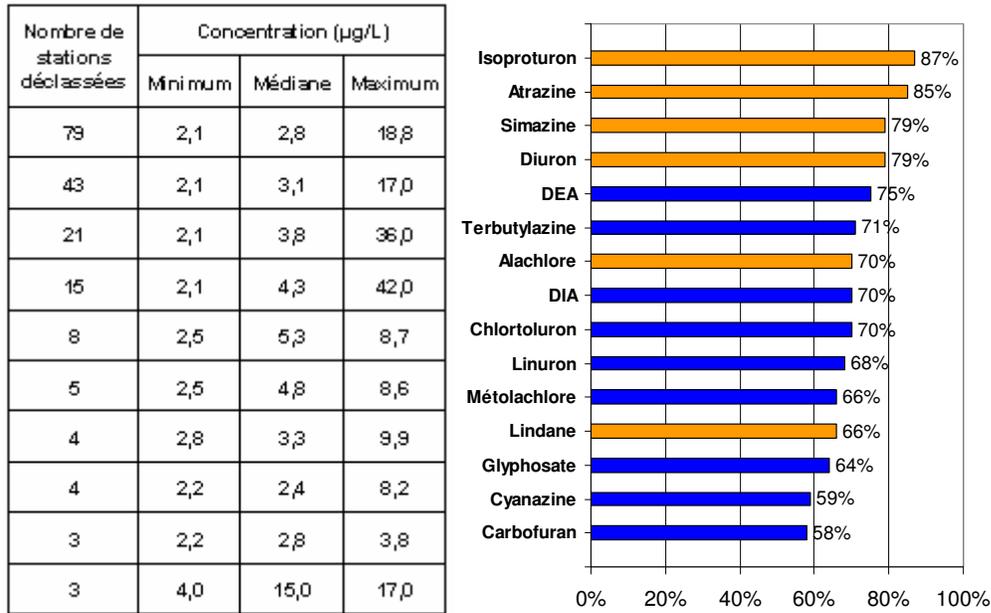


Figure A.2 : Molécules déclassantes pour les stations de mesures en France (métropolitaine et DOM) et molécules à forte fréquence d'apparition (en % de points de mesure où la substance est recherchée) dans les eaux de surface (IFEN, 2007). Les molécules prioritaires dans la DCE sont représentées en orange, la DEA et la DIA sont les métabolites de l'atrazine.

Les résidus de pesticides retrouvés dans les eaux de surface sont issus principalement des activités agricoles sur les bassins versants et sont ainsi les témoins de la dissipation des contaminants organiques dans l'environnement. Dans la suite de ce mémoire, nous nous focaliserons sur les mécanismes régissant cette dissipation.

A. 2. 2. DISSIPATION DES PESTICIDES DANS L'ENVIRONNEMENT

La dissipation correspond aux mécanismes de dispersion et de dégradation dans les différents compartiments environnementaux (air, sol, eau, sédiments) dont la résultante conduit à une contamination des milieux. Ces mécanismes sont fortement conditionnés par la demi-vie⁴ (DT50) et le K_{oc} ⁵ des molécules.

A. 2. 2. 1. DEVENIR DANS L'ATMOSPHERE

A. 2. 2. 1. 1. DISPERSION

Un épandage de pesticides peut entraîner deux mécanismes de dispersion vers l'atmosphère : la dérive lors de l'application et la volatilisation post-application. La dérive des sprays correspond à une perte d'une partie de l'épandage lors d'une pulvérisation. Elle provoque un pic de concentration de pesticide dans l'atmosphère lors de l'épandage et correspond donc à une contamination mesurable dans les heures suivant l'application. Les facteurs influant sur la dérive sont les pratiques d'épandage, la formulation du produit et les conditions météorologiques lors de l'épandage (Briand *et al.*, 2002a ; Cross *et al.*, 2001 ; Mun *et al.*, 1999). Cette perte par dérive, qui autrefois pouvait atteindre 50% de la quantité épandue (Cross *et al.*, 2001), est fortement réduite grâce à l'établissement de bonnes pratiques tels que, par exemple, le réglage et l'entretien des pulvérisateurs et l'utilisation de buses anti-dérive. De ce fait, ce processus de dérive tend à devenir maîtrisable, contrairement au phénomène de volatilisation. Le terme volatilisation comprend tous les processus physico-chimiques de transfert des composés du sol, des plantes ou de l'eau vers l'atmosphère. D'après la synthèse de Voltz et Louchard (2001) et les travaux de Jensen *et al.* (2007), les pertes par volatilisation peuvent atteindre jusqu'à 90% des doses appliquées ; cela va dépendre principalement des propriétés physicochimiques des molécules, de la matrice émettrice et des conditions environnementales (tableau A.6). La volatilisation post-épandage est un processus diffus qui peut provoquer des pertes vers l'atmosphère sur de longues périodes. Ce phénomène explique en partie⁶ la présence de pesticides dans l'air hors des périodes d'épandage (Dubus *et al.*, 2000 ; Scheyer, 2005). Les pesticides peuvent être transportés localement ou sur de longues distances par voie aérienne (Donald *et al.*, 1998 ; Dietz *et al.*, 2000 ; Macdonald *et al.*, 2000 ; WHO, 2003), selon leur répartition dans les différentes

⁴ La demi-vie des contaminants (DT50) dans l'air est la durée au bout de laquelle 50% de la quantité initiale est encore présente dans le milieu aérien

⁵ Le K_{oc} des molécules est le coefficient de partage de la molécule entre les phases solides et les phases en solution, normalisé à la teneur organique de la phase solide.

⁶ Certains pesticides sont retrouvés tout au long de l'année, traduisant une contamination chronique du compartiment aérien par volatilisation et épandage récurrents. Il s'agit en général de composés à demi-vie longue (Dubus *et al.*, 2000).

phases atmosphériques (aqueuse, gazeuse, particulaire), leur demi-vie (DT50) dans ce compartiment et les conditions environnementales (tableau A.6). Les molécules à longue demi-vie (comme les PCB et les pesticides organochlorés) se condensent dans les régions froides du globe : typiquement les régions polaires ou sub-polaires (Wania et Mackay, 1993 ; Simonich et Hites, 1995 ; Su et al., 2008) ou les régions de hautes montagnes (Blais et al., 1998 ; Gong et al., 2010).

A. 2. 2. 1. 2. DEGRADATION

Les voies de dégradation des pesticides dans le compartiment aérien (ou photodégradation) sont abiotiques, les principaux processus sont la photolyse et la photo-oxydation. Pour que la photolyse soit possible ; il faut que le spectre d'absorption du pesticide présente des recouvrements avec celui de la lumière solaire en atmosphère (compris entre 290 et 350 nm). De nombreux pesticides absorbent à des longueurs d'ondes plus faibles (Floesser-Muller et Schwack, 2001) mais pour certains composés, la photolyse est un processus de dégradation efficace (Kochany et Maguire, 1994 ; Moza *et al.*, 1998 ; Schick *et al.*, 1999). Les pesticides peuvent également être éliminés de l'atmosphère par des réactions d'oxydation photochimiques. Les principaux oxydants sont le radical OH, l'ozone (O₃), et NO₃. Les réactions entre pesticides et radical OH sont plus rapides que celles mettant en jeu des radicaux NO₃ ou O₃. La réaction avec le radical OH semble être le processus principal d'oxydation atmosphérique (Atkinson *et al.*, 1989, 1999). Tous ces mécanismes de dégradation dépendront de la phase porteuse du pesticide.

La demi-vie (DT50) des molécules dans le compartiment aérien dépend de nombreux facteurs (tableau A.6.). Elle est liée aux processus de sortie de l'atmosphère que sont la photodégradation, conduisant à une dégradation plus ou moins complète du composé, et les dépôts secs ou humides, qui permettent un transfert vertical vers les autres milieux.

A. 2. 2. 1. 3. DEPOTS

Les dépôts atmosphériques de composés organiques correspondent à un transfert de l'atmosphère vers les surfaces terrestre et aquatique. Deux types de dépôt peuvent subvenir : les dépôts secs et les dépôts humides.

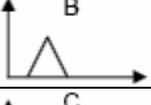
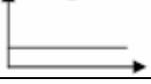
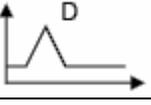
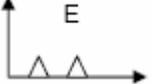
Les dépôts humides correspondent au transfert des contaminants par la pluie, le brouillard ou la neige. Les molécules solubilisées ou emprisonnées (gaz, particules et aérosols) dans les nuages lors de leur formation, sont entraînées lors de la tombée de la pluie. Les dépôts en résultant sont appelés « rain-out »⁷. Mais les pluies peuvent aussi lessiver les basses couches de l'atmosphère

⁷ Le « rain out » correspond à l'entraînement par la pluie des molécules présentes dans le nuage à l'origine de l'évènement pluvieux.

et, par conséquent, se charger de contaminants lors de l'évènement pluvieux. On parlera dans ce cas de « wash-out »⁸. Les quantités de contaminants déposées par les précipitations sont mesurées en recueillant la pluie ou la neige.

Dubus *et al.* (2000) ont fait le bilan de la contamination des eaux de pluie par les pesticides en Europe dans les années 1990, ce qui a abouti également à une proposition de classement associant le profil de dépôt à un type de transport (tableau A.5).

Tableau A.5 : Classement de Dubus *et al.* (2000) des pesticides par la concentration dans l'eau de pluie et le type de transport

Profil de dépôt $C = f(t)$	Période de dépôt	Ordre de grandeur de concentration (ng/L)	Transport	Exemples de pesticide
	Pendant les applications de pesticides	Moyenne / élevée Pic : 10 – 1 000 Hors pic : 0	Local	Chlorfenvinphos Diflufénican Pirimicarbe
	Pendant la saison de traitement	Moyenne / élevée Pic : 10 – 1 000 Hors pic : 0	Moyenne à longue distance	Atrazine Alachlore Métolachlore
	Tout au long de l'année	Faible Pic : - Hors pic : 1 - 10	Global	α - HCH
	Tout au long de l'année	Faible Pic : 1 – 1 000 Hors pic : 1 - 10	Régional et Global	γ - HCH Diuron
	Occasionnellement	Faible Pic : 1 – 10 Hors pic : 0	Local	Trifluraline DDT

Cependant, le dépôt humide permet une meilleure retombée des solutés et particules que des gaz. Par exemple, les composés à forte solubilité et les produits de dégradation de pesticides - généralement plus solubles que les molécules mères et/ou moins dégradables - sont retrouvés dans les précipitations. C'est le cas, par exemple, pour les produits de dégradation de l'atrazine, de la terbutylazine, de la simazine, du 2,4-D, du flamprop-p-isopropyl, du fluazyfop-p-propyl dans l'eau de pluie (Asman *et al.*, 2005). Par contre, les composés hydrophobes et volatiles tel que la trifluraline, sont essentiellement sous forme gazeuse dans l'atmosphère (Scheyer, 2005). Ceux-ci ne seront qu'occasionnellement présents dans les eaux de pluie (Dubus *et al.*, 2000). Le dépôt de ces composés sera principalement sous forme de dépôt sec. Les dépôts secs sont constitués de molécules sous forme de gaz, d'aérosol ou associées à des particules. Ces dépôts peuvent

⁸ Le « wash out » correspond à l'entraînement par la pluie des molécules présentes dans les couches atmosphériques sous-jacentes au nuage responsable de l'évènement pluvieux.

s'adsorber sur des surfaces variées ou être absorbés par la matrice réceptrice (Muir *et al.*, 1995, Dickhut et Gustafson, 1995). Généralement, les dépôts secs sont plus conséquents pour les composés volatiles et semi-volatils⁹ comme les PCB ou le DDT (Park *et al.*, 2001).

La nature et l'importance du dépôt vont principalement dépendre des propriétés physico-chimiques des molécules (tableau A.6), qui conditionnent leur répartition entre les différentes phases de l'atmosphère. Un exemple de flux de dépôt est donné dans la figure A.3 pour quelques pesticides dans la zone de Strasbourg (Sauret *et al.*, 2009)

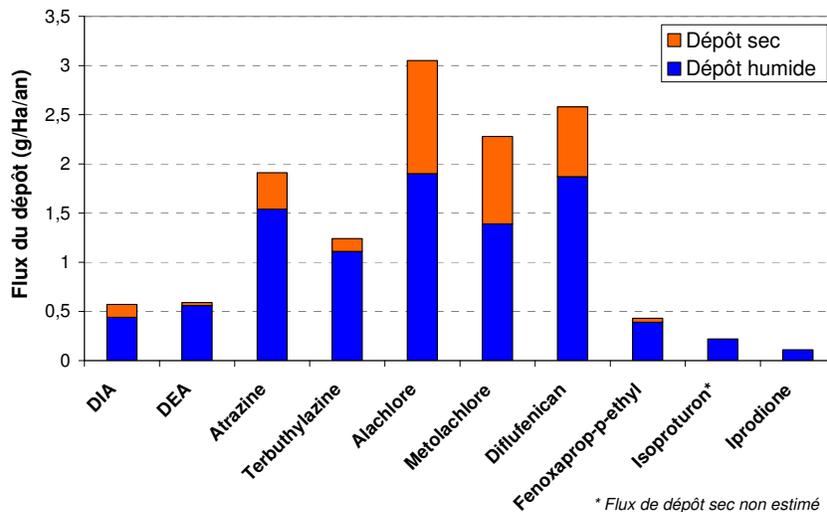


Figure A.3 : Dépôts secs et humides annuels de pesticides à Strasbourg (d'après Sauret *et al.*, 2009)
DEA : Déséthylatrazine, DIA : Déisopropylatrazine

Les évaluations concernant les dépôts dépendent également des facteurs environnementaux – *i.e.* climat, météorologie - si bien que les rapports dépôts secs/dépôts humides pour une même molécule peuvent être inversés d'un lieu à l'autre. A titre d'exemple pour le facteur climatique, en 1981, au-dessus des grands lacs canadiens, Eisenreich *et al.* (1981) ont montré que les dépôts secs en pesticides organochlorés étaient 1,5 à 5 fois plus importants que les dépôts humides. Alors que Park *et al.* (2001) démontrent une tendance inverse au-dessus du Texas.

Il reste difficile de prédire le comportement général des composés organiques étant donné la variabilité de des propriétés intrinsèques (exemples en Annexe 4) et des nombreux facteurs environnementaux (tableau A.6), entraînant des comportements variés dans l'atmosphère (Bossan *et al.*, 1995).

⁹ Composés lourds non volatiles à température ambiante mais susceptibles de se volatiliser lors d'un contact avec une source de chaleur et de s'adsorber ensuite sur des particules aériennes qui en favorisent le transport.

A. 2. 2. 1. 4. FACTEURS INFLUENÇANT LA DISSIPATION ATMOSPHERIQUE**Tableau A.6** : Facteurs influençant les processus de dissipation des pesticides dans l'atmosphère.

Facteurs	Actions	Références
Propriétés physico-chimiques de la molécule		
Répartition entre phases	La répartition entre phases dépend des propriétés de la molécule et agit sur la dispersion, la dégradation et les dépôts	Sauret et al. ; 2009 Scheyer, 2005 Feigenbrugel, 2005
Constante de Henry	Agit sur la répartition dans les phases liquide et gazeuse	Scheyer, 2005 Feigenbrugel, 2005 Seinfeld et Pandis, 1998
Pression de vapeur	Agit sur la répartition dans les phases gazeuse et solide Les molécules à forte pression de vapeur se volatilisent facilement	Feigenbrugel, 2005 Bidleman, 1988 Junge, 1977
Kow ou Koc	Agit sur la répartition dans les phases liquide et solide (avec matière organique)	Scheyer, 2005 Feigenbrugel, 2005 Bedos et al., 2002 Finizio et al., 1997 Alfaro et al., 2004
Solubilité	Agit sur la répartition entre la phase liquide et les autres phases	Scheyer, 2005 Feigenbrugel, 2005
DT50	Une DT50 forte est témoin d'une mauvaise dégradation et/ou d'un départ vers l'atmosphère, Agit sur la distance de transport	Feigenbrugel, 2005
Propriétés de la matrice émettrice et/ou réceptrice		
<i>PHASE</i>	La phase (gaz, eau, particule) va conditionner les processus de dégradation (et DT50), de transport et de dépôt	Scheyer, 2005 Feigenbrugel, 2005
<i>SOL</i>		
Teneur en matière organique	La teneur en matière organique du sol retient les composés apolaires, plus elle est forte, moins ces composés se volatilisent	Bedos et al., 2002
Teneur en argile	L'argile retient l'eau et les composés polaires et cationiques, plus la teneur est forte moins ces composés se volatilisent	Bedos et al., 2002
Humidité	La volatilisation est négligeable à partir d'un sol sec et maximale à partir d'un sol humide	Spencer et Clith., 1969 Majewski et al., 1991 Cherif et Wortham, 1997
pH	Agit sur la volatilisation (des composés ionisables, acides et bases)	Bedos et al., 2002
<i>PLANTE</i>		
Croissance	La croissance des plantes défavorise la volatilisation	Cross et al., 2001
Caractéristiques foliaires	La nature, l'âge, le stade de développement, la densité et la hauteur de la canopée influent sur la volatilisation et la DT50	Bedos et al., 2002
<i>SOL/PLANTE</i>	La volatilisation à partir des plantes est plus importante que celle à partir du sol (turbulences et évaporation plus élevée et liaisons plante/pesticide moins fortes pour la plante que pour le sol)	Rüdel, 1997
Pratiques agricoles		
Formulation	La formulation solide limite la volatilisation	Bedos et al., 2002
Travail du sol	L'incorporation au sol lors de l'épandage défavorise la volatilisation	Bedos et al., 2002
Contexte météorologique		
Température	Une hausse globale ou locale de température favorise la volatilisation et la dégradation dans l'atmosphère Influence sur la répartition entre phases négligeable	Noyes et al., 2009 Scheyer, 2005 Larsson et al., 1990 Glottfelty et al., 1984
Ensoleillement	Un fort ensoleillement favorise la volatilisation	Briand et al., 2002b Glottfelty et al., 1984
Humidité de l'air	Une forte hygrométrie défavorise la volatilisation et favorise les dépôts Influence sur la répartition entre phases négligeable	Briand et al., 2002b Noyes et al., 2009 Scheyer, 2005 Glottfelty et al., 1984
Vent	Le vent favorise l'érosion éolienne des particules du sol Le vent favorise la volatilisation Le vent agit sur le transport	Glottfelty et al. 1989 Van Pul et al., 1998. Bedos et al., 2001 Loki et al., 2005

A. 2. 2. 2. DEVENIR DANS LE SOL

Les bassins versants reçoivent fréquemment de nombreuses molécules par dépôt atmosphérique ou par application directe lors de la présence d'activités agricoles. Le sol est une matrice particulièrement soumise aux pratiques agricoles. Par exemple, certains pesticides sont incorporés volontairement au sol dans la pratique agricole courante (ex : trifluraline). Mais, même lors d'une application foliaire, le sol peut recevoir de 10 à 70% de la dose de pesticide appliquée (Jensen *et al.*, 2003).

La rétention et la dégradation des pesticides dans les sols sont les deux phénomènes fondamentaux conditionnant leur caractère polluant¹⁰ dans le bassin versant (Barriuso *et al.*, 2005). Les molécules présentes au niveau d'un bassin versant, et particulièrement celles peu retenues ou transformées dans le sol, peuvent être mobilisées vers le milieu aquatique.

A. 2. 2. 2. 1. RETENTION

La rétention est le résultat global d'un ensemble de processus élémentaires, impliquant des interactions avec les constituants organiques et minéraux des sols (INRA et Cemagref, 2005). Selon ses propriétés physico-chimiques, un polluant peut se retrouver dans différentes phases du sol (Calvet *et al.*, 2005). La part du contaminant la plus mobile est celle localisée dans les phases eau et air. Elle constitue la part directement disponible pour la dégradation par les micro-organismes du sol et pour le transfert en profondeur ou par ruissellement conduisant respectivement à des contaminations des eaux souterraines et de surface. L'augmentation de la rétention sur phase solide des contaminants diminue les risques de transfert, mais peut rendre difficile leur biodégradation (Barriuso *et al.*, 1994, 2004 ; Alexander, 2000 ; Alexander et Alexander, 2000). L'équilibre entre phase mobile (de type liquide ou gazeuse) et phase solide (rétention) dépend de phénomènes de sorption/désorption plus ou moins réversibles (*cf.* A.2.3.2.).

Le K_d (kg/L) est un critère important de mesure de la capacité de rétention des éléments non ionisables dans le sol. Il représente le coefficient de partage entre les quantités présentes dans la phase solide (mol/kg) et celles en solution (mol/L). Ce paramètre - et plus généralement les mécanismes de rétention dans le sol - dépend de nombreux facteurs (tableau A.7) et particulièrement la teneur en carbone organique du sol, d'où l'utilisation du K_{oc} à la place du K_d . Cette normalisation a permis la comparaison de l'adsorption d'une même molécule sur des sols présentant des teneurs en matière organique différentes. Les molécules à très fort K_{oc} peuvent

¹⁰ Le caractère polluant inclut ici une notion de toxicité du contaminant.

être fixées durablement dans le sol ou les sédiments, c'est le cas de la trifluraline dont le Koc peut dépasser 15 000.

Tableau A.7 : Facteurs influençant les processus de dissipation dans le sol.

Facteurs	Actions	Références
Propriétés physico-chimiques de la molécule		
Répartition entre phases	La répartition entre phases dépend des propriétés de la molécule et agit sur la rétention et la dégradation des molécules	<i>Calvet et al., 2005</i>
Propriétés structurales	Ionisation, répartition des charges et structure moléculaire agissent sur le type et la force de liaisons au sol et sur les mécanismes d'adsorption La nature des groupements fonctionnels agit sur la capacité de dégradation microbienne ¹¹	<i>Calvet et al., 2005</i> <i>Calvet et al., 1980</i> <i>Barriuso et Calvet, 1992</i> <i>Gramatica et al., 2000</i> <i>Scheunert, 1992</i> <i>Tunkel et al., 2000</i>
Kow	L'augmentation du Kow diminue l'affinité des molécules apolaires pour la phase aqueuse du sol et donc augmente leur adsorption sur la phase organique du sol.	<i>Calvet et al., 2005</i> <i>Briggs, 1981</i>
Koc, Kd	Caractérise les interactions entre molécules et sites de fixation du sol	<i>Briggs, 1981</i> <i>Gramatica et al., 2000</i> <i>Calvet et al., 2005</i>
Solubilité	Agit sur la répartition entre la phase liquide et les autres phases du sol, donc sur la capacité de mobilisation vers l'eau	<i>Calvet et al., 2005</i> <i>Belamie et al., 1997</i>
Propriétés du sol		
Humidité	Agit sur la dégradation	<i>Beigel et al., 1999</i>
Température	Agit sur la capacité de dégradation microbienne	<i>Beigel et al., 1999</i>
Teneur en matière organique	Agit sur la rétention des composés non ionisables Agit sur la dégradation	<i>Barriuso et Calvet, 1992</i> <i>Coquet et Barriuso, 2002</i> <i>Weber et al., 2004</i> <i>Calvet et al., 2005</i>
Teneur en oxydes et hydroxydes métalliques	L'adsorption des acides est plutôt dépendante du pH des sols et de leur teneur en oxydes et hydroxydes	<i>Barriuso et Calvet, 1992</i> <i>Calvet et al., 2005</i>
Teneur en argile	Les argiles, colloïdes minéraux chargés négativement, sont susceptibles d'adsorber les molécules protonées	<i>Calvet et al., 1980</i> <i>Barriuso et Calvet, 1992</i>
pH	Le pH du sol conditionne le degré de protonation des molécules polaires ou ionisables (bases faibles) Le pH du sol conditionne le degré de dissociation de la molécule en fonction du pKa (acides). Agit sur la capacité de dégradation microbienne	<i>Calvet et al., 1980</i> <i>Barriuso et Calvet, 1992</i> <i>Calvet et al., 2005</i>

La rétention et la dégradation ne sont pas des phénomènes indépendants. La rétention conditionne la disponibilité des produits pour leur dégradation.

A. 2. 2. 2. DEGRADATION

La dégradation est la résultante d'un ensemble de processus de dissipation, physico-chimiques et biologiques, qui font diminuer la concentration du polluant en fonction de cinétiques

¹¹ Les composés contenant les groupes hydrolysables comme les esters, amides et anhydrides d'ester, sont rapidement dégradés. Les groupes hydroxyl, formyl et carboxyl subissent également facilement la biodégradation. Par contre, les halogènes et le groupe nitro associés aux structures aromatiques, les carbones quaternaires et les azotes tertiaires, représentent souvent une étape limitante pour la biodégradation. Mais une fois l'étape limitante passée, la biodégradation peut parfois être rapide.

caractéristiques de la molécule et du milieu (INRA et Cemagref, 2005) Différentes voies de dégradation des contaminants entrent en jeu, même si, d'un point de vue chimique, ces voies obéissent aux mêmes réactions : oxydation, réduction, hydrolyses, déphosphorylation, déshalogénéation, *etc.* (Bollag & Liu, 1990 ; Wolfe *et al.*, 1990 ; Scheunert, 1992 ; Larson & Weber, 1994). Les mécanismes de dégradation sont influencés par de nombreux facteurs, liés en particulier aux propriétés de la molécule et du sol (tableau A.7). Trois mécanismes coexistent lors de la dégradation :

- La dégradation physique concerne principalement la photo-décomposition par les rayons UV, la plupart des molécules ayant un maximum d'absorption compris entre 200 et 400 nm. Ce processus, qui peut avoir lieu dans l'atmosphère ou à la surface du sol et de l'eau, conduit le plus souvent à l'oxydation des substances (Marcheterre *et al.*, 1988).

- La dégradation chimique principale reste l'hydrolyse des molécules en phase aqueuse et aux interfaces entre phases (aqueuse/solide ou aqueuse/gazeuse) (Wolfe *et al.*, 1990). Ce mécanisme de dégradation abiotique peut entrer en compétition avec d'autres phénomènes tels que l'oxydo-réduction dans les sols ou encore la dégradation biotique. Mais ce processus abiotique reste prédominant dans les couches de sol profondes.

- La dégradation biologique est, en général, quantitativement plus importante que les transformations abiotiques La biodégradation des molécules est souvent assimilée à la dégradation microbienne :

- o De type métabolique lorsque les micro-organismes pourront utiliser le contaminant comme substrat et source d'énergie pour proliférer et augmenter la capacité dégradante du sol (Horvath, 1972 ; Soulas, 1993).
- o De type co-métabolique (Horvath, 1972) lorsque les micro-organismes tireront leur énergie de l'oxydation de la matière organique présente dans le sol entraînant une dégradation du contaminant organique alors que ce dernier ne constitue pas un substrat électif et n'engendre pas le développement de la capacité dégradante du sol.

Le cumul de ces voies donne lieu à une demi-vie (DT50) dans un milieu donné. Mais, étant donné la multiplicité des facteurs impliqués, ces valeurs, ne sont au final qu'indicatives. En effet, pour une même molécule, les DT50 peuvent présenter une grande variabilité (figure A.4).

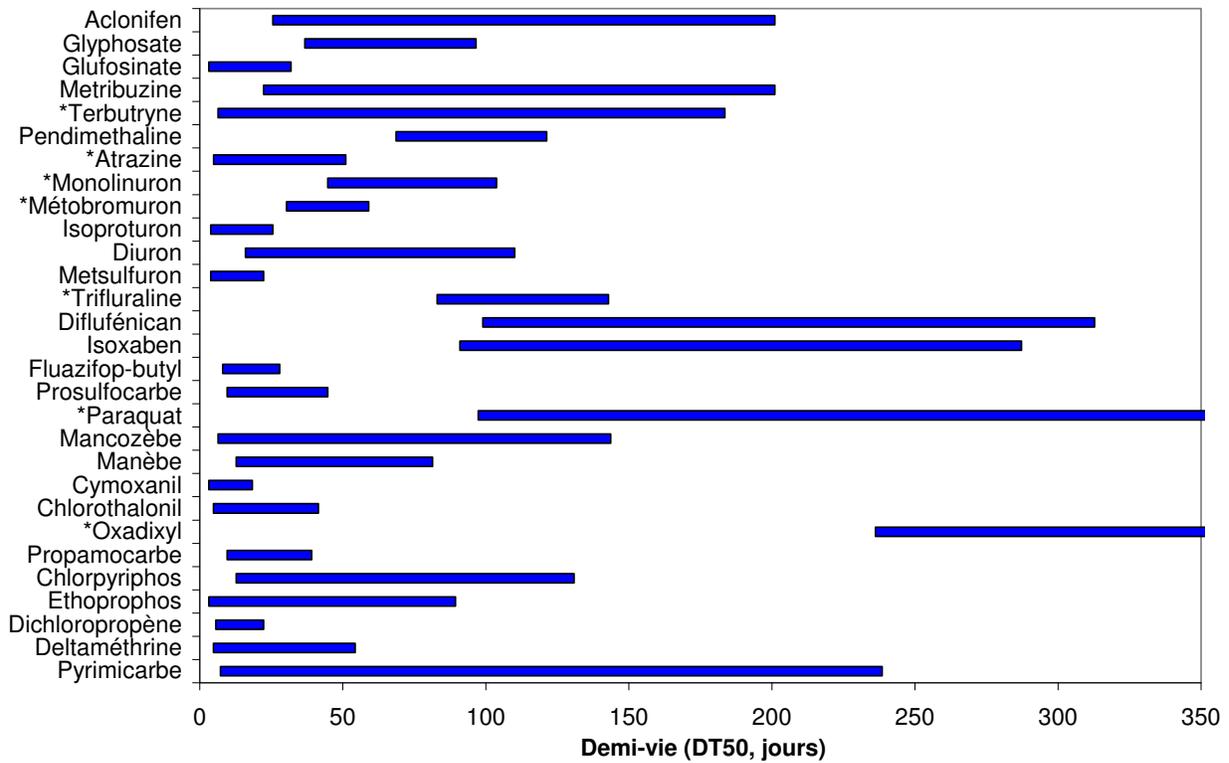


Figure A.4 : Variabilité des valeurs de demi-vie de différents pesticides dans les sols disponibles dans Tomlin (2000) et Agritox (2004), cités par Barriuso et al., 2005.

* Pesticides interdits d'utilisation en France avant le 01/10/2010.

Les contaminants organiques peuvent donc subir une rétention et une dégradation dans la matrice sol du bassin versant. Cependant, une part des molécules (ou leurs métabolites) peut être transférée vers le milieu aquatique.

A. 2. 2. 2. 3. TRANSFERT VERS LE MILIEU AQUATIQUE

Les pesticides peuvent être entraînés vers les eaux superficielles sous différentes formes, par des processus de diffusion, de désorption et de dissolution mais également par des mécanismes dus à l'érosion et l'entraînement des particules où sont fixés les contaminants. Ces phénomènes peuvent potentiellement rendre la présence de pesticides effective toute l'année ou provoquer un passage rapide vers l'eau provoquant un pic de pollution à la première pluie suivant l'épandage. Le transfert par un vecteur aqueux est particulièrement efficace. Voltz et Louchart (2001) ont relaté la part de chaque voie de transfert comme exposé dans la figure A.5.

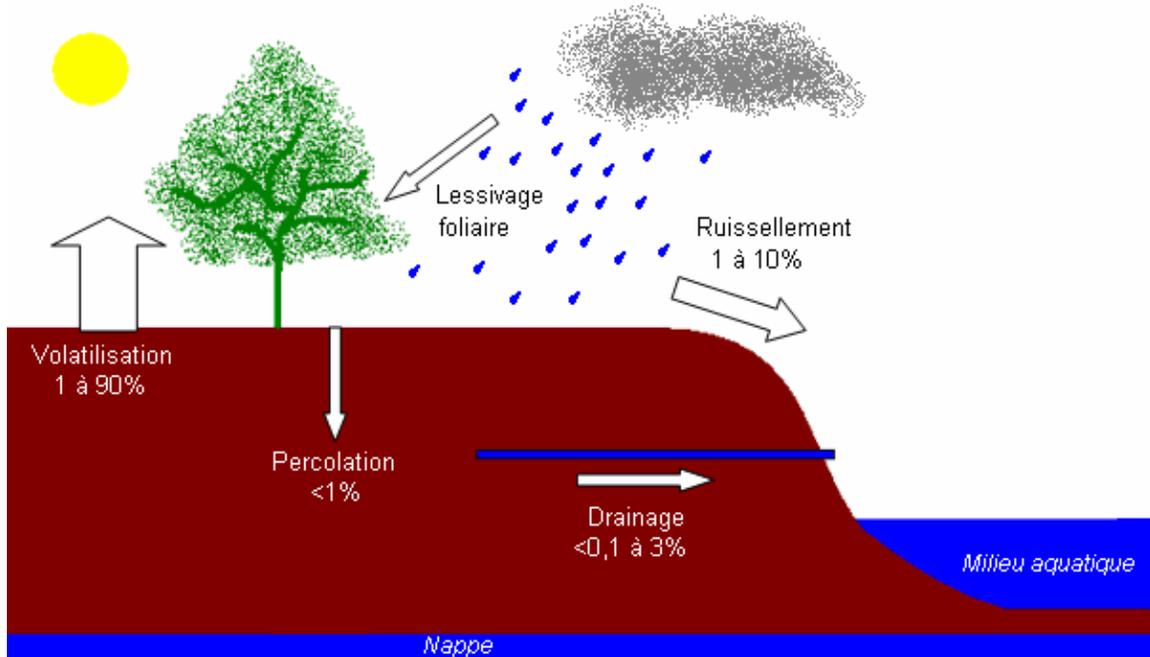


Figure A.5 : Dissipation des pesticides et taux de transfert vers le milieu aquatique. (d'après la synthèse de Voltz et Louchart, 2001)

Le transfert vers les eaux de surface, qui peut être calculé en rapportant la quantité retrouvée dans l'eau à un pourcentage de la quantité appliquée, représente, selon les molécules, entre 1 à 10% de la quantité épandue (Voltz et Louchart, 2001). Mais, bien que les eaux de surface accueillent une faible part des quantités épandues sur le bassin versant, la pollution par les pesticides de ces milieux reste un problème majeur.

L'entraînement par l'eau des molécules présentes dans le sol peut se faire par différents types d'écoulement :

- Le ruissellement de surface est un écoulement horizontal à la surface du sol. Celui-ci engendre souvent la formation de rigoles où l'érosion est particulièrement forte. Le passage de l'eau dans ces sillons mobilise une plus grande épaisseur de sol et favorise les phénomènes d'adsorption/désorption.

- L'écoulement hypodermique correspond à un écoulement de l'eau sous la surface du sol, dû à une rupture brutale de perméabilité comme par exemple la compaction sous la semelle de labour ou l'interface sol/roche (Ambroise, 1999). Ce type d'écoulement est plus lent que le ruissellement de surface et les deux formes d'écoulement peuvent interférer par des processus d'infiltration/exfiltration (Sklash *et al.*, 1979 ; cités par Ambroise, 1999).

- Le drainage agricole modifie les conditions d'écoulement. Il a une action directe sur le transfert des pesticides vers les eaux superficielles (Novack, 1999). Dans la plupart des cas, les drains, interceptant une partie des écoulements verticaux (Schiavon *et al.*, 1995) et les effluents, sont directement rejetés dans le milieu aquatique. La molécule considérée a son importance. Par exemple, le metsulfuron-méthyl restant dans les 10 premiers centimètres du sol (Pons *et al.*, 1997), atteindra difficilement le réseau de drainage.

Le transfert des pesticides vers l'eau de ruissellement est conditionné par de nombreux facteurs (synthèse de Wohlfarht, 2005) référencés dans le tableau A.8. Cinq types de critères sont mis en évidence : les propriétés de la molécule (8a), la topographie (8b), les propriétés du sol (8c), le contexte climatique et météorologique (8d) et les pratiques agricoles (8e).

Tableau A.8 : Facteurs influençant le transfert des pesticides par ruissellement de surface. (En italique, les précisions et références ajoutées, les autres références étant issues de la synthèse de Wohlfarht, 2005).

Tableau A.8 a. Propriétés de la molécule

Facteurs	Actions	Références
Propriétés physico-chimiques de la molécule		
Polarité, nature ionique	<i>Le transfert par ruissellement des composés ioniques et des acides / bases faibles est potentiellement important du fait de l'équilibre entre l'affinité pour l'eau et l'adsorption au sol des composés qui est conditionnée par le pH et la surface d'échange minérale.</i> Les composés lipophiles sont fixés sur la surface des feuilles et dans les cires alors que les composés polaires sont facilement mobilisables depuis le feuillage par la pluie.	<i>Calvet et al., 2005</i> <i>Calvet et al., 1980</i> <i>Barriuso et Calvet, 1992</i> Rao et Davidson, 1980 ; Wauchope et Leonard, 1980 ; Willis <i>et al.</i> 1980
Kow, Koc et propriétés de sorption	Les pesticides fortement adsorbés sont retenus à la surface du sol (moins lessivables) et donc plus disponibles pour le ruissellement. Dans ce cas, les quantités de pesticides ruisselées vont dépendre des quantités de sédiments érodés et transportés. Les molécules aux faibles Koc vont être retrouvées avec les plus fortes concentrations dans la phase aqueuse du ruissellement.	<i>McDowell et al., 1981 ;</i> <i>Willis et al., 1983</i> <i>Dabrowski et al., 2002 ;</i> <i>Klöppel et al., 1997 ;</i> <i>Klöppel et al.1994 ;</i> <i>Southwick et al., 1990 ;</i> <i>Wauchope et al., 1978</i> <i>Wauchope et al. 2002</i> <i>Pons et al., 1997</i>
Solubilité	Les pesticides les plus solubles sont plus sujets à être lavés des résidus de culture ou des feuillages par les premières pluies ou encore à être lessivés dans le sol. Cependant, si le temps d'initiation du ruissellement est court, les concentrations dans le ruissellement seront d'autant plus importantes que la solubilité est grande.	<i>Baker et al., 1978 ;</i> <i>Baker et Johnson, 1979 ;</i> <i>Baker et al., 1982 ;</i> <i>Willis et al. 1980 ;</i> <i>Barnett et al. 1967 ;</i> <i>Trichill et al., 1968</i>
DT50	Les pesticides dont la demi-vie est grande ont une probabilité d'être présents en quantité plus importante lors du ruissellement que ceux aux persistances plus faibles.	<i>Leonard et Kinsel, 1986 ;</i> <i>Mills et Leonard, 1984 ;</i> <i>Wauchope, 1978</i>

Tableau A.8 b. Topographie

Facteur	Action	Références
Topographie		
Pente	L'augmentation de la pente augmente le taux de ruissellement et la profondeur effective pour l'extraction des produits chimiques.	<i>Foster et al. 1980 ;</i> <i>Sharpley et al. 1981 ;</i> <i>Wauchope, 1978 ;</i> <i>Chaplot et al., 2003 ;</i> <i>Walter et al., 1979</i>

Tableau A.8 c. Propriétés du sol

Facteurs	Actions	Références
Propriétés du sol		
Texture et teneur en matière organique	Agit sur le taux d'infiltration, le ruissellement est généralement plus important pour des textures de sol fines. Le temps d'initiation du ruissellement est plus important sur sol sableux. La teneur en MO agit sur la mobilité et l'adsorption des pesticides. La texture du sol a aussi un impact sur les facteurs d'enrichissement chimique.	Foster <i>et al.</i> 1980 ; Rao et Davidson, 1980 ; Rawls et Brakensiek, 1982 ; Wischmeier et Smith, 1978
Croûte de battance et compaction du sol	La croûte et la compaction diminuent le taux d'infiltration du sol et augmentent les concentrations initiales en pesticides solubles. <i>Création d'un écoulement hypodermique lorsque la compaction est sous-jacente à la surface du sol. Interférences avec le ruissellement de surface</i>	Baker et Laflen, 1979 Ambroise, 1999
Teneur en eau	Une forte teneur en eau du sol implique une augmentation du potentiel de ruissellement, une diminution du temps d'initiation du ruissellement, une diminution du lessivage des pesticides solubles au-delà de la zone d'interaction.	Barnett <i>et al.</i> , 1967 ; Davidson <i>et al.</i> 1975 ; Kinsel et Braid, 1969
Degré d'agrégation et stabilité	Agissent sur le taux d'infiltration, l'état de surface, la profondeur de la zone d'interaction	Ahuja <i>et al.</i> 1981 ; Foster <i>et al.</i> 1980 ; Sharpley <i>et al.</i> , 1981
Etat des surfaces	Agit sur la concentration des premiers mm de pluie et sur la rapidité de la décroissance des concentrations.	Lecomte, 1999

Tableau A.8 d. Contexte climatique et météorologique

Facteurs	Actions	Références
Contexte climatique et/ou météorologique		
Intervalle application / ruissellement	Les concentrations en pesticides dans les eaux de ruissellement les plus importantes sont observées pour le premier événement ruisselant après application. La disponibilité des pesticides sur le sol et les surfaces foliaires diminue avec le temps. Le taux de perte est également le plus important pour le premier événement ruisselant. La décroissance des concentrations est dépendante des pluies cumulées.	Baker et Johnson, 1979 ; Bovey <i>et al.</i> , 1975 ; Bradley <i>et al.</i> , 1972 ; Edwards <i>et al.</i> , 1980 ; Smith <i>et al.</i> , 1983 ; Triplett <i>et al.</i> , 1978 ; Wauchope et Leonard, 1980 ; White <i>et al.</i> , 1967 Klöppele <i>et al.</i> , 1997 ; Lecomte, 1999 ; Loucaht <i>et al.</i> , 2001
Intensité de la pluie / débit	Le ruissellement de surface a lieu quand la pluie dépasse la capacité d'infiltration du sol. L'énergie disponible pour l'extraction et le transport des pesticides augmente avec l'intensité pluvieuse qui peut aussi influencer sur la profondeur d'interaction. L'augmentation de l'intensité pluvieuse diminue le temps d'initiation du ruissellement.	Sharpley <i>et al.</i> , 1981 ; Sharpley, 1985 ; Skaggs et Khaleel, 1982, Chaplot <i>et al.</i> , 2003
Quantité de pluie / durée de l'évènement pluvieux	Agit sur le volume total ruisselé, le lavage foliaire et le lessivage au-delà de la zone de ruissellement.	Baker <i>et al.</i> , 1981 ; Bovey <i>et al.</i> 1975 ; White <i>et al.</i> , 1967 ; Willise <i>et al.</i> , 1980
Temps d'initiation du ruissellement	Les concentrations en pesticides dans le ruissellement augmentent quand cet intervalle diminue. Les concentrations et la disponibilité en pesticides sont plus importantes en début d'évènement pluvieux, avant que les conséquences du lessivage ne se fassent sentir.	Baker et Laflen, 1979 ; Baker <i>et al.</i> , 1982 ; Barnett <i>et al.</i> , 1967 ; Gaynor et Volk, 1981

Tableau A.8 e. Pratiques agricoles

Facteurs	Actions	Références
Pratiques agricoles		
Irrigation	L'application de produit par irrigation au sprinkler peut entraîner les pesticides solubles dans le sol et donc réduire leur ruissellement. Par ailleurs, les applications aériennes pendant les périodes d'irrigation augmentent considérablement le ruissellement des pesticides.	Dowler <i>et al.</i> , 1982 ; Spencer <i>et al.</i> , 1985
Saison de traitement	Différence de comportement entre été et hiver du point de vue des capacités et des distances de transport.	Gascuel-Oudou <i>et al.</i> , 1999 Klöppel <i>et al.</i> , 1997 ; Réal <i>et al.</i> , 2005
Présence d'un réseau hydrographique anthropique	Accélération ou ralentissement du ruissellement entre la parcelle cultivée et l'exutoire du bassin versant en fonction de la nature ou de l'entretien de ce dernier <i>Les drains engendrent également des circulations préférentielles, accélérant le transfert des molécules dans le sol et limitant leur dégradation, notamment dans les bandes enherbées.</i>	Schiavon <i>et al.</i> , 1995 ; Carluer et De Marsily, 2004 Lagacherie <i>et al.</i> 2006 Novack, 1999 Harris, 1994 ; Evans <i>et al.</i> , 1995 Bengston <i>et al.</i> , 1990
Pratiques anti-érosives	Réduisent le transport des composés adsorbés ou insolubles. Réduisent aussi le transport des molécules solubles si le volume du ruissellement est diminué durant la période critique après application. Diminuent aussi l'érosion éolienne.	Caro, 1976 ; McDowell et Grissinger, 1976 McDowell <i>et al.</i> , 1981 ; Pionke, 1977 ; Willis <i>et al.</i> , 1983 Cornelis et Gabriels, 2005. Maillet et Mezeray, 2007
Couverture du sol	Augmentation de l'évapo-transpiration, du taux et de la capacité d'infiltration, baisse du volume de ruissellement, réduction de l'effet splash, limitation de la dégradation, réduction de la vitesse de ruissellement et de l'impact des gouttes <i>Agit sur l'érosion et le transport particulaire</i>	Walter <i>et al.</i> , 1979 Stone, 2000
Résidus de culture	Ils peuvent réduire les concentrations de pesticides dans le ruissellement en augmentant les délais d'initiation du ruissellement, en réduisant les volumes ruisselés. Le ruissellement des pesticides peut être augmenté si les pesticides sont désorbés des résidus de culture dans l'eau de ruissellement. Amélioration possible de la structure du sol. <i>Limitation de l'érosion et du transport particulaire</i>	Baker <i>et al.</i> , 1978 ; Baker et Johnson, 1979 ; Edwards <i>et al.</i> , 1982 ; Hall <i>et al.</i> , 1984 ; Triplet <i>et al.</i> , 1978 Walter <i>et al.</i> , 1979 Stone, 2000
Bandes enherbées	Les bandes enherbées autour des champs ou autour du réseau hydrographique peuvent réduire le transport des pesticides par infiltration secondaire et sorption sur les plantes et les débris végétaux.	Asmussen <i>et al.</i> , 1977 ; Rohde <i>et al.</i> , 1980 Klöppel <i>et al.</i> , 1997 ; Lecomte, 1999 ; Patty <i>et al.</i> 1997 Maillet et Mezeray, 2007
Gestion du matériel	<i>Une bonne gestion des fonds de cuves et l'entretien du matériel limitent la contamination des milieux aquatiques</i>	Maillet et Mezeray, 2007
Formulation	Les poudres mouillables sont particulièrement sensibles à l'entraînement et au transport. Les formes liquides sont plus susceptibles d'être transportées que les granulés. Les esters, moins solubles que les sels, se retrouvent en plus grande concentration dans le ruissellement si le lessivage initial est important. L'incorporation des pesticides ou toutes techniques d'enfouissement au-delà de la surface du sol réduisent les concentrations dans le ruissellement.	Rohde <i>et al.</i> , 1979 ; Wauchope, 1978 ; Wauchope et Leonard, 1980 Wauchope, 1987 Leonard <i>et al.</i> , 1979
Dose	Les concentrations dans le ruissellement sont proportionnelles aux quantités présentes dans la zone.	Barnett <i>et al.</i> , 1967 ; Hall, 1974 ; Leonard <i>et al.</i> , 1976 Kreuger <i>et al.</i> , 1998

Le tableau A.8 montre l'importance des propriétés physico-chimiques d'un pesticide dans le ruissellement mais ces paramètres conditionnent également la forme sous laquelle le pesticide est transféré. En effet, si le pesticide a un fort Koc et une faible solubilité dans l'eau, la proportion de

cette molécule mobilisée sous forme dissoute sera faible (figure A.6). Ainsi, certaines molécules ont tendance à subir un transport dissout comme le diuron, l'isoproturon (Gouy *et al.*, 1997) et le metsulfuron-méthyl (Pons *et al.*, 1997). Les molécules plus lipophiles telles que la trifluraline sont transportées essentiellement en phase particulaire (Malterre *et al.*, 1997), sous l'action de l'érosion des particules sur lesquelles elles sont fixées.

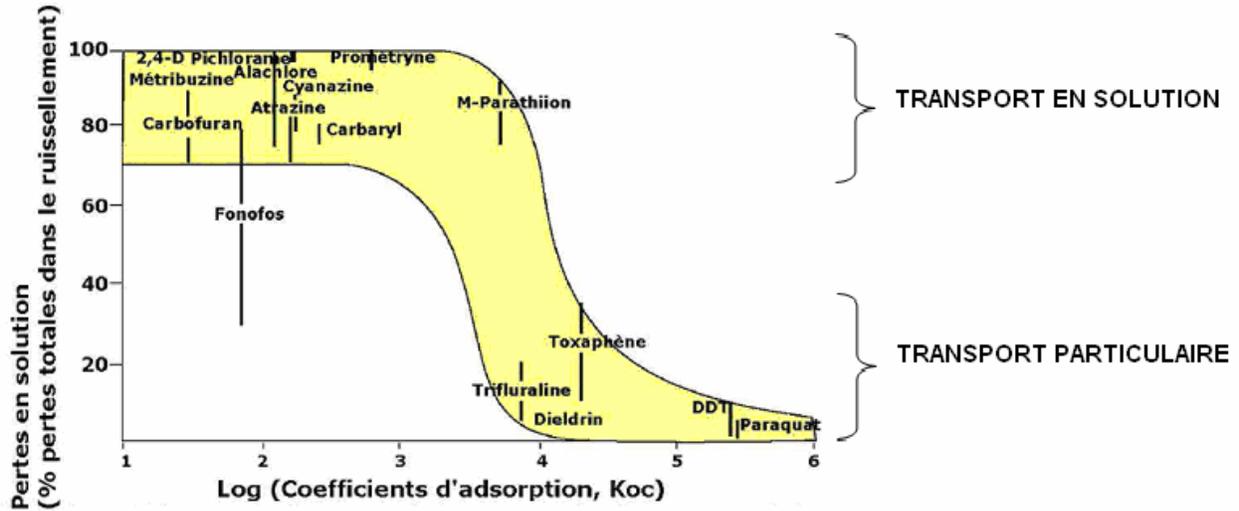


Figure A.6 : Pertes de pesticides sous forme soluble en fonction du Log Koc des molécules (d'après Wauchope, 1978)

Ce processus d'érosion - et d'entraînement des contaminants sous forme particulaire - va également dépendre de nombreux facteurs environnementaux (Stone, 2000) tels que la topographie du terrain, le climat (tableau A.8) ou encore le type de sol, les méthodes de travail du sol et le type d'assolement (Tableau A.9).

Risque d'érosion	Type de culture	Méthode de travail du sol	Type de sol
Très faible	Herbe (Prairie de fauche ou pâture)	Travail du sol en bandes, semis direct sur couvert	Sable
Faible	Arbres fruitiers	Déchaumage	Argile
Moyen	Céréales	Labour de printemps	Argile limoneuse
Elevé	Haricots, colza, maïs	Labour d'automne	Sable très fin

Tableau A.9 : Risques d'érosion du sol et facteurs d'influence (d'après Stone, 2000)

Les formes particulaire ou dissoute conditionnent fortement la persistance du polluant lors de son transport vers le milieu aquatique ainsi que la compartimentation et les concentrations retrouvées dans le milieu aquatique récepteur.

A. 2. 2. 3. DEVENIR DANS LE MILIEU AQUATIQUE

A. 2. 2. 3. 1. DANS L'EAU

Une fois présent dans le milieu aquatique, les contaminants peuvent subir un transport horizontal de l'amont vers l'aval, emportés par les courants. Les eaux de ruissellement récupérées par les ruisseaux apportent les molécules issues du bassin versant aux rivières, étangs, lacs et océans. Ce transport amont / aval peut se faire, tout comme les eaux de ruissellement, sous formes dissoute ou particulaire, selon les propriétés des molécules (tableau A.8.a.). Mais, de par leur vitesse de courant plus importante, les ruisseaux et rivières peuvent, en plus de véhiculer les contaminants solubilisés ou fixés aux particules en suspension, charrier des particules de diamètres plus importants.

Lors du continuum amont / aval, se succèdent des zones d'érosion – que ce soit du lit sédimentaire et des berges pour les milieux lotiques, des chenaux pour les milieux lenticques ou semi-lenticques - de transport ou de sédimentation. Le diagramme de Hjulström (1935) montre que ces trois processus dépendent de la taille des particules et de la vitesse du courant (figure A.7). Plus la vitesse du courant est importante et plus les processus de transport et d'érosion seront importants. Ainsi, le transport horizontal sera plus efficace en milieu lotique mais reste non négligeable dans les milieux lenticques, en particulier dans les chenaux.

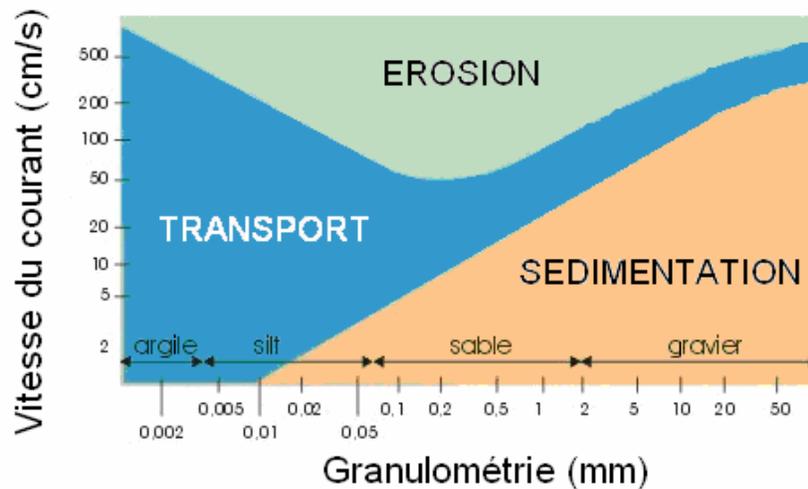


Figure A.7 : Diagramme de Hjulström (1935)

La mobilisation et le transport des sédiments sont également possibles, en particulier par arrachage des particules par les courants de fond et tension de fond lié aux vagues. Dans tous les cas, le mode de transport dépendra de la taille de la particule et de la cohésion des sédiments. Ainsi, les sables seront plutôt charriés par saltation et les graviers par roulement. Les argiles et silts seront plus facilement mis en suspension. La charge de ces particules en suspension sera plus importante lors d'écoulements turbulents que laminaires (Vulava *et al.*, 2007 ; Gonzalez *et al.*, 2006). La dégradation dans l'eau étant en général plus lente pour les composés associés aux particules que pour ceux dissous (hydrolyse), le transport particulaire peut se traduire par des transports longue-distance.

Les contaminants sont également transportés verticalement au sein de la colonne d'eau. L'action des turbulences et de l'advection des masses d'eau permettent une répartition verticale des contaminants issus des dépôts atmosphériques et de ceux stockés dans le sédiment (Jurado *et al.*, 2007, Wurl et Obbard., 2006 ; Meijer *et al.*, 2006, 2009). Les flux turbulents à l'interface eau-sédiment accentuent la diffusion des contaminants de l'eau interstitielle vers la colonne d'eau. Ce phénomène participe donc à la hausse de concentration de contaminants dans les eaux proches du sédiment. L'advection, provoquée par la mise en mouvement de masses d'eau de nature différentes (salinité, température...) est une cause importante de migration des contaminants dans la colonne d'eau. L'advection ascendante (remontée des eaux moins denses) favorise la dispersion du sédiment vers la surface. En parallèle, la sédimentation et les flux d'advection descendants entraînent un enrichissement de l'eau profonde en contaminants issus de l'eau de surface et des dépôts atmosphériques. Sous l'action de la dégradation (hydrolyse) et de la pression, la couche d'eau en profondeur intermédiaire présente alors des concentrations de contaminants plus faibles.

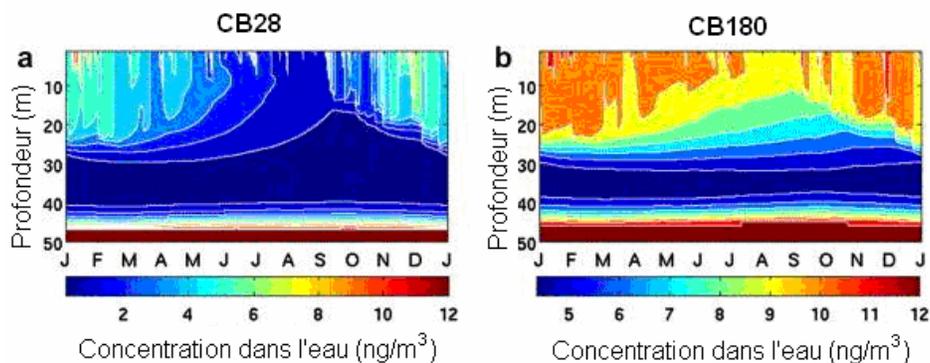


Figure A.8 : Profil vertical saisonnier pour les CB28 (a) et CB180 (b) dans un lac de forte profondeur (Jurado *et al.*, 2007)

Ces phénomènes sont mieux explicités par la littérature établie pour les océans et lacs de forte profondeur, en particulier pour les PCB (figure A.8). La saison est un facteur important de variation des concentrations (Meijer *et al.*, 2006), les facteurs climatiques et météorologiques influençant fortement les processus de dépôts et de brassage des eaux.

Pour les milieux de plus faible profondeur tels que les étangs, la littérature est moins détaillée mais une hypothèse serait que la couche intermédiaire présentant les faibles concentrations tend à disparaître, notamment pour les milieux de grande superficie (McFall *et al.*, 1985). En effet, les mêmes phénomènes peuvent entrer en jeu mais certains processus seraient moins intenses. Par exemple, les thermoclines sont temporaires voire inexistantes ainsi que les mélanges des eaux de densité différentes – créant des phénomènes d'advection. Le brassage des eaux est alors effectué par l'action du vent (McFall *et al.*, 1985). Ainsi, pour ces milieux de profondeur plus faible mais de grande superficie, la répartition des contaminants dans la colonne d'eau est plus homogène. Pour les milieux de faible profondeur et de superficie restreinte, tels que les petits étangs, les phénomènes mis en jeu ne sont pas totalement explicités à l'heure actuelle en partie à cause de la complexification des processus hydrologiques et sédimentaires dans ces milieux.

En résumé, de nombreux processus physiques, influencés par les caractéristiques du milieu, permettent la migration amont/aval et la répartition des contaminants dissous et particuliers dans la colonne d'eau. Parmi ces processus, la sédimentation permet également le transfert des contaminants particuliers vers le sédiment, qui devient alors un piège temporaire pour les molécules *via* des phénomènes de sorption.

A. 2. 2. 3. 2. DANS LE SEDIMENT

Les mécanismes de sorption¹² entre particules sédimentaires et molécules sont basés sur les mêmes principes que les interactions molécules / sol. Celles-ci ont déjà été détaillées précédemment (*cf.* : A.2.2.2.). S'intéresser à la cinétique de sorption est également important afin de mieux comprendre le rôle du sédiment dans le piégeage des contaminants. Par exemple, une fois dans le milieu aquatique, les molécules organiques hydrophobes peu polaires, telles que les pesticides organochlorés, subissent une première étape de répartition entre colloïdes et particules en suspension ou fixées, par un processus de sorption et désorption (figure A.9). Ce processus peut également déjà commencer au niveau du bassin versant. Lors du processus de sorption, les molécules se fixent rapidement et de façon réversible au niveau du biofilm qui entoure les

¹² La sorption correspond ici aux mécanismes d'adsorption, d'absorption et de précipitation.

colloïdes et autres particules. A la faveur de fissures, elles peuvent ensuite traverser ce biofilm et migrer progressivement vers des sites de séquestration au sein même des particules et agrégats. Ce phénomène, quoique pondéré par des phases de fixation et de libération, conduit à terme à un piégeage parfois irréversible dans la matière organique (Gdaniec-Pietryka *et al.*, 2007 ; Björklund *et al.*, 2000). Pour les composés hydrophobes tels que les PCB de haut poids moléculaire, les contaminants peuvent rester piégés plus d'une année dans la matière organique (Davis, 2004 ; Li *et al.*, 2009).

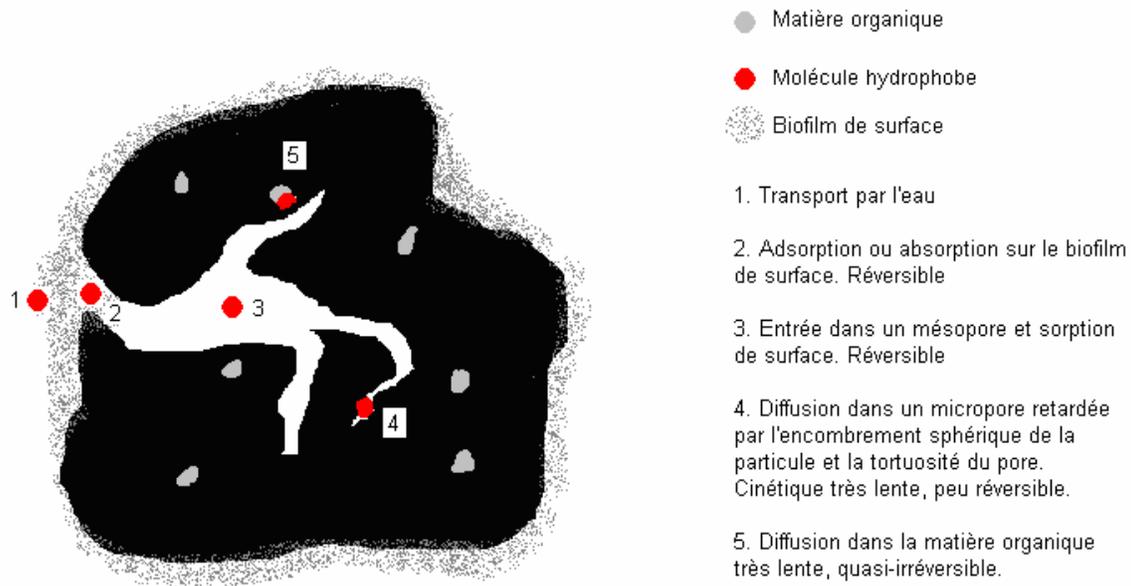


Figure A.9 : Sorption d'une molécule organique hydrophobe apolaire sur une particule de sédiment (adaptée d'après Björklund *et al.*, 2000 et Gdaniec-Pietryka *et al.*, 2007)

Les phénomènes de sorption et désorption sont essentiels lors du transport et des échanges de polluants à l'interface eau-sédiment. Cette capacité à stocker une forte quantité de contaminants fait des sédiments des réservoirs car, au final, la rétention peut ne pas être définitive et le relargage peut donc engendrer une pollution diffuse pour le milieu et le biota. Les contaminants organiques présents dans les sédiments peuvent être libérés, au travers des processus de diffusion ou de remise en suspension. Ce phénomène a déjà été observé pour les PCB (polychlorobiphényles) dans les grands lacs canadiens (Environnement Canada et USEPA, 2005). En dehors de l'action de paramètres physiques (*i.e.*, pression, température, turbulences, ...) ou encore chimiques (*i.e.*, hydrolyse), les sédiments abritent une faune diversifiée qui participent également à ces processus. Comme dans le sol, les communautés bactériennes sont des acteurs non négligeables des processus de remobilisation et de transformation des

pesticides, la plupart des contaminants constituant une source de carbone non négligeable pour les bactéries (Horvath, 1972 ; Soulas, 1993). A cela s'ajoute également des phénomènes de bioturbation¹³, engendrés par les bivalves, les macro-invertébrés ou encore certaines espèces piscicoles telles que les espèces fouisseuses (*i.e. Cyprinus carpio*). Ces processus de bioturbation affectent les contaminants présents au travers de plusieurs mécanismes¹⁴ (tableau A.10).

Actions	Conséquences	Références
Creusement de galeries	<p>REMOBILISATION MECANIQUE : Influence la diffusion, l'advection et la répartition entre phases, réduction du temps de rétention dans le sédiment, remobilisation de l'eau interstitielle et de particules sédimentaires, favorisation de la dégradation et du transfert vers la colonne d'eau</p> <p>OXYGENATION LOCALISEE : Ventilation des terriers par circulation d'eau, apport d'oxygène, stimulation de la dégradation microbienne</p>	<p><i>Banta et al., 2003, Christensen et al., 2002 ; Granberg et al., 2008 ; Erickson et al., 2005 Timmermann et al., 2003 Mermillod-Blondin et Rosenberg, 2006</i></p>
Ingestion / filtration de sédiments et particules	<p>BIOTRANSFORMATION : Métabolisation et rejet de métabolites en phase dissoute. (avec possibilité d'action toxique des contaminants sur l'organisme).</p> <p>REMANIEMENT DE STRUCTURE DES SEDIMENTS : Diminution des teneurs en azote et carbone organique, modification de la densité du sédiment (lors de sécrétion de mucus) et de la disponibilité des contaminants</p>	<p><i>Christensen et al., 2002 ; Timmermann et al., 2000 Mermillod-Blondin et Rosenberg, 2006 Kamimura et Tsuchiy, 2004 Ciutat et al., 2006</i></p>

Tableau A.10 : Mécanismes de bioturbation et impact sur le milieu et la dissipation des contaminants organiques.

A. 2. 3. SYNTHESE 1 : DEVENIR DES PESTICIDES DANS L'ENVIRONNEMENT

En conclusion, les contaminants organiques au sein des hydrosystèmes suivent des trajectoires variées. Ils sont tantôt mobilisés et transportés, tantôt stockés, et ce sur des périodes dont la durée varie grandement selon les conditions physiques, chimiques et biologiques du milieu, mais aussi selon les propriétés intrinsèques des contaminants incriminés. Les principaux mécanismes de dispersion des pesticides - de la source au milieu aquatique - ainsi que les facteurs influant sur cette dispersion sont résumés dans la figure A.10. Les contaminants sont aussi mobilisés ou encore biotransformés au travers des réseaux trophiques. Cela nécessite qu'ils intègrent les compartiments biologiques. Aussi la suite de cette synthèse s'intéressera à l'entrée des contaminants au sein du compartiment piscicole.

¹³ La bioturbation correspond ici à la remise en suspension de particules de sédiment par l'action du biota.

¹⁴ La littérature décrivant ces mécanismes est rare pour les pesticides et le milieu dulcicole. Le cas des HAP dans le milieu marin, mieux explicité, sera donc l'illustration choisie dans cette synthèse.

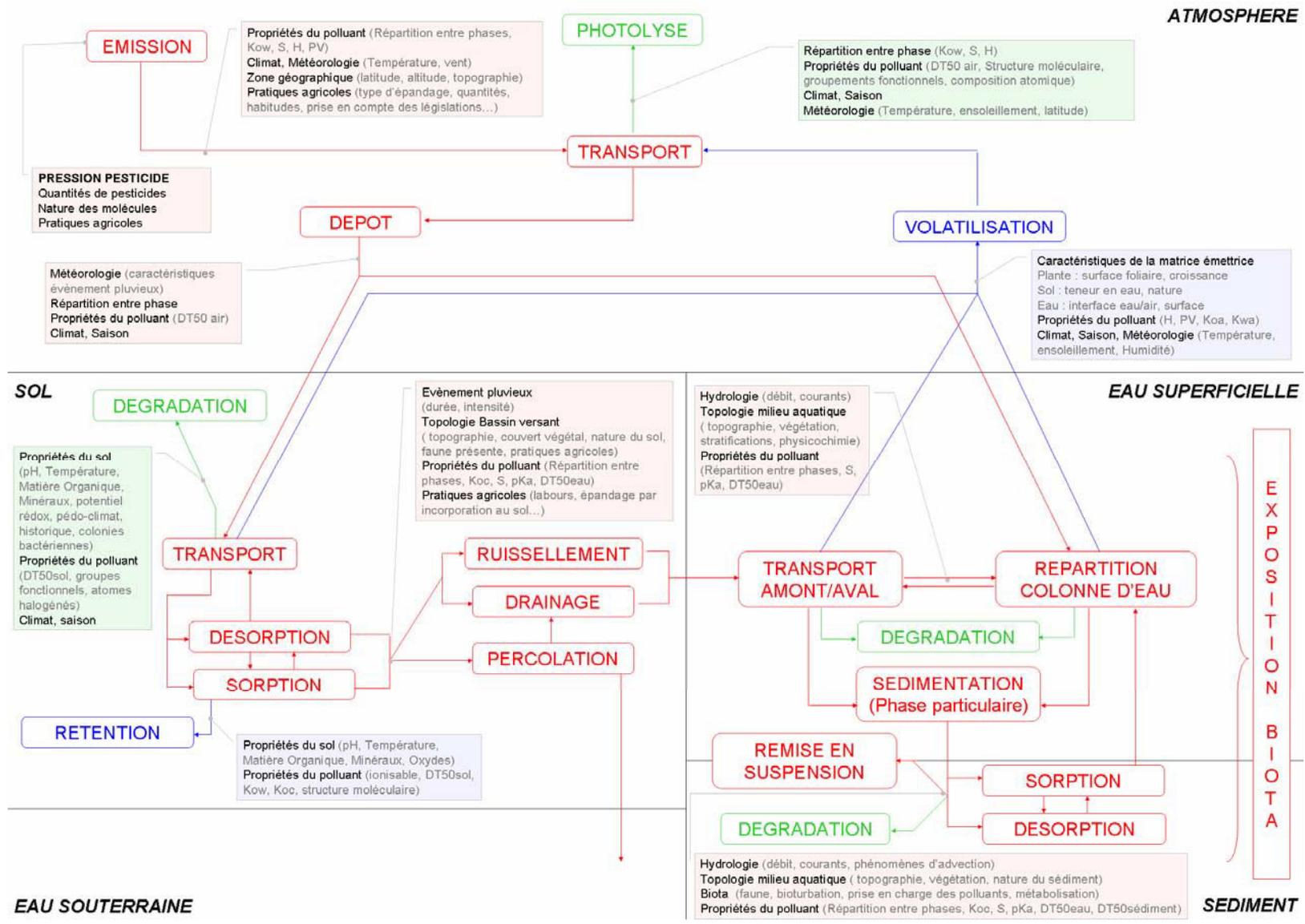


Figure A.10 : Dissipation des pesticides dans l'environnement (en rouges sont notés les phénomènes conduisant à la contamination des milieux aquatiques ; en bleu les phénomènes limitant la contamination du milieu aquatique et en vert les phénomènes de dégradation)

Abréviations : DT50air : Demi-vie dans l'air ; DT50eau : Demi-vie dans l'eau ; DT50sed : Demi-vie dans les sédiments ; DT50sol : Demi-vie dans le sol ; H : Constante de Henry ; Koa : Coefficient de partage entre l'octanol et l'air ; Koc : Coefficient de sorption au sol normalisé à la teneur en matière organique du sol ; Kow : Coefficient de partage octanol/eau ; Kwa : Coefficient de partage entre l'eau et l'air ; pH : Potentiel hydrogène ; pKa : potentiel d'acidité ; Pv : Pression vapeur ; S : Solubilité dans l'eau.

A. 3. LA FAUNE PISCICOLE : UN INTEGRATEUR DE POLLUANTS

A. 3. 1. ETAT DE CONTAMINATION DES POISSONS D'EAU DOUCE EN EUROPE

L'exposition du biota aux divers contaminants organiques présents dans les milieux aquatiques conduit à sa contamination. Les données les plus fréquentes sur l'état de contamination du poisson d'eau douce concernent les PCB et les pesticides organochlorés. Le tableau A.11 montre les concentrations, relevées en Europe, dans les muscles de perches (*Perca fluviatilis* – A.11 a), gardon (*Rutilus rutilus* – A.11 b) et carpe (*Cyprinus carpio* - A.11c)

Tableau A.11 : Etat de contamination en PCB et pesticides organochlorés ($\mu\text{g}/\text{kg}$ PF) des poissons d'eau douce (muscle) en Europe. MOYENNE (Ecart type) ; ^amuscle de poisson maigre ($MG < 2\%$), ^bmuscle de poisson gras ($MG > 2\%$)

Tableau A.11 a. *Perca fluviatilis*

Espèce	Lieu	Période	n	p,p'-DDT	p,p'-DDE	p,p'-DDD	alpha-HCH	gamma-HCH	HCB	Somme PCB	Somme PCB-NDL	Référence	
<i>Perca fluviatilis</i>	Pologne											Waszak et Dabrowska, 2009	
	Réservoir Sulejowski	2006	9	0,53	21,51	6,11	0,09	0,18	0,31	7,90			
	Lettonie											Valters et al., 1999	
	Lac Kishezers	1997	10		4,1 (1,7)	1,9 (1,3)	0,10 (0,01)	0,16 (0,02)	0,26 (0,06)	21 (17)			
	Lac Siksalas	1996	9		1,0 (0,3)	0,5 (0,1)	0,08 (0,01)	0,12 (0,03)	0,08 (0,01)	1,4 (0,3)			
	Lac Engures	1996	11		0,5 (0,3)	0,02 (0,01)	0,033 (0,004)	0,06 (0,01)	0,12 (0,07)	1,4 (0,8)			
	Lac burtnieks	1996	13		1,1 (0,5)	0,23 (0,09)	0,030 (0,002)	0,07 (0,01)	0,06 (0,01)	3 (1)			
	Roumanie											Covaci et al., 2006	
	Delta Danube	2002	2	0,24	6,83	2,99	0,67	0,15	0,19	3,18			
	Italie												Orban et al., 2007
	Lacs Bolsena, Bracciano, Salto	2001-2002	27	0,09 (0,08)	0,8 (0,7)	0,2 (0,2)	0,01	0,017 (0,006)	0,2 (0,2)				
	Luxembourg												Dauberschmidt et Hoffmann, 2001
Rivière Moselle	1998-1999						1,16						
Réservoir Sûre	1998-1999						1,3 (0,4)						
France entière^a											17 (49)	Arnich et al., 2009	

Tableau A.11 b. *Rutilus rutilus*

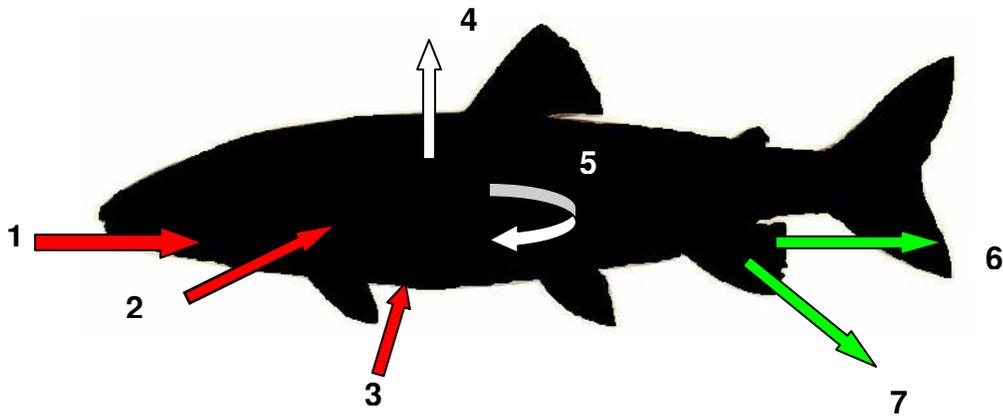
Espèce	Lieu	Période	n	p,p'-DDT	p,p'-DDE	p,p'-DDD	alpha-HCH	gamma-HCH	HCB	Somme PCB	Somme PCB-NDL	Référence
<i>Rutilus rutilus</i>	Roumanie											Covaci et al., 2006
	Delta Danube	2002	2	0,2	8,8	2,4	0,7	0,5	0,1	6,8		
	Royaume uni											Yamaguchi et al., 2003
	Rivière Thames	1996	6					<0,08				
rivière Ray	1996	6					0,29 (0,03)					

Tableau A.11 c. *Cyprinus carpio*

Espèce	Lieu	Période	n	p,p'-DDT	p,p'-DDE	p,p'-DDD	alpha-HCH	gamma-HCH	HCB	Somme PCB	Somme PCB-NDL	Référence
<i>Cyprinus carpio</i>	Pologne											Kiziewicz et Czczuga , 2003
	5 étangs	1996	9	0,50 (0,09)	1,3 (0,9)	0,9 (0,9)						
	Roumanie											Covaci et al., 2006
	Delta Danube	2002	2	1,53	9,66	10,19	0,74	0,40	0,43	9,48		
	Belgique											Bervoets et al., 2009
	Zuunbekken	2002			2,0 (0,4)				0,45 (0,05)		26 (8)	
	République Tchèque											Svobodová et al., 2004
	Etang Buzicky	1999-2001	6								30 (3)	
	Etang Regent	1999-2001	6								12 (3)	
	Etang Dreliny	1999-2001	6								19 (2)	
	Etang Tovarys	1999-2001	6								91 (14)	
	Etang Bezrev	1999-2001	6								11 (2)	
	Etang Horusiky	1999-2001	6								3,9 (0,4)	
	France entière^b	2002-2006	24								49 (113)	Arnich et al., 2009

A. 3. 2. VOIES D'ENTREES ET ASSIMILATION PAR LE POISSON

Les contaminants peuvent pénétrer dans les organismes aquatiques par la peau, les branchies ou les parois digestives. Les processus généraux du devenir des xénobiotiques dans le poisson sont résumés dans la figure A.11.



1 Apport par voie orale et passage de la membrane digestive

2 Apport par voie branchiale (respiration)

3 Apport par diffusion à travers les téguments

4 Dilutions pondérales liées à la croissance

5 Conversions métaboliques

6 Pertes dues aux excréments via fèces et urine

7 Pertes dues à l'activité reproduction

Figure A.11 : Voies d'entrées et devenir des xénobiotiques chez le poisson téléostéen (adapté de Mackay et Fraser, 2000)

La différenciation et la quantification des différentes voies d'entrée des contaminants dans le poisson sont difficiles en milieu naturel. Pour estimer l'importance de chacune de ces voies, des expérimentations en milieu contrôlé s'avèrent nécessaires. Dans un souci de clarté, seuls les poissons téléostéens d'eau douce seront abordés dans cette synthèse.

A. 3. 2. 1. VOIE DERMIQUE

Le tégument et les écailles constituent un rempart important contre les agressions extérieures pour le poisson. Cette peau le protège de l'abrasion et des pathogènes mais entre aussi en jeu dans la régulation osmotique. Cependant des xénobiotiques, tels que certains contaminants, peuvent franchir la barrière dermique *via* un vecteur eau ou par contact avec le sédiment. Cette voie participe à la contamination des êtres vivants, mais la part de cette contribution pour les organismes aquatiques reste mal connue pour la plupart des contaminants. L'essentiel de la littérature se concentre sur les *n*-Chloroéthane et les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP). Cette voie n'apparaît pas comme majoritaire pour les poissons pélagiques. Par exemple, lors d'expériences en eau contaminée, seulement 1 à 2% de la contamination totale de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) en *n*-Chloroéthane (McKim *et al.*, 1996 ; Nichols *et al.*, 1996) ou en HAP (Namdari et Law, 1996) provient d'une absorption dermique¹⁵. Ce flux peut atteindre 2% à 7% (Hexachloroéthane chez le poisson chat). Pour les poissons pélagiques, cette voie dermique reste très inférieure à l'apport par voies branchiale ou trophique. Par contre, l'absorption dermique peut avoir un rôle prépondérant dans le transfert des polluants dans le cas d'organismes benthiques. Des expériences menées en Louisiane (Smith *et al.*, 1996) ont montré un transfert de Benzo[a]Pyrène par contact avec un sédiment contaminé (cataplasme) chez le poisson chat (*Ictalurus punctatus*). Au bout de 6 heures, 20% de la dose appliquée traversaient la barrière dermique alors que 40% restaient piégés par le mucus. Au total, 17,3% de la dose appliquée restaient dans le tégument, 2,2% entraient dans le muscle en contact avec les couches inférieures du derme et 0,3% se propageaient aux muscles adjacents. Les 0,2% restants se répartissaient dans les autres organes tels que la peau n'étant pas en contact, le foie, le tissu adipeux ou encore le cœur et les gonades.

Ainsi, la voie dermique reste une voie de contamination très localisée, se faisant par contact (avec l'eau et le sédiment). Mais celle-ci peut s'avérer non négligeable chez les organismes benthiques, vue la quantité de contaminants organiques pouvant être stockée dans les sédiments. De plus,

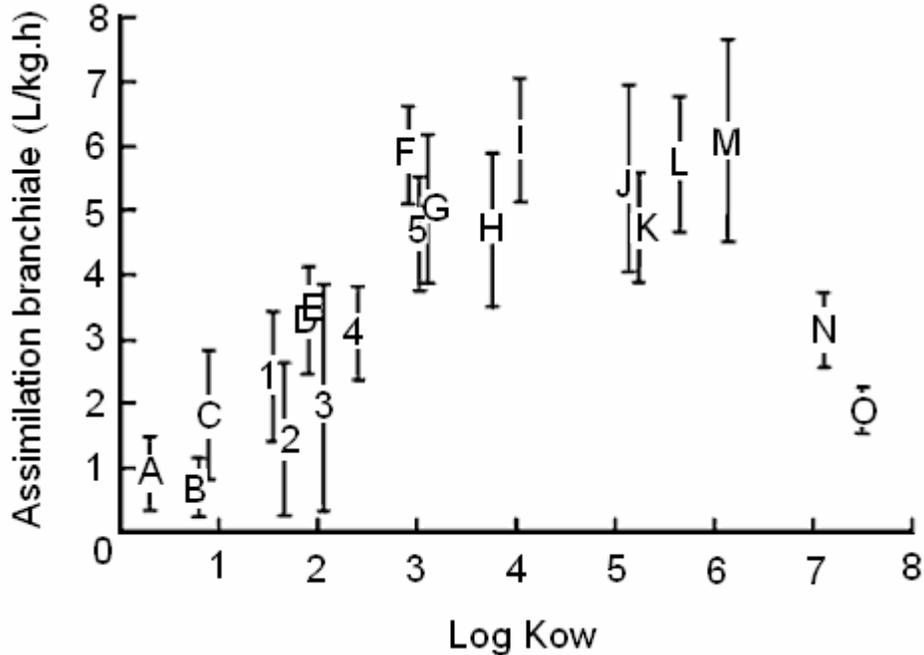
¹⁵ La tête et le corps étaient séparés par une membrane lors de l'exposition.

elle accentue les processus d'accumulation, la localisation concernant essentiellement les parties consommées par les prédateurs supérieurs et l'homme.

A. 3. 2. 2. VOIE BRANCHIALE

Les branchies assurent une multitude de fonctions vitales pour le poisson. En effet, l'épithélium branchial est le site des échanges gazeux, de la régulation ionique, de la balance acido-basique et de l'excrétion de l'azote. Par conséquent la voie branchiale est une autre voie possible de contamination pour les poissons.

Les travaux de McKim (1982, 1985, 1999) ont participé à la compréhension des phénomènes de passage des polluants organiques à travers la barrière branchiale. Le taux d'assimilation est calculé par la différence de teneurs entre l'eau inspirée et expirée. Cette méthode place l'assimilation comme la quantité absorbée par l'organisme et adsorbée aux branchies. Par exemple, McKim et Goeden (1982), observaient un passage de 80% de l'endrine dissout à travers les branchies de l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*). En 1985, McKim *et al.* ont reproduit l'expérience avec des truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) pour de nombreux contaminants dont le Log Kow allait de 0,23 (formate d'éthyle) à 7,5 (mirex). L'assimilation à l'équilibre allait de 7% à 60% selon le contaminant considéré. L'assimilation des composés ayant un Log Kow inférieur à 1 est lente et faible. Pour les composés dont le Log Kow est compris entre 1 et 3, l'extraction par les branchies et l'assimilation des contaminants semble augmenter avec le log Kow. Une hypothèse serait que la diffusion se fait de manière passive à travers les membranes pour ces composés. Pour les composés dont le log Kow est compris entre 3 et 6, un plateau est observé à environ 60% d'assimilation. L'assimilation serait alors plutôt dépendante du taux de ventilation. McKim *et al.* (1999) ont trouvé des résultats similaires pour les chloroéthanes chez la truite grise (*Salvelinus namaycush*). Cette relation entre assimilation (normalisée au taux de ventilation) et Log Kow est retrouvée pour plusieurs contaminants et plusieurs espèces. Di Giulio et Hinton (2008) ont résumé ces travaux dans la figure A.12.



Expositions sub-létales : A) Formate d'Ethyle, B) Acétate d'Ethyle, C) 1-butanol, D) nitrobenzène, E) p-crésol, F) Chlorobenzène, G) 2,4-dichlorobenzène, H) 2,4,5-trichlorophénol, I) 1-décaneol, J) 1-dodécaneol, K) Pentachlorophénol, L) Hexachlorobenzène, M) 2,2',5,5'-tétrachlorobiphényl, N) Dinitrophénol, O) Mirex.

Expositions létales : 1) benzaldéhyde, 2) 2,4-dinitrophénol, 3) MS-222, 4) Malathion, 5) 1-octaneol

Figure A.12 : Relation entre le log Kow de molécules organiques et leur assimilation branchiale par *Oncorhynchus mykiss*. L'assimilation est exprimée comme une constante de disparition de l'eau. (Figure adaptée de DiGiulio et Hinton, 2008)

La distribution des molécules absorbées se fait rapidement étant donné que les éléments dissous franchissant la barrière branchiale (lamelles) passent directement vers la circulation sanguine générale par les artères efférentes et sont donc directement distribués aux organes et tissus (figure A.13). La métabolisation des polluants entrant par voie branchiale est donc peu efficace, car les polluants ne sont pas directement dirigés vers le foie, site privilégié de la biotransformation (Synthèse de Di Giulio et Hinton, 2008).

Ce passage rapide vers les organes et l'absence de métabolisation sont observés par exemple par Kwong *et al.* (2008) pour le DDT chez la brème de mer (*Acanthopagrus schlegeli*). L'expérience compte 7 jours de contamination et 15 jours de dépuración ; les isomères du DDT et de ses deux métabolites (DDE et DDD) sont dosés dans les viscères, les branchies et la carcasse. Les concentrations en DDT augmentent vite dans les différentes parties de l'organisme et décroissent (plus lentement) dès le premier jour d'épuration dans les viscères et la carcasse et dès le deuxième jour d'épuration dans les branchies. Les métabolites n'apparaissent que très

faiblement vers la fin de la phase de contamination. L'hypothèse principale est que cette apparition de métabolites proviendrait de l'eau ingérée pour le DDE et du transfert eau/branchie pour le DDD, déjà présent dans l'eau à cause de réaction de photolyse du DDT. Cette expérience est menée en parallèle avec une contamination par voie trophique. Dans ce cas là, les métabolites (et particulièrement le DDE) bien qu'accumulés en moindre quantité par rapport au DDT, apparaissent dès le deuxième jour de contamination.

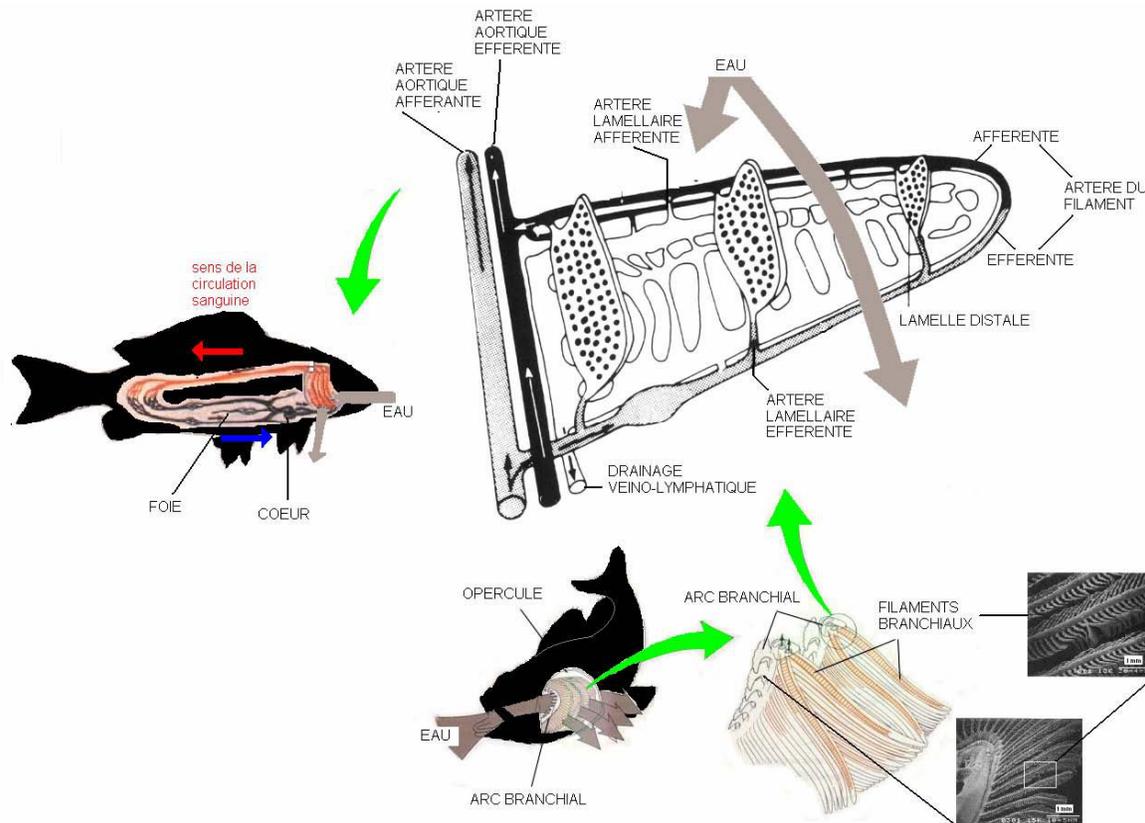


Figure A.13 : Circulation d'eau à travers les branchies et circulation sanguine du poisson téléostéen (adaptée de Evans, 1987)

Les branchies sont donc un site de transfert de contaminants vers le poisson. Toutefois, compte tenu de la faible hydrosolubilité des contaminants organiques, notamment les plus facilement assimilés par voie branchiale (ceux dont la valeur du log de Kow est compris entre 3 et 6), l'eau ne constitue qu'un vecteur modéré de ces contaminants *via* les branchies, si on la compare aux entrées *via* l'ingéré alimentaire. Ainsi, chez *Dicentrarchus labrax*, espèce marine, le compartiment hydrique explique 12% de la contamination totale de l'organisme pour le CB52, 8% pour le CB118 et seulement 2,5% pour le CB153, composé le plus hydrophobe dans cet exemple, alors que le

compartiment trophique couvre pratiquement le reste (Abarnou *et al.*, 2000). En outre, l'importance relative de la voie branchiale comme voie de contamination diminue avec la hausse de l'hydrophobicité, alors que l'assimilation reste stable. La voie orale est considérée comme la voie d'entrée majoritaire des polluants organiques persistants.

A. 3. 2. 3. VOIE ORALE

Les travaux de Gobas (1988, 1993, 1999) décrivent avec précision cette voie d'entrée. Gobas *et al.* (1999) ont estimé à 71% l'absorption du CB153 chez la truite adulte (*Oncorhynchus mykiss*), exposée à un aliment contaminé pendant 73 jours (figure A.14). Les différentes parties du système digestif ont été séparées en segments de 5 cm environ : estomac (section II), parties intestinales antérieure (III), antérocentrale (IV), postérocentrale (V) et postérieure (VI). Les contaminants ont été dosés dans l'aliment (I) et les restes de nourriture récupérés dans chaque segment, afin d'évaluer la part absorbée (figure A.14). La partie stomacale n'intervient que très peu dans l'absorption. Le carbone est assimilé des segments 3 à 6, avec un grand taux d'absorption dans le segment 4. L'absorption du CB153, polluant hydrophobe, semble liée à l'absorption des lipides et se fait au niveau de l'intestin antérieur (section III).

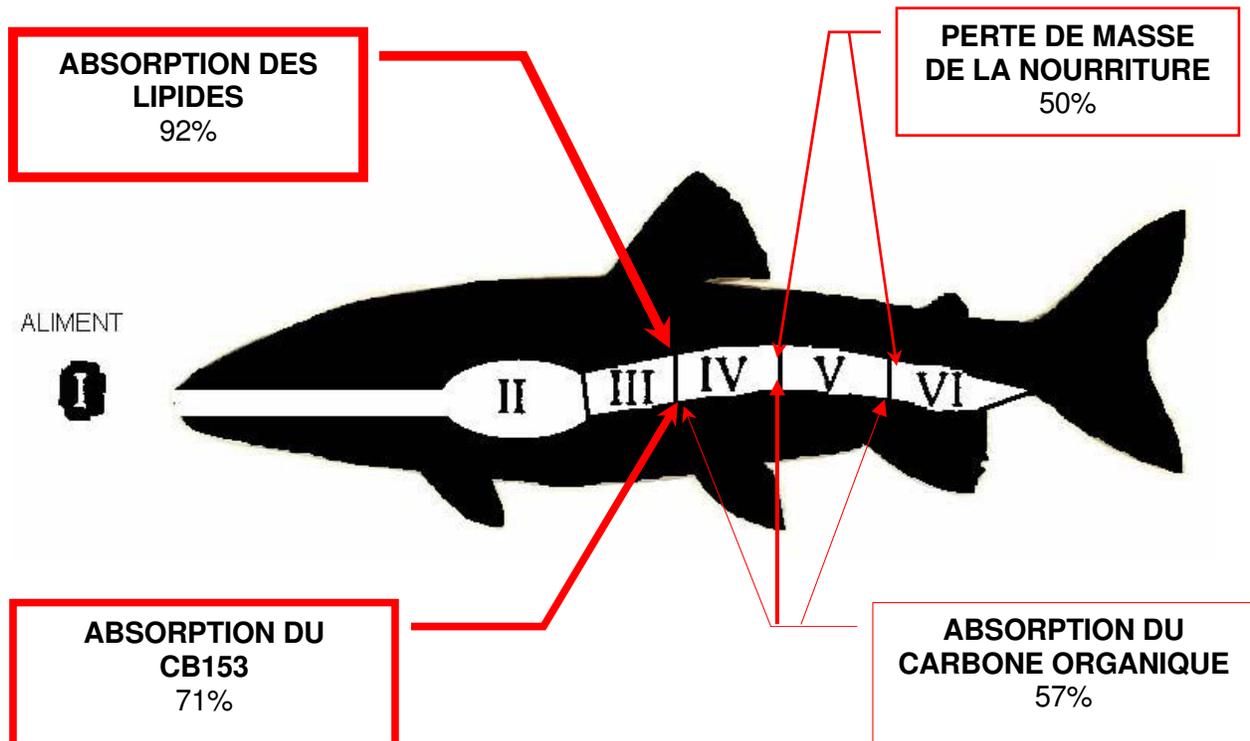


Figure A.14 : Absorption intestinale des composés nutritifs et du CB153 chez *Oncorhynchus mykiss* (Adaptée de Gobas *et al.*, 1999).

Ces résultats sont en accord avec les travaux de Vetter *et al.* (1985) sur le benzo(a)pyrène indiquant que la diffusion et la co-assimilation des polluants avec les lipides sont des processus majeurs d'absorption des polluants hydrophobes.

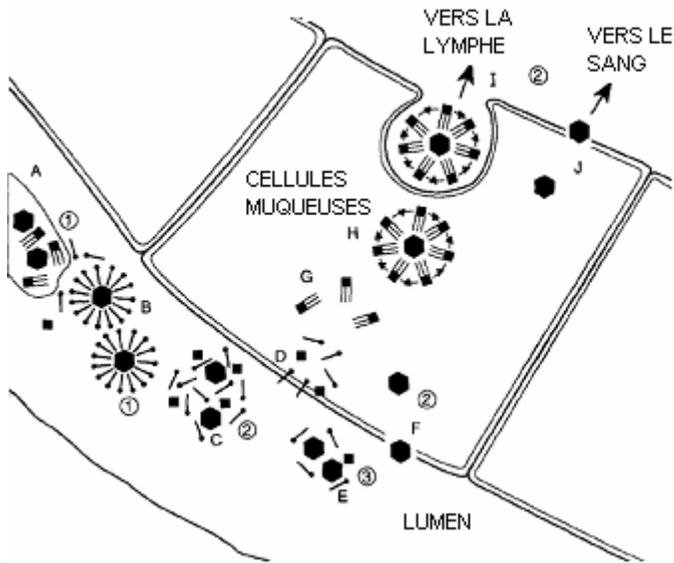


Figure A.15 : Absorption intestinale de contaminants organiques (Gobas *et al.*, 1993)

En 1993, Gobas et ses collaborateurs reprennent plus précisément ces résultats, expliquant l'entrée des contaminants hydrophobes par voie orale (figure A.15). Les xénobiotiques entrent dans le tractus digestif en association avec la nourriture (A). Les triglycérides sont hydrolysés et les acides gras sont libérés sous l'action des enzymes et sels biliaires jusqu'à former des micelles (B), contenant les contaminants hydrophobes.

Ces micelles permettent un transport le long du tractus digestif, puis les acides gras, diffusant à travers ces micelles (C), permettent la libération des contaminants. Ces derniers diffusent à travers les membranes (F), la concentration dans le tube digestif étant beaucoup plus forte que dans la muqueuse intestinale. Dans la muqueuse intestinale, les triglycérides s'associent aux lipoprotéines. Des contaminants peuvent être piégés dans ces complexes (H) et être évacués par exocytose (I) vers la lymphe. Les contaminants restant libres dans les cellules passent dans le sang par diffusion passive (J).

L'assimilation des contaminants par voie orale est donc liée au caractère hydrophobe des molécules. Gobas *et al.* (1988) présentent un modèle de fugacité valable pour les PCB dont le Log de Kow est compris entre 4 et 8,5 (figure A.16). L'assimilation (E_0) est ainsi liée au Kow selon

$$\text{l'équation suivante : } \frac{1}{E_0} = 5,3 \cdot 10^{-8} \cdot K_{ow} + 2,3.$$

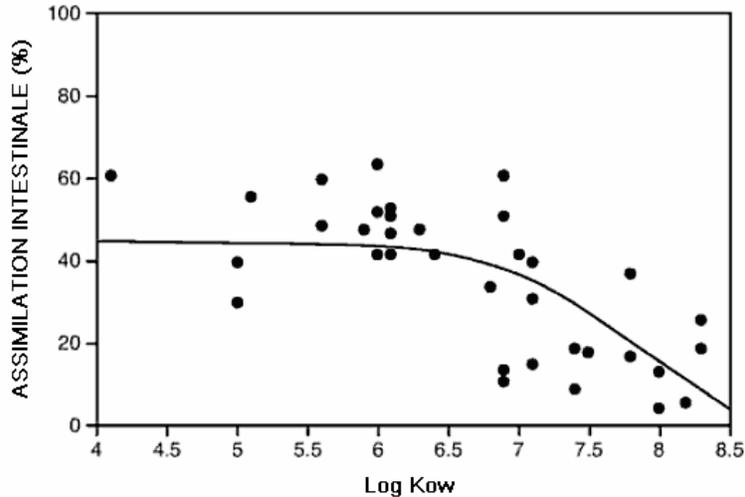


Figure A.16 : Relation entre le log Kow des molécules PCB et leur assimilation intestinale (Gobas *et al.*, 1988)
 Les points correspondent aux valeurs expérimentales et la ligne au modèle de fugacité. L'assimilation est exprimée en pourcentage de la dose d'exposition.

Bureau *et al.* (1999) avaient également observé l'assimilation des PCB chez le brochet (*Esox lucius*) suite à une exposition à une dose unique (ingestion d'une perche, *Perca fluviatilis*, ayant subi une injection dans le muscle dorsal). L'assimilation des PCB par voie intestinale augmente avec le degré de chloration, la position des chlores semblant avoir aussi un effet. Notons également que le taux d'absorption du CB153 était similaire chez ces brochets (Bureau *et al.*, 1999) et chez les truites de l'expérimentation de Gobas *et al.* (1999).

En conclusion, pour le poisson d'eau douce, l'assimilation par voie dermique (< 5 %) est moins importante que par voies branchiale et trophique qui, cumulées atteignent 40 à 70% pour la plupart des contaminants hydrophobes chez plusieurs espèces dulcicoles comme *Oncorhynchus mykiss*, *Perca fluviatilis* ou encore *Esox lucius*. La variabilité de l'assimilation dépendra fortement des caractéristiques du xénobiotique et des processus de passage des barrières biologiques associés. Les contaminants entrant dans l'organisme par la voie branchiale sont dispersés par la circulation sanguine dans les différents tissus, le foie étant un des derniers organes irrigués par le sang. Par contre, lors d'une assimilation trophique, les contaminants sont dirigés préférentiellement vers le foie. Ceci reste en concordance avec les principes généraux de transfert des contaminants dans le poisson recensés par Di Giulio et Hinton en 2008 (figure A.17).

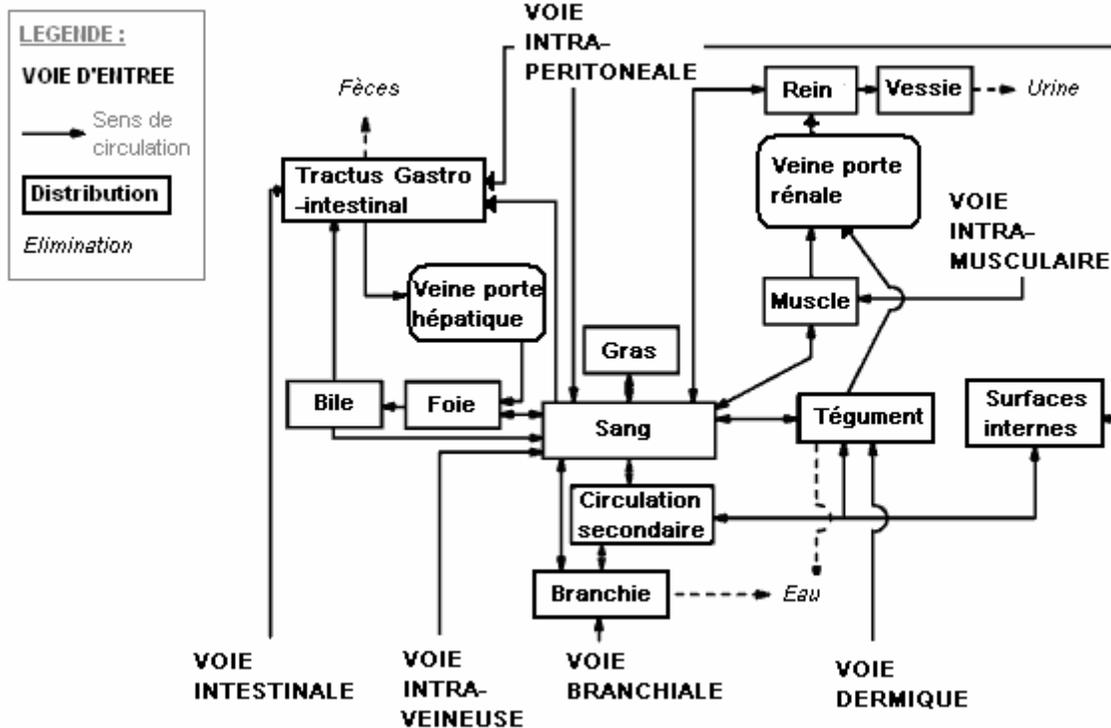


Figure A.17 : Déterminisme de la distribution et de l'élimination des xénobiotiques chez le poisson téléostéen en fonction de la voie d'entrée (adaptée de Di Giulio et Hinton, 2008).

A. 3. 3. MECANISMES D'ACCUMULATION

A. 3. 3. 1. ACCUMULATION DANS LES ORGANISMES

Les mécanismes d'accumulation, qui se rapportent à l'échelle d'un individu, concernent l'augmentation des concentrations de contaminants dans cet individu au cours du temps, par rapport aux concentrations retrouvées dans le milieu dans lequel il vit. On distingue donc deux sortes de mécanismes (Mackay et Fraser, 2000) :

- La bioconcentration : elle correspond à l'accumulation de contaminants *via* l'eau exclusivement. Ce transfert dépend essentiellement des caractéristiques des substances, et notamment de leur caractère hydrophobe (*cf.* A.3.1). La bioconcentration (BCF) dans le poisson peut se faire par diffusion passive à travers une membrane cellulaire, par voies branchiale et dermique. Un facteur de bioconcentration, basé sur le rapport, à l'équilibre, entre la concentration en contaminant de l'organisme et celle de l'eau, donne une indication importante sur la capacité du produit à passer de l'eau vers les organismes.

- La bioaccumulation : elle correspond à l'accumulation de contaminants *via* tous les vecteurs : les proies, le sédiment et l'eau (l'ingestion d'eau étant souvent non prise en compte en raison de sa faible contribution). Un facteur de bioaccumulation (BAF) est ainsi calculable par le ratio, à l'équilibre, entre la concentration dans l'organisme et la concentration dans les vecteurs de contamination de cet organisme. Cette notion incluant plusieurs mécanismes, il est courant de différencier les vecteurs. Si l'on considère seulement les sédiments, on parlera de facteur de bioaccumulation par le sédiment (BSAF). De ce fait, les proies sont souvent le seul vecteur à être pris en compte dans l'estimation du BAF.

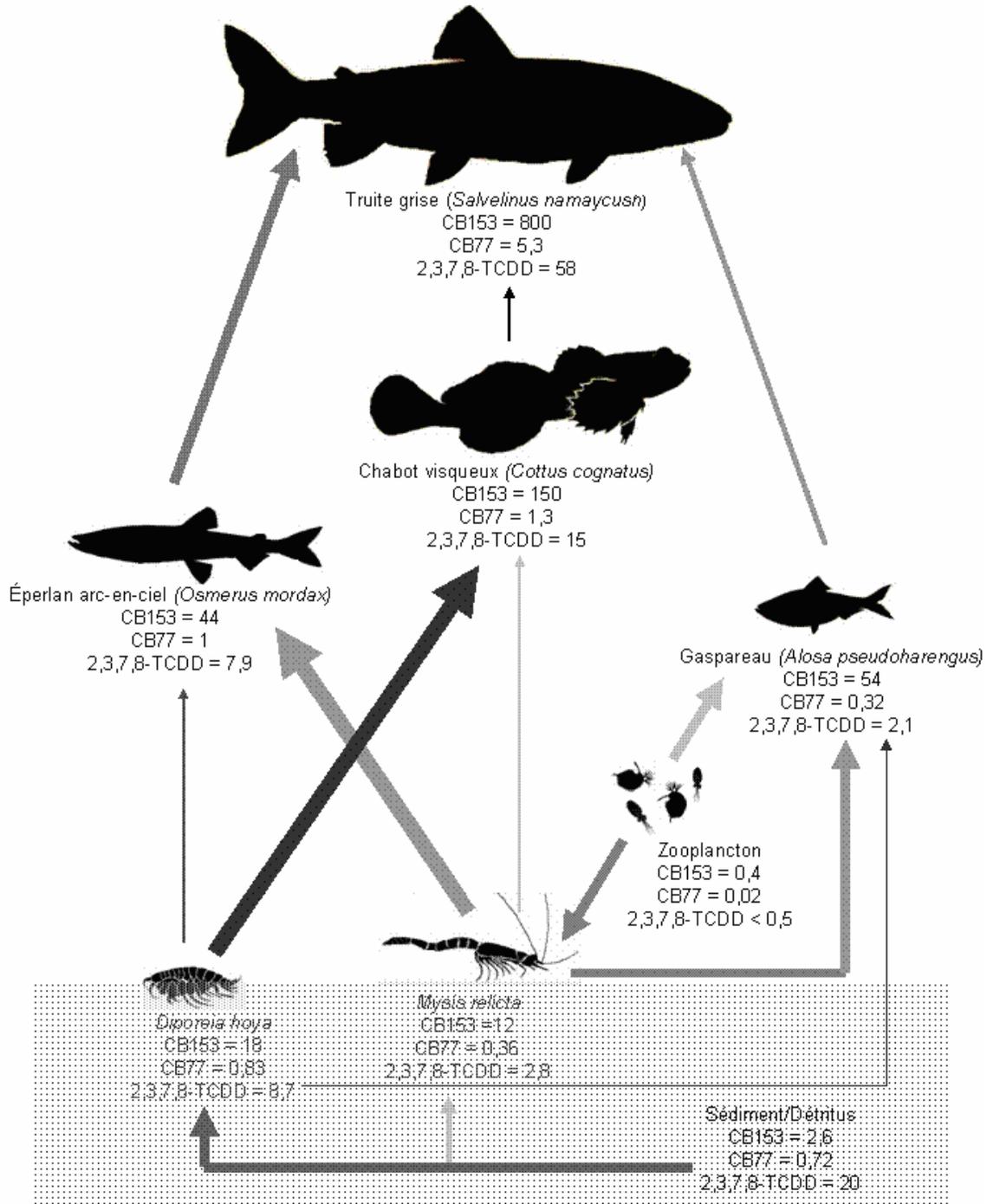
Les mécanismes d'accumulation dépendent de nombreux facteurs tels que les caractéristiques des polluants (caractères hydrophobe et apolaire, rémanence, persistance) mais aussi d'autres facteurs intrinsèques de l'espèce ou de l'individu considérés comme la teneur en lipides ou encore la capacité métabolique vis-à-vis du contaminant et l'excrétion de ses métabolites. Certaines conditions liées au cycle de vie peuvent provoquer une baisse de la concentration en polluants comme la croissance (phénomène de dilution pondérale) ou encore la reproduction, la ponte entraînant souvent une excrétion significative de polluant (Abarnou *et al.*, 2000). La teneur d'un contaminant dans un individu va donc dépendre de son âge ou son sexe (Ruus *et al.*, 2002). Les facteurs environnementaux ont également une importance, sans oublier l'influence des voies et vecteurs d'entrée (US-EPA, 1996). Les relations proies/prédateur sont également importantes pour expliciter les niveaux de contamination des poissons à l'échelle du réseau trophique.

A. 3. 3. 2. MECANISMES DE BIOAMPLIFICATION

Le processus de bioamplification correspond à l'augmentation de concentration des contaminants le long de la chaîne alimentaire. Le phénomène de bioconcentration, décrit précédemment, est la première étape du processus de bioamplification de substances le long des chaînes alimentaires. En effet, les contaminants, en particulier hydrophobes, peuvent entrer par diffusion passive dans les organismes planctoniques, base des réseaux trophiques aquatiques. Ceux-ci, peu équipés pour la détoxification et l'élimination, accumulent les contaminants qui peuvent alors atteindre des concentrations cellulaires très élevées par rapport à l'eau. Les petits poissons et le zooplancton consomment de grandes quantités de phytoplancton et, par conséquent de contaminants. Après absorption, si l'excrétion et la métabolisation sont lentes, comme dans le cas des PCB et dioxines, les contaminants sont bioaccumulés dans l'organisme (Niimi, 1996). Si les organismes du réseau trophique ne peuvent

métaboliser le contaminant, le processus d'accumulation se répète à chaque niveau du réseau trophique, amplifiant ainsi la concentration entre la proie et le prédateur. De manière générale, les mollusques sont plus contaminés que les petits crustacés mais restent à des taux de contaminants inférieurs aux grands crustacés et aux poissons (Bayen *et al.*, 2005. ; INSERM, 2000). Mais tous les contaminants organiques ne sont pas bioaccumulés ni bioamplifiés (Abarnou *et al.*, 2000). En effet, les poissons prédateurs ont parfois l'équipement enzymatique nécessaire pour métaboliser les contaminants, ce qui limite une accumulation dans les niveaux trophiques supérieurs.

Des études portant sur la bioamplification de nombreuses molécules, ont été effectuées en milieu naturel durant ces trente dernières années. Les études de Niimi (1996) sur le réseau trophique de la truite grise (*Salvelinus namaycush*) dans la lac Ontario (Canada/USA) de 1992 à 2006 (Niimi, 1996 ; Environnement Canada, 1996 ; Environnement Canada et US-EPA, 2005 ; US-EPA et Gouvernement Canada, 2006) seront pris en exemple pour illustrer le phénomène de bioamplification. L'utilisation des PCB étant interdite en Amérique du Nord depuis les années 1970, les concentrations retrouvées dans le milieu et les organismes ne cessent de baisser d'année en année. Par exemple, la truite grise (âgée de plus de 4 ans) présentait une concentration en PCB totaux de 9.050 µg/kg en 1977, 6.809 µg/kg en 1992 et de 1.170 µg/kg en 2003. Dans ce contexte, la figure A.18 montre l'évolution des concentrations de PCB (153 et 77) et de 2,3,7,8-TCDD, dans le réseau trophique de *Salvelinus namaycush* en 1992. La concentration de CB153 dans la truite est de 800 µg/kg (PF). Son régime alimentaire est constitué d'éperlan arc-en-ciel (55%) (*Osmerus mordax*), contaminé à 44 µg/kg, de gaspareau (*Alosa pseudoharengus*) (30%), contaminé à 54 µg/kg et de chabot visqueux (15%) (*Cottus cognatus*) présentant des concentrations en CB153 de 150 µg/kg. Dans ce réseau trophique, les concentrations dans le zooplancton s'élèvent à 0,4 µg/kg pour le CB153. Ces études montrent une bioaccumulation des PCB faiblement chlorés, comme le CB77, le long de la chaîne alimentaire. Le facteur de bioamplification (BMF), correspondant au rapport entre la concentration ingérée et celle retrouvée dans l'organisme, est de 6,3 pour le CB77, 12 pour le CB153 et 8,1 pour la 2,3,7,8-TCDD.



Les concentrations sont exprimées en ng/g de poids frais.

Proie → Prédateur.

La taille des flèches est proportionnelle à la proportion de la proie dans le régime alimentaire du prédateur.

La nuance de gris des flèches est proportionnelle au transfert de polluant apporté au prédateur par la proie.

Figure A.18 : Bioamplification de Polluants Organiques Persistants dans le réseau trophique de la truite grise du lac Ontario en 1992. (adaptée de Niimi, 1996)

Pour les molécules plus chlorées comme l'OCDD (octachloro-dibenzo-p-dioxine), des tests en laboratoire montrent des taux de transfert aliment/poisson (*Danio rerio*) relativement faibles (Berends *et al.*, 1997). Cette dioxine, retrouvée naturellement dans l'eau et les sédiments, n'est pas présente en fortes concentrations dans les poissons, contrairement aux PCB et dioxines de plus faibles poids moléculaires, comme la 2,3,7,8-TCDD. Par exemple, en 1992, dans le lac Ontario (Canada), la 2,3,7,8-TCDD est retrouvée à hauteur de 20 µg/kg dans les sédiments et à une concentration inférieure à 0,5 µg/kg dans le zooplancton alors qu'elle atteignait 58 µg/kg dans la truite grise, avec une augmentation de la concentration tout le long de la chaîne alimentaire. Les dioxines octanochlorées, fortement présentes dans le sédiment (860 µg/kg) et le zooplancton (52 µg/kg), ne se concentrent qu'à hauteur de 1,4 µg/kg chez *Salvelinus namaycush* (Niimi, 1996), avec une baisse des concentrations progressives tout le long de la chaîne.

En conclusion, les phénomènes d'accumulation et de bioamplification dépendent des propriétés intrinsèques des xénobiotiques mais également des propriétés biologiques de l'organisme et de l'espèce étudiée. L'importance des caractères hydrophobe et apolaire de la molécule et des processus de métabolisation a déjà été mise en évidence par Norstrom et Letcher (1996) (figure A.19). Ainsi, toutes les molécules ne s'accumulent pas dans l'organisme et ne se bioamplifient pas dans le réseau trophique.

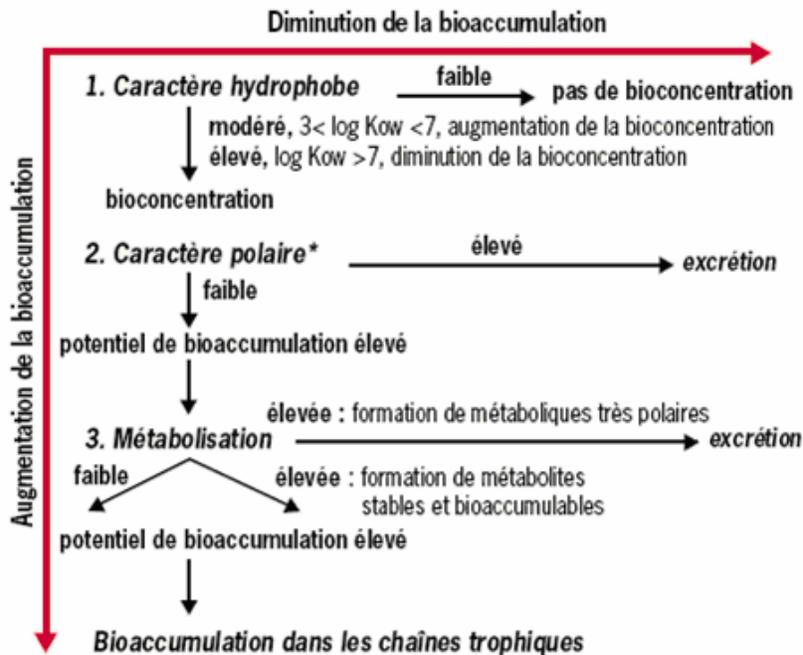


Figure A.19 : Paramètres agissant sur les processus de bioaccumulation d'un xénobiotique (Norström et Letcher, 1996)

A. 3. 4. PROCESSUS DE BIOTRANSFORMATION

La biotransformation représente l'ensemble des réactions biochimiques qui modifient la structure des xénobiotiques ayant pénétré dans l'organisme dans le but d'en favoriser l'élimination. La plupart des mécanismes impliqués dans ces étapes sont de type enzymatique (tableau A.12).

Williams (1959) a divisé ces réactions de biotransformation en deux types principaux :

- les réactions de phase I (fonctionnalisation) consistent en l'oxydation, la réduction ou encore l'hydrolyse du composé parent, formant ainsi un métabolite ;
- les réactions de phase II (conjugaison) entraînent la production d'un composé (un conjugué) biosynthétisé à partir du xénobiotique (ou d'un métabolite) et d'un produit métabolique endogène.

Tableau A.12 : Enzymes et co-facteurs impliqués dans les différents processus de biotransformation des xénobiotiques (d'après la synthèse de Giulio et Hinton, 2008)

Enzymes	Co-facteurs
Phase I Oxydation Cytochrome P450 FMO (Flavin-containing monooxygénase) Monoamine oxydase Alcool déshydrogénase Aldéhyde déshydrogénase Cyclooxygénase Peroxydase (PGH synthase, lipoxygénase) Réduction DT diaphorase Hydrolyse Carboxyl estérase Epoxyde hydrolase	Oxygène, NADPH, cytochrome b (optionnel) Oxygène, NADPH H ₂ O NAD ⁺ Acide arachidonique, oxygène Peroxyde (lipide-OOH ou H ₂ O ₂) NAD(P)H H ₂ O
Phase II UDP-Glucuronosyl transférase Sulfo transférase Conjugaison Amino-acide Glutathion S-Transférase Acétylation Méthylation	UDPGA PAPS Amino-acides (taurine, glycine, glutamine) Glutathion Acétyl-coenzyme A S-Adénosylméthionine

La biotransformation est un processus qui permet la conversion de la molécule-mère en métabolites et ultérieurement en dérivés conjugués, mais dans certains cas, seule la phase I peut être réalisée. Cependant, les métabolites et les conjugués sont généralement plus hydrosolubles et plus polaires, donc plus facilement excrétés. Ces processus de biotransformation se déroulent principalement au niveau du foie chez les poissons (Khan *et al.*, 1972; Singer et Lee, 1977; Singer

et al., 1980). De nombreuses études, recensées par Stegeman et Livingstone (1998), ont montré de grandes différences dans les capacités de biotransformation des contaminants entre organismes. De manière générale, on remarque le classement suivant : mammifères > poissons > crustacés > mollusques. La capacité de biotransformation varie également d'une espèce à l'autre, en fonction du pool enzymatique de l'espèce. Par exemple, pour comparer deux poissons osseux, l'ingestion d'une même quantité de phénanthrène (HAP) par des truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) et des flets (*Platichthys flesus*) conduit à des concentrations en métabolites du phénanthrène 10 fois plus élevées chez les flets (Solbakken et Palmork, 1981).

A. 3. 4. 1. PHASE DE FONCTIONNALISATION

La phase I du processus de biotransformation a pour but de former des métabolites électrophiles, plus enclins que les molécules mères à se lier à des groupements hydrophiles lors de la phase II. La biotransformation implique divers processus chimiques selon le xénobiotique considéré : l'oxydation, la réduction ou l'hydrolyse.

A. 3. 4. 1. 1. OXYDATION

L'oxydation des xénobiotiques peut être réalisée par l'action de différents types d'enzymes. En ce qui concerne les composés organiques, la famille des cytochromes P450 (CYP) et celle des Flavin containing Mono-Oxygénases (FMO) sont parmi les plus efficaces. Toutefois, il existe de nombreuses autres voies d'oxydation telles que les Monoamines oxydases, les alcools (et aldéhyde) déshydrogénases, les peroxydases et les aldéhyde oxydases.

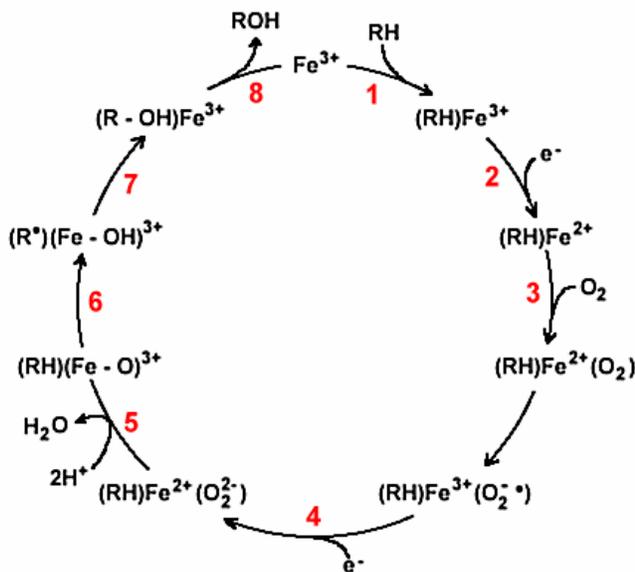
Un important système enzymatique catalysant les processus oxydatifs met en jeu les cytochromes P-450 (CYP1 à CYP3) et la NADPH-cytochrome P-450 réductase. Dans ces réactions, un atome d'oxygène moléculaire est réduit en eau et l'autre est incorporé dans le substrat. L'oxydation de la molécule se fait principalement sous l'attaque des enzymes appelées mono-oxygénases, nommées CYP1A1¹⁶, à activité AHH (Aryl Hydrocarbon Hydroxylase). En raison de la localisation de ces enzymes et de la grande variété des réactions qu'elles catalysent, elles sont aussi connues comme "oxydases à fonction mixte" (MFO). Ces enzymes peuvent servir alors de témoins de l'activité de biotransformation en phase I (Van der Oost *et al.*, 2002). Les indicateurs de phase I les plus couramment suivis sont les Ethoxyrésorufin O-dééthylase (EROD), les aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH), les CYP450 totales ou les CYP1A1, sans compter les ARNm codant pour ces protéines. Toutefois, selon leur configuration spatiale, certains pesticides sont plutôt pris en charge par les systèmes CYP2 ou CYP3 (Di Guilio et Hinton, 2008). Ces enzymes de phase I sont

¹⁶ Selon les classifications de Nebert *et al.* (1991) et de Nelson *et al.* (1996)

essentiellement localisées dans les microsomes (fraction sub-cellulaire du réticulum endoplasmique lisse) des cellules du foie des poissons mais également dans les mitochondries et le cytosol des cellules hépatiques ainsi que dans les branchies, l'intestin, la peau, les reins, les gonades, le sérum... (Celandier, 1993). L'oxydation peut correspondre à plusieurs types de réactions et il y a souvent plus d'un métabolite formé. Un système à cytochrome P450 est un complexe multienzymatique formé de :

- 2 flavoprotéines, formant 2 chaînes de transporteurs d'électrons : la NADPH cytochrome P450 réductase et la NADH cytochrome b5 réductase.
- 2 hémoprotéines, le cytochrome b5 et le cytochrome P450. Ce dernier constitue une famille d'hémoprotéines de masse moléculaire comprise entre 43 et 60 kDa, possédant un noyau tétrapyrrolique lié à un atome de fer pouvant passer de l'état ferreux (Fe^{2+}) à l'état ferrique (Fe^{3+}) de manière réversible, ce qui confère des propriétés d'oxydo-réduction au cytochrome P450.

Le dénominateur commun de toutes les réactions auxquelles participent les P450 est l'insertion d'un atome d'oxygène sur un substrat par réduction d'une molécule d'oxygène moléculaire dissous. Les étapes de la séquence catalytique des P450 sont en figure A.20.



1. Fixation du substrat sur le site catalytique; (*Fe* représente l'atome de fer de l'hème du site actif et *RH* le contaminant organique)
2. Réduction des 2 flavines de la NADPH cytochrome P450 réductase par le NADPH, H^+ et transfert d'un électron au cytochrome P450;
3. Fixation d'une molécule d'oxygène pour donner un complexe cytochrome P450 dioxygéné ferreux;
4. Transfert d'un second électron par la NADPH cytochrome P450 réductase, ou le cytochrome b5, au complexe dioxygéné;
5. Rupture de la liaison oxygène-oxygène avec incorporation d'un atome d'oxygène dans une molécule d'eau;
6. Activation du substrat;
7. Transfert du second atome d'oxygène au substrat;
8. Dissociation et libération du produit.

Figure A.20 : Schéma récapitulatif de l'action du système cytochrome P-450 (d'après Estabrook et al., 1978)

Les FMO (Flavin containing Mono-Oxygénases) sont aussi une voie importante de détoxification en particulier pour les molécules ayant un cycle nucléophile pourvu d'un hétéro-atome (Hines *et al.*, 1994, Ziegler, 1988, Ziegler et Mitchell, 1972), comme tel est le cas pour de nombreux pesticides. Du fait de leur localisation microsomale et de leur besoin en NADPH et oxygène comme co-facteur de catalyse, les FMO étaient souvent associées à la catégorie des MFO (Mixed-fonction oxygénases). Cependant, celles-ci sont à l'origine de mécanismes réactionnels ne nécessitant pas de co-enzyme réductase comme les CYP mais sont directement réduites par la NADPH (Ziegler 1988 ; Poulsen et Ziegler, 1979). Cette réduction par la NADPH engendre la fixation d'un atome d'oxygène à la FMO créant ainsi une hyperoxyflavine très réactive avec les cycles nucléophiles pourvus d'un hétéro-atome (Azote, Soufre, Sélénium). Plusieurs familles de pesticides sont ainsi des substrats pour ces enzymes : les amines tertiaires (*i.e.* N,N-diméthylaniline, N,N,N-triméthylaniline), les thioethers (*i.e.* aldicarb), les thiocarbamates (*i.e.* eptam, thiobencarb), les thiocarbamides (*i.e.* methimazole, thiourea) et les thioamides (*i.e.* thiobenzamide) (Schlenk *et al.*, 1993). Cependant, la forme des enzymes et les gènes correspondants sont encore difficiles à identifier chez le poisson. Actuellement, les FMO ont été observées chez de nombreuses espèces marines, certaines euryhalines et chez quelques espèces d'eau douce (*Oncorhynchus Mykiss* et *Lepomis macrochirus*). Certaines espèces comme le poisson chat (*Ictalurus punctatus*) ne présentent pas d'activité MFO suite à une exposition à un composé induisant normalement les MFO (Schlenk, 1995 ; Schlenk, 1993 ; Schlenk et Buhler, 1993). Ayant un rôle dans l'osmorégulation (Rodriguez-Fuentes *et al.*, 2008 ; Schlenk *et al.*, 1995), la majeure partie des FMO concerne les espèces marines et euryhalines. Chez les espèces euryhalines, ces enzymes se situent principalement dans les branchies, mais elles sont également retrouvées en quantités non négligeables dans le foie (Matsuo *et al.*, 2008).

A. 3. 4. 1. 2. REDUCTION

La réduction des xénobiotiques consiste principalement à réduire les groupements azotés et nitrés par les azo- et nitro-réductases ainsi que les groupements quinones par les DT-diaphorases.

A. 3. 4. 1. 3. HYDROLYSE

L'hydrolyse par les Epoxyde Hydrolases peut concerner les groupements époxydes formés lors de l'oxydation de certains xénobiotiques par les cytochromes P450. Cependant, l'hydrolyse peut également être un moyen efficace de détoxification pour de nombreux pesticides par l'action des carboxylesterases (Glickman et Casida, 1982, Wallace et Dargan, 1987). Toutes les espèces ne présentent pas des taux similaires de carboxylesterases. La carpe (*Cyprinus carpio*) en est

pourvue en grand nombre alors que la truite (*Oncorhynchus mykiss*) présente des taux très faibles, cela rendant les carpes résistantes au diazinon ou encore à la perméthrine (Keizer *et al.*, 1995 ; Glickman *et al.*, 1981, Glickman *et al.*, 1979). Des différences d'activités inter-espèces sont une hypothèse majeure pour expliquer les effets toxiques des organophosphorés (Keizer *et al.*, 1991, 1993, 1995) et des pyréthrinoïdes (Glickman *et al.*, 1979, Glickman et Casida, 1982).

A. 3. 4. 2. PHASE DE CONJUGAISON

La majeure partie des métabolites issus de la phase de fonctionnalisation est ensuite prise en charge par les enzymes dites de phase II (George, 1994). Cette étape, comme la première, peut se dérouler au niveau du cytosol, des microsomes ou des mitochondries des cellules. Cette phase consiste en la liaison des molécules oxydées avec des groupements hydrophiles dans le but de favoriser leur excrétion (Mulder *et al.* 1990; Vermeulen *et al.*, 1992; Commandeur *et al.*, 1995).

Ces molécules hydrophiles, nommées co-facteurs, peuvent être l'acide glucuronique, l'acide sulfurique, le glutathion, des acides aminés, ... et sont associées au xénobiotique par une enzyme spécifique. Ces enzymes peuvent servir alors de témoins de l'activité de biotransformation en phase II (Van der Oost *et al.*, 2002). Les plus couramment utilisées comme indicateurs de phase II sont les molécules relatives au glutathion comme la Glutathion S-transférases (GST) (Chasseaud, 1979), le glutathion réduit (GSH) ou oxydé (GSSG) ainsi que les enzymes relatives au glucuronide telles que les UDP-glucuronyl transférases (UDPGT). Les UDPGT (uridinediphosphate-glucuronyltransférases) effectuent la liaison de l'acide glucuronique avec les fonctions phénoliques nucléophiles des métabolites de phase I. Les phénols peuvent également être conjugués à des groupements sulfate par l'action de sulfo-transférases. Les glutathion S-transférases (GST) réalisent, quant à elles, une attaque nucléophile des fonctions époxydes électrophiles conduisant à des conjugués au glutathion (thio-éthers). Chez les poissons, la sulfoconjugaison est en général bien moins importante que la glucuronidation ou que la conjugaison au glutathion (George, 1994).

En conclusion, de nombreux systèmes de détoxification existent chez le poisson mais ces systèmes sont, en qualité et quantité, variables d'une espèce à l'autre. Ces réactions se déroulent essentiellement dans le tissu hépatique mais d'autres tissus tels que les branchies, l'intestin ou encore le sérum (lymphocytes) présentent également une capacité de détoxification. La connaissance des mécanismes de biotransformation impliqués s'avère également indispensables à la compréhension des processus de bioaccumulation.

A. 3. 5. EVALUATION EN LABORATOIRE

A. 3. 5. 1. DETERMINATION DU FACTEUR DE BIOCONCENTRATION (BCF)

Dans le cas d'une contamination *via* un vecteur eau, le poisson est soumis à un polluant présent dans l'eau pendant le temps nécessaire pour arriver à l'équilibre entre entrée, métabolisme et excrétion puis le polluant est dosé dans les tissus. Le BCF (facteur de bioconcentration) correspond au ratio entre la concentration trouvée dans le poisson à l'équilibre et la concentration dans l'eau durant l'expérience. Il reste difficile d'isoler la voie branchiale, le polluant pouvant passer par voie dermique. La méthode actuellement la plus discriminante étant celle de Kennedy (1990) qui consiste à positionner le poisson dans une chambre permettant d'isoler la tête du reste du corps par une membrane ne laissant pas passer le polluant. Dans ce type d'installation, la pose d'une canule urinaire est possible pour évaluer les excrétions (figure A.21).

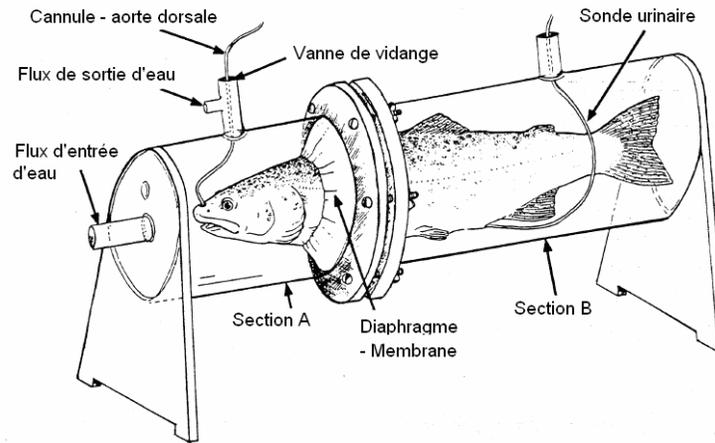


Figure A.21 : Chambre de contention pour la détermination du BCF en laboratoire (Kennedy, 1990)

Ces chambres de contention sont stressantes pour le poisson et peuvent donc perturber le métabolisme lors de l'exposition. Ainsi, les tests dits en nage libre, statiques ou dynamiques, sont largement utilisés, même s'ils ne permettent pas de différencier la voie dermique de la voie branchiale. Ceux-ci consistent à laisser évoluer le poisson librement en aquarium (système ouvert ou fermé) dont l'eau est contaminée en un seul apport (test statique) ou en apports chroniques (dynamiques). Ces derniers tests sont utilisés en France pour le processus d'homologation des pesticides. Des méthodes guides (mono-contamination) ont également été réalisées par l'US-EPA (1996). Tous les facteurs influant sur les paramètres de l'accumulation sont soumis à des normes

pour les espèces modèles¹⁷ telles que, parmi les poissons d'eau douce, la truite (*Oncorhynchus mykiss*) ou la carpe (*Cyprinus carpio*). Ces facteurs correspondent à des critères de qualité d'eau avec un renouvellement journalier conséquent, de taille de poisson faible, de nombre de prélèvements analysables ou encore du temps d'exposition, du nombre de doses d'exposition à tester. La mise en place de telles expérimentations se base sur le critère d'hydrophobicité de la molécule testée, lié aux paramètres d'entrée (cf A. 3. 2), et déterminant le temps de la phase d'exposition en eau contaminée et de décontamination (épuration) en eau pure¹⁸. La phase d'exposition est dépendant des constantes cinétiques d'accumulation : K_1 , constante d'apparition et K_2 , constante de disparition de la molécule d'exposition. La phase d'épuration dépend seulement de K_2 . Le BCF en est déduit par deux formules, selon l'équilibre atteint ou non :

Équation 1: Calcul du BCF si 80% à 95% du temps nécessaire à l'obtention de l'équilibre est atteint $BCF_K = \frac{K_1}{K_2}$

Avec K_1 , constante cinétique d'apparition de la molécule et K_2 constante cinétique de disparition de la molécule durant la phase d'épuration.

Équation 2: Calcul du BCF si l'équilibre est atteint $BCF = \frac{C_t}{C_e}$

Avec C_t , concentration de contaminant dans le tissu et, C_e concentration du contaminant dans l'eau

La phase de décontamination permet de calculer la demi-vie de la molécule ($DT50_t$) dans le tissu étudié :

Équation 3: Calcul de la demi-vie dans le tissu étudié..... $DT50_t = \frac{\ln 2}{K_2}$

Avec K_2 constante cinétique de disparition de la molécule durant la phase d'épuration

Cette méthode est bien adaptée pour les évaluations en mono-contamination. Cependant, les interactions entre contaminants étant déterminantes dans le milieu naturel les approches multi-contamination seront valorisées dans ce travail de thèse.

A. 3. 5. 2. DETERMINATION DU FACTEUR DE BIOAMPLIFICATION (BMF)

Le vecteur « eau » est particulièrement étudié dans la détermination des facteurs d'accumulation. Cependant, la littérature met en avant l'importance du vecteur alimentaire dans la contamination des espèces piscicoles, en particulier avec les phénomènes de bioamplification observés pour de

¹⁷ Les espèces modèles sont celles citées dans les guideline US-EPA (1996) explicitant les modalités d'évaluation du BCF.

¹⁸ La notion d'eau pure est employée ici comme signifiant « non contaminée » par la molécule étudiée ou molécules pouvant influencer sur l'accumulation (listées dans les normes US-EPA)

nombreuses molécules. Même s'il n'existe pas encore de méthode normalisée, quelques études, basées sur les méthodes d'évaluation du BCF, ont été réalisées. Celles-ci mettent en place le suivi des concentrations dans un tissu donné durant une phase d'exposition chronique des individus suivie d'une phase d'épuration. Cela permet le calcul d'un facteur de bioaccumulation BAF, étant donné que nous regardons un seul niveau trophique. Cependant, nous appellerons ce facteur BMF (facteur de bioamplification), pour nous conformer aux codes d'écriture établis dans la littérature pour ce type d'expérimentation. Ainsi, le BMF peut être calculé par différentes méthodes, selon que l'expérimentation permet ou non l'atteinte de l'équilibre :

Équation 4: Calcul du BMF si l'équilibre est atteint $BMF = \frac{C_T}{C_a}$

Avec C_T , concentration du contaminant dans le tissu et, C_a , concentration dans l'aliment, ajustées aux lipides.

Équation 5: Calcul du BMF_K si 80% à 95% du temps nécessaire à l'obtention de l'équilibre est atteint $BMF_K = \frac{K_1}{K_2}$

Avec K_1 , constante cinétique d'apparition de la molécule et K_2 , constante cinétique de disparition de la molécule durant la phase d'épuration.

Équation 6: Calcul du BMF_K par la méthode de Tomy *et al.* (2004, 2007)..... $BMF_K = \frac{\alpha F}{K_2}$

Avec α , l'assimilation dans le muscle (%); F , le taux de rationnement journalier (% du poids vif) et K_2 , constante cinétique de disparition de la molécule durant la phase d'épuration.

Équation 7: Calcul de l'assimilation par la méthode de Tomy *et al.* (2004, 2007)..... $\alpha(t) = \frac{n_m}{n_a}$

Avec n_m et n_a , le nombre de moles présents respectivement dans le muscle et l'aliment aux temps de prélèvements t lors de la phase d'exposition. α , correspond à la moyenne des $\alpha(t)$ si l'équilibre n'est pas atteint ou à $\alpha(t_{\text{équilibre}})$ si l'équilibre est atteint.

La phase de décontamination permet de calculer la demi-vie de la molécule ($DT50_t$) dans le tissu étudié est décrite par l'équation 3.

Ce type d'expérimentation est apparu à la fin des années 90 avec les travaux de Fisk *et al.* (1997). Puis quelques études sont apparues dans les années 2000 (Tomy *et al.*, 2004 et 2007), s'intéressant à des Polluants Organiques Persistants tels que les PCB ou les PBDE mais également à certains pesticides (*i.e.* fipronil, triazoles, Konwick *et al.*, 2006 a et b).

Cependant, les essais pour évaluer le BMF ne sont pas encore très répandus. Par exemple, pour les pesticides, il n'est pas considéré comme un critère d'évaluation pour l'autorisation de mise sur le marché. Le critère relatif au risque d'accumulation étant encore le BCF. Ainsi, ce travail de thèse se concentrera sur l'accumulation par voie alimentaire.

A. 3. 5. 3. EVALUATION DE LA BIOTRANSFORMATION EN LABORATOIRE

L'évaluation de la biotransformation en laboratoire s'appuie sur de nombreuses méthodes telles que la détermination des constantes cinétiques de disparition des molécules mères (K_2), le dosage des métabolites ou encore le suivi de bio-indicateurs enzymatiques. La détermination de K_2 lors des tests d'accumulation/épuration permet d'obtenir des informations sur la rémanence du stockage dans le tissu comestible, en déterminant, si la cinétique de disparition est de premier ordre, la demi-vie de la molécule dans le tissu. La décroissance de concentration observée durant la phase d'épuration étant un témoin du déstockage et de l'excrétion. L'apparition des métabolites permet de voir le transfert et le stockage des métabolites dans le tissu cible. Cette dernière méthode sous-entend une connaissance des métabolites (ou des principaux métabolites) et la capacité analytique pour les doser. La recherche liée à la réponse enzymatique (*i.e.* recherche de protéines, ADN, ARN), témoin de la capacité métabolique des poissons à faire face à la contamination, nécessite de nombreuses répétitions et autres contraintes (poissons de même sexe et de petite taille, connaissance des mécanismes enzymatiques impliqués,...). Ceci n'est pas toujours compatible avec les tests d'accumulation sur poissons d'eau douce pour des molécules dont on ne connaît pas le comportement dans l'organisme, comme c'est le cas pour de nombreux pesticides.

A. 3. 6. SYNTHÈSE 2 : LES XENOBIOTIQUES DANS LE POISSON TELEOSTEEN

A. 3. 6. 1. EXEMPLE DU CB101 DANS LE RESEAU TROPHIQUE DE *Salvelinus namaycush* DANS LE LAC ONTARIO EN 1992

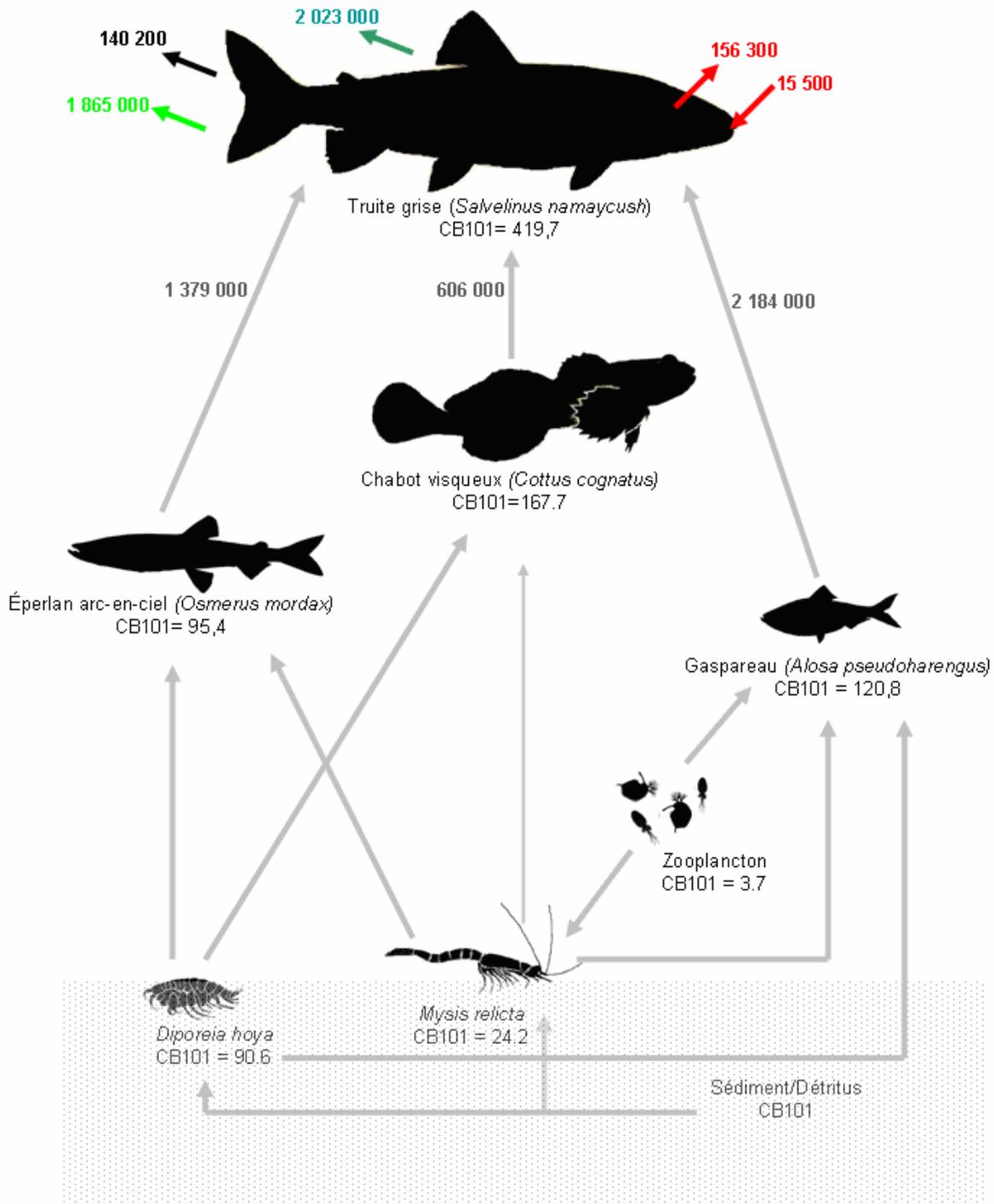
Les flux de CB101 ont été modélisés à l'aide d'un modèle de fugacité par Campfens et Mackay (1997) à partir des données collectées entre 1982 et 1986 dans le réseau trophique de *Salvelinus namaycush* dans le lac Ontario (Oliver, 1988). Le modèle permet de mieux comprendre les processus entraînant la bioamplification de ce composé en visualisant, pour chaque composant du réseau trophique :

- l'importance de chaque voie d'entrée conduisant à la contamination ;
- l'importance des processus de pertes conduisant à l'épuration.

La figure A.22 représente ces flux de CB101 pour la truite grise :

- la voie d'entrée trophique est majoritaire pour expliquer la concentration de 419,7 µg/Kg (PV) retrouvée en 1986. Celle-ci apporte l'équivalent de plusieurs millions de picogrammes de CB101 par jour.
- L'égestion et la dilution pondérale sont des voies majeures expliquant les pertes, permettant une perte équivalente à 4 millions de pg par jour.
- Le métabolisme pour cette molécule difficilement biotransformable représente une perte environ 10 fois inférieure à chacun des deux autres processus de perte et reste du même ordre de grandeur que les pertes par respiration.

Campfens et Mackay (1997), par les résultats de leur modèle, montrent également que les proportions de chaque flux dépendent de l'espèce étudiée. Les flux entrants vont dépendre du milieu de vie et du régime alimentaire (la voie trophique étant majoritaire) et les flux sortants vont être influencés par les paramètres physiologiques tels que la croissance, le volume de ventilation, la reproduction. Ces travaux ont été réalisés pour plusieurs PCB et montrent également une influence du log Kow sur les flux. A titre d'exemple, pour le CB 18, plus hydrophile que le CB101, les pertes par respiration sont nettement plus importantes que pour le CB101.



Les concentrations sont exprimées en $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de poids frais. Et les flux en pg/jour

- ← Gains par ingestion
- Pertes par métabolisme
- ← Gains par respiration
- Pertes par dilution pondérale
- Pertes par respiration
- Pertes par égestion

Figure A.22 : Flux de CB101 dans le réseau trophique de *Salvelinus namaycush* dans le lac Ontario en 1982-1986 (adaptée de Campfens et Mackay, 1997)

A. 3. 6. 2. RELATIONS DEVENIR DANS LE POISSON / PROPRIETES DU POLLUANT

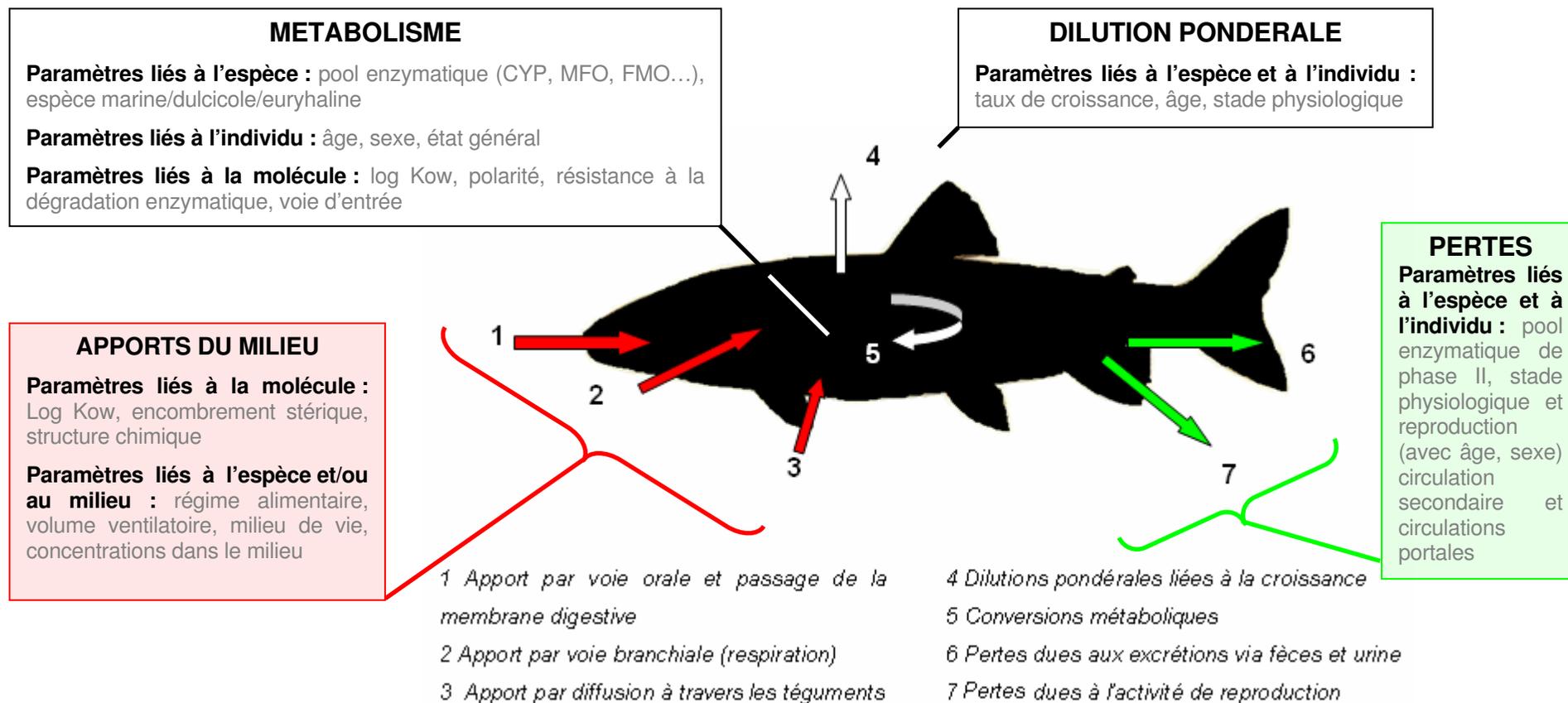


Figure A.23 : Devenir des xénobiotiques dans le poisson téléostéen et paramètres influant sur chaque processus (sont représentés en rouge les apports, en blanc les pertes par transformation/dilution, en vert les pertes par excrétion).

A. 4. L'ÉTANG A VOCATION PISCICOLE : UN MILIEU D'ÉTUDE

A. 4. 1. UN SYSTÈME D'ÉLEVAGE : LA POLYCULTURE EXTENSIVE

A. 4. 1. 1. CONTEXTE ÉCONOMIQUE ET POSITION PAR RAPPORT AUX AUTRES SYSTÈMES D'ÉLEVAGE

La pisciculture regroupe trois secteurs d'élevage bien distincts : la salmoniculture (31700 T), la pisciculture d'étangs (8400 T) et la pisciculture marine (6100 T) (FranceAgriMer, 2009). En France, la surface en étangs exploitée est de 112000 hectares dont 61% destinés à la pisciculture et 39% consacrés à la pêche de loisir. Cette production, qui génère 18 millions d'Euros de chiffre d'affaire, est conduite en pluriactivité par 6000 exploitants environ, mais 75 professionnels à temps plein gèrent près de 50% des étangs (Ministère de l'agriculture et de la pêche, 2005). Deuxième système de production derrière la salmoniculture, la pisciculture d'étangs reste une activité traditionnelle en France. Au niveau national, la plus grande partie de cette production est valorisée sur le marché du repeuplement suivi par celui de la consommation directe. Les principales espèces commercialisées sont la carpe (53%), le gardon (25%), la tanche (13%) et les carnassiers (8%). Parmi les 15 régions qui ont un fort potentiel en étangs piscicoles, les régions Centre, Rhône-Alpes et Lorraine totalisent à elles seules 60% de la production nationale. En Lorraine, 7000 Ha de plans d'eau sont exploités pour produire, chaque année, 1100 T de poissons (Chambre d'Agriculture de Lorraine, 2005).

La Lorraine présente deux particularités qui la différencient du contexte national. Tout d'abord, 72% de la vente directe est destinée à la consommation et seulement 25% au repeuplement (Itavi, 1999). D'où les préoccupations lorraines au sujet de la qualité des produits piscicoles issus de la filière. Ensuite, les étangs sont en majorité des plans d'eau de barrage, alimentés en eau par un ruisseau drainant leur bassin versant. Cette alimentation hydrique est effective durant tout le cycle de production, avec cependant des fluctuations – saisonnières essentiellement – en terme quantitatif. Cela peut potentiellement poser des problèmes de qualité sanitaire vis-à-vis de micropolluants issus de ces bassins versants, fréquemment agricoles.

A. 4. 1. 2. PRATIQUES COURANTES ET CYCLE DE PRODUCTION

Les pratiques relatives à la polyculture extensive en étang sont très anciennes (empire romain) et se sont largement diversifiées en France au 10^{ème} siècle en vue de nourrir les populations durant le carême (Chambre d'Agriculture de Lorraine, 2005). L'exploitation piscicole sur ces sites se déroule généralement en un an (Figure A.24) et comporte quatre phases : le remplissage, la production biologique, la vidange et l'assec (Trintignac et Kerleo, 2004).

1. Le cycle de production débute au remplissage de l'étang. Le temps de remplissage dépend fortement du mode d'alimentation en eau (précipitation, ruissellement, source, dérivation de cours d'eau). En Lorraine, la majorité des sites d'élevage extensif sont des étangs de barrage. Bloquant un cours d'eau, ceux-ci se remplissent rapidement et un déversoir (trop-plein) permet un écoulement de l'eau vers l'aval. L'hiver (ou début printemps) reste la période privilégiée pour le remplissage et l'empoissonnement de l'étang (Le Bihan et Font, 2008)

2. Après le remplissage, les alevins et les adultes, apportés par l'exploitant, peuvent entrer dans une phase de grossissement. Cette période dure en général de 9 à 12 mois. Un bon équilibre du réseau trophique permettra une bonne croissance des poissons sans apport supplémentaire d'aliments (aliments formulés, céréales...). Cependant, cet équilibre reste difficile à atteindre et certains exploitants d'étangs procèdent alors à des « fertilisations » de leurs plans d'eau pour stimuler la production (Bruslé et Quignard, 2004). Ces pratiques consistent en des apports d'éléments minéraux (nitrates d'ammonium, superphosphates...) ou organiques (fumier, lisiers...). Ces apports induisent des développements planctoniques, favorisant ainsi l'élevage des espèces capables d'exploiter ces ressources mais également de tout le système de polyculture, avec pour première conséquence d'obtenir des taux élevés de production. Ces amendements, de faible coût économique, correspondent le plus souvent à un recyclage des sous-produits agroalimentaires (déchets de céréales) souvent disponibles à proximité des sites d'élevages. En Lorraine, où les « fertilisations » ne sont pas des pratiques régulières, la production moyenne annuelle est de 140 kg/Ha/an (Le Bihan et Font, 2008).

3. La phase de vidange commence en général à la fin de l'automne pour permettre une pêche entre novembre et février. Les faibles températures garantissent une faible activité physiologique des poissons (Le Bihan et Font, 2008). Cela permet d'éviter des troubles liés à l'hypoxie du milieu (turbidité, colmatage des branchies...) et de limiter certaines pathologies dues au milieu (infections, infestations). L'impact des manipulations humaines (lésions, perte de mucus, écaillage...) et du transport sera également réduit.

4. A la suite de la pêche, l'étang est maintenu en assec. Cette phase peut durer de quelques jours à plusieurs mois. Pendant l'assec, la vase s'aère et la matière organique se minéralise (Schlumberger, 2000). Ce temps hors eau permet également de limiter la prolifération d'organismes indésirables (virus, parasites, plantes aquatiques). L'assec prolongé permet en général certains travaux d'entretien tels que le curage mécanique ou les restaurations de digues (Schlumberger, 2000, Le Bihan et Font, 2008).

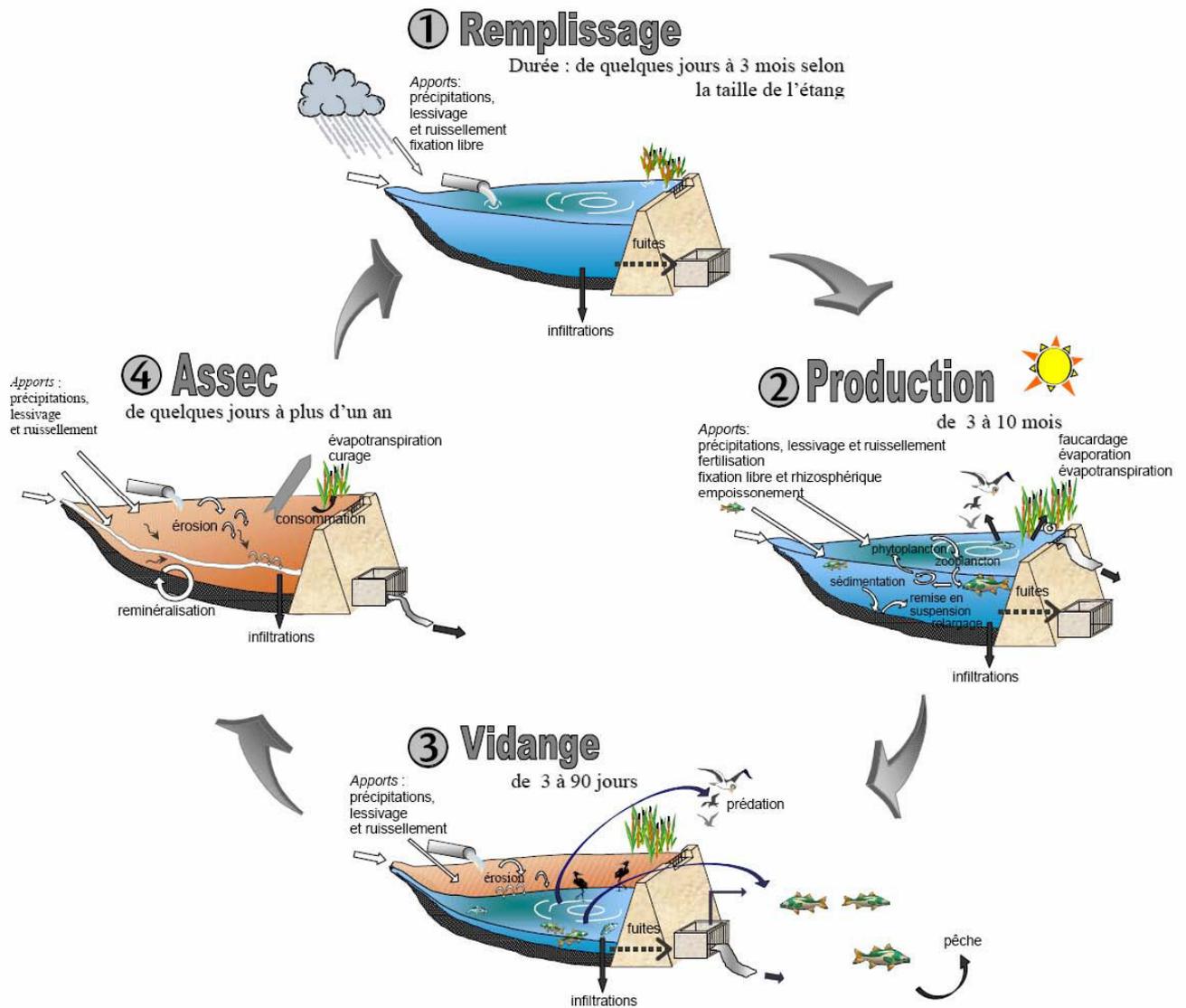


Figure A.24 : Cycle de gestion d'un étang piscicole. (Schéma de Banas, 2001)

A. 4. 2. UN MILIEU D'ETUDE DES CONTAMINANTS

A. 4. 2. 1. UNE CHAÎNE TROPHIQUE EN EAU DOUCE

L'élevage extensif d'étang est majoritairement de type polyculture. Après le remplissage d'un étang, les organismes décomposeurs prolifèrent pour dégrader les débris organiques du sédiment. Cela entraînant la libération de nutriments et de dioxyde de carbone, le phytoplancton et les végétaux se développent. Le zooplancton s'installe à son tour et le milieu finit par être colonisé par de nombreux organismes (Schlumberger, 2000). Différentes espèces piscicoles sont alors introduites. En définitive, la gestion piscicole consiste à introduire des espèces capables d'agir à différents niveaux du cycle (planctophages, détritivore,

carnassières...), afin de recréer, pour chaque cycle de production, un réseau trophique complet.

La diversité des espèces élevées en étang présente des caractéristiques intéressantes pour l'évaluation des teneurs en polluants. Chaque espèce se distingue par sa physiologie, sa stratégie de vie, sa place dans le réseau trophique, sa teneur en lipides intramusculaires... et réagissent donc différemment à la présence de contaminants (A. 3.). Ainsi, quelques espèces aquacoles fréquemment élevées en polyculture d'étang, présentent déjà un intérêt scientifique pour l'étude de l'accumulation de contaminants organiques. En effet, de nombreux travaux portant sur le devenir des contaminants dans le poisson d'eau douce s'appuient de façon non exhaustive sur les espèces suivantes :

- le gardon *Rutilus rutilus* (Blanchard *et al.*, 1997 ; Van der Oost *et al.*, 1994),
- la carpe commune *Cyprinus carpio* (Lavado *et al.*, 2006 ; Erdogru *et al.*, 2005 ; Verweij *et al.*, 2005),
- la perche fluviatile *Perca fluviatilis* (Hajslova *et al.*, 2007 ; Binelli et Provini, 2003.),
- le brochet *Esox lucius* (Binelli et Provini, 2003 ; Van der Oost *et al.*, 1991)
- le sandre *Sander lucioperca* (Kostamo *et al.*, 2000).

A. 4. 2. 2. UN MILIEU STAGNANT TEMPORAIRE

Touchart (2007) donne une définition limnologique des étangs, considérant ceux-ci comme des plans d'eau continentaux artificiels, « dont la taille intermédiaire entre la mare et le lac permet une structuration irrégulière et temporaire des masses d'eau à l'échelle de quelques jours, une inertie se développant face à son encadrement immédiat ». Les structurations temporaires et irrégulières complexifient le système, notamment sur la détermination des flux d'eau et de matière. Banas (2007) indique que cette situation intermédiaire entre lac et mare, en termes de profondeur et de superficie, rend ce milieu particulièrement sensible aux sollicitations extérieures telles que les activités anthropiques. En particulier, la vidange permet une intervention humaine sur les flux entrants et sortants de l'écosystème. Toutefois, ce milieu stagnant temporaire permet d'évaluer voire de contrôler certains phénomènes que l'on ne peut pas toujours appréhender en système lacustre, de par la lenteur d'évolution des lacs. De plus, contrairement aux cours d'eau, dont les eaux et les poissons présentent des variations importantes dans leurs teneurs en contaminants dans le temps du fait de leurs déplacements (AERM, 2010), les étangs permettent un barrage et une stagnation temporaire des intrants mais aussi la limitation des déplacements des populations piscicoles. C'est à ce titre que nous jugeons pertinent le choix des étangs pour l'étude du devenir des contaminants en milieu stagnant.

A. 4. 3. UN MILIEU SOUMIS A LA PRESSION PESTICIDE : CAS EN LORRAINE

A. 4. 3. 1. PRESSION PESTICIDE EN LORRAINE

Les quantités totales de matières actives¹⁹ épandues sur un bassin versant déterminent la pression pesticide subie par un milieu aquatique donné. La pression pesticide exercée sur les terres agricoles en Lorraine en 2001 est présentée en figure A.25, en 5 classes de pression allant de « très faible » à « très forte » (Joulin *et al.*, 2006). Le département des Vosges (88) présente une « très faible » pression pesticide alors que le nord de la Lorraine montre une pression pesticide allant de « moyenne » à « très forte ».

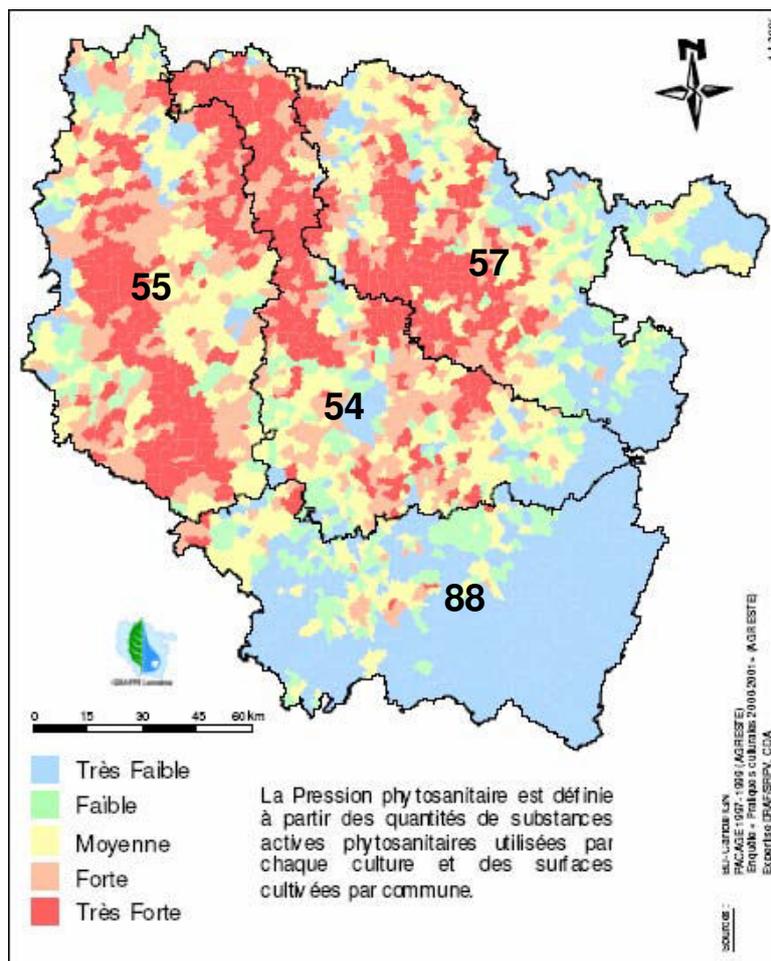


Figure A.25 : Pression pesticide en Lorraine (d'après Joulin *et al.*, 2006)

La nature et les quantités des substances actives épandues dépendent de la culture mise en place sur chaque parcelle. Les grandes cultures (colza, blé, orge, maïs) représentent près de

¹⁹ Les produits phytosanitaires, en formulation commerciale, sont épandus dans un mélange de matières actives (ou substances actives) et d'adjuvants. Les matières actives sont les molécules qui permettent l'action pesticide recherchée.

50% de l'utilisation des terres arables en Lorraine (figure A.26). Le blé tendre et le colza sont les cultures majoritaires de céréales et d'oléagineux, respectivement.

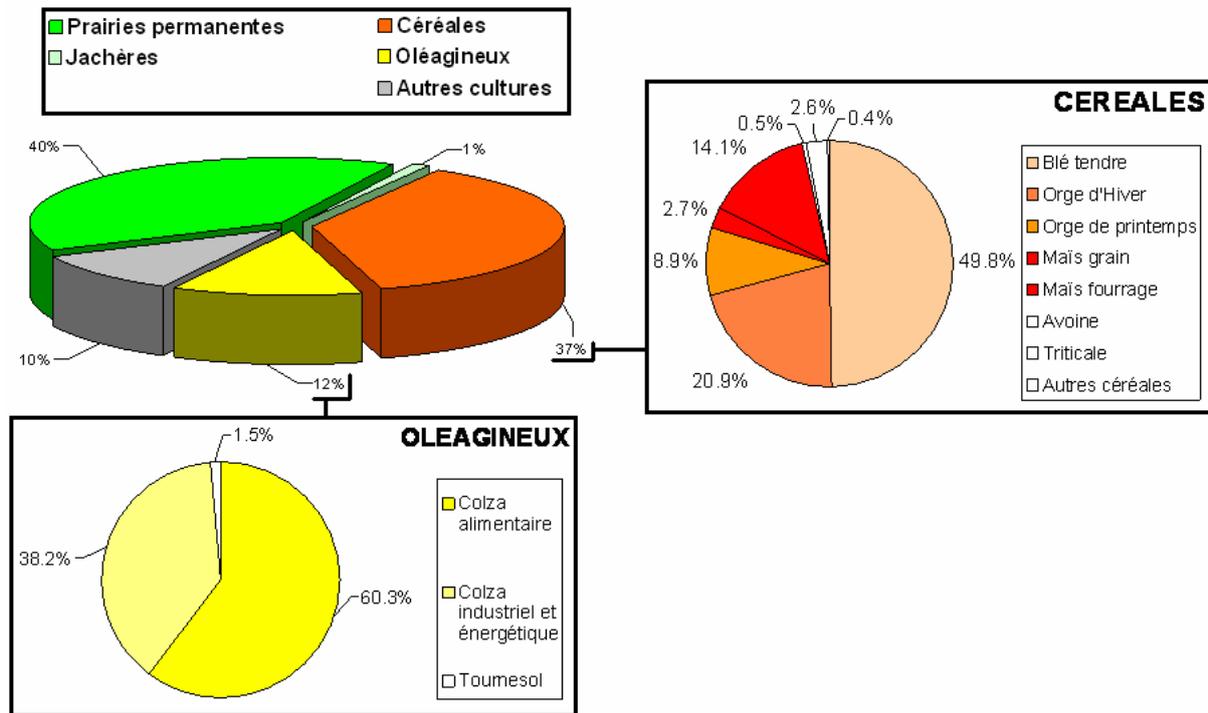


Figure A.26 : Proportion de chaque assolement sur les terres arables de Lorraine en 2008 (d'après INSEE, 2010 et Agreste, 2009)

Chaque culture est associée à un itinéraire cultural technique et le calendrier d'épandage dépend du climat local et des maladies affectant les produits. Lors d'un épandage de pesticides, plusieurs molécules peuvent être appliquées, simultanément en mélange ou à quelques jours d'intervalle.

D'une année sur l'autre, les agriculteurs alternent leur production pour ne pas épuiser leur terre. Cette rotation des cultures implique deux conséquences majeures :

- toutes les parcelles d'une région ou d'un bassin versant ne présentent pas la même culture pour une année donnée. Un bassin versant ou une région donnée présentent plusieurs parcelles. Ainsi, à cette échelle, toutes les molécules relatives à chaque culture sont susceptibles d'être épandues.
- Les molécules épandues sur une parcelle ne sont pas les mêmes d'une année sur l'autre mais une molécule peut être épandue selon un pas de temps régulier, en fonction de la durée de la rotation. Cependant, une rotation de culture peut parfois évoluer dans le temps. Certaines années, une parcelle peut présenter des changements de rotation par l'insertion de cultures économiquement valorisables à

une année donnée, des cultures intermédiaires ou encore des phases de jachère. De plus, les terres non utilisées pour la culture peuvent être retournées et mises en culture. Ainsi, l'utilisation globale de pesticides, sur un bassin versant ou une région donnée, évolue dans le temps.

L'utilisation totale de pesticides sur chaque grande culture (colza, blé, orge, maïs) est caractérisée pour la Lorraine pour la récolte 2001 (Joulin *et al.*, 2006). La figure A.27 montre des pics d'utilisation de pesticides à l'automne et au printemps.

A ces pics d'utilisation, représentant la pression phytosanitaire en Lorraine, est associée une période de « sensibilité des eaux de surface » (figure A.27). Cette période de sensibilité²⁰, comprise entre le 1^{er} mars et le 20 novembre, est caractérisée par des épisodes pluvieux de forte intensité coïncidant avec des périodes d'épandage de pesticides (Joulin *et al.*, 2006).

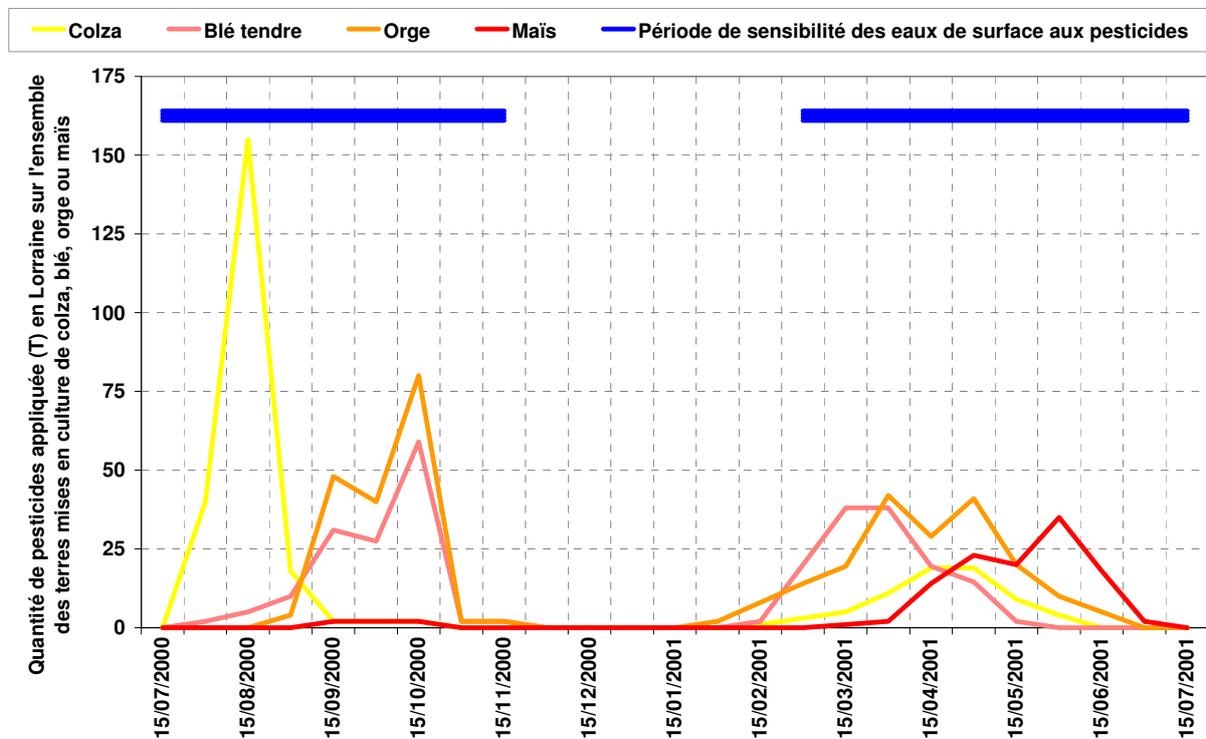


Figure A.27 : Quantité de pesticides épandues sur les grandes cultures en Lorraine (2000-2001) et sensibilité des eaux de surface sur la période de culture (Joulin *et al.*, 2006).

Durant la période de sensibilité, les bassins versants sont soumis à une forte pression pesticide. Une partie des applications, sur toutes cultures confondues, est susceptible de contaminer les eaux de surface. En effet, d'après Pimentel (1995), les quantités appliquées entrant réellement en contact avec leur cible biologique sont très faibles (inférieures à 0,3%).

²⁰ La sensibilité est définie par le COPREN comme le caractère pour les milieux aquatiques d'être plus ou moins facilement dégradés sous l'effet d'une arrivée de polluants en leur sein. L'établissement de la période de sensibilité est basé sur l'analyse fréquentielle des données météo locales recueillies pendant 30 ans et sur les calendriers d'application de pesticides

Le reste se disperse dans les autres compartiments de l'environnement : l'air, le sol, l'eau et le biota (cf Chapitre A. 2 et A. 3). La nature et la quantité des pesticides épandus sur un bassin versant, ainsi que les pratiques culturales vont déterminer le profil de contamination observé dans les eaux de surface. Par exemple, en ce qui concerne le type de culture et les épandages de pesticides associés aux pratiques culturales, Huber *et al.* (2000) ont démontré que, dans le cas de grandes cultures, la contamination des eaux était caractérisée par la présence des herbicides alors que les fongicides sont prédominants dans l'eau dans le cas de la viticulture.

A. 4. 3. 2. POTENTIEL DE CONTAMINATION DES EAUX D'ETANGS LORRAINS

Le potentiel de risque de contamination des eaux par les produits phytosanitaires a été déterminé pour la Lorraine en 2001 (Joulin, 2006). La figure A.28 présente la cartographie du potentiel de contamination des eaux de surface en 5 classes, allant de « très faible » à « très fort ». Ces classes sont basées sur le croisement des données relatives à la pression pesticide et à la vulnérabilité²¹ des eaux de surface. Le nord et le centre de la région Lorraine présente un potentiel de contamination plus fort, conformément à la forte pression pesticide s'exerçant sur cette partie de la Lorraine (figure A.27). Ces zones à très fort potentiel de contamination des eaux de surface sont également les zones où se regroupent une grande partie des étangs lorrains : le pays des étangs à l'est de la Lorraine (Zone 1), et les étangs du parc naturel régional à l'ouest de la Meurthe-et-Moselle (Zone 2).

²¹ La vulnérabilité des eaux est définie par le CORPEN comme la propriété d'un milieu aquatique à être atteint par un polluant.

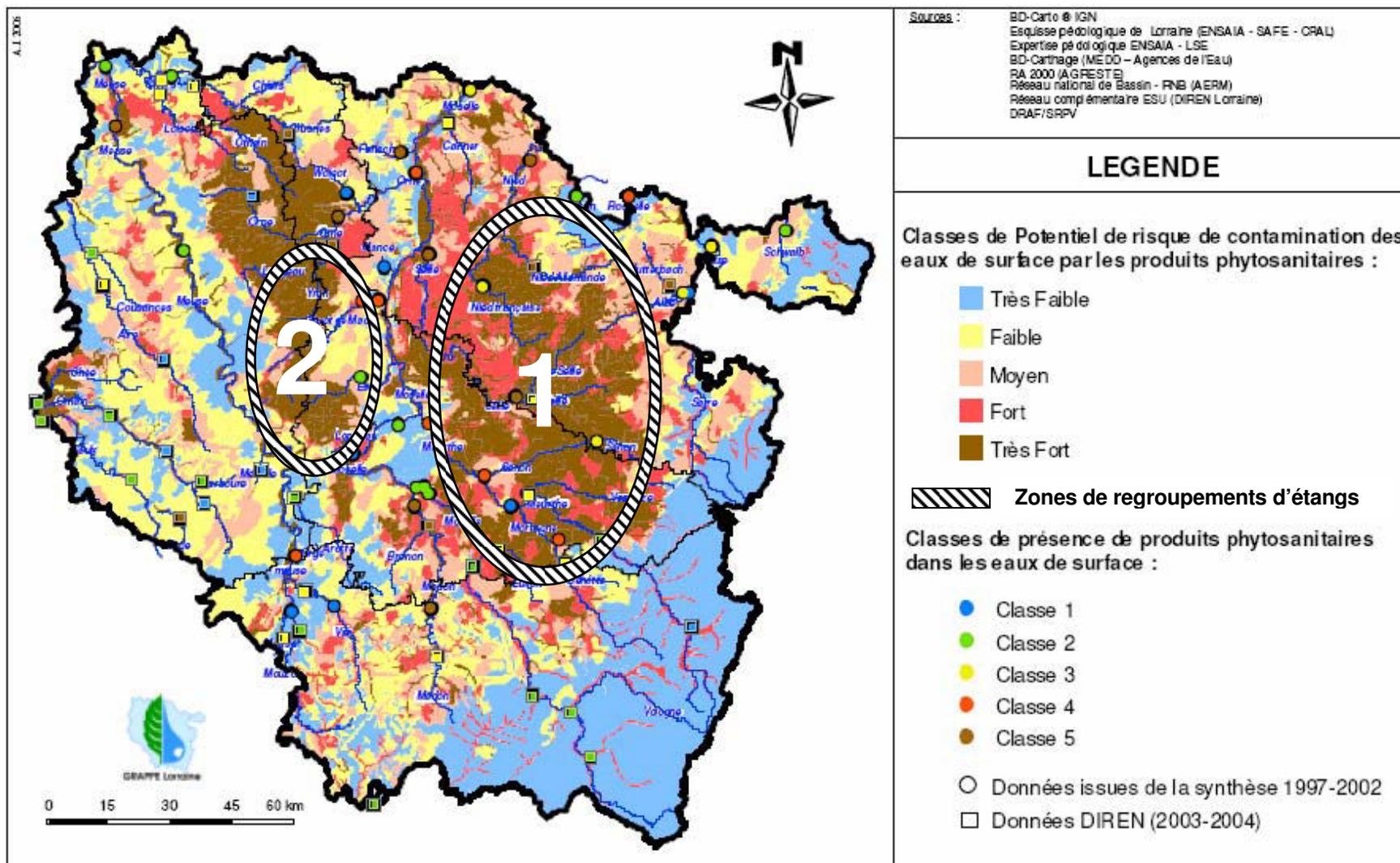


Figure A.28 : Potentiel de contamination des eaux de surfaces et localisation des zones regroupant les étangs en Lorraine (d'après Joulin et al., 2006)

L'intérêt pour ces milieux aquatiques particuliers a conduit à l'intégration du système étang dans des programmes de recherche nationaux (Pôle relais mares, zones humides intérieures et vallées alluviales), ANR (AvuPur ; Programme DIVA2 - Action Publique, Agriculture et biodiversité, ANR Systerra PISCEnLIT...) et européens (Ecolagunes ; Pro-pond project de l'EPCN²² ...) au cours de la dernière décennie. Mais peu de projets s'intéressent directement à la contamination de ces milieux et de la production piscicole qui en est issue. Et ce, malgré les différentes propriétés de l'étang (figure A.29) qui font de ce milieu un système d'étude intéressant, pour répondre à des problématiques liées à la qualité sanitaire des produits vis-à-vis des contaminants ou liées aux mécanismes de la contamination des milieux.

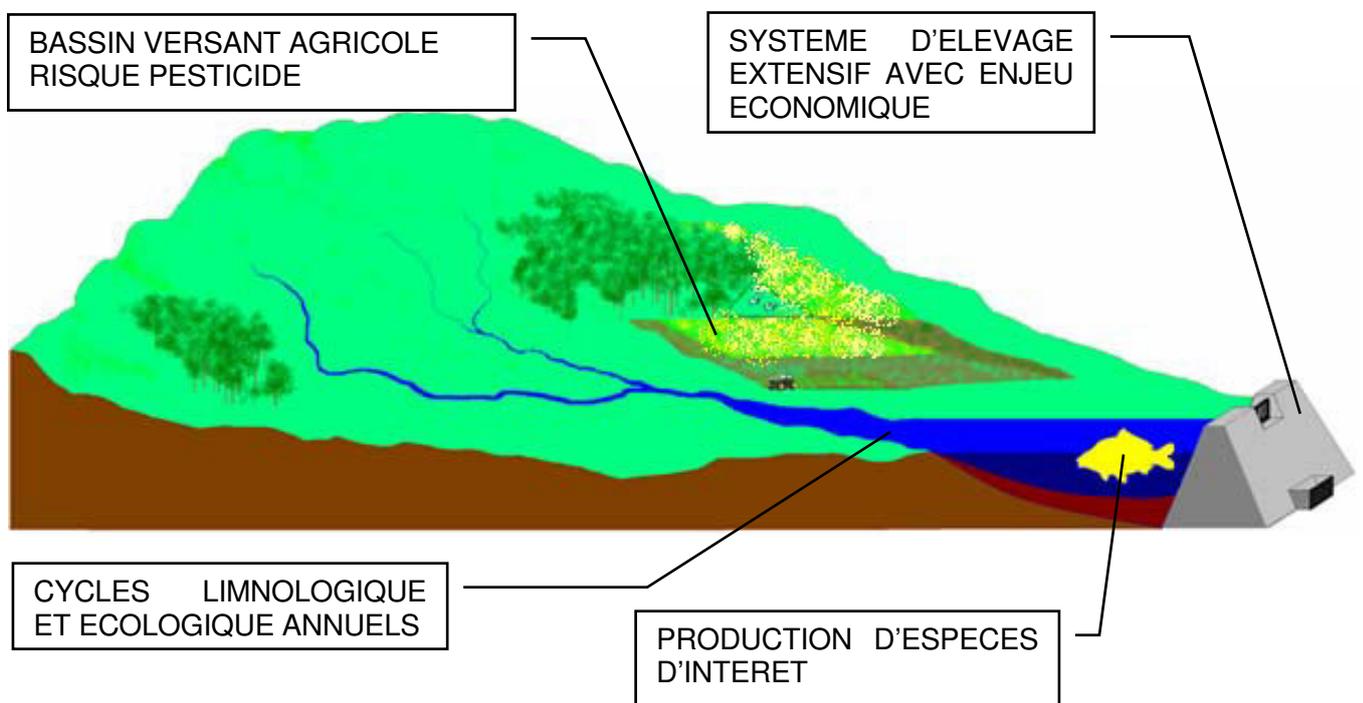


Figure A.29 : L'étang comme modèle pour l'évaluation de la contamination des milieux aquatiques

²² EPCN : European Pond Conservation Network

OBJECTIFS ET HYPOTHESES DE TRAVAIL

Dans un souci de cohérence entre la politique agricole d'une part et les préoccupations de santé publique d'autre part, le projet s'intéresse à la qualité de la chair des poissons d'eau douce face à une contamination en pesticides. Ce travail s'inscrit dans une démarche globale de détermination *in-situ* des niveaux de pesticides dans le milieu « étang » et dans la chair de poisson d'eau douce, dans le contexte Lorrain de polyculture en étang de barrage (exploitation annuelle), soumis à une pression pesticide sur le bassin versant.

Un premier objectif est donc de déterminer les teneurs dans le milieu et la chair de poisson par le dosage multi-résidus de pesticides d'intérêt. Ces teneurs seront reliées aux apports de pesticides sur le bassin versant et au potentiel de contamination de ces apports pour les eaux de surface. D'autres facteurs liés aux propriétés des molécules, des bassins versants, des étangs et des espèces dulcicoles seront également explorés. En effet, la littérature (*cf* Chapitre A) montre clairement une influence de nombreux facteurs dans les processus de dissipation des pesticides dans le milieu aquatique et la faune piscicole :

- les caractéristiques des molécules et particulièrement leur Kow (Coefficient de partage octanol-eau), leur solubilité dans l'eau et leur pression de vapeur ;
- les conditions environnementales (pratiques agricoles, climat et météorologie)
- Les caractéristiques des milieux (superficie des bassins versants, volume en eau des étangs, caractéristiques topologiques).
- les caractéristiques des espèces biotiques réceptrices (stratégie de vie, physiologie, capacité métabolique).

A cette démarche *in-situ* s'ajoute l'évaluation *ex-situ* du rôle de la voie alimentaire dans les mécanismes d'accumulation des pesticides dans le muscle. Un deuxième objectif est donc d'évaluer les paramètres et cinétiques d'accumulation et d'épuration, liés à une exposition chronique pour deux espèces d'étang : la carpe (*Cyprinus carpio*) et la perche (*Perca fluviatilis*). Cette démarche s'appuiera sur l'élaboration d'une méthode de contamination alimentaire par un mélange de pesticides et une méthode de dosage multi-résidus.

Chapitre B. CARACTERISATION DES SITES D'ETUDE

B. 1. DEMARCHE

Ce chapitre vise à renseigner les caractéristiques des sites d'étude²³, qui pourraient influencer ou expliquer les niveaux de contaminants en étang (qui seront exposés dans le chapitre D), dans les matrices environnementales (eau, sédiment) et biologiques (poissons).

Les sources de pesticides sur le bassin versant seront caractérisées par des enquêtes menées auprès des agriculteurs portant sur les épandages et les pratiques sur chaque parcelle, à l'échelle de plusieurs années (2003-2009). Les facteurs relatifs au bassin versant seront également recherchés, notamment la topographie et la nature du sol, qui peuvent influencer la dissipation des pesticides (cf. Chapitre A). Les étangs de barrage, fréquents en Lorraine, peuvent recevoir l'eau de leur bassin versant durant tout le cycle de grossissement des poissons. L'eau étant un vecteur important de pesticides vers le milieu aquatique, les étangs de barrage peuvent de ce fait, être affectés par les pratiques agricoles sur leur bassin versant. Ainsi, estimer un bilan hydraulique sera nécessaire. De même, connaître la qualité générale de l'eau et les pratiques d'élevage en étang peut permettre de discuter les profils de contamination.

B. 2. CHOIX DES SITES

B. 2. 1. CRITERES DE CHOIX

Cinq sites ont été choisis tels que *i*) les étangs de barrage soient à vocation piscicole et représentatifs du contexte lorrain (ITAVI, 1999) et que *ii*) les bassins versants aient des caractéristiques variées (forêt, prairies, cultures, zone agri-mieux). De plus, certains critères supplémentaires sont respectés :

- Gestion des étangs à des fins piscicoles avec production en polyculture (amendements faibles) et vidange annuelle afin d'être représentatifs du mode de gestion global des étangs lorrains, 68% d'entre eux étant vidangés annuellement (ITAVI, 1999)
- Présence d'un réseau trophique piscicole composé essentiellement de gardons (*Rutilus rutilus*), de tanches (*Tinca tinca*), de carpes (*Cyprinus carpio*), de perches (*Perca fluviatilis*) et de prédateurs supérieurs tels le brochet (*Esox lucius*) ou le

²³ Un site se compose d'un étang et de son bassin versant topographique

Sandre (*Sander lucioperca*) ; afin de comparer le devenir des pesticides chez les espèces étudiées²⁴ dans des conditions de réseau trophique similaires.

Le choix des sites se base enfin sur le choix de pisciculteurs volontaires et sensibles au projet. Cela nous permet de contrôler certains paramètres nécessaires à l'étude tels que les caractéristiques des espèces empoissonnées (nature, origine, taille). Les pratiques sont de même légèrement modifiées lors de la pêche pour permettre le marquage des populations poissons échantillonnées et les différents prélèvements programmés.

B. 2. 2. PRESENTATION DES SITES

Les cinq sites étudiés se situent dans l'Est de la France (figure B.1). La superficie des étangs sélectionnés varie de 1,2 à 18,6 Ha et celle des bassins versants de 48,4 à 607,4 Ha. Le nombre d'exploitants agricoles est faible (maximum 23).

SITE	LONGITUDE	LATITUDE		SUPERFICIE	SUPERFICIE	NOMBRE
				ETANG	BASSIN	D'AGRICULTEURS
				(Ha)	(Ha)	PRESENTS
C0	05°48'38" E	48°46'11" N		5,2	56,7	0
C25	06°19'15" E	48°44'19" N		1,4	607,4	12
C45	06°44'21" E	48°45'21" N		5,9	48,4	1
C75	06°30'58" E	48°58'45" N		18,6	498,7	23
C85	06°22'02" E	48°26'32" N		1,2	81,2	4

Figure B.1 : Localisation géographique, photographie et caractéristiques des sites.

En Lorraine, les étangs de barrage font partie intégrante du paysage rural. Conformément aux critères de choix de ces sites, ils sont situés dans une zone de très fort potentiel de risque de contamination des eaux superficielles par les produits phytosanitaires (Joulin *et al.*, 2006) (figure B.2), excepté pour le site C-0 qui se situe à la jonction entre zone à très fort risque et faible risque.

²⁴ Les espèces étudiées sont la carpe, la perche et le gardon.

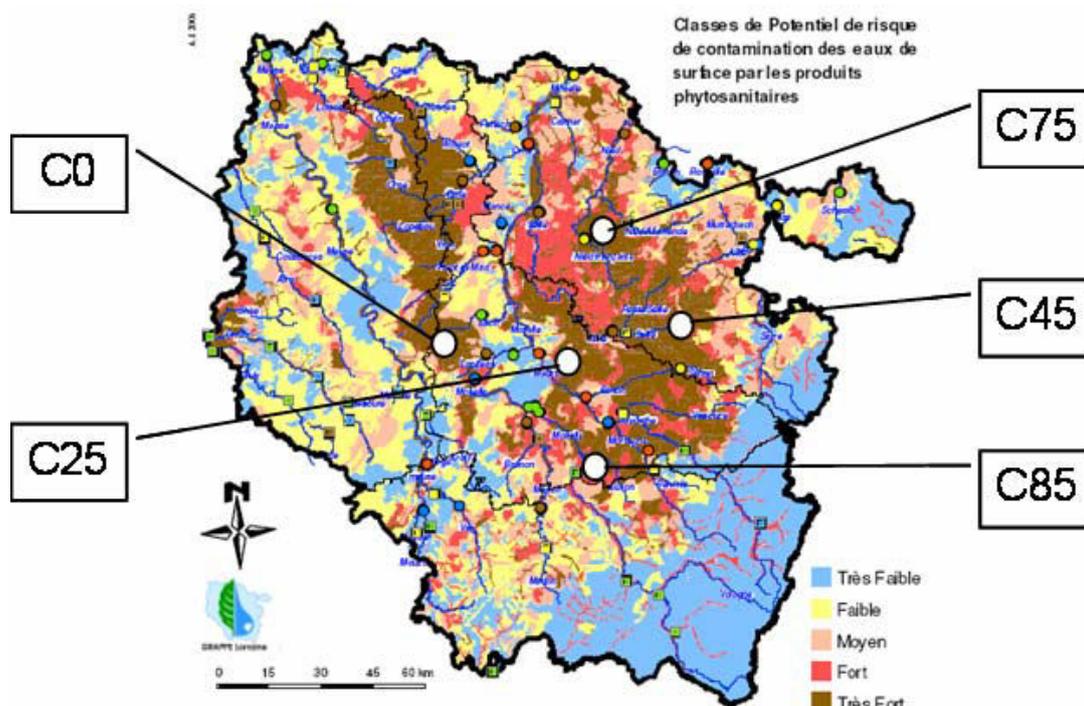


Figure B.2 : Localisation des sites sur la carte de potentiel de risque de contamination des eaux de surface par les produits phytosanitaires (Adaptée de Joulin et al., 2006)

B. 3. MATERIELS ET METHODES

B. 3. 1. CARACTERISATION DES BASSINS VERSANTS

B. 3. 1. 1. ENQUETES

Les agriculteurs présents sur les bassins versants des cinq sites retenus sont recensés par une enquête auprès des maires et la consultation du cadastre. Chaque agriculteur est rencontré afin de présenter le projet d'étude et d'obtenir les informations nécessaires à la connaissance des usages et pratiques à l'échelle parcellaire (annexe 1). Cette enquête est relative *i*) aux usages des pesticides (nature, quantité et surface traitée) *ii*) aux pratiques (type de culture, informations générales sur l'exploitation) *iii*) aux caractéristiques des parcelles (drainage, superficie). Les parcelles communales sont également concernées par le biais d'une enquête auprès des maires (friches). Cette démarche d'enquête a permis de réaliser un historique précis pour chaque parcelle à partir de l'année de culture 2002-2003 et les données sont mises à jour annuellement, en tenant compte des remaniements de parcelles et des ventes. Les résultats des enquêtes sont partiellement cartographiés avec, en particulier, l'affichage des assolements annuels. La proportion du bassin versant mis en culture permet de codifier les 5 sites : C-0, C-25, C-45, C-75, C-85. Le site C-0 présente un bassin versant composé de forêt non traitée

gérée par l'ONF²⁵. Les sites C-25, C-45 et C-75 présentent respectivement environ 25%, 45% et 75% de la surface du bassin versant mis en culture. Et enfin, le site C-85 a, selon les années, environ 85% de la surface du bassin versant mise en culture, avec la présence de verger.

B. 3. 1. 2. CARTOGRAPHIE DES PRATIQUES SUR BASSIN VERSANT

Les cartes sont réalisées par SIG²⁶ (MapInfo 7.0) en coordonnées Lambert II afin d'homogénéiser les données. Ces données géographiques sont basées sur le géoréférencement de cartes IGN 1/25000 (Lambert II), de cartes cadastrales fournies par les maires (Lambert I) ou encore de photographies aériennes orthorectifiées PAC²⁷ fournies par les agriculteurs concernés (Lambert II). Les limites du bassin versant topographiques sont réalisées manuellement en reliant les points de plus hautes altitudes tels que l'eau précipitée dans la zone ruisselle vers le point de sortie d'étang. Des relevés de terrain sont également réalisés pour affiner la cartographie (Magellan, explorist 300, Lambert II). Les enquêtes auprès des agriculteurs ont également permis l'établissement de contours de bassin versant plus précis que de simples délimitations topographiques basées sur carte. En particulier, les entretiens ont permis la prise en compte de modifications locales comme des modifications légères du paysage (buttes...) accompagnées d'un drainage artificiel vers l'extérieur du bassin versant. La mise en forme géographique concerne les assolements (à partir des enquêtes) et la nature des sols (à partir de cartes géologiques 1/50000 – annexe 2). Le SIG permet également de calculer les surfaces des bassins versants, des parcelles, la longueur des ruisseaux.

B. 3. 2. CARACTERISATION DES ETANGS

B. 3. 2. 1. GESTION DES ETANGS

Des enquêtes auprès des pisciculteurs, exploitant les étangs sélectionnés pour l'étude, sont réalisées et concernent leurs pratiques de gestion piscicole. Ces informations permettent de mieux appréhender l'historique de gestion de l'étang et de sa biomasse à l'échelle temporelle du cycle de production. Ainsi, les informations relatives aux caractéristiques générales du plan d'eau sont enquêtées, et intéressent la date de création de l'étang, ses caractéristiques topologiques (superficie, profondeurs moyenne et maximale, alimentation en eau permanente ou non, inclinaison des berges) et les problèmes ponctuels (*i.e.* années de pertes d'eau, débordements). Les informations sur la gestion de l'étang nous renseignent sur les espèces produites, la période de pêche et la destination des produits pêchés, les quantités alevinées et

²⁵ ONF : Office National des Forêts.

²⁶ SIG : Système d'Information Géographique.

²⁷ PAC : Politique Agricole Commune de l'Union Européenne.

l'origine des alevins, les amendements, les interventions pour lutter contre les algues ou végétaux, les périodes d'assec.

B. 3. 2. 2. BILAN HYDRAULIQUE THEORIQUE DES ETANGS

Le bilan hydraulique de l'étang est évalué pour le cycle de production TF²⁸ à partir des données météorologiques locales MétéoFrance, des mesures de profondeur et des indicateurs relatifs à la nature du sol et de l'assolement sur le bassin versant. De la même manière que pour les bassins versants, les étangs sont cartographiés afin de calculer les paramètres topographiques tels que la superficie de l'étang et la longueur des berges ou encore la longueur du ruisseau, qui vont être utilisés dans les calculs hydrauliques. Ces données permettent de calculer le volume de l'étang, le temps de renouvellement des eaux de l'étang ainsi que les volumes de précipitations sur le bassin versant et l'étang, les pertes par infiltration, par évaporation et par évapotranspiration. Il s'agit ici de dresser un bilan hydraulique théorique dont l'intérêt est de donner un ordre de grandeur des gains et pertes d'eau sur un cycle annuel de production piscicole. Le bilan hydraulique d'un étang de barrage sur un cycle de production peut ainsi être calculé selon la formule de (Kenneth et al., 1995) :

Équation 8 : Bilan hydraulique d'un étang de barrage sur un cycle de production..... $V_e = Q_i - Q_0$

Avec le volume de l'étang (V_e , m³, calculé mensuellement) sur la durée du cycle complet de production piscicole,

Q_i le volume d'eau entrant sur cette période

Q_0 le volume sortant sur cette période.

Les étangs étudiés n'ont pas la même profondeur sur toute leur surface, celle-ci est décroissante au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la digue pour devenir nulle en queue d'étang. Aux vues de ces observations et en l'absence de relevé bathymétrique, la coupe transversale de ces étangs est schématisée sous la forme d'un triangle rectangle inversé afin d'en estimer le volume par l'équation 9.

Équation 9 : Calcul du volume d'un étang de barrage..... $V_e = S_e \times \frac{H_e}{2}$

Où S_e (m²) est la surface de l'étang

H_e (m) la profondeur en eau à la digue

Équation 10 : Volume d'eau entrant sur un cycle de production..... $Q_i = V_p + V_R + V_D + V_N$

Équation 11 : Volume d'eau sortant sur un cycle de production $Q_0 = V_T + V_S + V_F + V_I$

Où, lorsque que l'on considère le temps d'un cycle de production (Musy et Higy, 2004 ; MétéoFrance, 2009) :

V_p est le volume d'eau précipité dans l'étang, $V_p = S_e \times P$

²⁸ Le cycle de production TF correspond au temps entre les campagnes d'échantillonnage T0 et TF, soit le cycle fin 2007-fin 2008 pour les sites C-0, C-25, C-85 et début 2008- début 2009 pour les sites C-45 et C-75

V_R le volume d'eau ruisselé sur le bassin versant, $V_R = C \times S_{BV} \times P$

V_D le volume drainé sur le bassin versant, $V_D = I_{BV} \times S_D$

V_T le volume d'eau évapotranspiré et transpiré de l'étang, $V_T = ETP_{(Penmann)} \times S_e$

V_N le volume d'eau issu de la nappe, V_S le volume d'eau partant par surverse, V_F la volume d'eau partant par les fuites : ces volumes ne sont pas calculés de manière différenciée mais sont déduites des variations de volume calculées

V_I le volume d'eau infiltré sous l'étang. Tous les volumes sont en m^3 , $V_I = S_e \times I_e \times \Delta T$

P sont les hauteurs de précipitations (m),

S_e , S_{BV} , S_D sont respectivement les surfaces (m^2) de l'étang, du bassin versant (étang exclu) et la surface de bassin versant drainée (étang exclu).

C sont les coefficients de ruissellement (dépendant de la pente moyenne et du type de sol – les cartographies géologiques). Les coefficients C sont présentés en annexe 2,

I_{BV} , I_e les coefficients d'infiltration au niveau du bassin versant de l'étang (m),

$ETP_{(Penmann)}$ l'évapotranspiration au niveau de l'étang (m) durant le cycle de production, donnée par MétéoFrance.

Tous ces calculs impliquent d'être en situation particulière d'étang de barrage sans ruisseau de contournement

Le temps de renouvellement de l'eau de l'étang sera également estimé et correspond au temps nécessaire pour que le volume d'eau en entrée d'étang (ou volume d'eau en sortie) soit égale au volume de l'étang (t tel que $Q_i = V_e$).

Outre l'évaluation du bilan hydraulique de l'étang qui peut conditionner le devenir des molécules dans le milieu, ces calculs permettront aussi de discuter du temps d'apparition des molécules épandues ainsi que de leur temps de résidence dans l'eau.

B. 3. 2. 3. PHYSICO-CHIMIE DES EAUX

Afin de mieux caractériser le compartiment eau, les paramètres physiques sont mesurés par une sonde multiparamétrique de terrain (Horiba, sonde U10, Les Ulis, France) préalablement étalonnée. L'oxygène dissous (mg/L), le pH, la conductivité ($\mu S/cm$), la turbidité (NTU) et la température de l'eau ($^{\circ}C$) sont ainsi mesurés. Des mesures de profondeur²⁹ et de transparence par méthode du disque de Secchi (moyenne des profondeurs de disparition et d'apparition du disque de Secchi) sont également réalisées à la digue.

L'analyse physico-chimique de l'eau concerne le dosage colorimétrique (Cary I, spectromètre Varian) des nitrates, nitrites, ions ammonium et orthophosphates. Les ions ammonium sont dosés par la méthode du bleu d'indophénol. En milieu alcalin et en présence de nitroprussiate

²⁹ La mesure de la profondeur est réalisée avec le disque de Secchi et non par un fil à plomb. En effet, une surface plane permet de mesurer la hauteur d'eau H_e (m), définie dans la partie B.3.2.2, sans que le lest ne s'enfonce dans le sédiment et fausse la mesure.

(catalyseur), les ions ammonium, traités par une solution de chlore et de phénol, donnent du bleu d'indophénol permettant un dosage colorimétrique à une longueur d'onde de 630 nm (NF T90-015-2): Les nitrites sont dosés par la méthode à la sulfanilamide. Les nitrites réagissent avec la sulfanilamide à pH 1,9 en présence de Dichlorure de N-1-naphtyléthylènediamine pour former un complexe pourpre permettant un dosage colorimétrique à 543 nm (NF T-90-013). Les nitrates sont analysés en spectrométrie UV par ajout d'acide chlorhydrique concentré (APHA, 1976). Les orthophosphates sont dosés selon la norme NF T90-023. Ils sont dosés en présence d'acide ascorbique par l'ajout d'un réactif combiné (acide sulfurique, tartrate de potassium et antimoine, molybdate d'ammonium), le tout donnant une coloration de bleu de molybdène permettant un dosage colorimétrique (880 nm).

Ces paramètres, qui caractérisent la qualité générale de l'eau des étangs, sont évalués mensuellement par l'analyse de cinq échantillons d'eau prélevés (entre 9H et 10H du matin) à cinq points de prélèvements géoréférencés sur le pourtour de l'étang (figure B.1), à environ 5 m de la berge.

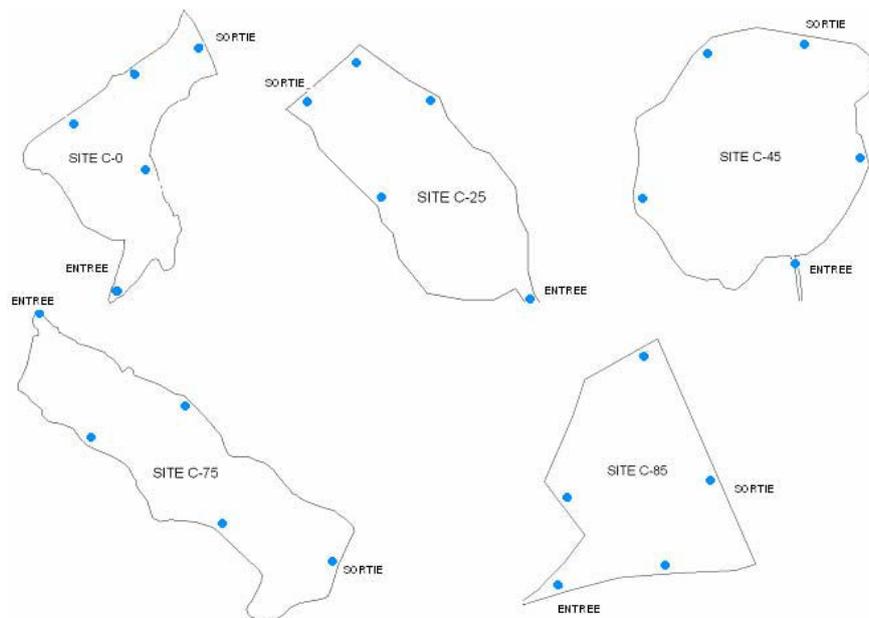


Figure B.3 : Points de prélèvement d'eau (en bleu) pour les analyses physico-chimiques, sur les 5 étangs d'étude

B. 4. CARACTERISATION DES PRATIQUES

B. 4. 1. GESTION DES ETANGS

B. 4. 1. 1. PRATIQUES D'ELEVAGE

Les enquêtes auprès des pisciculteurs nous permettent de compiler des informations générales sur l'étang ainsi que les pratiques d'élevage piscicole (tableau B.1).

Tableau B.1 : Relevé des pratiques en étang selon les enquêtes réalisées auprès des pisciculteurs. (*la pratique a été réalisée durant l'année d'étude, **les pisciculteurs rempoissonnent des étangs)

SITE	C-0	C-25	C-45	C-75	C-85
Création	18 ^{ème} siècle	1972	19 ^{ème} siècle	17 ^{ème} siècle	1930
Alimentation en eau	Intermittente	Permanente	Intermittente	Permanente	Permanente
Pente des berges	Faible	Moyenne	Faible	Faible	Moyenne
Alevinage	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Période alevinage	Automne	Automne* ou Printemps	Printemps	Printemps	Automne
Apport aliment	Rarement	Non	Rare	Parfois céréales* (10T)	Oui déchets de céréales* (20kg)
Fertilisation	Rare	Non	Rare	Oui, fumier* (20T)	Oui nitrates* (6kg)
Dernier curage	Inconnu	Inconnu	1996	Inconnu	1990
Chaulage	Parfois (200 kg/Ha)	Non	Parfois (80kg/Ha)	Parfois (300 kg/Ha)*	Non
Lutte chimique sur chemins à plus de 5m	Non	Non	Non	Non	Automne Glyphosate
Lutte chimique ancienne des chemins (> 5 ans)	Triazines	Non	Non	Non	Inconnu
Temps d'assec	1 jour	1jour	1 mois	2 semaines	1 jour
Période vidange	Automne	Automne	Fin hiver	Fin hiver	Automne
Espèces présentes	Gardon/rotengle Tanche Carpe Perche* Sandre Perche soleil	Gardon/rotengle Tanche Carpe Perche Sandre*	Gardon/rotengle Tanche Carpe Perche Brochet	Gardon/rotengle Tanche Carpe Perche Brochet	Gardon/rotengle Tanche Carpe Perche Brochet
Acheteurs (destination des produits piscicoles)	Associations de pêche, pisciculteurs**	Consommation, exportation, pisciculteurs**, Associations de pêche	Consommation, exportation, pisciculteurs**, Associations de pêche	Pisciculteurs**, Consommation particuliers	Consommation particuliers, pisciculteurs**, Associations de pêche

Les étangs des sites C-25 et C-85 sont de réalisation récente (20^{ème} siècle) alors que les autres sont plus anciens. La conséquence la plus flagrante est relative aux berges, qui sont plus pentues pour les sites récents. Dans les pratiques, tous les étangs sont vidangés et alevinés annuellement, soit au printemps, soit à l'automne. Le temps d'assec est faible (un mois maximum). L'entretien des sédiments se fait par chaulage (de manière irrégulière) et/ou par curage. Selon les pisciculteurs, le chaulage est effectué, soit dans un but de régulation du pH par l'ajout de carbonate de calcium, soit pour améliorer la dégradation bactérienne de la matière organique, donc pour avoir une action de dévasement afin d'espacer les curages. L'entretien des

berges par lutte chimique est rare sauf pour le site C-85, où les chemins, situés à 6m de l'étang, sont traités au glyphosate. La production piscicole est extensive mais quelques apports (non annuels) peuvent être faits, notamment des apports de fumiers ou d'azote à des fins de fertilisation ou des apports de déchets de céréales à des fins alimentaires pour la faune piscicole. La production piscicole est destinée aux pisciculteurs et associations de pêche pour alevinage et aux consommateurs particuliers.

B. 4. 1. 2. BILAN HYDRAULIQUE

B. 4. 1. 2. 1. BILAN THEORIQUE

Les étangs étudiés ont un comportement hydraulique (lors de l'année TF) différent (tableau B.2) malgré la faible variation de conditions climatiques. Les étangs présentant un petit bassin versant ont des exports positifs (C-0, C-85) ou faiblement négatif (C-45), du fait du faible volume d'eau ruisselée issue du bassin versant qui n'est pas toujours suffisant pour compenser l'évaporation et l'infiltration. Les étangs inscrits au sein de grand bassin versant (C-25, C-75) ont un bilan hydraulique positif en relation avec l'important volume ruisselé sur le bassin versant durant le cycle d'exploitation de l'étang. Le ratio A_d/A_o (surface du bassin versant / surface de l'étang) semble être un facteur important pour expliquer les différences hydrauliques. En effet, le temps de résidence de l'eau est inférieur à 1,5 mois pour les étangs d'environ 1 Ha (C-25, C-85). Le site C-25 qui reçoit un important volume ruisselé (A_d/A_o élevé) peut se renouveler totalement en 6 jours. Par contre, le temps de renouvellement de l'eau est deux à trois fois plus important pour les étangs de plus 5 Ha (C-0, C-45, C-75). Dans tous les cas, le temps de renouvellement reste inférieur au temps du cycle de production (environ 1 an).

Tableau B.2 : Bilan hydraulique théorique estimé pour les étangs durant le cycle étudié.

SITE	Gains d'eau Q_i (m³)	Pertes d'eau Q_0 (m³)	Volume moyen (m³)	Bilan théorique (m³)	Temps de Résidence (mois)
C-0	25 237	5 161	40 897	+20 076	4,6
C-25	400 887	28 744	10 973	+ 372 143	0,2
C-45	62 051	70 107	49 517	- 8 056	3,7
C-75	617 036	165 099	283 024	+ 451 937	2,9
C-85	47 095	14 973	11 501	+ 32 122	1,5

Gosset (2009) a évalué le volume et le bilan hydraulique de l'étang du site C-45. Nous allons comparer ses résultats avec ceux que nous obtenons par notre système d'évaluation.

B. 4. 1. 2. 2. COMPARAISON AUX TRAVAUX DE GOSSET (2009)

Gosset (2009) a déterminé, dans le cadre d'une étude sur le rôle hydraulique des étangs, le volume de l'étang du site C-45 par des relevés bathymétriques effectués tous les 25m sur 5 transects (figure B.4) et des mesures journalières de hauteur d'eau. Le volume maximal calculé à partir de ces relevés est de 44 000 m³ pour une hauteur d'eau de 2,22 m. La méthode employée lors de ces travaux de thèse surestime donc le calcul du volume (+12%)

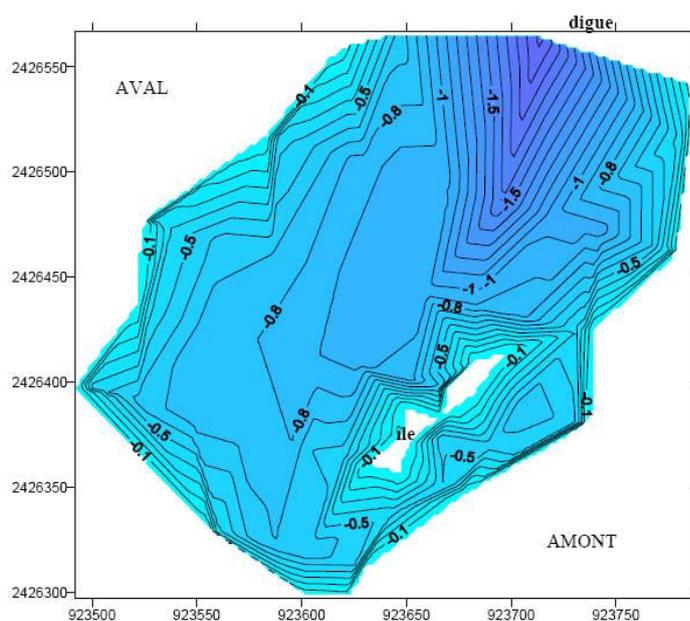


Figure B.4 : Relevé bathymétrique de l'étang du site C-45 (d'après Gosset, 2009)

Dans les travaux de Gosset (2009), sont également mesurés les flux entrants et sortants de l'étang C-45 par des mesures de hauteur d'eau, de débits entrants et sortants journaliers.

La figure B.5 différencie précisément les gains par apport du bassin versant et gains par précipitation directe dans l'étang ainsi que les pertes par infiltration, évaporation et par export vers l'aval (fuites et surverses).

Ces travaux permettent ainsi l'établissement des gains et pertes en eau durant les différentes phases de l'étang et durant le cycle total (tableau B.3).

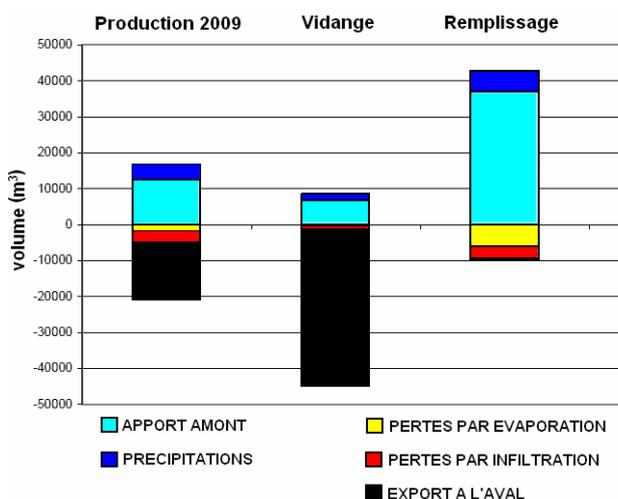


Figure B.5 : Différents types de gains et pertes d'eau de l'étang du site C-45 pour le cycle complet (production, vidange, remplissage)

Le temps de résidence de l'eau est de 5 à 6 mois d'après Gosset (2009), 4 mois selon nos calculs, le volume d'eau dans l'étang est donc intégralement renouvelé deux fois sur le cycle de production annuelle.

Tableau B.3 : Gains et pertes d'eau de l'étang du site C-45 sur le cycle 2009 (d'après Gosset, 2009)

Phases du cycle	Production	Vidange	Remplissage	Cycle total 2008 - 2009
Gains en eau moyens (m ³)	+ 16 664	+8 523	+ 42 818	68 005
Pertes en eau moyennes (m ³)	- 20 977	- 44 985	- 9 900	- 75 862
Bilan	- 4 313	-36 462	+ 32 918	-7 857

Pour le site C-45, nos estimations hydrauliques théoriques pour le bilan à TF et le temps de résidence de l'eau sont donc du même ordre de grandeur que les mesures effectuées pour le cycle 2008-2009 par Gosset (2009), soit environ 8 000 m³ de pertes d'eau.

B. 4. 2. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES EAUX DES ETANGS

Le suivi des paramètres physico-chimiques de l'eau (figure B.6) nous renseigne sur le fonctionnement de l'étang durant le cycle de production étudié. Les prélèvements hivernaux sont difficilement réalisables en raison d'une épaisse couche de glace présente en surface. De plus, les poissons ont une activité réduite en hiver. De ce fait, les données concernent plutôt les périodes printanières et estivales, périodes de forte activité et de grossissement pour les poissons. La figure B.6 permet de mettre en évidence un profil de température d'eau commun aux 5 étangs. Celui-ci s'échelonne de $4,9 \pm 1,6$ °C fin février à $19,8 \pm 0,5$ °C fin août, quelques mesures en hiver montrent une température de 3 – 4 °C en décembre et janvier. Mais de nombreuses différences sont caractérisées pour les autres paramètres. L'évolution et les teneurs en oxygène dissout restent similaires entre les différents étangs hormis une chute brutale du niveau en oxygène pour l'étang du site C-25 fin juillet 2008 (0,45 mg/L).

Le pH est compris entre 7,0 et 9,3 ; l'eau de l'étang du site C-45 étant la plus basique et celle de l'étang du site C-0 étant la plus proche de la neutralité. En ce qui concerne la transparence de l'eau, les profils sont variables, avec des pics de transparence au printemps et en automne. Les eaux de l'étang du site C-85 présentent la transparence la plus élevée (pouvant atteindre 100% de la hauteur d'eau totale), excepté en juillet, où un bloom d'algues filamenteuses a été observé.

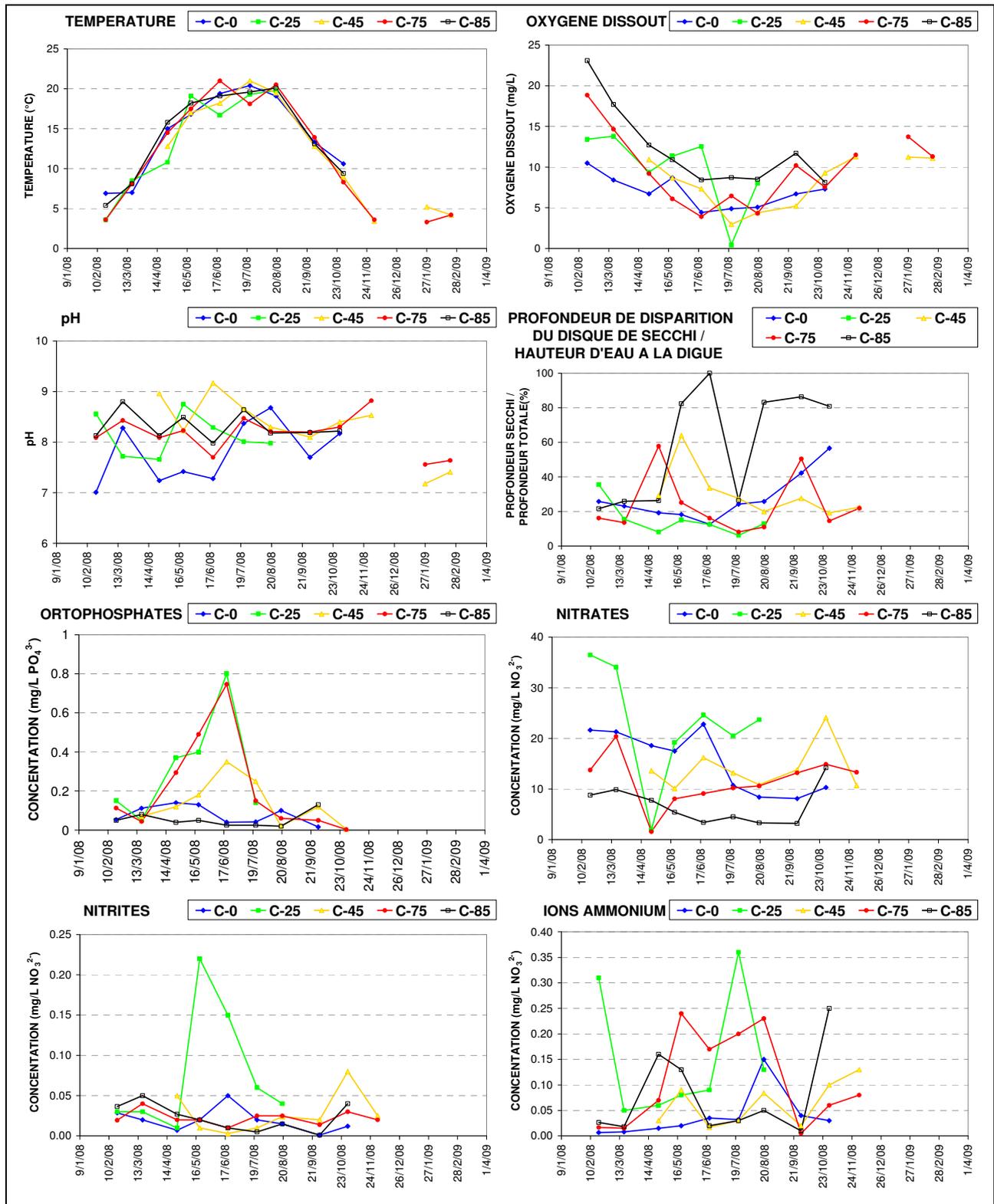


Figure B.6 : Paramètres physico-chimiques de l'eau, mesurés en étang.

Les éléments nutritifs azotés et phosphorés présentent également des profils variables. Les teneurs en orthophosphates dans les étangs du site C-25, C-45 et C-75 présentent un pic fin juin (de 0,8 0,35 et 0,75 mg P / L, respectivement) probablement dû à des apports d'engrais sur le

bassin versant. Ce pic de phosphate est favorable au développement phytoplanctonique. Le site C-0 et le site C-85 ne présentent pas ce pic d'orthophosphates en juin.

L'absence de pic pour le site C-0 pourrait être expliquée par l'absence d'apport d'engrais sur ce bassin versant géré par l'ONF. Pour le site C-85, le bassin versant est majoritairement occupé par des vergers et des cultures dont le semis est fait sur couvert et où les apports d'engrais sont restreints.

Les teneurs en nitrates présentent des profils fluctuants pour tous les étangs. Globalement, les teneurs sont élevées en sortie d'hiver (22 ± 10 mg N / L). En effet les nitrates ne sont pas ou peu dégradés par les bactéries en hiver, en raison de températures moyennes ($3 - 4$ °C) de l'eau trop faible pour un développement bactérien suffisant. Une chute des teneurs de nitrates au printemps (12 ± 7 mg N / L) est observée et pourrait être expliquée par les pics de nitrites et/ou ammonium à cette période, liés probablement à une reprise de l'activité bactérienne. Cependant, les teneurs en nitrates ont tendance à augmenter de nouveau en octobre, peut-être en raison des apports d'engrais sur le bassin versant, récemment lessivés par les pluies précédant le prélèvement.

L'étang du site C-25 présente une singularité : une mortalité de poissons importante (100% des sandres, environ 90% des perches et 1% des carpes) a été observée fin juillet. Une cause probable serait la concentration en oxygène dissout (0,45 mg/L, 5% de saturation) mesurée fin juillet, trop faible pour la survie de nombreuses espèces (Bennech et Lek, 1981). Cependant, il reste possible que des interactions avec d'autres facteurs de stress et /ou de toxicité tels que l'ammoniac ou les pesticides soient la cause de cette mortalité.

Au final, l'étang de barrage montre une connection étroite avec son bassin versant, en raison d'apports d'eau durant tout le cycle de production. Cela influe aussi bien sur son comportement hydraulique que physico-chimique. Ainsi, il est important de définir le plus précisément possible les caractéristiques du bassin versant qui, couplées aux facteurs relatifs à l'étang, peuvent aider à interpréter le devenir des pesticides dans ces milieux aquatiques particuliers.

B. 4. 3. PRATIQUES AGRICOLES SUR LES BASSINS VERSANTS

B. 4. 3. 1. OCCUPATION DU SOL

Les sites sont localisés en région rurale, la proportion de zone urbanisée est faible (< 5 % du bassin versant). La totalité du couvert végétal présent sur le bassin versant du site C-0 est composée de forêt. Les quatre autres sites présentent des proportions variables de superficies mises en culture. La description cartographique des assolements est présentée en annexe 2.

La superficie des terres mises en culture varie d'une année à l'autre, en fonction des mises en friche ponctuelles de certaines parcelles ou des retournements de prairies suite à une vente. Le site le plus touché par ce type de remaniement est le site C-25. Celui-ci présentait 23% du bassin versant mis en culture en 2003 contre 29% en 2009. La figure B.7 montre les proportions de surfaces des bassins versants mises en culture en 2008 et la nature de ces cultures.

Les 5 sites suivent un gradient de mise en culture s'échelonnant, en 2008, de 0% pour le site C-0 à 81,9% pour le site C-85. La situation des sites C-25, C-45 et C-75 est intermédiaire avec, respectivement, 27,8%, 45,8% et 72,7% de la superficie du bassin versant mise en culture cette année-là. Les cultures principales de ces parcelles sont le colza, le blé, l'orge et le maïs, excepté pour le site C-85 qui présente aussi des cultures de fruits et légumes (figure B.7). La proportion de chaque culture varie annuellement en fonction des rotations culturales pratiquées sur les bassins versants.

B. 4. 3. 2. ROTATIONS DE CULTURES

Une rotation culturale correspond à une même succession de cultures qui se reproduit dans le temps en cycles réguliers. En général, une seule culture est récoltée par année mais lors de la période inter-culturale, la parcelle peut accueillir une culture intermédiaire. Les rotations présentes sur les quatre bassins versants agricoles de cette étude comprennent une à six successions (figure B.8). Le bassin versant du site C-25 est le seul site à présenter une forte proportion de rotations incluant le maïs, notamment en monoculture (12% des terres mises en culture). Les bassins versants des sites C-45 et C-75 ont des rotations dominées par la culture de colza (> 85% des terres mises en culture). Le bassin versant du site C-85 est marqué par la présence de rotations plus diversifiées incluant le colza, le maïs mais aussi les fraises, le pois et à titre exceptionnel le chanvre (récolte 2008). Ce site est aussi particulier du fait de la présence de vergers (culture pérenne). Entre les cultures annuelles inscrites dans les rotations, le sol est majoritairement mis à nu pour les bassins versants des sites C-25, C-45 et C-75. Par contre, une culture intermédiaire est réalisée sur les parcelles du site C-85 pour satisfaire aux pratiques de semis sous couvert végétal (figure B.8) et limiter l'érosion du sol.

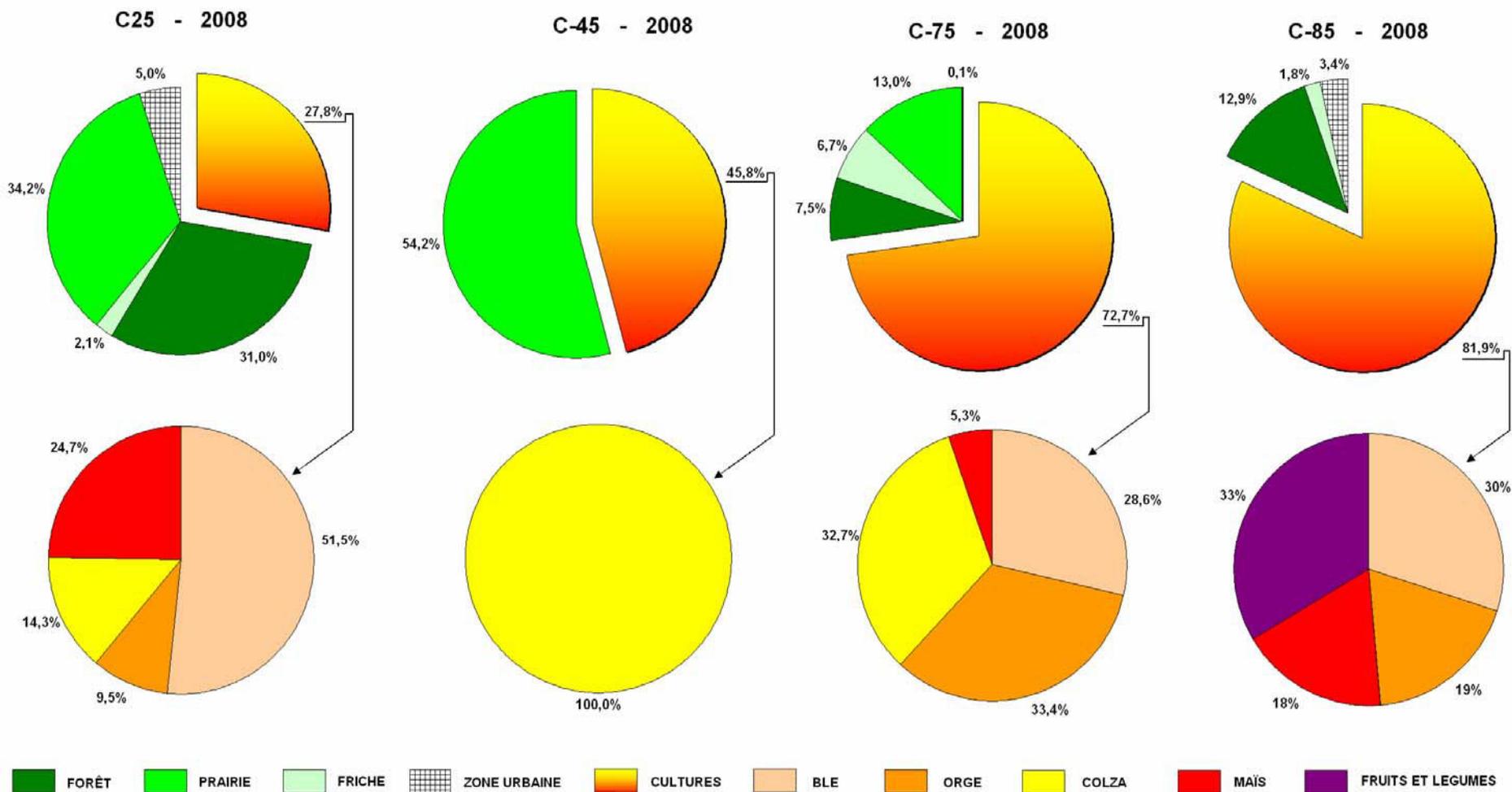
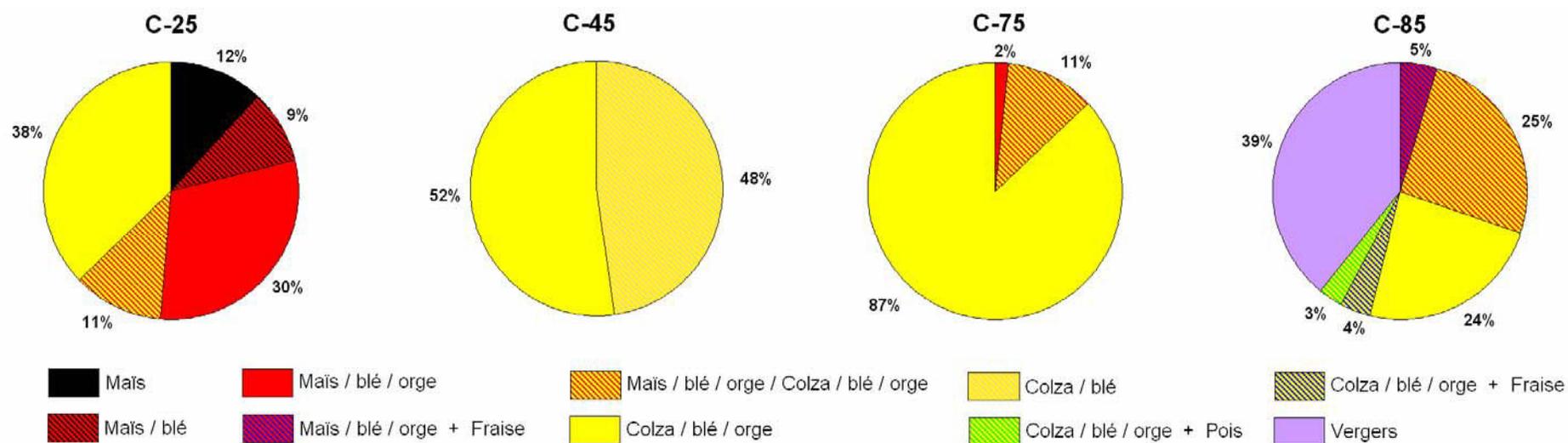


Figure B.7 : Occupation des sols (% de la superficie du bassin versant) pour les 4 sites présentant des parcelles en culture et proportion de chaque culture (% de la superficie du bassin versant mise en culture) pour l'année de récolte 2008.



SITE	C-25	C-45	C-75	C-85
Utilisation majoritaire ³⁰ du sol en dehors de la culture principale	Sol nu	Sol nu	Sol nu	Préparation du sol pour semis sous couvert végétal (Avoine/Vesce simultanées)

Figure B.8 : Rotations de cultures (% de la superficie du bassin versant mise en culture) et utilisation du sol hors période de culture pour 4 bassins versants (établies à partir des récoltes 2003 à 2009).

³⁰ Pratiques sur plus de 75% des parcelles cultivées (Hors parcelles en vergers).

B. 4. 3. 3. PESTICIDES EPANDUS

B. 4. 3. 3. 1. CALENDRIERS DES EPANDAGES LOCAUX

D'après les enquêtes réalisées auprès des agriculteurs sur les quatre bassins versants présentant des parcelles en culture, les périodes d'utilisations de pesticides sont dépendantes du climat local qui présente la particularité d'un hiver long durant lequel les sols sont gelés. Les épandages se font en début d'automne et en fin du printemps (de fin août à fin octobre et de fin mars à début juin respectivement). La figure B.9 montre ces itinéraires culturaux pour les trois cultures majoritaires dans les rotations culturales utilisées sur les bassins versants étudiés. Deux saisons d'épandages de pesticides apparaissent : de fin août à fin novembre pour la saison automnale et de fin mars à fin juin pour la saison printanière. Ces calendriers sont en accord avec les recensements de quantités de pesticides épandus décrits par Joulin *et al.* (2006) pour ces cultures (figure A.27).

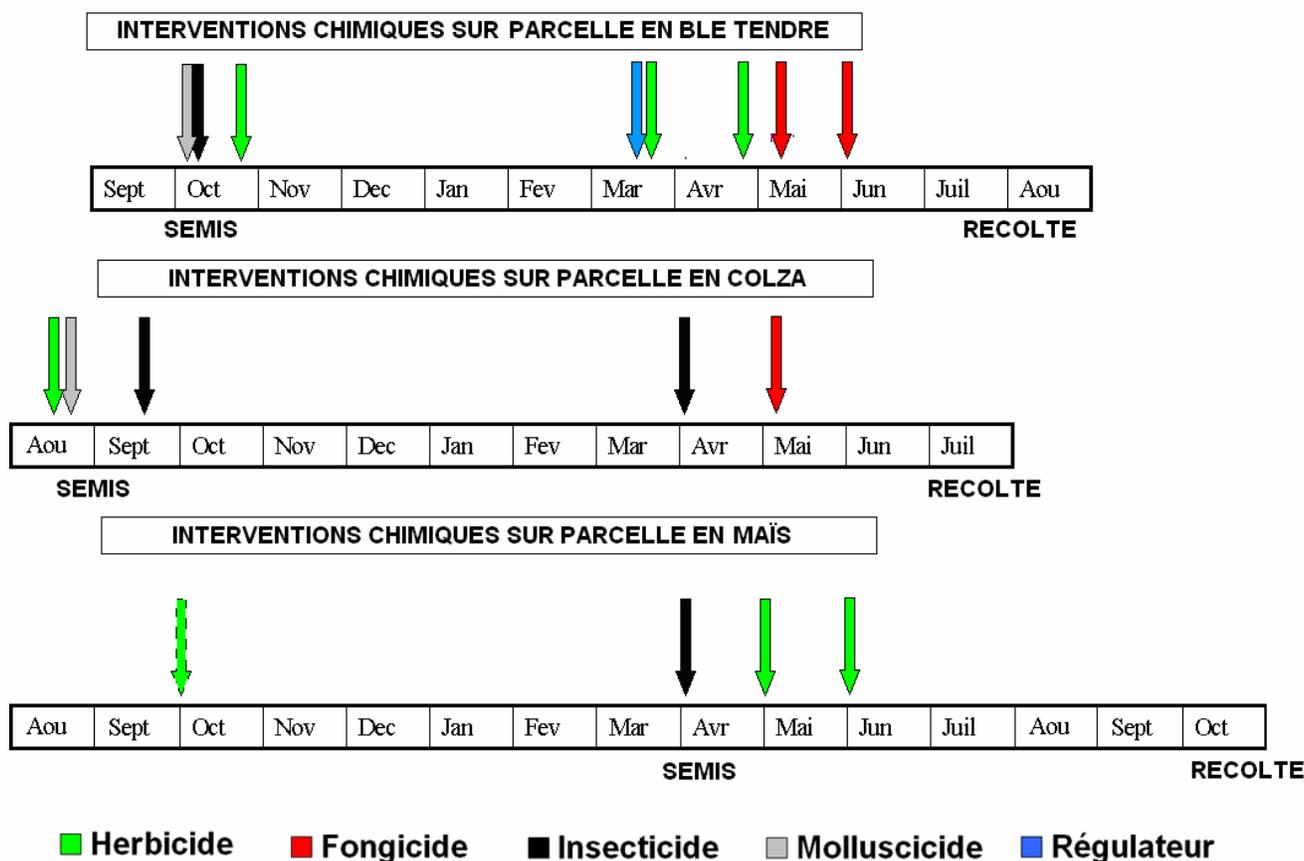


Figure B.9 : Itinéraire technique des applications de pesticides pour les cultures de blé tendre, de colza et de maïs. Un apport peut représenter l'utilisation de plusieurs substances actives.

B. 4. 3. 3. 2. PESTICIDES EPANDUS SUR CHAQUE BASSIN VERSANT PENDANT LA PERIODE D'EXPLOITATION DES ETANGS

Les quantités de matières actives épandues lors des deux cycles de production piscicole étudiés (T0 et TF) s'échelonnent entre 43 et 705 kg (figure B.10). Durant les années enquêtées (2003-2009), les quantités totales épandues diminuent régulièrement. Les molécules appliquées en plus grande quantité sont les herbicides et fongicides. Les insecticides ne représentent qu'une faible part des apports du fait que leur forte toxicité implique une bonne efficacité à faible dose. Les quantités épandues ne suivent pas le gradient de mise en culture des bassins versants. Les plus faibles apports sont retrouvés pour le site C-45 (environ 70 kg) et C-25 (environ 180kg). Les quantités les plus importantes sont épandues sur les bassins versants des sites C-75 (640kg) et C-85 (410kg).

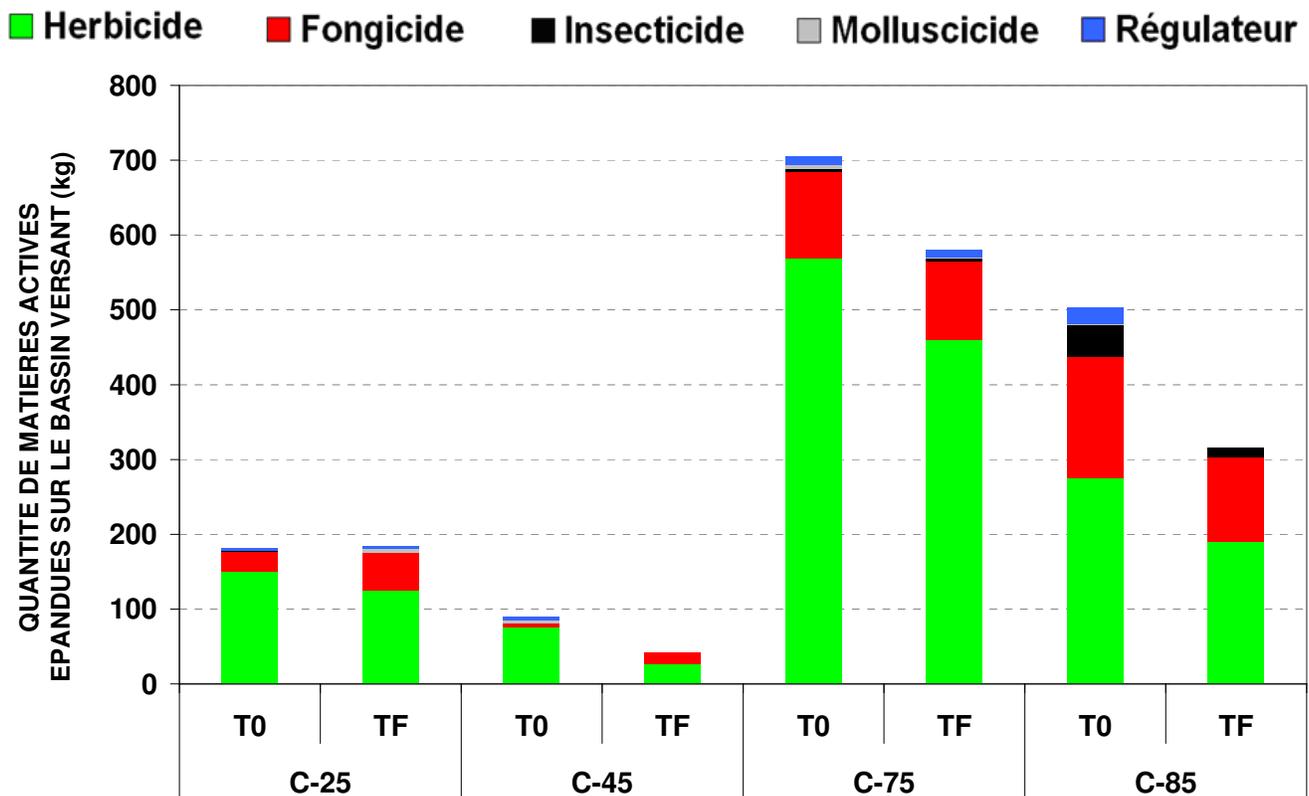


Figure B.10 : Quantités totales de matières actives épandues sur les 4 bassins versants agricoles durant les deux cycles de production piscicole étudiés.

Lorsque ces quantités sont rapportées à la surface de bassin versant totale (figure B.11), le site C-85 présente les quantités les plus fortes de par la présence de vergers sur le bassin versant. Le site C-25, ayant seulement 27,8% de surfaces cultivées sur le bassin versant, présente des quantités épandues à l'hectare faibles. Les sites C-45 et C-75 sont équivalents, malgré la plus forte proportion de cultures sur le site C-75. Les enquêtes montrent par ailleurs que les agriculteurs du site C-75

utilisent rarement la dose maximale autorisée sur leurs cultures et ne traitent pas systématiquement en préventif. Il en est de même pour le site C-45, où l'opération agri-mieux permet un conseil à l'agriculteur pour la réduction des usages de pesticides.

L'apport potentiel à l'étang, estimé en rapportant la quantité de pesticides épandus à la superficie de l'étang (figure B.11), est important pour les étangs des sites C-25 (1,4 Ha) et C-85 (1,2 Ha). En effet, ces étangs sont de faible superficie contrairement aux sites C-45 (5,4 Ha) et C-75 (18,6 Ha) qui devraient profiter d'un effet dilution.

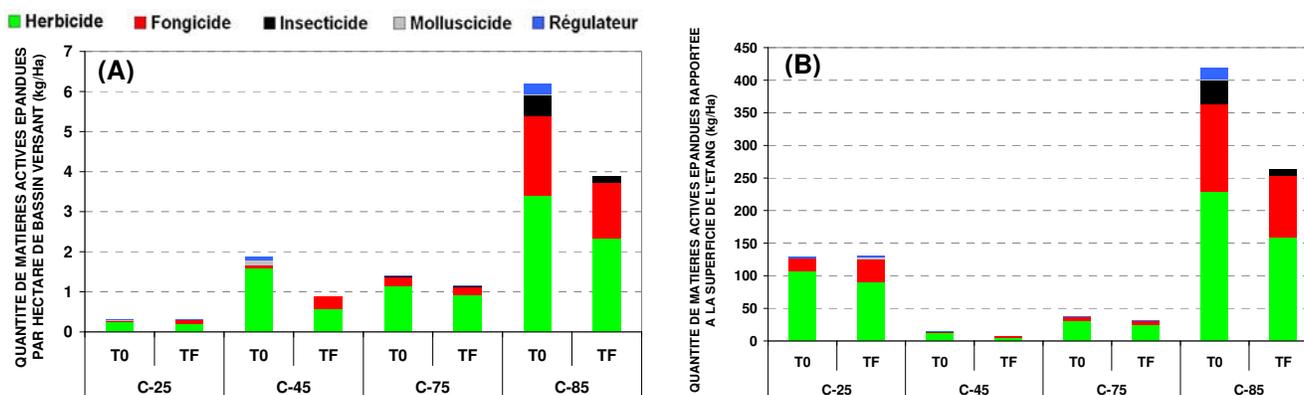


Figure B.11 : Quantités de matières actives épandues rapportées à la superficie du bassin versant (A) et de l'étang (B) pour les 4 bassins versants agricoles durant les deux cycles de production piscicole étudiés.

Sur la centaine de molécules épandues chaque année, seules 17 sont appliquées fréquemment³¹ et communément sur les 4 bassins versants agricoles. Sont dénombrés 14 herbicides (clomazone, diflufénican, diméthachlore, glyphosate, iprodione, isoproturon, mésosulfuron-méthyl, métazachlore, napropamide, quinmérac, quizalofop-éthyl³², thifensulfuron-méthyl, trifluraline), 2 fongicides (azoxystrobine, carbendazime) et un molluscicide (méthaldéhyde).

B. 5. CONCLUSION

Les sites étudiés sont tous situés en zone de risque de contamination des eaux de surface par les pesticides. Les pratiques de gestion piscicole sont similaires, excepté en ce qui concerne les dates de vidanges (automne ou fin d'hiver). Les propriétés physico-chimiques sont propres à chaque site et sont fluctuantes au cours du cycle de production, probablement en fonction des apports nutritifs issus du bassin versant et de l'établissement du réseau trophique (phytoplancton, bactéries...) en sortie d'hiver. Les bilans hydrauliques montrent des fonctionnements très différents et dépendants du ratio volume

³¹ Recensement de la molécule au moins une année sur trois. L'évaluation est basée sur les enquêtes réalisées de la récolte 2003 à la récolte 2009.

³² Le quizalofop-éthyl est dégradé en quizalofop, qui est également un pesticide homologué.

étang / volume du bassin versant. Les temps de renouvellement de l'eau des étangs sont variables mais restent inférieurs au pas de temps étudié : le cycle d'exploitation annuel.

Les sites suivent un gradient d'intensification de l'agriculture des bassins versants allant de 0% à 82% de surface en culture. Le site C-0 a un bassin versant forestier, les autres sites sont marqués par la présence de grandes cultures (colza, blé, orge et maïs) sur leur bassin versant. Ces grandes cultures annuelles sont généralement organisées en rotation de deux ou trois cultures, excepté pour le site C-25 qui présente de la monoculture de maïs. Sur le site C-85, une culture intermédiaire est réalisée entre chaque culture annuelle (semis sur couvert végétal), contrairement aux autres sites dont le sol reste à nu. Le site C-85 présente une deuxième particularité de par la présence de cultures pérennes telles que des vergers et des fraises. Tous les sites montrent des apports de pesticides en automne et au printemps, les apports les plus importants (en masse) étant les herbicides et les fongicides. La proportion de chaque culture varie annuellement en fonction des rotations culturales sur les bassins versants et la nature des molécules épandues s'en trouve modifiée. Ainsi, seules 17 molécules sont épandues sur les quatre bassins versants agricoles étudiés.

Dans la suite de ce travail, la contamination en pesticides générale de l'eau des étangs sera évaluée par une recherche multi-résidus de 160 molécules. Cette approche sera associée à la recherche de biomarqueurs dans le poisson afin d'évaluer la réponse biologique due à la présence de pesticides dans l'eau.

Chapitre C. CONTAMINATION EN PESTICIDES DE L'EAU ET BIOMARQUEURS DANS LES POISSONS

C. 1. DEMARCHE

Ce chapitre vise à évaluer la contamination des eaux des étangs étudiés et l'impact sur la faune piscicole. Cette démarche s'appuie tout d'abord sur une recherche multi-résidus non ciblée comprenant 160 pesticides (et produits de dégradation) dans l'eau en sortie des cinq étangs. Dans un deuxième temps, une approche multi-biomarqueurs (Sanchez, 2007) sera utilisée pour caractériser la contamination de l'eau par l'étude des effets sur les poissons (Schmitt et al., 2005; Sanchez et al. 2008, Sanchez et al., 2010). Ainsi, la recherche de 8 biomarqueurs chez deux cyprinidés présents en étang établira une mesure globale de l'impact des xénobiotiques dans ces milieux.

C. 2. MATERIELS ET METHODES

C. 2. 1. RECHERCHE MULTI-RESIDUS DE 160 PESTICIDES ET PRODUITS DE DEGRADATION DANS L'EAU

L'eau de surface (profondeur 10-15cm) est prélevée mensuellement, le matin à horaire fixe (9h), en sortie d'étang et congelée à -20°C pour les analyses de pesticides (flacon 1 L en verre – 157 molécules- et flacon 0,25L plastique – Glyphosate et métabolites). Le dosage de 157 molécules dans l'eau est réalisé en routine pour les réseaux de surveillance des eaux de surface par le Laboratoire Départemental d'Analyses des Côtes d'Armor (LDA22, Ploufragan). Leur méthode interne (P-365-002) adaptée des normes NF EN ISO 11369 et NF EN ISO 15913 consiste à une extraction liquide/solide sur cartouches SPE suivie par une analyse en LC-MS-MS. Trois molécules supplémentaires, le glyphosate et ses deux produits de dégradation (AMPA et glufosinate ammonium) sont dosées par une méthode accréditée Cofrac (HPLC-Fluorimétrie).

C. 2. 2. BIOMARQUEURS DANS LE POISSON D'ETANG

C. 2. 2. 1. PRINCIPE

De nombreux travaux portent sur la caractérisation de biomarqueurs pour déterminer les niveaux d'exposition des organismes aquatiques aux xénobiotiques. De nombreuses définitions ont par ailleurs été proposées mais nous retiendrons celle de Lagadic *et al.* (1997) dans la suite de ce travail. Ils définissent un biomarqueur comme un changement mesurable (au niveau moléculaire, biochimique, physiologique ou comportemental) révélant une exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance à caractère polluant.

Parmi les biomarqueurs les plus utilisés, nous trouvons ceux relatifs :

- à la biotransformation des xénobiotiques (cf. Chapitre A.).

La phase I est généralement décrite par la recherche de la 7-Ethoxyrésorufine-O-dééthylase (EROD, MFO associée CYP 1A) et des cytochromes P450-3A (CYP 3A). L'enzyme de phase II la plus recherchée est la Glutathion-S-Transférase (GST).

- à la protection contre le stress oxydant.

La présence de xénobiotiques peut entraîner, au niveau cellulaire, un déséquilibre de la balance oxydative (équilibre entre production d'anti-oxydants et pro-oxydants), notamment en provoquant une augmentation des teneurs d'Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) cellulaires. Les ERO sont principalement générées lors de la respiration mitochondriale et de la phagocytose. Les enzymes impliquées dans le métabolisme des xénobiotiques, telles que les MFO associées au cytochrome P450, produisent également des ERO. Lorsque cette production devient trop importante et n'est plus maîtrisée par les systèmes de défense (enzymes neutralisatrices d'ERO, vitamines, glutathion réduit, métallothionéines), cela entraîne la génération d'un stress oxydant. Les enzymes anti-oxydantes sont fréquemment utilisées comme biomarqueurs (Van der Oost et al., 2002). Les principales enzymes intervenant de manière coordonnée dans les mécanismes de défense anti-oxydants sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la Glutathion peroxydase (GPx). La SOD dismute le radical superoxyde en oxygène et peroxyde d'oxygène (McCord et Fridovich, 1969). La CAT catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène en oxygène et eau (Williams, 1928 ; Cossu *et al.*, 1997). La GPx catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène (mais également des peroxydes organiques) par le glutathion réduit (Cossu *et al.*, 1997). Le glutathion réduit (GSH) est également l'anti-oxydant non-protéique majeur intervenant dans les mécanismes de défense des ERO dans les cellules animales, celui-ci pouvant, entre autre, réagir directement avec les radicaux libres (Sies, 1999).

- à la toxicité neuromusculaire.

L'acétylcholine est un neurotransmetteur synaptique qui, en se fixant au récepteur cholinergique membranaire (post-synaptique), permet la dépolarisation de la membrane et la transmission de l'influx nerveux au niveau des jonctions neuromusculaires (et interneuronales). L'Acétylcholinestérase (AChE) permet le retour à l'état de repos en permettant l'hydrolyse de l'acétylcholine. Une inhibition de l'AChE engendre la dépolarisation permanente de la membrane post-synaptique et l'accumulation d'acétylcholine dans l'espace synaptique. Le suivi de l'activité AChE comme biomarqueur tient au fait de son inhibition par différents contaminants (*i.e.* les carbamates et organophosphorés) mais également par les effets comportementaux (chez le poisson) engendrés lors de son inhibition (Cooper

et Bidwell, 2006 ; Venkateswara Rao *et al.*, 2006 ; Kavitha et Venkateswara Rao, 2007). L'AChE est donc un biomarqueur largement utilisé chez différentes espèces (Payne *et al.*, 1996 ; Flammarion *et al.*, 2002 ; Corsi *et al.*, 2003).

C. 2. 2. 2. ECHANTILLONNAGE

Deux espèces dulcicoles, le gardon (*Rutilus rutilus*) et la carpe (*Cyprinus carpio*) sont prélevées lors des pêches d'étang (automne 2008 – printemps 2009, notées TF) des sites C-0, C-45, C-75 et C-85. La perche (*Perca fluviatilis*) n'a pas été échantillonnée à cause du manque d'individus lors de cette année de production, quelque soit le site. Le site C-25, ayant subi une période anormale qui a engendré un stress et une mortalité importante chez les poissons (manque d'eau, hypoxie sévère), n'a pas été retenu pour la recherche de biomarqueurs. Les poissons sont capturés lors de la pêche d'étang puis abattus sur place par choc mécanique à la tête après ralentissement du métabolisme dans un bain de glace. Ils sont pesés, mesurés puis disséqués afin de prélever quelques grammes de tissus hépatique et musculaire. Les échantillons sont rapidement congelés dans l'azote liquide.

C. 2. 2. 3. DOSAGE DES BIOMARQUEURS

Le dosage des biomarqueurs a été réalisé à l'INERIS (Verneuil en Halatte, France), par Wilfried Sanchez (méthodes explicitées dans Sanchez *et al.*, 2007 ; 2008 ; 2010).

Les foies et les muscles ont été broyés et homogénéisés dans un tampon phosphate glacé (100 mM, pH 7,8) additionné de glycérol (20%) et de 0,2 mM de phénylméthylsulfonyl fluorure (inhibiteur de protéases à sérine). Les échantillons homogénéisés ont été centrifugés à 10 000 g à +4°C, pendant 15 min et la fraction post-mitochondriale a été utilisée pour les dosages biochimiques. La concentration des protéines totales a préalablement été déterminée par la méthode de Bradford (1976) en utilisant de l'albumine sérique bovine (Sigma-Aldrich Chimie, France) comme standard. La concentration en protéines est utilisée afin de normaliser les résultats. Les dosages de biomarqueurs hépatiques correspondant aux activités EROD, GST, GPx, GSH, SOD et CAT ont été menés (tableau C.1), respectivement, selon les méthodes de Flammarion *et al.* (1998), Habig *et al.* (1974), Paglia et Valentine (1967), Vandeputte *et al.* (1994), Paoletti *et al.* (1986) et enfin, Babo et Vasseur (1992) adaptées et optimisées pour le système microplaque (Sanchez, 2007 ; Sanchez *et al.*, 2008 ; Sanchez *et al.*, 2010). L'activité CYP 3A a également été mesurée dans le foie selon la méthode décrite par Miller *et al.* (2000). Brièvement, 200 µM de 7-benzoyloxyfluorométhylcoumarine et 2 µM de NADPH ont été ajoutés à la fraction post-mitochondriale (5 mg/L). La formation du 7-hydroxy-4-trifluorométhylcoumarine (HFC) est suivie par fluorimétrie ($\lambda_{\text{ex}} = 410 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 510 \text{ nm}$). Les résultats sont interprétés grâce à une gamme de 7-hydroxy-4-trifluorométhylcoumarine.

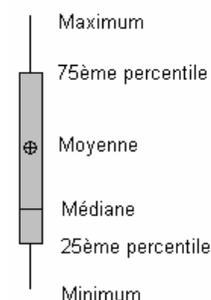
L'activité AChE a été mesurée dans le muscle selon la méthode développée par Ellman *et al.* (1961). La formation d'acide 5-thio-2-nitro-benzoïque - généré par l'échantillon dilué à 0,5 g de protéines / L ou par le standard d'AChE de l'anguille électrique (Sigma-Aldrich Chimie) - a été suivie par colorimétrie à 405 nm³³.

Tableau C.1 : Descriptif succinct des méthodes utilisées pour le dosage de 6 biomarqueurs hépatiques (Sanchez, 2007)

Biomarqueur (unité)	Méthode	Limite de détection Limite de quantification		Concentration protéique / dilution optimale	Référence
EROD (pmol/min/mg)	Florimétrie $\lambda_{\text{ex}} = 530 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 590 \text{ nm}$	$4 \cdot 10^{-4}$ $1,5 \cdot 10^{-4}$	$\mu\text{mol/L}$	0,5 à 10 mg/mL	Flammarion <i>et al.</i> , 1998
GST (U/g prot)	Colorimétrie $\lambda = 340 \text{ nm}$	0,019 0,061	U/mL	0,2 à 1 mg/mL	Habig <i>et al.</i> (1974)
GPx (U/g prot)	Colorimétrie $\lambda = 340 \text{ nm}$	0,22 0,33	U/mL	0,5 à 10 mg/mL	Paglia et Valentine (1967)
GSH ($\mu\text{mol/g prot}$)	Colorimétrie $\lambda = 405 \text{ nm}$	0,713 4,176	$\mu\text{mol/L}$	Dilution $\frac{1}{2}$ à $\frac{1}{4}$	Vandeputte <i>et al.</i> (1994)
SOD (U/mg prot)	Colorimétrie $\lambda = 340 \text{ nm}$	0,28 0,33	U/mL	0,02 à 0,08 mg/mL	Paoletti <i>et al.</i> (1986)
CAT (U/g prot)	Colorimétrie $\lambda = 240 \text{ nm}$	0,22 0,30	U/mL	0,01 à 0,05 mg/mL	Babo et Vasseur (1992)

C. 2. 2. 4. ANALYSES STATISTIQUES

Les données issues du dosage des biomarqueurs sont présentées sous forme de boîtes à moustaches où sont séparées les réponses entre individus mâles et femelles. Les boîtes sont représentées par la médiane, les 1^{er} et 3^{ème} quartiles ainsi que les valeurs maximales et minimales (moustaches). La moyenne est symbolisée par une croix inscrite dans un cercle et les valeurs anormales sont annotées par un astérisque (figure C.1).



* Valeurs anormales

Figure C.1 : Présentation des données sous forme de boîte à moustaches

Les données ne suivent pas une loi normale et sont transformées par une fonction logarithme telle que $F(x) = \text{Log}(1+x)$. Ces données log-transformées sont ensuite étudiées par une analyse de variance à deux facteurs (site, sexe, interaction site*sexe).

³³ La butyryl-cholinestérase (BChE) peut affecter les mesures d'activité AChE. Cependant, la BChE étant négligeable dans le muscle de gardon et de carpe, elle n'a pas été inhibée par ajout de pyrophosphoramidate tétra-isopropyle.

Si aucun effet sexe ou interaction site*sexe ne sont observés, les données sont ensuite traitées par analyse de variance un facteur (site) afin de comparer les sites en considérant chaque biomarqueur et chaque espèce (Analyse de variance par procédure GLM, SAS version 9.1, SAS® Institute, Cary, NC).

Des Analyses en Composante Principale (ACP) suivies d'une Classification Hiérarchique Ascendante (CHA) sont ensuite réalisées. Dans un premier temps, les deux espèces sont analysées simultanément (SPAD 7.0), puis séparément. Les variables explicatives sont les valeurs des huit biomarqueurs pour chaque individu. Les variables illustratives nominales concernent l'espèce, le site et le sexe. Les variables illustratives continues concernent les propriétés des sites définies dans le chapitre B, comme la proportion de chaque culture sur le bassin versant (2006-2008), la nature du sous-sol, les superficies des étangs et des bassins versants, le volume et le temps de renouvellement de l'eau des étangs, la quantité de chaque type de pesticide épandu. Sont également ajoutées, pour ce type de variables, les données recueillies dans ce chapitre concernant les teneurs des 160 pesticides dans l'eau de surface, afin de relier les réponses de biomarqueurs chez le poisson et la contamination en pesticides de l'eau.

C. 3. PESTICIDES DANS L'EAU

Les dosages dans l'eau sont effectués lors des périodes d'épandages printanières et automnales. Les eaux de sortie d'étang du site C-0 présentent les concentrations de pesticides les plus faibles (figure C.2), avec seulement deux molécules quantifiées : le métaldéhyde et le quinmérac (tableau C.2). Le nombre de molécules détectées ou quantifiées dans l'eau pour les autres sites est plus important pour le prélèvement de fin octobre (tableau C.2). La somme des concentrations³⁴ (figure C.2) est d'ailleurs maximale pour ce prélèvement pour les sites C-0 (0,17 µg/L) C-25 (8,81 µg/L), C-45 (3,93 µg/L) et C-75 (2,01µg/L). Cette période concorde avec des averses automnales et des applications phytosanitaires sur cultures d'hiver et cultures pérennes (Joulin *et al.*, 2006), très présentes sur les bassins versants. Le site C-85 présente la majorité des molécules à l'état de trace (détectées mais non quantifiées) au mois d'octobre mais voit un maximum des concentrations fin mars (1,48µg/L).

³⁴ Somme des concentrations sur 157 molécules recherchées, sans glyphosate et métabolites.

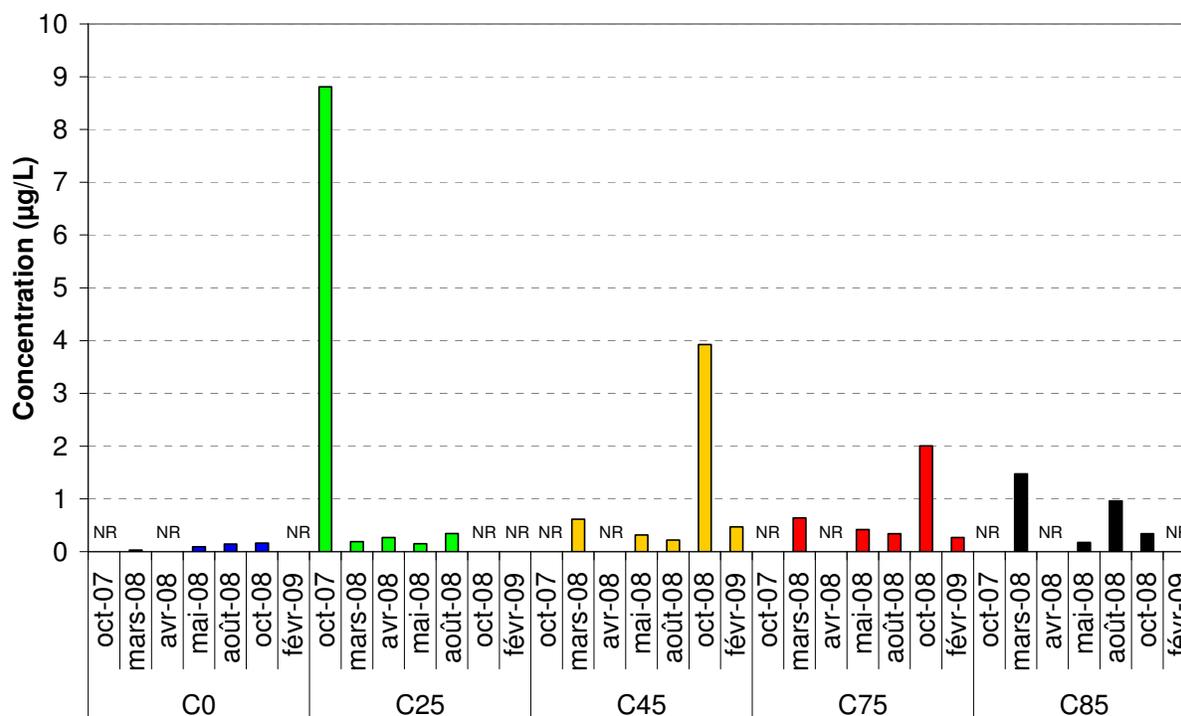


Figure C.2 : Somme des concentrations de pesticides quantifiés dans l'eau des 5 sites étudiés sur 157* pesticides recherchés
 *Hors glyphosate et ses deux métabolites
 NR : Dates de prélèvement où les molécules ne sont pas recherchées.

Le tableau C.3 montre les concentrations de pesticides quantifiées dans l'eau, sur 160 molécules recherchées, témoignant de la présence d'une multi-contamination des eaux. Certaines molécules sont présentes dans plus de 50% des échantillons et peuvent parfois atteindre de fortes concentrations, comme le métaldéhyde (6,98 µg/L, site C-25), le quinmécac (1,22 µg/L, site C-25), l'isoproturon (2,69 µg/L, site C-45) et le chlortoluron (0,74 µg/L, site C-75). Certaines molécules peu fréquentes peuvent être retrouvées ponctuellement en forte concentration, comme la bentazone (2,19 µg/L, site C-25), le métazachlore (0,54 µg/L, site C-25) et le thifensulfuron-méthyl (0,19 µg/L, site C-45). Le glyphosate et son métabolite majoritaire (AMPA) sont également retrouvés en concentration variable selon les saisons (site C-25), mais restent à des concentrations modérées en octobre. Les plus fortes concentrations sont observées pour le site C-25, fin août, 1,7 et 5,2 µg/L pour le glyphosate et l'AMPA, respectivement. La présence quasi-systématique de 2-hydroxy atrazine, à des niveaux de concentrations variables (compris entre 0,04 et 0,15 µg/L lorsque la molécule est quantifiée), pourrait être expliquée par la forte demi-vie de cette molécule dans le sol et l'atmosphère et un transfert progressif vers le milieu aquatique (*cf* Chapitre A).

Lorsque l'on considère la somme des molécules quantifiées, la contamination des sites pour les 160 molécules recherchées peut être hiérarchisée de la manière suivante : C-0 < C-85 < C-75 < C-45 < C-25. Cependant, si l'on considère le prélèvement de mars, la contamination de l'eau suit le gradient de mise en culture du bassin versant. Ceci est dû au fait que la recherche de pesticides dans l'eau est ici une mesure ponctuelle, avec seulement deux prélèvements (espacés de deux mois) par saison. Ainsi, le risque de ne pas prendre en compte les pics de concentration reste important, d'où la nécessité de compléter ces résultats par une approche plus intégratrice.

C. 4. BIOMARQUEURS DANS LES POISSONS D'ETANG

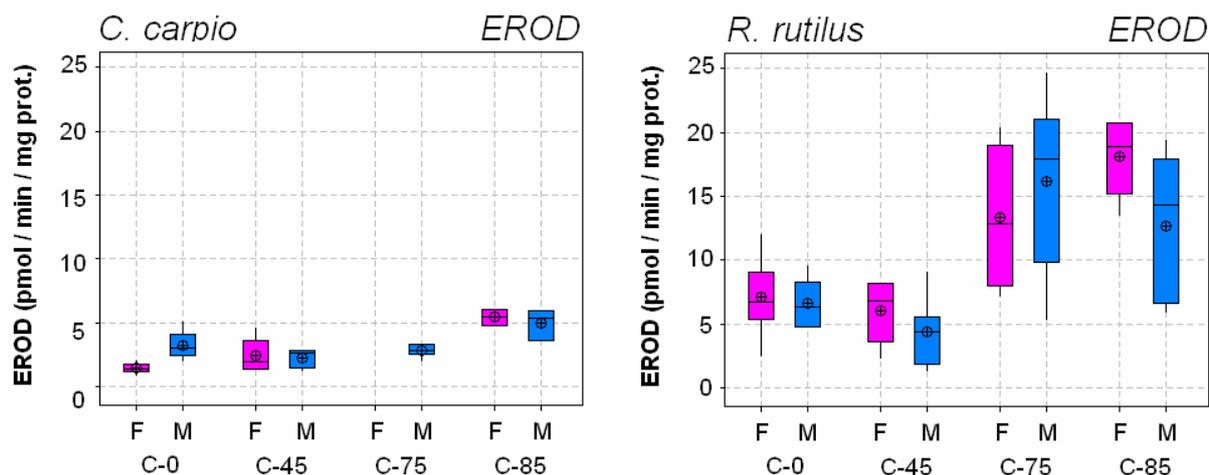
La recherche de biomarqueurs dans le poisson permet de caractériser les sites de manière plus globale. En effet, les biomarqueurs sont considérés comme des outils d'intégration en mesure de fournir des informations complémentaires aux analyses chimiques dans le milieu. Huit biomarqueurs sont utilisés en fonction de trois fonctions physiologiques : la biotransformation des xénobiotiques, la protection contre le stress oxydant et les fonctions neuromusculaires. Les résultats (normalisés aux teneurs en protéines) sont discutés de manière à comparer les sites pour chaque biomarqueur dans les deux espèces de cyprinidés étudiées : la carpe (*C. carpio*) et le gardon (*R. rutilus*).

C. 4. 1. BIOTRANSFORMATION DES XENOBIOTIQUES

L'activité EROD (figure C.3) a un niveau minimal de 6 ± 3 pmol/min/mg prot. pour les gardons des sites C-0 et C-45. Pour les carpes, le niveau minimum est de 2 ± 1 pmol/min/mg prot. pour les sites C-0, C-45 et C-75. Une activation de l'EROD est observée pour les carpes du site C-85 (5 ± 1 pmol/min/mg prot.) et les gardons des sites C-75 et C-85 (15 ± 6 pmol/min/mg prot.).

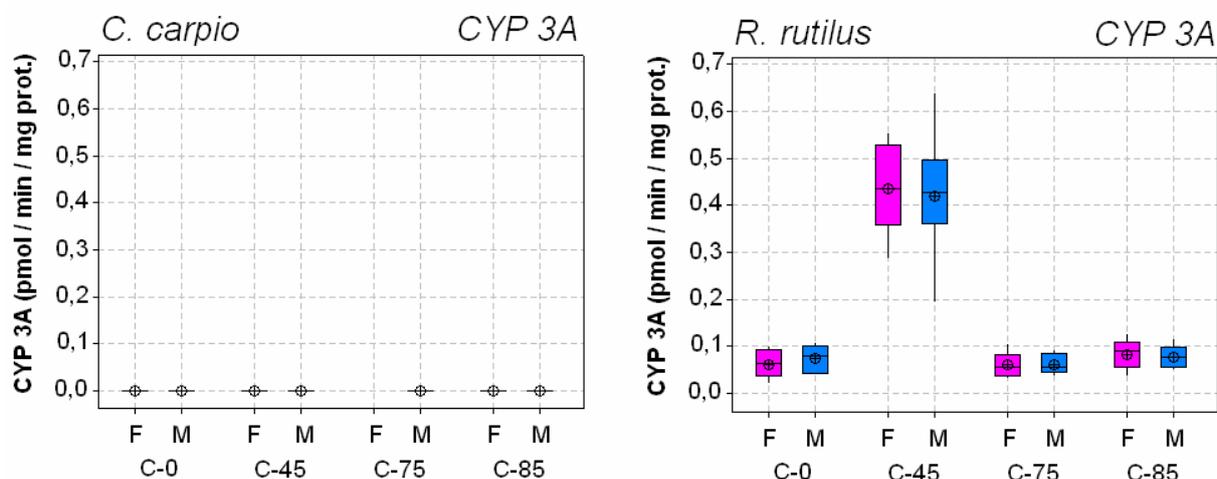
L'activité EROD montre un effet site quelle que soit l'espèce étudiée. Cependant, cette activité est moins importante mais plus répétable pour la carpe que pour le gardon. Cela engendre une interaction site*sexe (significative) pour la carpe, effets dus aux différences observées pour le site C-0.

L'activité CYP 3A (figure C.4) n'est jamais détectée dans les carpes, contrairement aux gardons. L'analyse statistique de l'activité CYP 3A dans le foie de gardon montre l'absence de différences significatives entre mâles et femelles. L'effet site est significatif du fait de l'activation de CYP 3A dans le site C-45 ($0,4 \pm 0,1$ pmol/min/mg prot. contre $0,07 \pm 0,03$ pmol/min/mg prot. pour les autres sites).



Log (1+x)	Sexe	C-0		C-45		C-75		C-85		Effet site	Effet sexe	Interaction site*sexe	ETR
<i>C. carpio</i>	F	0,374	a	0,506	ab	NR	NR	0,804	c	***	*	**	0,109
	M	0,611	bc	0,497	ab	0,576	bc	0,767	c				
<i>R. rutilus</i>	F	0,880	a	0,747	a	1,160	b	1,208	b	***	NS	NS	0,176
	M												

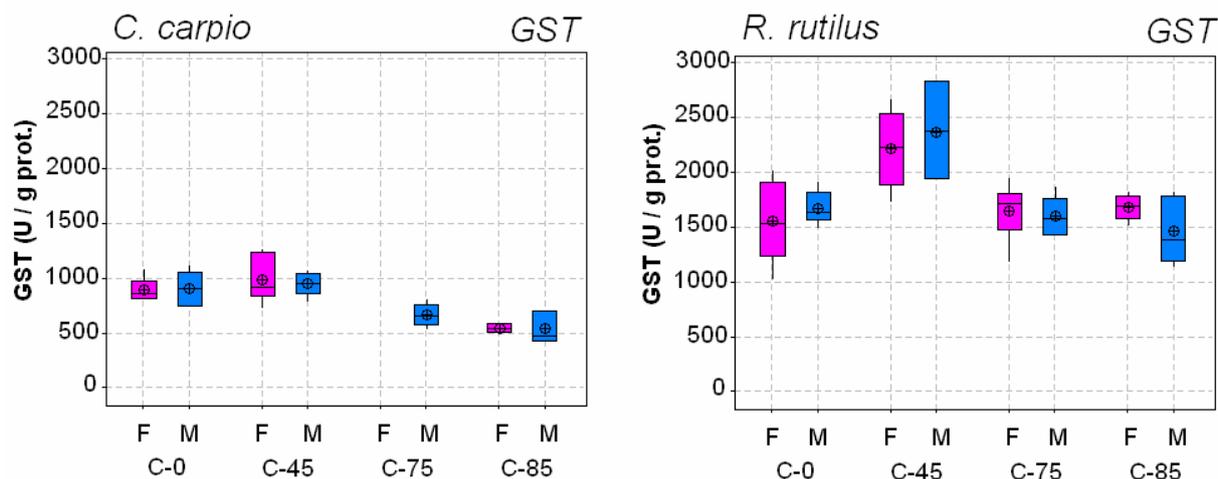
Figure C.3 : Activité EROD chez la carpe (*C. carpio*) et le gardon (*R. rutilus*) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.
M : mâles, F : femelles
NR : non renseigné ; NS : effet non significatif ; * : Tendance ($p < 0,1$) ; ** : Effet significatif ($p < 0,05$) ; *** : Effet hautement significatif ($p < 0,01$). ETR : écart-type résiduel.
Les valeurs ayant une lettre commune ne sont pas significativement différentes.



Log (1+x)	Sexe	C-0		C-45		C-75		C-85		Effet site	Effet sexe	Interaction site*sexe	ETR
<i>C. carpio</i>	F	ND		ND		ND		ND					
	M												
<i>R. rutilus</i>	F	0,027	a	0,153	b	0,025	a	0,049	a	***	NS	NS	0,032
	M												

Figure C.4 : Activité CYP 3A chez la carpe (*C. carpio*) et le gardon (*R. rutilus*) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.
M : mâles, F : femelles
ND : non détecté ; NS : effet non significatif ; *** : Effet hautement significatif ($p < 0,01$).
ETR : écart-type résiduel.
Les valeurs ayant une lettre commune ne sont pas significativement différentes.

La GST (figure C.5) ne présente pas de différences significatives entre mâles et femelles pour chaque espèce, mais il existe un effet site. Pour les carpes, l'activité de la GST est maximale pour le site C-45 (969 ± 168 U/g prot.) mais n'est pas significativement différente des valeurs observées pour le site C-0. L'activité GST pour les carpes des sites C-75 et C-85 reste inférieure (604 ± 120 U/g prot.). La GST dans le gardon est activée dans le site C-45 (2290 ± 372 U/g prot.), les sites C-75 et C-85 restant au niveau du site C-0 (1596 ± 255 U/g prot.).



$\log(1+x)$	Sexe	C-0		C-45		C-75		C-85		Effet site	Effet sexe	Interaction site*sexe	ETR
<i>C. carpio</i>	F	2,947	b	2,980	b	2,820	a	2,724	a	***	NS	NS	0,074
	M												
<i>R. rutilus</i>	F	3,194	a	3,355	b	3,206	a	3,215	a	***	NS	NS	0,080
	M												

Figure C.5 : Activité GST chez la carpe (*C. carpio*) et le gardon (*R. rutilus*) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.

M : mâles, F : femelles

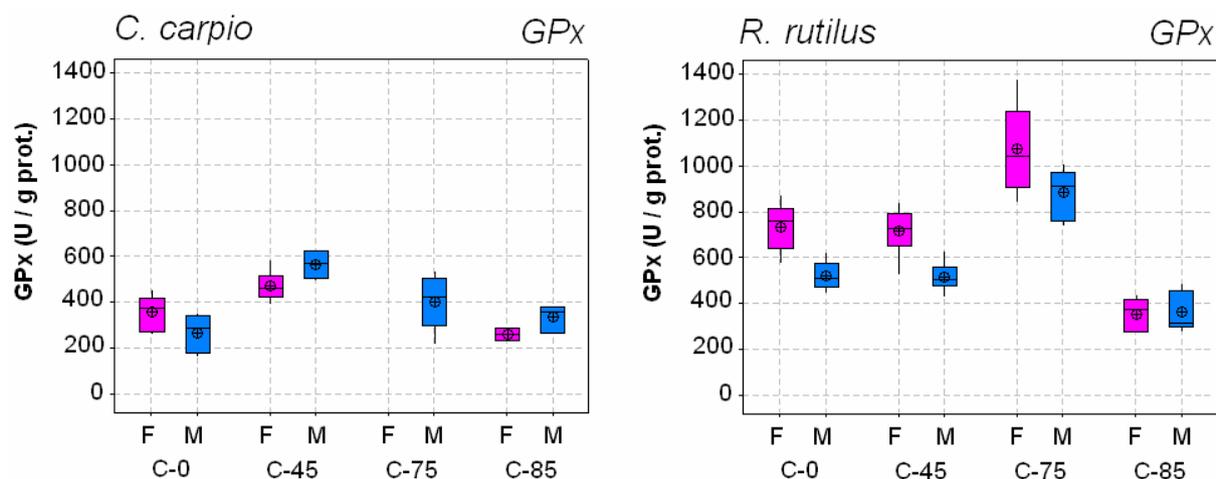
NS : effet non significatif ; *** : Effet hautement significatif ($p < 0,01$).

ETR : écart-type résiduel.

Les valeurs ayant une lettre commune ne sont pas significativement différentes.

C. 4. 2. PROTECTION CONTRE LE STRESS OXYDANT

L'activité des GPx (figure C.6) présente un effet sexe chez les gardons (en particulier pour les sites C-0 et C-45) mais pas chez la carpe (malgré une interaction site*sexe). Peu de différences entre les sites sont observées pour cette espèce. La valeur maximale dans le gardon (1071 ± 191 U/g prot.) est observée pour les femelles du site C-75 et la valeur minimale (351 ± 75 U/g prot.) pour les femelles du site C-85. Pour les carpes, les individus des sites C-0 et C-85 présentent les valeurs minimales (310 ± 80 U/g prot.) et ceux du site C-45 présentent la valeur maximale (517 ± 75 U/g prot.), la valeur de GPx des carpes du site C-75 étant intermédiaire (403 ± 118 U/g prot.).

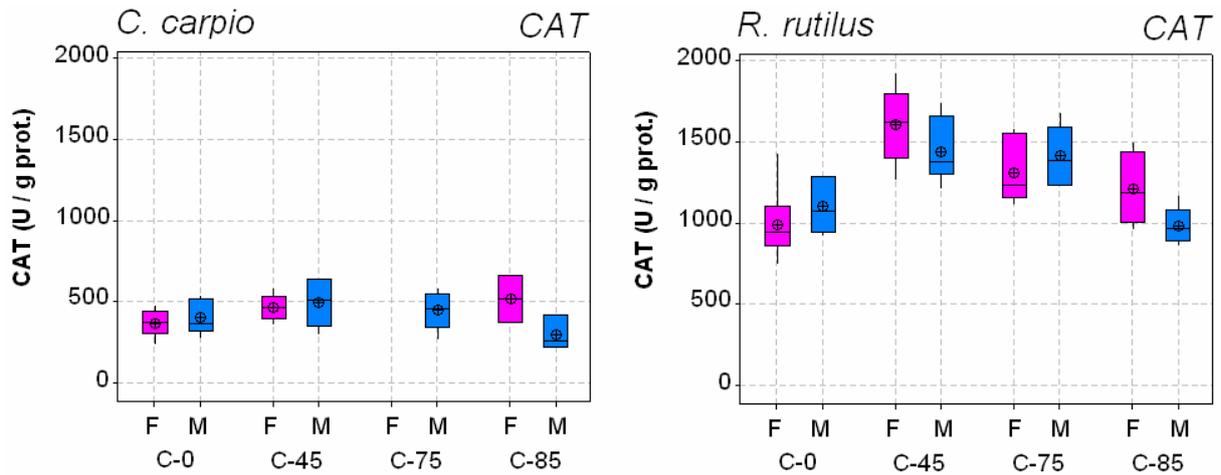


Log (1+x)	Sexe	C-0		C-45		C-75		C-85		Effet site	Effet sexe	Interaction site*sexe	ETR
<i>C. carpio</i>	F	2,544	ab	2,670	bc	NR		2,412	a	***	NS	**	0,103
	M	2,404	a	2,749	c	2,588	b	2,519	ab				
<i>R. rutilus</i>	F	2,861	bc	2,849	c	3,024	a	2,638		***	***	NS	0,106
	M	2,715	ab	2,709	c	2,943	a	2,552					

Figure C.6 : Activité GPx chez la carpe (*C. carpio*) et le gardon (*R. rutilus*) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.
M : mâles, F : femelles
NS : effet non significatif ; ** : Effet significatif ($p < 0,05$) ; *** : Effet hautement significatif ($p < 0,01$). ETR : écart-type résiduel.
Les valeurs ayant une lettre commune ne sont pas significativement différentes.

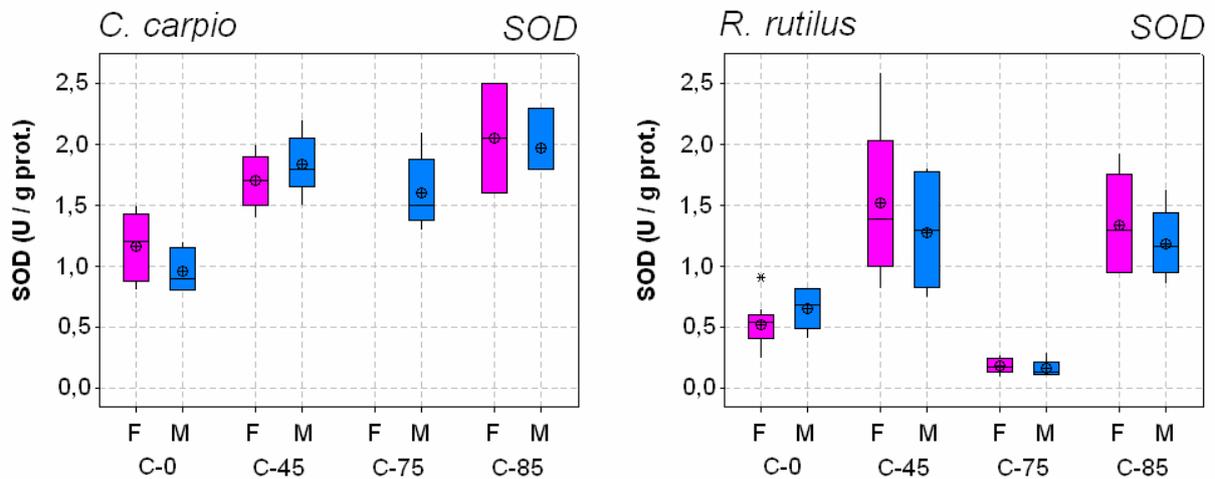
La CAT (figure C.7) ne présente pas d'effet sexe, cependant, une interaction site*sexe est observée pour le gardon. Les valeurs sont similaires chez la carpe, quelque soit le site (428 ± 119 U/g prot.). Des différences significatives entre sites sont observées chez le gardon. Les valeurs de CAT s'échelonnent de 1025 ± 184 U/g prot. pour le site C-0 à 1516 ± 219 U/g prot. pour le site C-45.

La SOD (figure C.8) ne met pas en évidence d'effet du sexe sur les mesures, quelle que soit l'espèce considérée. L'activité SOD atteint des valeurs maximales pour les sites C-45 et C-85, chez la carpe ($1,9 \pm 0,3$ U/g prot.) et le gardon ($1,3 \pm 0,5$ U/g prot.).



Log (1+x)	Sexe	C-0		C-45		C-75		C-85		Effet site	Effet sexe	Interaction site*sexe	ETR
<i>C. carpio</i>	F	2,480	a	2,703	a	2,588	a	2,476	a	NS	NS	NS	0,118
	M												
<i>R. rutilus</i>	F	2,988	a	3,202	c	3,113	bc	3,112	bc	***	NS	**	0,072
	M	3,037	ab	3,155	bc	3,146	bc	2,989	ab				

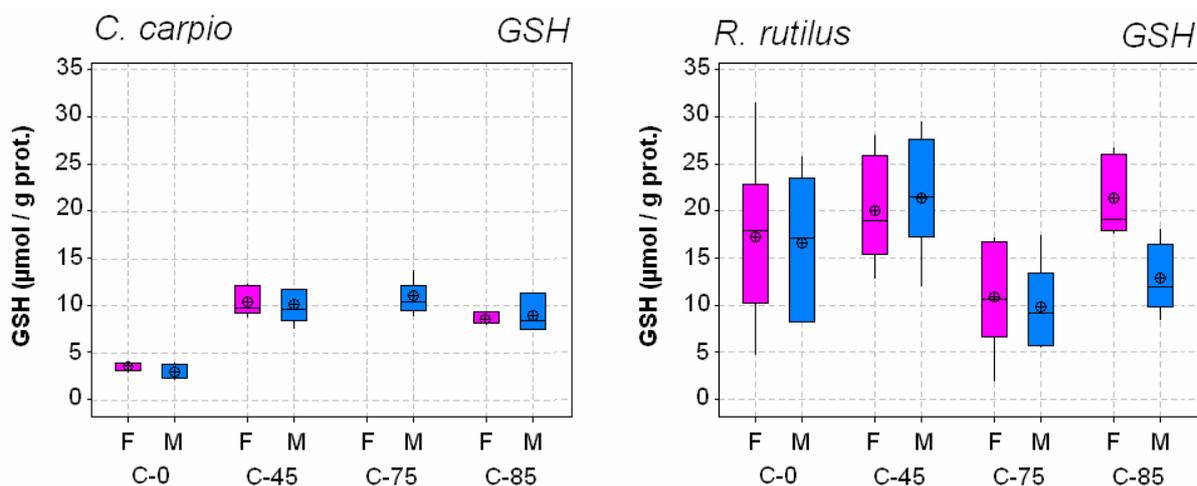
Figure C.7 : Activité CAT chez la carpe (*C. carpio*) et le gardon (*R. rutilus*) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.
M : mâles, F : femelles
NS : effet non significatif ; ** : Effet significatif ($p < 0,05$) ; *** : Effet hautement significatif ($p < 0,01$). ETR : écart-type résiduel.
Les valeurs ayant une lettre commune ne sont pas significativement différentes.



Log (1+x)	Sexe	C-0		C-45		C-75		C-85		Effet site	Effet sexe	Interaction site*sexe	ETR
<i>C. carpio</i>	F	0,314	a	0,439	b	0,413	b	0,474	b	***	NS	NS	0,048
	M												
<i>R. rutilus</i>	F	0,192	b	0,369	c	0,069	a	0,369	c	***	NS	NS	0,067
	M												

Figure C.8 : Activité SOD chez la carpe (*C. carpio*) et le gardon (*R. rutilus*) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.
M : mâles, F : femelles
NS : effet non significatif ; *** : Effet hautement significatif ($p < 0,01$).
ETR : écart-type résiduel.
Les valeurs ayant une lettre commune ne sont pas significativement différentes.

Le GSH (figure C.9) ne présente pas de différences significatives entre les sexes, pour chaque espèce. L'effet site est significatif. Dans le gardon cet effet site est conditionné par l'opposition du site C-75 ($10 \pm 5 \mu\text{mol/g prot.}$) aux autres sites ($17 \pm 7 \mu\text{mol/g prot.}$). Dans la carpe, cet effet est caractérisé par l'opposition du site C-0 ($3,3 \pm 0,7 \mu\text{mol/g prot.}$) aux autres sites ($10 \pm 2 \mu\text{mol/g prot.}$).



$\log(1+x)$	Sexe	C-0		C-45		C-75		C-85		Effet site	Effet sexe	Interaction site*sexe	ETR
<i>C. carpio</i>	F	0,631	a	1,043	b	1,067	b	0,994	b	***	NS	NS	0,065
	M												
<i>R. rutilus</i>	F	1,211	ab	1,323	b	1,007	a	1,260	b	***	NS	NS	0,190
	M												

Figure C.9 : Activité GSH chez la carpe (*C. carpio*) et le gardon (*R. rutilus*) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.

M : mâles, F : femelles

NS : effet non significatif ; *** : Effet hautement significatif ($p < 0,01$).

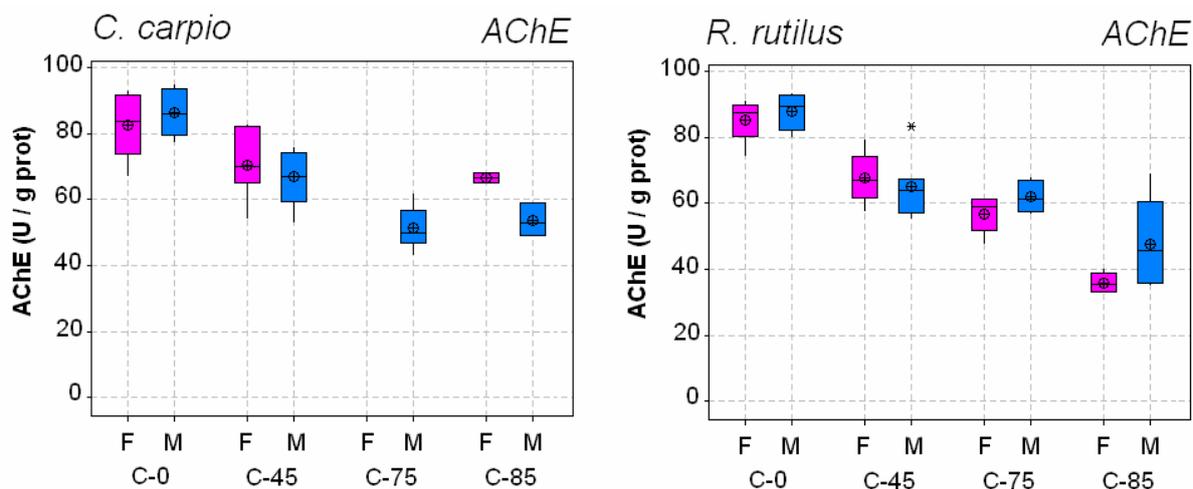
ETR : écart-type résiduel.

Les valeurs ayant une lettre commune ne sont pas significativement différentes.

C. 4. 3. TOXICITE NEUROMUSCULAIRE

L'activité de l'AchE musculaire (figure C.10) n'est pas significativement différente entre mâle et femelle pour une même espèce et un même site. Par contre, l'effet site est significatif. L'activité est maximale (84 ± 9 et 86 ± 6 U/mg prot. chez la carpe et le gardon, respectivement) pour le site C-0. L'activité minimale est observée pour les sites C-75 et C-85 (55 ± 8 U/mg prot.) chez la carpe et pour le site C-85 (42 ± 11 U/mg prot.) chez le gardon. L'amplitude des réponses pour chaque site est similaire pour les deux espèces.

Les mesures de l'activité de l'AChE dans les tissus musculaires des carpes et des gardons montrent une inhibition progressive de cette enzyme en fonction de l'augmentation de la surface mise en culture sur le bassin versant des étangs (figure C.10).



$\log(1+x)$	Sexe	C-0		C-45		C-75		C-85		Effet site	Effet sexe	Interaction site*sexe	ETR
<i>C. carpio</i>	F	1,928	c	1,841	b	1,716	a	1,773	ab	***	NS	NS	0,053
	M												
<i>R. rutilus</i>	F	1,940	c	1,824	b	1,779	b	1,647	a	***	NS	NS	0,070
	M												

Figure C.10 : Activité AChE chez la carpe (*C. carpio*) et le gardon (*R. rutilus*) pour 4 sites étudiés. Effets site et sexe.

M : mâles, F : femelles

NS : effet non significatif ; *** : Effet hautement significatif ($p < 0,01$).

ETR : écart-type résiduel.

Les valeurs ayant une lettre commune ne sont pas significativement différentes.

C. 5. ANALYSE SIMULTANEE DES BIOMARQUEURS

L'analyse simultanée par ACP/CHA des biomarqueurs chez la carpe et le gardon permet de mettre en évidence un effet espèce et un effet site importants, en représentant 6 classes déterminées par leur position dans un système à 3 axes principaux (80,7% de la variance).

Le plan formé par les axes 1 et 2 (figure C.11) représente 64,7% de la variance totale. Il est porté par les biomarqueurs relatifs au stress oxydant (GSH, CAT, GPx en axe 1 et SOD en axe 2) et un biomarqueur relatif à la phase 2 de biotransformation (GST en axe 1).

L'axe 1 permet de séparer nettement les espèces : la carpe se positionne dans les valeurs négatives et le gardon dans les valeurs positives. Les variables illustratives qui se positionnent sur l'axe 1 sont en effet relatives aux poissons : la masse, la longueur et l'indice gonado-somatique. L'axe 2 va permettre de séparer les sites. Pour la carpe, cet axe oppose globalement le site C-0 (classe C1) aux autres sites (classe C2), excepté un individu du site C-0 qui est rangé dans la classe C2 et un individu du site C-45 dans la classe C1. Pour les gardons, l'axe 2 permet de séparer correctement tous les poissons selon leur site de provenance. Ainsi, tous les individus du site C-0 se retrouvent dans la classe G3, tous ceux du site C-45 sont dans la classe G6, ceux du site C-75 dans la classe G4 et enfin, ceux du site C-85 dans la classe G5. Les variables

illustratives mises en valeur sont relatives à la nature topographique des sites (surfaces de l'étang et du bassin versant, nature arileuse ou limoneuse des sites). La contamination du milieu est également mise en avant, en particulier la concentration d'isoproturon dans les sédiments mais également par de nombreuses molécules retrouvées dans l'eau (tableau B.4).

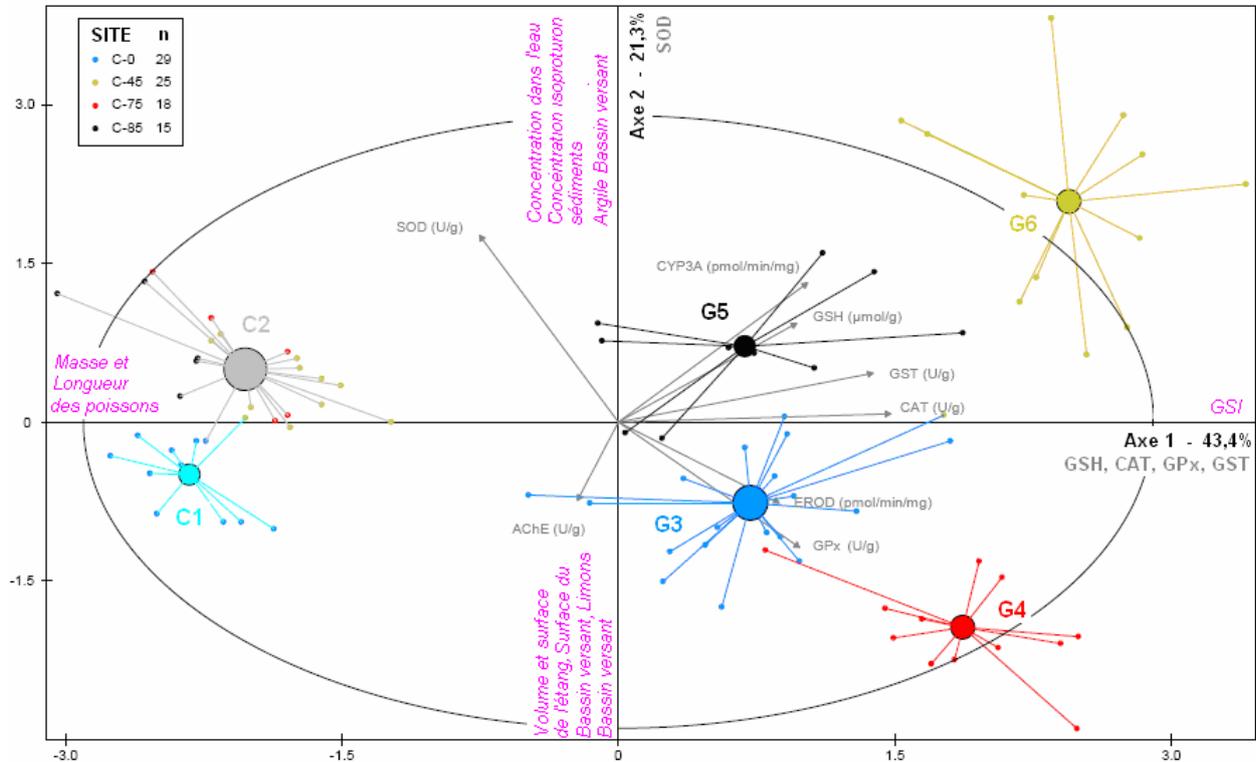


Figure C.11 : Plan 1/2 de l'analyse simultanée des biomarqueurs par ACP/CHA chez la carpe et le gardon.

L'axe 3 (figure C.12) représentant 16,1% de la variance est porté par deux biomarqueurs : l'AchE et l'EROD. Les classes correspondant aux gardons (G3 à G6) suivent globalement le gradient de mise en culture du bassin versant pour l'axe 3. Ainsi, les variables illustratives qui viennent se positionner sur l'axe 3 sont relatives au bassin versant et concernent la nature des assolements et des rotations de cultures mais également les arrivées d'eau avec la prise en compte du temps de renouvellement de l'eau de l'étang et le ratio surfacique entre l'étang et son bassin versant. Les quantités d'herbicides, de fongicides et d'insecticides épandus sur le bassin versant ainsi que la contamination de l'eau en quelques molécules (table B.4) sont également positionnées sur l'axe 3.

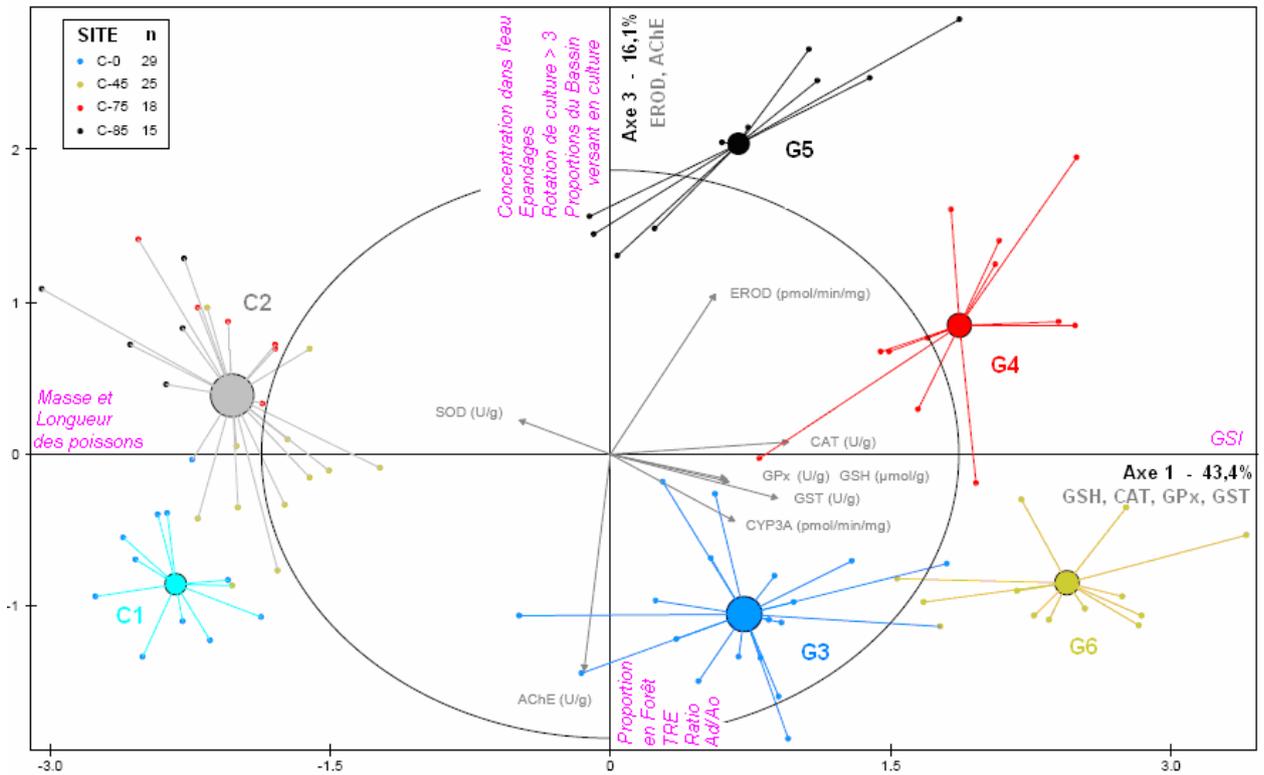


Figure C.12 : Plan 1/3 de l'analyse simultanée des biomarqueurs par ACP/CHA chez la carpe et le gardon.

Tableau C.4 : Molécules dont la concentration dans l'eau se positionne comme variable illustrative associée à un axe de l'ACP/CHA générale.

En rouge sont notées les molécules épandues communément sur les 4 bassins versants agricoles (chapitre B)

Variable illustrative : contamination de l'eau (recherche de 160 molécules)	Molécules dont la concentration dans l'eau se positionne sur l'axe 1 (GSH, GST, CAT, GPx)	Molécules dont la concentration dans l'eau se positionne sur l'axe 2 (SOD)	Molécules dont la concentration dans l'eau se positionne sur l'axe 3 (EROD, AChE)
Mars	-	Clomazone Mésosulfuron-méthyl Metsulfuron-méthyl MCPA Thifensulfuron-méthyl	Amidosulfuron Déséthyl-Atrazine Métaldéhyde Nicosulfuron
Mai	-	Diméthyl-Isoproturon Isoproturon MCPA Mésosulfuron-méthyl Metsulfuron-méthyl Methabenzthiazuron Quinmérac Thifensulfuron-méthyl	Amidosulfuron Déséthyl-Atrazine Carbendazime Métaldéhyde
Août	-	Diméthyl-Isoproturon	Déséthyl-Atrazine Métaldéhyde Nicosulfuron Quinmérac Thifensulfuron-méthyl
Octobre	-	Diméthyl-Isoproturon Isoproturon 2,4-D Bentazone Bromoxynil Chlortoluron Clomazone Diméthachlore	Déséthyl-Atrazine Nicosulfuron

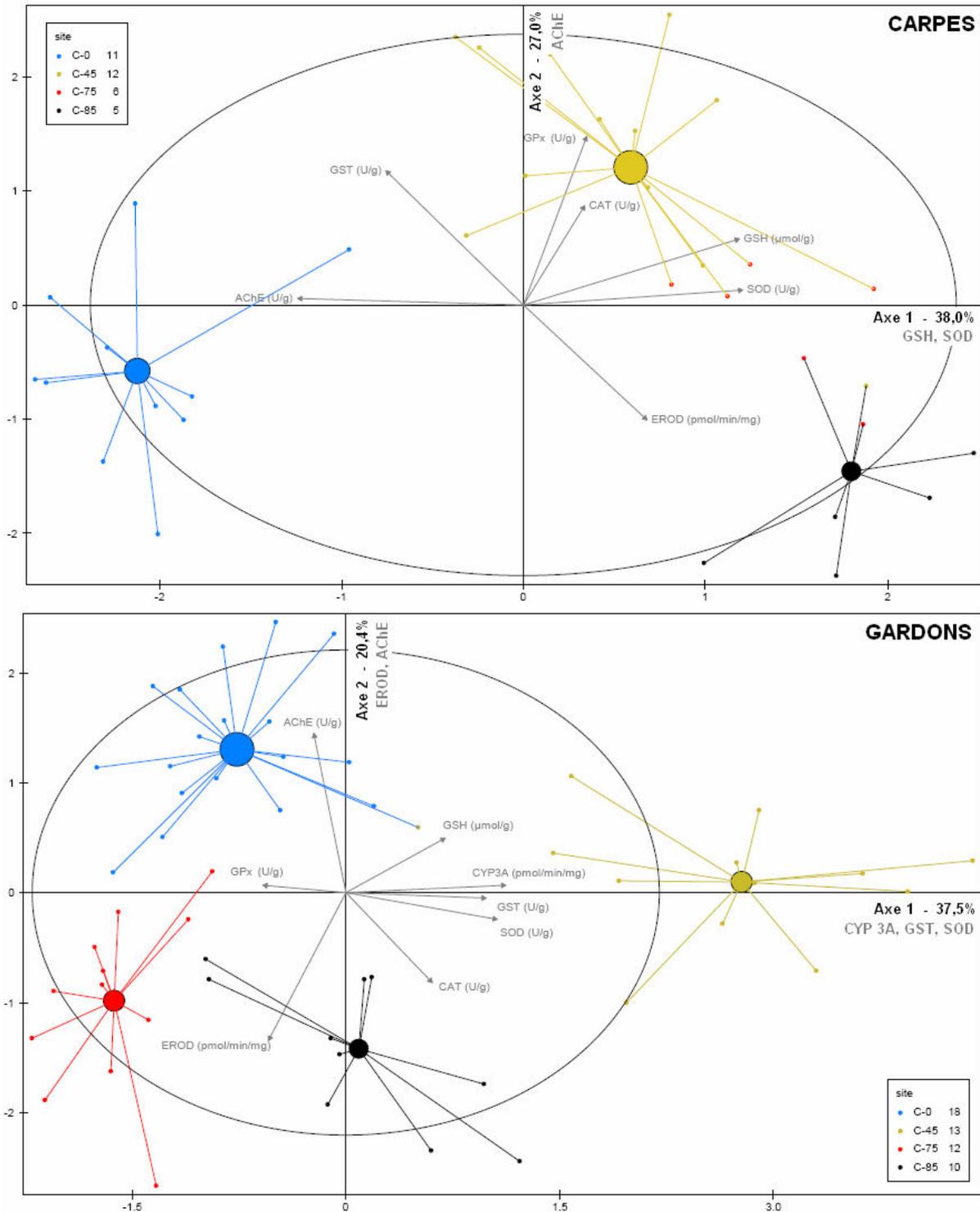


Figure C.13 : Plan 1/2 des analyses des biomarqueurs dans chaque espèce par ACP/CHA.

La même analyse faite sur chaque espèce séparément montre que la qualification des axes est différente selon l'espèce (figure C.13). Chez la carpe, la différenciation et le classement des individus se basent seulement sur la GSH, la SOD (Axe 1), l'AChE (Axe 2) et la CAT (Axe 3). Cependant, la CAT ne permet pas de différencier les sites (classes en position zéro sur l'axe 3). De plus, les biomarqueurs liés à la biotransformation ne sont pas mis en évidence par l'analyse,

ceux-ci se dispersant en parts égales sur les axes 1 et 2. Au final, l'analyse permet la séparation des sites C-0, C-45 et C-85 mais pas du site C-75, dont les individus se répartissent entre les classes relatives aux sites C-45 et C85.

Par contre, chez le gardon la répartition des individus se fait sur 4 axes définis par l'ensemble des biomarqueurs (CYP 3A, GST et SOD en axe 1 ; EROD et AChE en axe 2, CAT et GPx en axe 3 ; GSH en axe 4). Ainsi, l'analyse simultanée des huit biomarqueurs rend compte d'une différence de réaction entre la carpe et le gardon. Les huit biomarqueurs du gardon répondent à des amplitudes plus élevées et différencient mieux les sites étudiés. Ainsi, le gardon apparaît comme une espèce plus discriminante pour le suivi de la contamination par l'étude des biomarqueurs, notamment pour les biomarqueurs liés à la biotransformation.

C. 6. CONCLUSION

La recherche de 160 molécules montre la présence de nombreuses molécules dans les eaux de surface des sites étudiés. Le site C-0 présente la plus faible contamination. Les autres sites sont plus contaminés, avec des molécules dont la concentration dépasse parfois 1 µg/L. Les dosages de pesticides donnent, pour chaque site, un profil de contamination particulièrement diversifié, avec de fortes variations saisonnières. Ainsi, il est difficile de hiérarchiser ces sites en fonction de leur contamination. La recherche de biomarqueurs dans le poisson permet d'évaluer la contamination et la différence entre site de manière plus efficace. L'approche multi-biomarqueurs, prenant en compte les réponses biologiques liées à la biotransformation, au stress oxydant et à la toxicité neuromusculaire, permet de différencier les sites étudiés. Cependant, toutes les espèces ne répondent pas avec autant d'intensité face à la contamination. En particulier, ces travaux montrent que le gardon semble être une espèce plus sensible que la carpe pour ce type d'évaluation. Relier la contamination du milieu à la réponse enregistrée chez le poisson permet de mettre en évidence l'influence de certaines molécules retrouvées dans l'eau sur l'activité de la SOD, de l'EROD et de l'AchE. Le profil de contamination de l'eau n'est pas le seul paramètre pris en compte dans notre étude : le rôle d'autres facteurs, relatifs aux poissons, aux sites et à leur mode de gestion, sont également mis en avant.

Dans nos travaux, les résultats pour les anti-oxydants sont plus disparates que pour les biomarqueurs liés à la biotransformation en raison d'une forte variabilité entre les deux espèces étudiées. Ceci pourrait s'expliquer par les nombreux facteurs, autres que la contamination en pesticides organiques du milieu, qui agissent sur la balance oxydative tels que la présence de métaux (Pandey et al., 2008) ou encore la saison de capture (Falfushynska et Stolyar, 2009). Ainsi, ces paramètres permettront de différencier les espèces et mettre en avant l'influence de facteurs liés au poisson tels que la masse mais également leur indice gonado-somatique, facteur fortement dépendant de la saison de capture. Parmi les biomarqueurs du stress oxydant, seule

l'activité de la SOD ne suit pas ce comportement et témoigne de la contamination du milieu, potentiellement induite par des urées substituées, les produits de dégradation de l'atrazine mais également les sulfonylurées. Pour les deux espèces, l'activité de l'AchE et l'EROD sont les biomarqueurs qui témoignent le mieux du gradient de mise en culture des bassins versants même si l'activité de ces molécules peut être influencée par d'autres molécules que celles dosées dans l'eau lors de cette étude. En effet, l'EROD, MFO associée CYP 1A, peut être induite par d'autres molécules que celles dosées dans cette étude telles que les PCB, le benzo[a]pyrène ou encore le cuivre (Cu^{2+}) (Mikula et al., 2009 ; Henczová et al., 2008). L'AChE peut être inhibée, parfois de manière irréversible, par de nombreux pesticides de familles chimiques très différentes. A titre d'exemple chez le poisson, la littérature a déjà mis en avant ce potentiel d'inhibition par des pesticides de la famille des carbamates, des organophosphorés, des pyréthriinoïdes, des triazines et des bipyridines (Ghosh, 1990 ; Szabo et al., 1992 ; Reddy et Philip, 1994 ; Davies et al., 1994). Dans notre étude, les molécules mises en relation avec l'AchE et l'EROD sont les carbamates, les produits de dégradation de l'atrazine mais également les sulfonylurées.

Remarquons que la majorité des molécules (et produits de dégradation) mises en évidence dans l'analyse des biomarqueurs sont des molécules épandues communément sur les bassins versants agricoles décrits dans le chapitre B. Ainsi, dans la suite de ce travail, nous nous attacherons à étudier plus précisément le devenir de quelques uns de ces pesticides, parmi ceux épandus en plus forte quantité : 12 herbicides (clomazone, diflufénican, diméthachlore, iprodione, isoproturon, mésosulfuron-méthyl, métazachlore, napropamide, quizalofop³⁵, thifensulfuron-méthyl, trifluraline) et 2 fongicides (azoxystrobine, carbendazime).

³⁵ Le choix du suivi du quizalofop est privilégié en tant que produit de dégradation du quizalofop-éthyl.

Chapitre D. CONTAMINATION DES ETANGS POUR DES PESTICIDES EPANDUS SUR LE BASSIN VERSANT

D. 1. DEMARCHE

Les épandages de pesticides sur les bassins versants pouvant causer une contamination importante de l'eau des étangs et interférer avec la vie piscicole, ce chapitre vise à préciser les teneurs en résidus de pesticides³⁶ homologués au sein des étangs étudiés, dans une problématique aussi bien liée à l'environnement qu'à la qualité sanitaire des productions piscicoles. Ainsi, les concentrations de 14 pesticides dans les matrices environnementales (eau et sédiments) et biologiques (chair de poisson) au sein de ces étangs à vocation piscicole seront évaluées par chromatographie - spectrométrie de masse. Ce chapitre vise également à expliciter l'influence des pratiques, recensées sur les bassins versants et les étangs (décrites dans le chapitre B), sur les niveaux de contamination. Cette démarche s'appuie sur des analyses statistiques afin de mettre en évidence les facteurs qui influent sur le profil de contamination des poissons. Enfin, les paramètres d'accumulation vers le muscle et les demi-vies des pesticides³⁷ n'étant pas connus³⁸ pour 13 de ces pesticides, ils seront évalués en laboratoire chez la carpe (*Cyprinus carpio*) et la perche (*Perca fluviatilis*). Ces données permettront de représenter les facteurs « espèce » et « propriétés des molécules » et ainsi de mieux comprendre et expliquer les niveaux observés dans les poissons d'étang.

D. 2. MATERIELS ET METHODES

D. 2. 1. EN ETANG

D. 2. 1. 1. ECHANTILLONNAGE

Les sédiments sont prélevés les jours de pêche (T0 sédiments, TF) (tableau D.1). Vingt points de prélèvement sont répartis en cinq zones de sédimentation (figure D.1). Le sédiment est prélevé sur une profondeur de quatre centimètres à partir de la surface, à l'aide de flacons en verre de 20 cL. Les vingt prélèvements sont homogénéisés par mélange mécanique, mis en flacon de verre ambré puis congelés à -20°C. Le mélange permet ainsi d'obtenir un « sédiment annuel moyen ». Des aliquotes sont réalisés pour les différents dosages de pesticides.

³⁶ Les 14 pesticides sont : la trifluraline, l'azoxystrobine, la clomazone, le diflufénican, le diméthachlore, le carbendazime, le fluroxypyr l'iprodione, l'isoproturon, le mésosulfuron-méthyl, le métazachlore, la napropamide, le quizalofop, le thifensulfuron-méthyl. Ceux-ci sont présentés en annexe 4.

³⁷ Les 13 pesticides sont les 14 molécules citées précédemment à l'exception de la trifluraline.

³⁸ Des données toxicocinétiques sur la trifluraline ont déjà été publiées.

L'eau de surface (profondeur 10-15cm) est prélevée mensuellement, le matin à horaire fixe, en sortie d'étang et congelée à -20°C pour les analyses de pesticides (flacon 1 L en verre sauf glyphosate : flacon 0,25L plastique).



Figure D.1 : Points de prélèvement de l'eau (en bleu) et des sédiments (en marron) pour chaque site d'étude en vue des analyses de pesticides

Les poissons testés sont le gardon (*Rutilus rutilus*), la carpe miroir (*Cyprinus carpio*) et la perche (*Perca fluviatilis*), ces espèces étant fréquemment élevées en étang de polyculture. Les poissons (n = 5) sont abattus par choc à la tête après ralentissement de leur métabolisme en eau froide (température : 0 / 1°C). Des relevés morphométriques sont réalisés et concernent, la taille, le sexe, la masse du poisson, des viscères totales, du foie et des gonades. Ensuite, le muscle est prélevé, pesé et emballé dans de l'aluminium en vue des différentes analyses de pesticides et PCB. Enfin, les échantillons sont stockés dans la glace en attendant un stockage durable à -20°C au laboratoire. Les dates de prélèvement à l'empoissonnement (T0 poissons) et à la vidange (TF) sont précisées dans le tableau D.1.

Temps de prélèvement		C-0	C-25	C-45	C-75	C-85
T0	Sédiments	01/02/08	20/09/07	14/01/08	05/12/08	27/10/07
	Poissons	25/02/08	24/10/07	01/04/08	19/01/08	04/12/07
TF		14/11/08	05/09/08	25/02/09	27/02/09	01/11/08

Tableau D.1 : Dates de prélèvement des poissons et des sédiments.

D. 2. 1. 2. RECHERCHE MULTI-RESIDUS DE 13 PESTICIDES

Le dosage multi-résidus de 13 pesticides (excepté la trifluraline) dans 2 matrices est développé pour extraire les composés à partir de matière brute (sédiments, muscle de poisson) en collaboration avec le « Service Central d'Analyse » du CNRS (SCA, CNRS USR-59, Solaize).

Cette méthode s'appuie sur une méthode d'extraction unique pour muscle de poisson et sédiments. Un mélange, composé d'échantillon frais broyé, de sulfate de magnésium anhydre, et de solvant (Acétate d'éthyle/Acétonitrile, 50 : 50, v/v), est broyé finement à l'ultraturax. Des standards internes (Carbendazime D10 et Isoproturon D12) sont ajoutés. Une première centrifugation (12 000 g / 10 min / 25°C) est réalisée après un passage au vortex. Après prise du surnageant (S1), un mélange de solvants (Acétate d'éthyle/Cyclohexane, 75 : 25, v/v) est ajouté et une forte agitation est réalisée pendant 10 minutes. Une deuxième centrifugation (mêmes conditions) est réalisée et le surnageant (S2) est récolté. 50 µL de DMSO (diméthylsulfoxyde) et 50µl de DMF (diméthyl-formamide) sont ajoutés respectivement à S1 et S2. Ensuite, une évaporation sous flux d'azote (40°C) est effectuée. Les pesticides sont repris dans un mélange eau/acétonitrile (90 : 10, v/v) avant d'être analysés.

L'analyse est réalisée par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS-MS Agilent, Santa Clara, Californie) composée d'une Chaîne HPLC Agilent 1100 series, d'une colonne Agilent (silice greffée C-18 50 mm, diamètre 2,1 mm, porosité 1,8 µm) et d'un système 3200 Q TRAP LC/MS/MS.

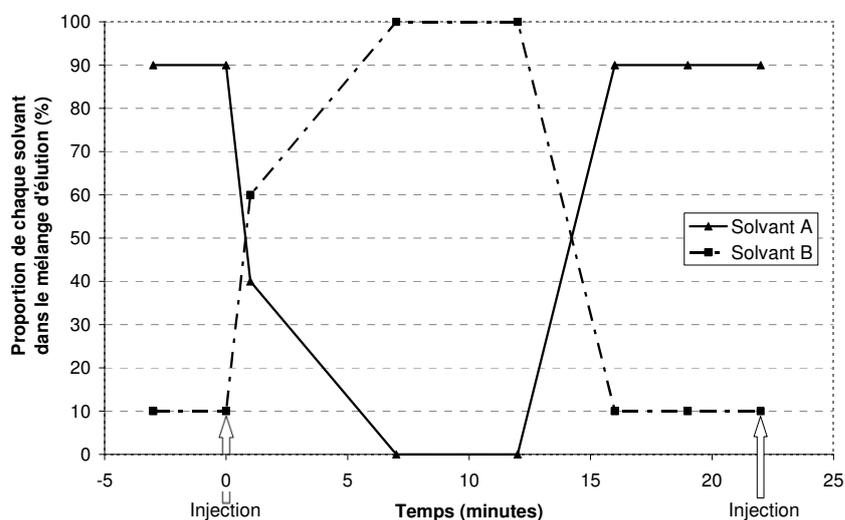


Figure D.2: Gradient d'élution utilisé pour la méthode de recherche multi-résidus par LC-MS-MS.

Dans les séquences d'analyse, le volume injecté est de 20 µL. Une fois l'injection effectuée l'échantillon est entraîné par une phase mobile formée d'un mélange d'eau/acide acétique (solvant A) et d'acétonitrile (solvant B) suivant un gradient d'élution (figure D.2). La durée d'une phase d'analyse est de 12 minutes, entre chaque phase on retrouve une étape d'équilibrage de la

colonne (7 min) qui permet de retrouver les conditions initiales. Un blanc est injecté après chaque échantillon et chaque échantillon est injecté deux fois. Les concentrations mesurées sont ajustées et prennent en compte le rendement et l'effet matrice (les limites de quantifications sont présentées en annexe 3).

En ce qui concerne le dosage du 14^{ème} pesticide étudié (la trifluraline), celui-ci est réalisé conjointement au dosage des pesticides organochlorés et PCB (cf E.2). La méthode est décrite dans le chapitre E. Les poissons utilisés pour l'analyse de la trifluraline sont issus de l'échantillonnage de vidange (TF). Les poissons testés sont la carpe (*Cyprinus carpio*) et la perche (*Perca fluviatilis*). Toutefois, les faibles productions de perches des sites C-45 et C-75 lors de l'année 2008-2009 (TF), n'ont pas permis un échantillonnage suffisant pour analyser la trifluraline.

D. 2. 1. 3. ANALYSES STATISTIQUES

Les données sur les niveaux de contamination dans le muscle de poisson sont présentées dans ce chapitre sous forme de boîtes à moustaches (figure D.3). Les concentrations supérieures à la limite de quantification sont conservées. Les molécules détectées mais non quantifiées se voient attribuer une valeur de concentration égale à la moitié de la limite de quantification (LOQ). Les molécules non détectées se voient attribuer une valeur de concentration égale à zéro. Les valeurs de LOQ/2, prises lorsque la molécule est détectée mais non quantifiée, sont indiquées par un point rouge.



Figure D.3 : Représentation des concentrations musculaires sous forme de boîte à moustache et abrégations utilisées pour le nom des molécules.

Ces données sont ensuite traitées par Analyses en Composante Principale (variables explicatives) suivies de classifications hiérarchiques ascendantes avec le logiciel SPAD 7.0.

Les paramètres placés en variables illustratives concernent :

- Les caractéristiques de l'étang et du bassin versant, décrits dans le chapitre B (superficies, surfaces en cultures et rotations, nature assolement, volume et temps de renouvellement de l'eau, quantités épandues)
- Les concentrations dans les matrices environnementales (décrites dans ce chapitre).

D. 2. 2. EN LABORATOIRE

Sur les 14 pesticides étudiés en étang, seule la trifluraline présente une estimation du BMF (BMF < 1, potentiel de biamplification modéré) (Kelly *et al.*, 2007). La littérature ne donnant pas d'éléments sur le devenir des 13 pesticides étudiés pour les espèces dulcicoles d'élevage, une expérimentation en laboratoire est mise en œuvre pour déterminer les paramètres d'accumulation et de demi-vie dans le muscle de poisson. L'objectif de cette expérimentation est d'apporter des éléments pouvant favoriser la compréhension des résultats observés en étang. Ainsi, deux espèces piscicoles d'étang (carpe, *Cyprinus carpio* et perche, *Perca fluviatilis*) sont soumises à un mélange de 13 pesticides, actuellement homologués, par voie alimentaire (aliment contaminé) pendant 6 jours. Ensuite, 12 jours d'épuration sont effectués. La démarche expérimentale et sa justification sont détaillées en annexe 5.

D. 2. 2. 1. CONTAMINATION DE L'ALIMENT

Un taux de rationnement de 1% du poids vif lors de l'expérimentation conduit à une contamination alimentaire de 50 mg/Kg de granulés pour exposer les poissons à une dose journalière de 500 µg/kg (PV). L'aliment est composé d'un mélange finement broyé de Biomar écoline® (44% protéines, 16% lipides) (50%) et de farine de blé (50%). L'aliment servant aux phases d'acclimatation et d'épuration n'est pas contaminé mais simplement homogénéisé par brassage mécanique dans un bol mélangeur en inox. Douze³⁹ des quatorze pesticides étudiés sont ajoutés sous forme de poudre⁴⁰ à 2 kg de broyat d'aliment formulé (200 mg de chaque pesticide, préconditionné par Fluka (Sigma-Aldrich) en flacon de 250mg⁴¹ pour le carbendazime et le diméthachlore et enfin de 100mg pour les autres molécules). Une treizième molécule : le quizalofop-éthyl, largement utilisé en épandage et dont le produit de dégradation principal suspecté est le quizalofop⁴², est également ajouté au mélange (Fluka, flacons 50mg). Le tout est homogénéisé 10 minutes à l'aide du bol mélangeur. La farine de blé (2 kg) est ajoutée et la préparation est homogénéisée 10 minutes dans le bol mélangeur. Le mélange ainsi obtenu est transformé en granulés de 4 mm de diamètre à l'aide de quatre passages successifs dans une

³⁹ Tous sauf trifluraline et quizalofop.

⁴⁰ Tous les pesticides sont à une pureté supérieure à 96%, les flacons sont rincés avec 200µl d'huile ou d'eau selon la solubilité des molécules.

⁴¹ 200mg de chaque préparation sont pesés avec une précision de 0,1 mg

⁴² Dans l'expérience, le quizalofop est encore suivi en tant que produit de dégradation potentiel du quizalofop-éthyl dans le poisson.

granuleuse. La teneur en pesticides est mesurée dans l'aliment à la fin de l'expérimentation afin de contrôler la dose reçue par les poissons.

D. 2. 2. 2. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Le dispositif expérimental est constitué de 8 bacs en verre et joints silicone soit 8 unités expérimentales. Ces bacs ont un volume brut unitaire de 280 L d'eau maintenue à $22 \pm 1^\circ\text{C}$, et sont équipés d'une pompe de 1.200 W, de 4 filtres et d'un diffuseur d'air en pierre ponce qui maintient l'oxygène dissous à un niveau supérieur à 7 mg/L. La lumière programmée 16J/8N est assurée par des néons globalement répartis au plafond de la salle d'expérimentation et donnent une luminosité de 115 ± 25 lux en fond d'unité. Au cours de l'expérimentation, les nitrites sont à des taux inférieurs à 0,1 mg/L, les ions ammonium inférieurs à 0,5 mg/L, le pH est maintenu à $7,5 \pm 0,5$ par ajouts de NaCO_3 . Afin de limiter la contamination des unités, un nettoyage des filtres et un changement d'eau (1/3 du volume) sont pratiqués à la fin de la phase de contamination.

Les 8 unités expérimentales contiennent chacune 15 poissons (répartition aléatoire dans la salle de 4 bacs contenant des perches de poids moyen 34 ± 5 g et 4 autres contenant des carpes de poids moyen 59 ± 6 g. Après un mois d'acclimatation à ces conditions expérimentales, les poissons subissent, durant 6 jours, une contamination journalière par voie alimentaire (rationnement 1% du poids vif) avec un granulé contaminé en treize pesticides. Le même granulé non contaminé est utilisé pour la phase d'épuration de 12 jours. L'aliment est donné en une fois le matin, à 10H. L'abattage des poissons (abattage simultané d'un poisson par unité expérimentale et par temps de prélèvement) est effectué par choc mécanique à la tête après ralentissement du métabolisme dans un bain de glace fondante. Les mesures réalisées concernent : la taille (longueur standard), la masse du poisson entier, la masse des organes (foie, gras, viscères totales, gonades). Le muscle est alors prélevé et emballé dans de l'aluminium avant d'être congelé à -20°C . Deux prélèvements d'eau sont réalisés, à J5 et J18 afin de déterminer la contamination potentielle de l'eau. Les 13 pesticides sont également dosés dans l'aliment afin de vérifier les quantités apportées aux poissons.

D. 2. 2. 3. DOSAGE DES 13 PESTICIDES

Cette technique de quantification multi-résidus dans 3 matrices (eau, aliment et muscle de poisson) est également réalisée grâce à une collaboration avec le « Service Central d'Analyse » (CNRS USR-59, Solaize).

Pour les dosages dans l'eau, l'extraction est réalisée sur phase solide (SPE). Elle comprend le conditionnement d'une cartouche Strata X (C18 phase inverse, 200 mg, 33 μm , 3 mL; Phenomenex, Torrance, Californie) par le passage successif d'acétonitrile, de méthanol et d'eau. 400 mL d'échantillon traversent la colonne puis un rinçage est effectué avec de l'eau avant un séchage de 20 minutes. Les pesticides sont récoltés par un mélange acétonitrile / acétate

d'Ethyle (50 : 50, v/v). 50 µL de Diméthyl-SulfOxyde (DMSO) sont ajoutés avant l'évaporation sous flux d'azote à +40°C. Les pesticides sont dilués dans un mélange eau/acétonitrile (90 : 10, v/v) avant d'être analysés.

La technique d'extraction des 13 pesticides dans le muscle de poisson a été améliorée en cours de thèse afin d'obtenir de meilleurs rendements. La nouvelle méthode nous a permis de doser, dans cette expérience, 13 pesticides dans les aliments et la chair de carpe et de perche. La technique combine une extraction par acétonitrile sous broyage à l'ultra-turax à une purification (étape Quetchers). Un broyage à l'ultra-turax (5 min) est réalisé sur 3 g de muscle auxquels sont ajoutés 10 mL d'acétonitrile. Cette étape est suivie par la purification de l'échantillon par ajout de 1 mL d'eau et 3 mL d'hexane puis d'une phase dispersive et d'un asséchant de type Quetchers (sachet prédosé). Une centrifugation (5000 tours/min, 2min, 20°C) permet la récupération de 6 mL d'acétonitrile du surnageant, qui est alors évaporé sous vide à 40°C. 50µL DMSO sont ajoutés avant l'évaporation afin de ne pas évaporer à sec mais reprendre un volume précis (ajout de 2,95 mL d'un mélange eau/acétonitrile (90/10, v : v) pour l'injection en LC-MS-MS. La méthode de dosage (analyse par LC-MS-MS) a déjà été décrite dans ce chapitre mais se fait dans cette partie avec un détecteur plus performant, permettant ainsi d'abaisser les limites de quantification (tableau D.2). Les rendements analytiques sont compris entre 97 et 100% pour les 13 molécules. L'effet matrice, influençant le rendement total observé, est pris en compte dans le calcul de la concentration.

Tableau D.2 : Limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) des 13 pesticides dans la chair de poisson.

Molécules	LOD	LOQ
Mésosulfuron-méthyl	0,003	0,01
Isoproturon	0,003	0,03
Iprodione	0,91	1,81
Fluroxypyr	0,42	0,91
Diméthachlore	0,00	0,00
Diflufénican	0,12	0,31
Clomazone	0,02	0,06
Carbendazime	0,004	0,01
Azoxystrobine	0,004	0,01
Métazachlore	0,01	0,02
Napropamide	0,003	0,01
Quizalofop	2,95	7,38
Thifensulfuron-méthyl	0,13	0,32

D. 2. 2. 4. VERIFICATION DES CONDITIONS EXPERIMENTALES

Lors de cette expérience, les concentrations des 13 pesticides suivis sont déterminées dans l'aliment non contaminé, l'aliment contaminé et l'eau (à la fin des périodes d'exposition et d'épuration) afin de vérifier les conditions expérimentales.

Tableau D.3 : Concentration de pesticides présents dans l'aliment non contaminé et contaminé.

- Molécules non détectées
Les valeurs sont la moyenne (écart-type)

Molécules	Aliment non contaminé (n=2)	Aliment contaminé (n=4)	
	Concentration (µg/kg, PF)	Concentration (mg/kg, PF)	Concentration (mg/kg, lip)
Mésosulfuron-méthyl	0,055	50 (6)	627 (73)
Isoproturon	0,03	60 (5)	755 (62)
Iprodione	-	212 (29)	2656 (368)
Fluroxypyr	-	52 (5)	646 (68)
Diméthachlore	0,023	68 (1)	847 (2)
Diflufénican	-	65 (3)	811 (33)
Clomazone	0,16	55 (1)	686 (5)
Carbendazime	0,23	40 (2)	497 (25)
Azoxystrobine	0,12	48 (1)	600 (16)
Métazachlore	-	63 (1)	794 (1)
Napropamide	-	39 (1)	492 (4)
Quizalofop	-	5 (1)	61 (5)
Thifensulfuron-méthyl	-	46 (8)	576 (99)

Tableau D.4 : Concentration des 13 pesticides dans l'eau après 5 jours et 18 jours d'expérience.

- Molécules non détectées
Les valeurs sont la moyenne (écart-type)

Molécules	Eau à J5 (n=8)	Eau à J18 (n=8)
	Concentration (µg/L)	Concentration (µg/L)
Mésosulfuron-méthyl	4,5 (0,9)	2,6 (1,3)
Isoproturon	2,5 (0,7)	1,0 (0,4)
Iprodione	2,2 (2,7)	-
Fluroxypyr	3,0 (0,9)	1,9 (0,8)
Diméthachlore	2,0 (0,5)	0,7 (0,4)
Diflufénican	0,09 (0,01)	0,05 (0,01)
Clomazone	1,3 (0,3)	0,7 (0,2)
Carbendazime	1,9 (0,4)	0,8 (0,3)
Azoxystrobine	1,4 (0,2)	0,7 (0,2)
Métazachlore	2,0 (0,3)	0,9 (0,3)
Napropamide	1,2 (0,2)	0,6 (0,2)
Quizalofop	2,5 (0,9)	1,3 (1,1)
Thifensulfuron-méthyl	3,2 (0,9)	1,8 (0,8)

L'aliment non contaminé, conditionné pour les phases d'acclimatation et d'épuration, présente des traces (< 0,5 µg/kg PF) de 6 pesticides (mésosulfuron-méthyl, isoproturon, diméthachlore, clomazone, carbendazime et azoxystrobine). Pour l'aliment contaminé, le processus de fabrication donne des concentrations proches de 50 mg / kg PF (39 à 68 mg/kg PF), excepté pour l'iprodione (212 mg/kg PF) (tableau D.3). Le quizalofop (5 mg/kg PF) apparaît comme un produit de dégradation du quizalofop-éthyl, concernant 10% de la dose de quizalofop-éthyl

initiale. Les concentrations sont rapportées à la teneur en lipides de l'aliment (matière grasse aliment 8%) et serviront aux calculs du BMF.

Un échantillon d'eau a été prélevé 1H après la ration alimentaire du jour 5 et du jour 18. L'eau contient les 13 pesticides en quantités non négligeables (tableau D.4). Cela représente un biais dont nous pouvons difficilement nous affranchir dans la présente expérimentation, du fait de la possibilité d'assimilation par voie branchiale.

D. 2. 2. 5. ATTEINTE DE L'EQUILIBRE EN PHASE D'EXPOSITION

L'atteinte de l'équilibre est validée ou infirmée par une analyse de variance en mesure répétée (SAS modèle selon procédure MIXED, version 9.1, SAS® Institute, Cary, NC). L'analyse est faite pour chaque espèce et chaque molécule⁴³. L'analyse prend en compte le temps et les répétitions (n=4, 1 bac correspond à une unité expérimentale) pour la différenciation des valeurs (tableau D.5). La molécule atteint l'équilibre si les trois derniers points de la cinétique d'accumulation (phase d'exposition) ne présentent pas de différences significatives (p<0,05) selon le modèle.

Tableau D.5 : Résultats du modèle statistique rendant compte de l'effet temps pour les différentes molécules et espèces testées.

** : hautement significatif (p<0,01), - non déterminé.

Molécules	Effet temps		Déviation Standard Résiduelle	
	Carpe	Perche	Carpe	Perche
Mésosulfuron-méthyl	**	**	0,10	0,05
Isoproturon	**	**	0,53	0,36
Iprodione	**	**	2,06	6,20
Fluroxypyr	-	-	-	-
Diméthachlore	**	**	0,05	0,07
Diflufénican	**	**	2,39	6,56
Clomazone	**	**	0,56	0,34
Carbendazime	**	**	0,10	0,08
Azoxystrobine	**	**	0,16	14,99
Métazachlore	**	**	0,05	0,17
Napropamide	**	**	0,77	2,02
Quizalofop	**	**	0,07	1,91
Thifensulfuron-méthyl	**	**	0,07	0,06

D. 2. 2. 6. CALCULS DES PARAMETRES D'ACCUMULATION

La constante cinétique de disparition des molécules du muscle (K_2) est déterminée graphiquement et équivaut à la pente de la droite représentant le logarithme népérien de la concentration en fonction du temps lors de l'épuration. Les points pris en comptes pour le calcul

⁴³ Sauf fluroxypyr

de K_2 sont représentés en rouge dans la figure D.8. La demi-vie (DT50) des molécules dans le muscle est donnée par l'équation 3 ($DT50_t = \frac{\ln 2}{K_2}$). Les calculs de BMF sont déterminés :

- par l'équation 4 ($BMF = \frac{C_T}{C_a}$) quand l'équilibre est atteint lors des 6 jours d'exposition⁴⁴.

Dans ce cas, les concentrations sont rapportées aux lipides. L'aliment est à 8% de matière grasse (données fournisseurs). La matière grasse a été mesurée dans le muscle des poissons à l'équilibre (J6, n=4 par espèce) par le LDA22. La préparation de l'échantillon est faite selon la norme NF V18-091 et l'extraction automatisée de la matière grasse par l'éther de pétrole selon la norme NF V04-403. La matière grasse du muscle est de $0,8 \pm 0,2$ % et $0,5 \pm 0,1$ % pour la carpe et la perche respectivement.

- par l'équation 6 ($BMF_k = \frac{\alpha F}{K_2}$) si 80% à 95% de l'équilibre est atteint.

Dans ce cas, F est le taux de rationnement journalier de 1% du poids vif. Il est nécessaire de calculer α , l'assimilation de la molécule dans le muscle, qui correspond à la moyenne des $\alpha(t)$ donnés par l'équation 12, pour t allant de t80 à t95 (équation 14).

Équation 12 : Calcul détaillé de α
$$\alpha(t) = \frac{n_m}{n_a} = \frac{\frac{m_{mol,m}}{M_{mol}}}{\frac{m_{mol,a}}{M_{mol}}} = \frac{m_{mol,m}}{m_{mol,a}} = \frac{C_{mol,m} \times m_m}{C_{mol,a} \times m_a}$$

Avec $m_{mol,m}$ et $m_{mol,a}$ sont les masses des molécules contenues dans le muscle et dans l'aliment respectivement (g), M_{mol} est la masse molaire de la molécule (g/mol), $C_{mol,m}$ et $C_{mol,a}$ sont les concentrations des molécules dans le muscle et l'aliment respectivement (ng / g, ajusté lipide), m_m et m_a sont les masses de muscle et d'aliment consommé par jour, respectivement (ng, ajusté lipide).

Nous n'utiliserons pas la transposition directe de la formule relative au BCF_k ($BCF_k = \frac{K_1}{K_2}$) pour

calculer le BMF_k (équation 5) car cela peut engendrer des erreurs importantes du fait que les modalités de transfert vers le muscle sont différentes selon que le contaminant entre par voie branchiale ou trophique. En effet, d'après la littérature (cf. Chapitre A. 3. 2.), dans le cas de la voie branchiale, le contaminant est constamment distribué et parvient au muscle en premier et au système hépatique en dernier, selon le sens de circulation sanguine. La constante cinétique calculée lors de la montée de concentration correspond donc bien à l'apparition de la molécule et donc à K_1 , l'influence de K_2 est alors négligée dans le calcul du BCF. Par contre, lorsque la contamination se fait par voie trophique, la distribution préférentielle au système hépatique, dès

⁴⁴ Les concentrations C_t et C_a sont ajustées à la teneur en lipides du muscle et de l'aliment, respectivement.

le début de la digestion, remet en cause ce calcul du fait que la distribution au muscle intervient ensuite et donc la montée en concentration dans ce tissu est pondérée par le métabolisme et l'excrétion. La constante cinétique d'apparition ($K_{1,apparente}$) en résultant devient donc une fonction des constantes cinétiques K_1 et K_2 . Le BMF_K peut toutefois être calculé selon la formule de Tomy *et al.* (2004) donnée en équation 6, qui prend en compte les quantités ingérées, l'assimilation dans le muscle et la cinétique de disparition du muscle.

D. 3. PROFILS DE CONTAMINATION EN ETANG

D. 3. 1. CONTAMINATION DE L'EAU

Les profils de contamination de l'eau des étangs pour les 14 pesticides étudiés (tableau D.6) sont variables selon le site mais également selon la saison. Certaines molécules ne sont jamais détectées ni quantifiées : l'iprodione, le fluroxypyr et le quizalofop. L'isoproturon et le métazachlore sont les deux molécules présentant les plus fortes concentrations. Les concentrations maximales sont observées pour le site C-45 en ce qui concerne l'isoproturon (2,69 $\mu\text{g/L}$) et pour le site C-25 pour le métazachlore (0,54 $\mu\text{g/L}$).

Le site C-0 ne présente pas de molécules quantifiées, tandis que les sites C-45 et C-75 ont les profils de contamination les plus diversifiés. En apparence, les profils de concentration dans l'eau pour les 14 pesticides (pouvant être hiérarchisés tel que : C0 < C-25 < C-85 < C-45 \approx C-75) ne suivent pas totalement le gradient de mise en culture des bassins versants. Le site C-85 n'est pas correctement positionné dans la hiérarchisation des profils de contamination. La littérature apporte des précisions (*cf.* Chapitre A.) sur l'origine de cette observation : les pratiques agricoles (vergers, semis sous couvert) sur le site C-85 limitent la mobilisation des pesticides lors du ruissellement. De plus, l'eau de l'étang est régulièrement pompée à des fins d'irrigations sur le bassin versant, pouvant provoquer des phénomènes de dilution.

Cependant, la cohérence entre concentration dans l'eau et usages phytosanitaires est mise en avant par le fait que les molécules atteignent les plus fortes concentrations lors de leur saison d'épandage. A titre d'exemple, le mésosulfuron-méthyl et le thifensulfuron-méthyl sont présents au printemps alors que le diméthachlore et la métazachlore sont retrouvés à l'automne. Le suivi des pesticides dans l'eau reste une observation ponctuelle de l'état de contamination en 14 pesticides aux différents temps de prélèvement.

Tableau D.6 : Concentrations ($\mu\text{g/L}$) des 14 pesticides recherchés dans l'eau de surface des 5 sites étudiés (sortie d'étang)

- Molécules non quantifiées.

D Molécules détectées

■ Molécules non recherchées ou temps de prélèvement en dehors de la période de production étudiée.

	C0							C25							C45							C75							C85						
	oct-07	mars-08	avr-08	mai-08	août-08	oct-08	févr-09	oct-07	mars-08	avr-08	mai-08	août-08	oct-08	févr-09	oct-07	mars-08	avr-08	mai-08	août-08	oct-08	févr-09	oct-07	mars-08	avr-08	mai-08	août-08	oct-08	févr-09	oct-07	mars-08	avr-08	mai-08	août-08	oct-08	févr-09
Azoxystrobine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D		
Carbendazime	-	-	-	D	-	-	-	D	D	D	D	D	-	-	D	-	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	D	-	-	0,03	-	-	D		
Clomazone	-	-	-	-	-	D	-	D	-	-	-	-	-	-	0,03	-	-	D	-	D	D	-	-	-	-	-	D	-	-	D	-	0,03	D		
Diflufenican	-	-	-	-	-	-	-	-	D	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	D	-	-	-	-	-	D	-	-	-	-	-	-		
Diméthachlore	-	-	-	-	-	D	-	D	-	-	-	-	-	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	-		
Fluroxypyr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Iprodione	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Isoproturon	-	-	-	-	-	-	-	0,06	D	-	-	-	0,02	-	0,08	-	-	0,03	2,69	D	-	-	-	-	-	-	0,13	-	-	0,04	0,02	0,06	D		
Mésosulfuron-méthyl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	-	-	-	-	0,09	-	-	0,08	D	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Métazachlore	-	-	-	-	-	D	-	0,54	0,02	D	-	-	D	-	D	-	-	D	D	0,41	0,04	-	-	-	-	-	D	-	-	-	-	0,42	0,03		
Napropamide	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	-	-	-	-	-	-	D	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	D		
Quizalofop	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Thifensulfuron-méthyl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,19	-	-	0,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Trifluraline	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

D. 3. 2. CONTAMINATION DES SEDIMENTS

Certaines molécules ne sont jamais quantifiées dans les sédiments : l'iprodione, le fluroxypyr, le diméthachlore, la clomazone, le quizalofop et le thifensulfuron-méthyl mais sont parfois retrouvées à l'état de trace (détectées). Par contre, les sédiments contiennent de l'isoproturon (0,7 à 56,4 $\mu\text{g}/\text{kg PS}$) et de la trifluraline (0,5 à 13,0 $\mu\text{g}/\text{kg PS}$) dans chaque site.

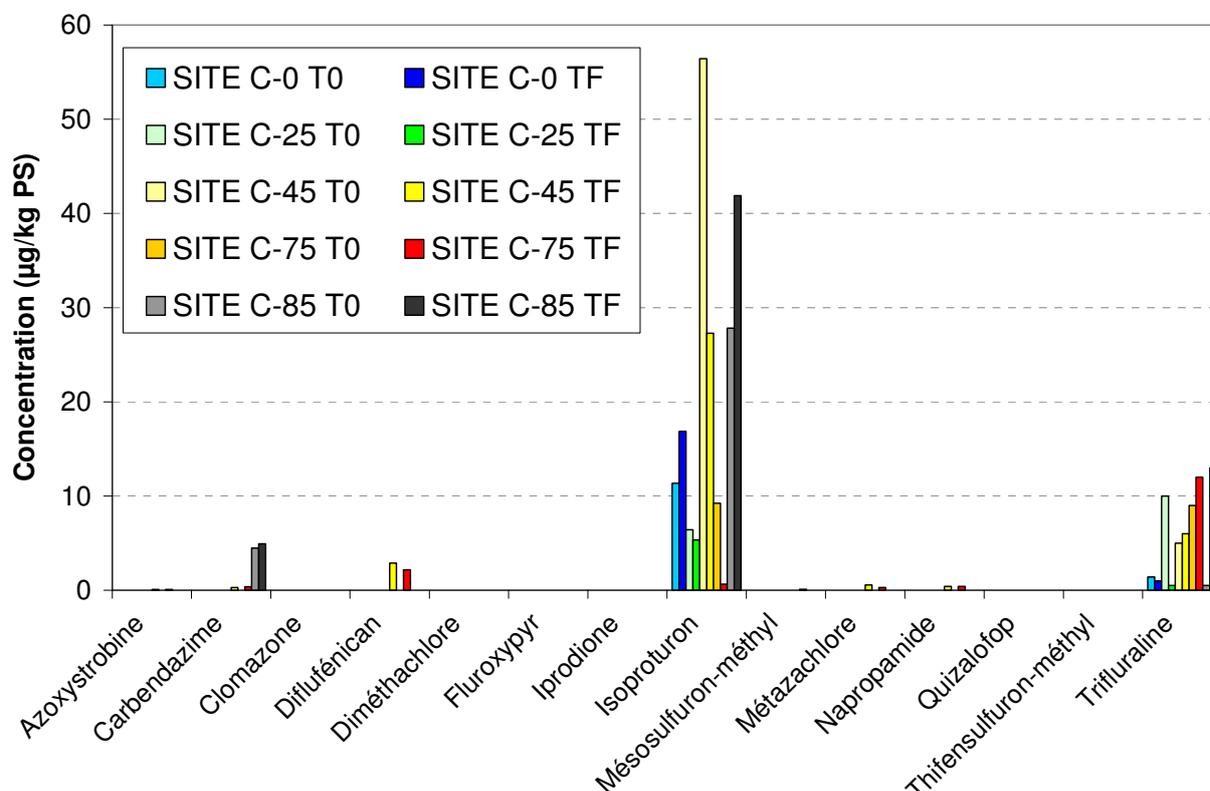


Figure D.4 : Concentrations ($\mu\text{g}/\text{kg PS}$) de 14 pesticides dans les sédiments des 5 sites étudiés en 2007-2008 (T0) et 2008-2009 (TF).

Les sédiments du site C-85 contiennent également du carbendazime (4,5 à 4,9 $\mu\text{g}/\text{kg PS}$). Le mésosulfuron-méthyl est quantifié seulement (0,1 $\mu\text{g}/\text{kg PS}$) pour le site C-75 (TF). Les sédiments des sites C-45 et C-75 présentent les profils de contamination les plus diversifiés, avec la quantification de nombreuses molécules supplémentaires (figure D.4). Ces molécules sont retrouvées en concentrations similaires pour les deux sites :

- le diflufénican, 2,9 et 2,2 $\mu\text{g}/\text{kg PS}$ pour le site C-45 et C-75, respectivement
- le carbendazime, 0,3 et 0,4 $\mu\text{g}/\text{kg PS}$
- l'azoxystrobine, 0,08 et 0,07 $\mu\text{g}/\text{kg PS}$
- le métazachlore, 0,6 et 0,3 $\mu\text{g}/\text{kg PS}$
- la napropamide, 0,4 $\mu\text{g}/\text{kg PS}$ pour les deux sites

Les profils de contaminations en 14 pesticides dans les sédiments peuvent être hiérarchisés de la manière suivante : C-0 \approx C-25 < C-85 < C45 \approx C-75. Le site C-85 n'est, une fois encore, pas à la bonne position dans la hiérarchisation pour que les concentrations sédimentaires suivent le

gradient de mise en culture du bassin versant. Ceci peut également s'expliquer par des pratiques de gestion - du bassin versant et de l'étang - différentes des autres sites.

D. 3. 3. CONTAMINATION DU MUSCLE DE GARDON, DE CARPE ET DE PERCHE

Les profils de contamination des muscles de gardon (figure D.5), de carpe (figure D.6) et de perche (figure D.7) sont similaires pour chaque site avec une absence de molécules quantifiées au temps T0 et quelques molécules quantifiées au temps TF, avec des différences de profils entre les sites. A TF, le site C-0 est marqué par la présence de carbendazime dans les trois espèces piscicoles ($0,09 \pm 0,02$; $0,2 \pm 0,1$ et $0,17 \pm 0,06$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ PF pour le gardon, la carpe et la perche respectivement). Le site C-25 montre la présence de métazachlore dans le muscle de perche ($0,13 \pm 0,02$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ PF). Une contamination en isotroturon est observée pour les muscles de carpe et de perche des sites C-45 et C-75 (de $0,4 \pm 0,1$ et de $0,75 \pm 0,06$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ PF dans le muscle de carpe et de perche⁴⁵ respectivement). La trifluraline est fréquemment quantifiée dans le muscle de carpe et de perche⁴⁶ (87% des échantillons testés). Les concentrations les plus fortes sont relevées pour les sites C-45 et C-75 et sont respectivement de 6 ± 4 et 21 ± 14 $\mu\text{g}/\text{kg}$ PF dans le muscle de carpe.

Les profils de contaminations en 14 pesticides dans les muscles de poissons peuvent difficilement être hiérarchisés, étant données les faibles concentrations observées et la disparité des profils entre les sites (figures D.5 à D.7). Au final, les pesticides sont majoritairement retrouvés à l'état de trace dans le muscle de poisson. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette faible contamination :

- Les teneurs environnementales sont peut-être trop faibles pour permettre l'observation de l'accumulation sur une période de croissance annuelle. En effet, les seuls pesticides quantifiés dans le muscle sont ceux qui ont les concentrations les plus élevées dans le sédiment (trifluraline, isotroturon) ou l'eau (métazachlore, isotroturon).
- Les molécules ont peut-être une assimilation faible et/ou une bioaccumulation faible. Cependant, les teneurs dans les muscles ont tout de même tendance à augmenter entre les deux temps de prélèvement : T0 et TF.
- Les poissons métabolisent peut-être facilement ces molécules et/ou la demi-vie de ces molécules dans le muscle est faible. Cela pourrait être concordant avec les résultats concernant l'activité enzymatique liée à la biotransformation explicitée dans le chapitre C pour le gardon et la carpe. En particulier, l'EROD a une activité qui reflète bien le gradient de mise en culture des sites.

⁴⁵ Pas de perche pêchée à TF dans le site C-45.

⁴⁶ La trifluraline n'a pas été recherchées dans le muscle de gardon, ni dans les peches du site C-45 et C-75.

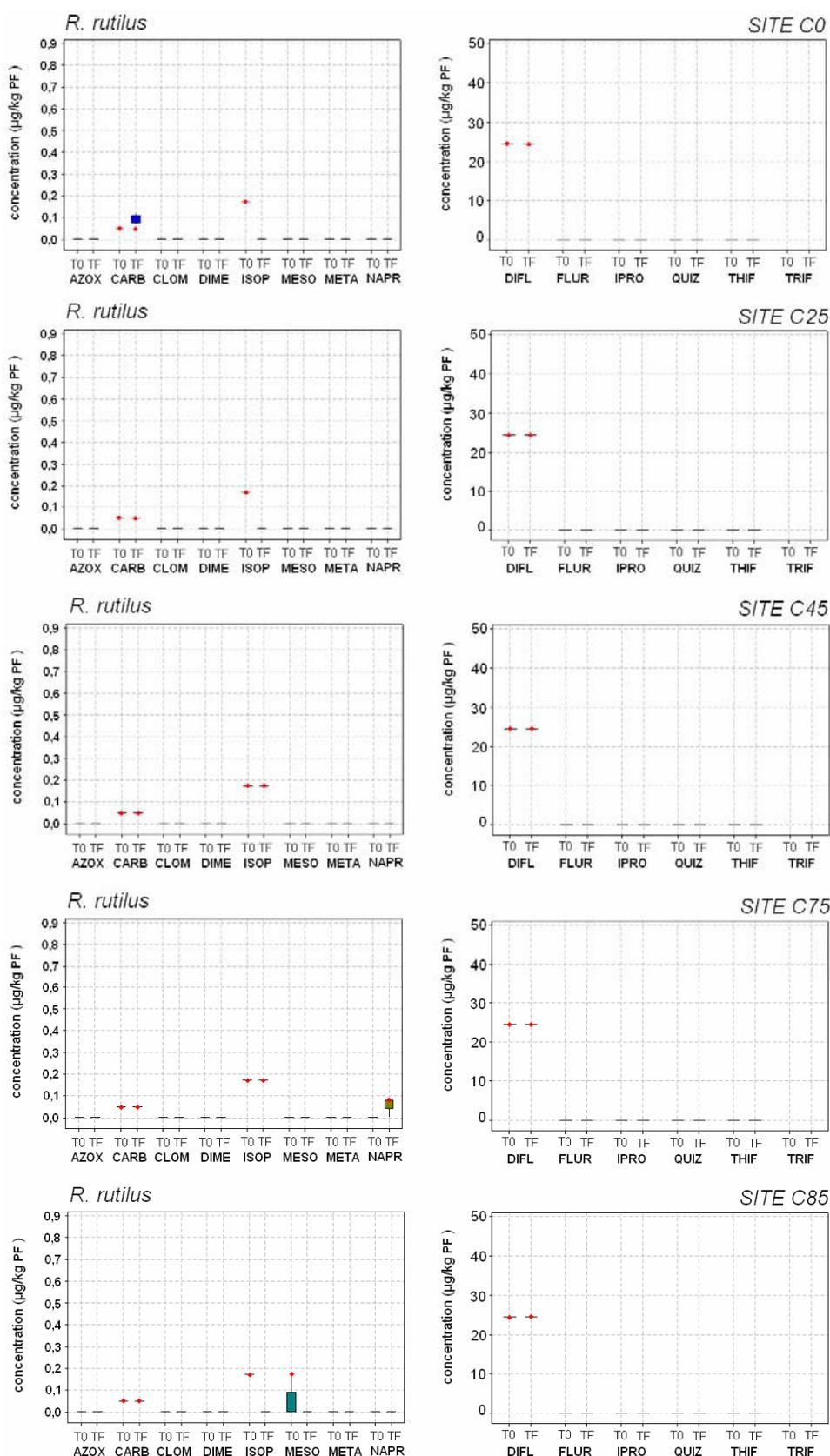


Figure D.5 : Concentrations de pesticides dans le muscle de gardon à T0 et TF pour les 5 sites

N.B. La valeur zéro est attribuée aux molécules non détectées, la valeur LOQ/2 est attribuée aux molécules détectées, la valeur mesurée est attribuée aux molécules quantifiées.

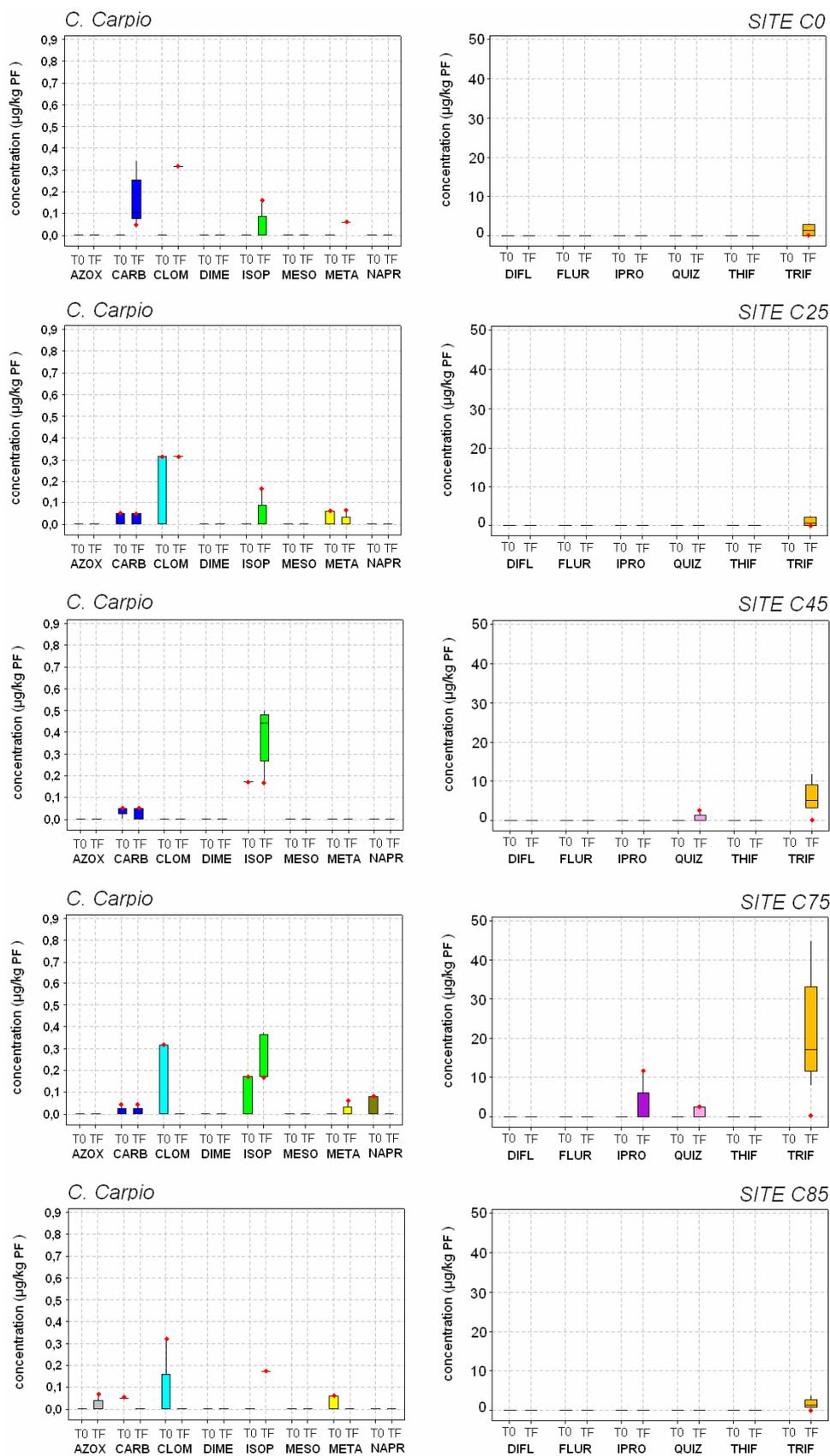


Figure D.6 : Concentrations de pesticides dans le muscle de carpe à T0 et TF pour les 5 sites

N.B. La valeur zéro est attribuée aux molécules non détectées, la valeur LOQ/2 est attribuée aux molécules détectées, la valeur mesurée est attribuée aux molécules quantifiées.

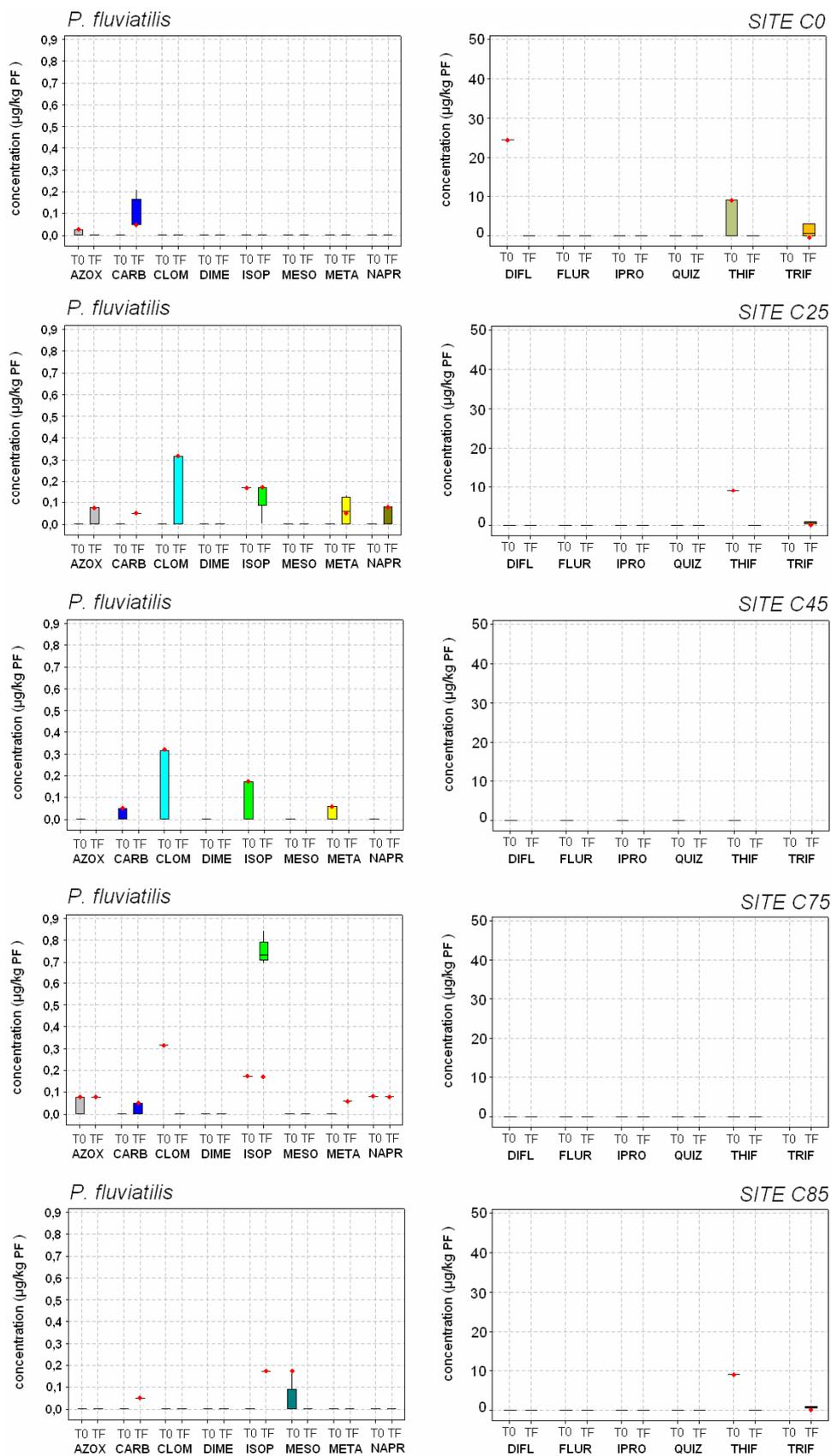


Figure D.7 : Concentrations de pesticides dans le muscle de perche à T0 et TF pour les 5 sites

N.B. La valeur zéro est attribuée aux molécules non détectées, la valeur LOQ/2 est attribuée aux molécules détectées, la valeur mesurée est attribuée aux molécules quantifiées.

D. 4. DETERMINATION DES PARAMETRES D'ACCUMULATION ET DE DEMI-VIE DE 13 PESTICIDES DANS LE MUSCLE DE CARPE ET DE PERCHE EN LABORATOIRE

D. 4. 1. CINETIQUES DES CONCENTRATIONS

Durant la phase d'exposition, les concentrations dans le muscle de poisson augmentent significativement pour 12 pesticides sur les 13 testés (figure D.8).

La concentration de fluroxypyr reste en dessous de la limite de quantification, excepté 9H après la première contamination, où la concentration atteint 2 ± 1 µg/kg PF chez la perche et $0,9 \pm 0,1$ µg/kg PF chez la carpe (données non présentées). Ce composé semble être rapidement métabolisé ou excrété.

Les concentrations maximales dans le muscle sont variables selon les molécules et les espèces. L'iprodione (76 ± 24 µg/kg PF), l'azoxystrobine (61 ± 3 µg/kg PF), le diflufénican (28 ± 7 µg/kg PF), la napropamide (12 ± 2 µg/kg PF) et la clomazone (3 ± 1 µg/kg PF) présentent les concentrations⁴⁷ les plus élevées chez la perche.

Quatre de ces molécules sont également remarquables chez la carpe, bien que leur concentration reste moins élevée que chez la perche : l'iprodione (14 ± 1 µg/kg PF), le diflufénican (6 ± 1 µg/kg PF), la napropamide (6 ± 1 µg/kg PF), et la clomazone (6 ± 2 µg/kg PF). La carpe présente aussi une concentration de 3 ± 1 µg/kg PF d'isoproturon.

Toutes les molécules n'atteignent pas l'équilibre en 6 jours d'exposition :

- L'isoproturon, l'iprodione, l'azoxystrobine et le thifensulfuron-méthyl atteignent l'équilibre lors des 6 jours d'exposition chez la carpe et la perche (figure D.8.a.).
- Le diflufénican, le métazachlore et la napropamide n'atteignent pas l'équilibre chez la carpe et la perche (figure D.8.b.).
- Le mésosulfuron-méthyl augmente chez la perche sans atteindre l'équilibre alors que la cinétique n'est pas claire chez la carpe (figure D.8.b.).
- Le diméthachlore et le carbendazime atteignent l'équilibre chez la carpe mais pas chez la perche (figure D.8.c.).
- La clomazone atteint l'équilibre chez la perche et non chez la carpe (figure D.8.c.).

⁴⁷ Les concentrations présentées sont une moyenne des valeurs retrouvées entre 4 et 6 jours d'exposition

- Le quizalofop, molécule la moins concentrée dans l'aliment (5 mg/kg PF) et potentiellement produit de dégradation du quizalofop-éthyl, n'est pas quantifié à tous les temps de la cinétique (figure D.8.c.). Il semblerait que l'excrétion de ce composé soit rapide (voire qu'il ne soit pas un métabolite transféré vers le muscle) ou qu'il ne soit pas un métabolite majoritaire lors de la dégradation du quizalofop-éthyl par le poisson.

La période d'épuration de 12 jours (de J6 à J18) permet d'observer la décroissance des concentrations dans le temps, sauf pour le fluroxypyr et le quizalofop, dont le faible nombre de valeurs ne permet pas l'établissement des constantes cinétiques.

Peu de molécules atteignent une concentration nulle avant les 12 jours d'épuration : l'iprodione, le thifensulfuron-méthyl, le mésosulfuron-méthyl, le quizalofop et le fluroxypyr. Les autres pesticides sont en décroissance plus lente voire se stabilisent à 12 jours d'épuration (J18).

Une hypothèse pour expliquer la stabilisation de ces molécules serait un stockage de ces composés dans le muscle. Cependant, l'hypothèse d'une contamination parasite par vecteur eau ne peut être exclue pour toutes les molécules. En effet, de nombreuses molécules sont en concentration non négligeable dans l'eau à J18.

- L'iprodione montre une concentration nulle à J18, elle n'est pas présente dans l'eau à J18.
- Le thifensulfuron-méthyl et le mésosulfuron-méthyl, bien que présents dans l'eau à J18, ont une très forte affinité pour l'eau (Log K_{ow} négatif) et présentent, d'après la littérature décrite au chapitre A, une assimilation branchiale négligeable. Leur concentration est donc nulle à J18.
- Le quizalofop et le fluroxypyr, déjà peu présents dans le muscle en phase d'exposition, se retrouvent rapidement en dessous des limites de quantifications dans le muscle pendant la phase d'épuration.
- Les 8 autres molécules présentent une concentration non négligeable à la fin de la phase d'épuration. D'après la littérature décrite au chapitre A, une assimilation par voie branchiale reste possible et pourrait expliquer en partie la stabilisation des niveaux de concentration lors de l'épuration.

Ainsi, le calcul des BMF ne sera pas envisageable pour toutes les molécules et le point J18 sera exclu lors des calculs de demi-vie dans le muscle.

Figure D.8.a. Molécules atteignant l'équilibre pour les deux espèces.

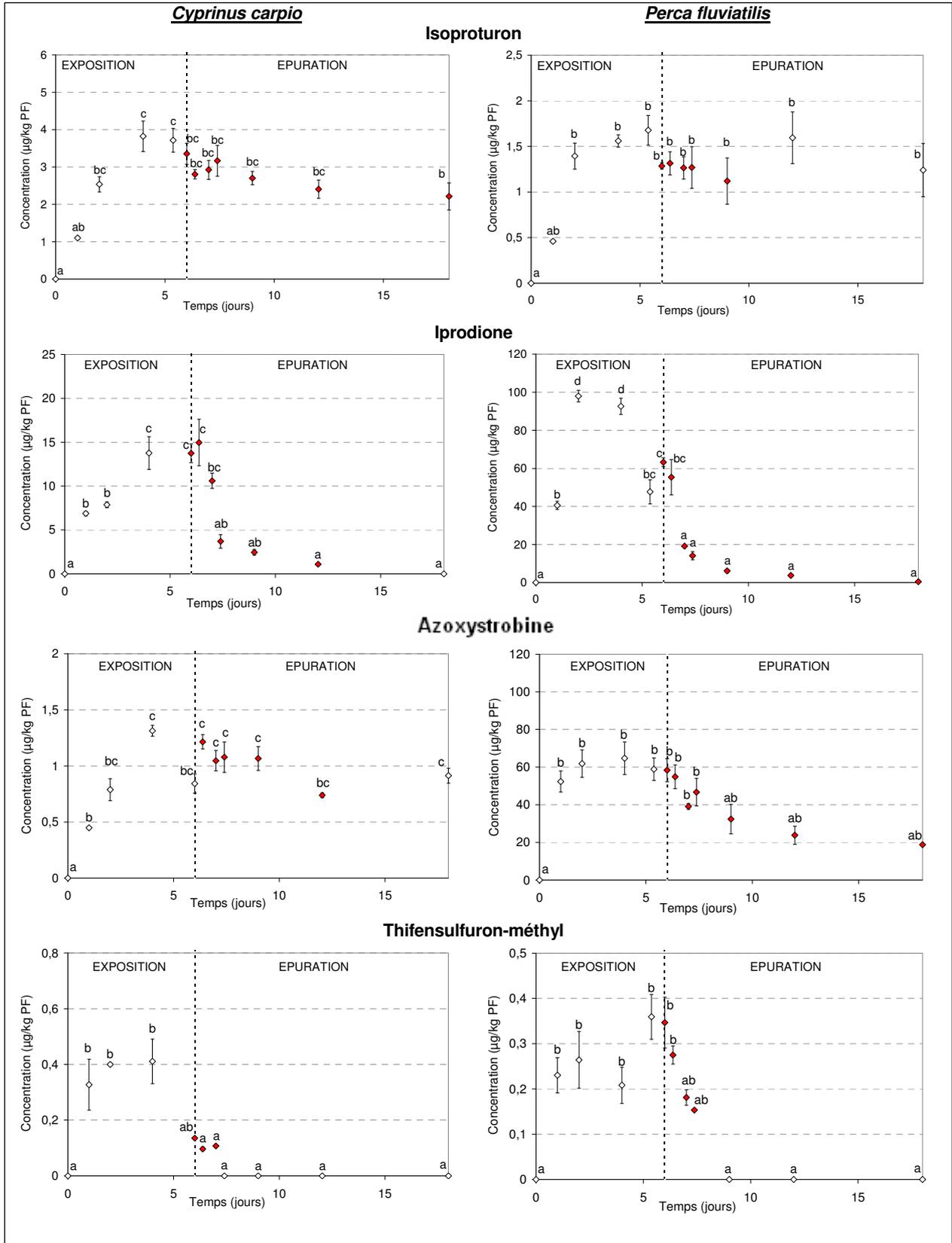


Figure D.8. b. : Molécules atteignant 80 à 95% de l'équilibre pour les deux espèces.

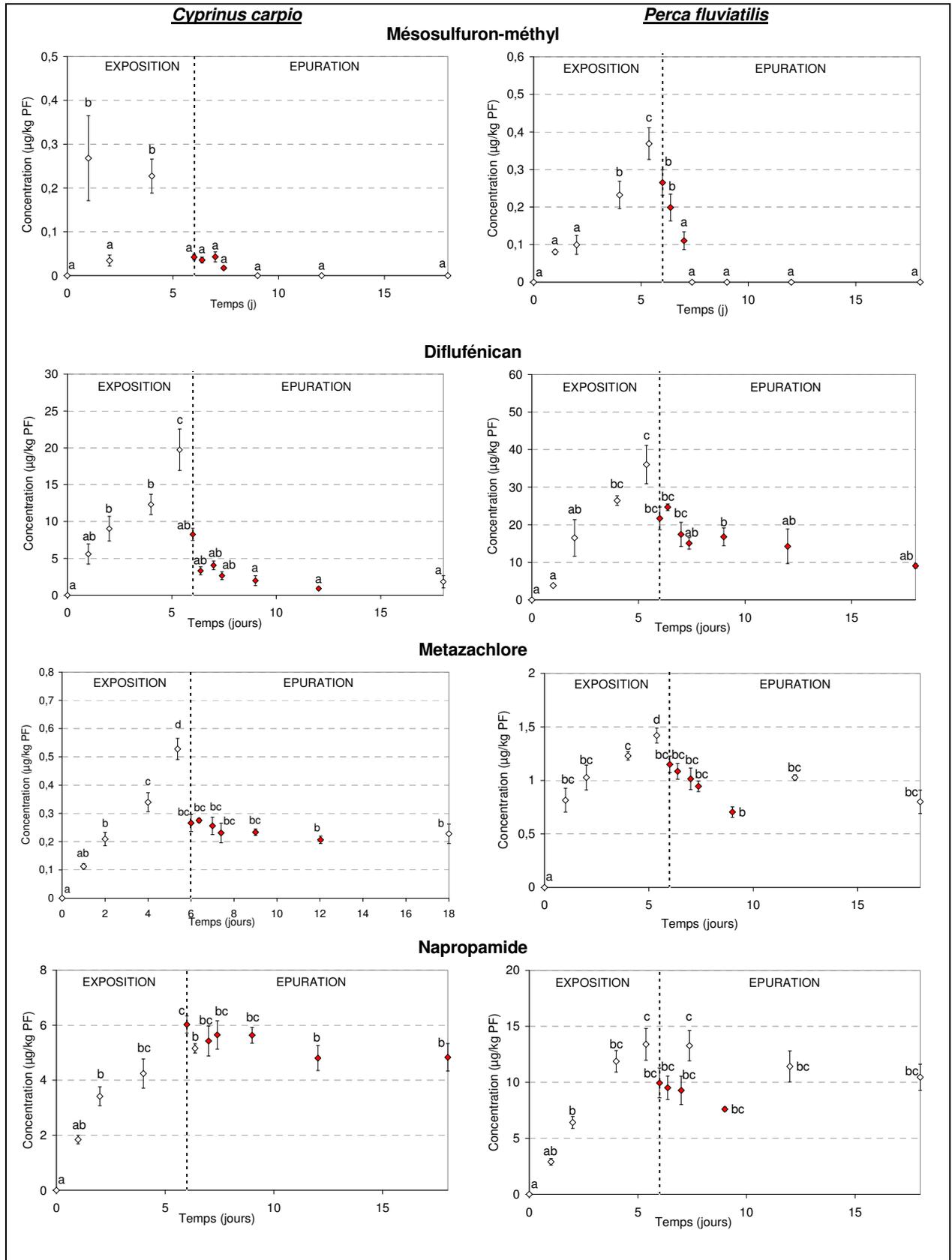


Figure D.8.c. : Molécules atteignant l'équilibre pour une seule espèce

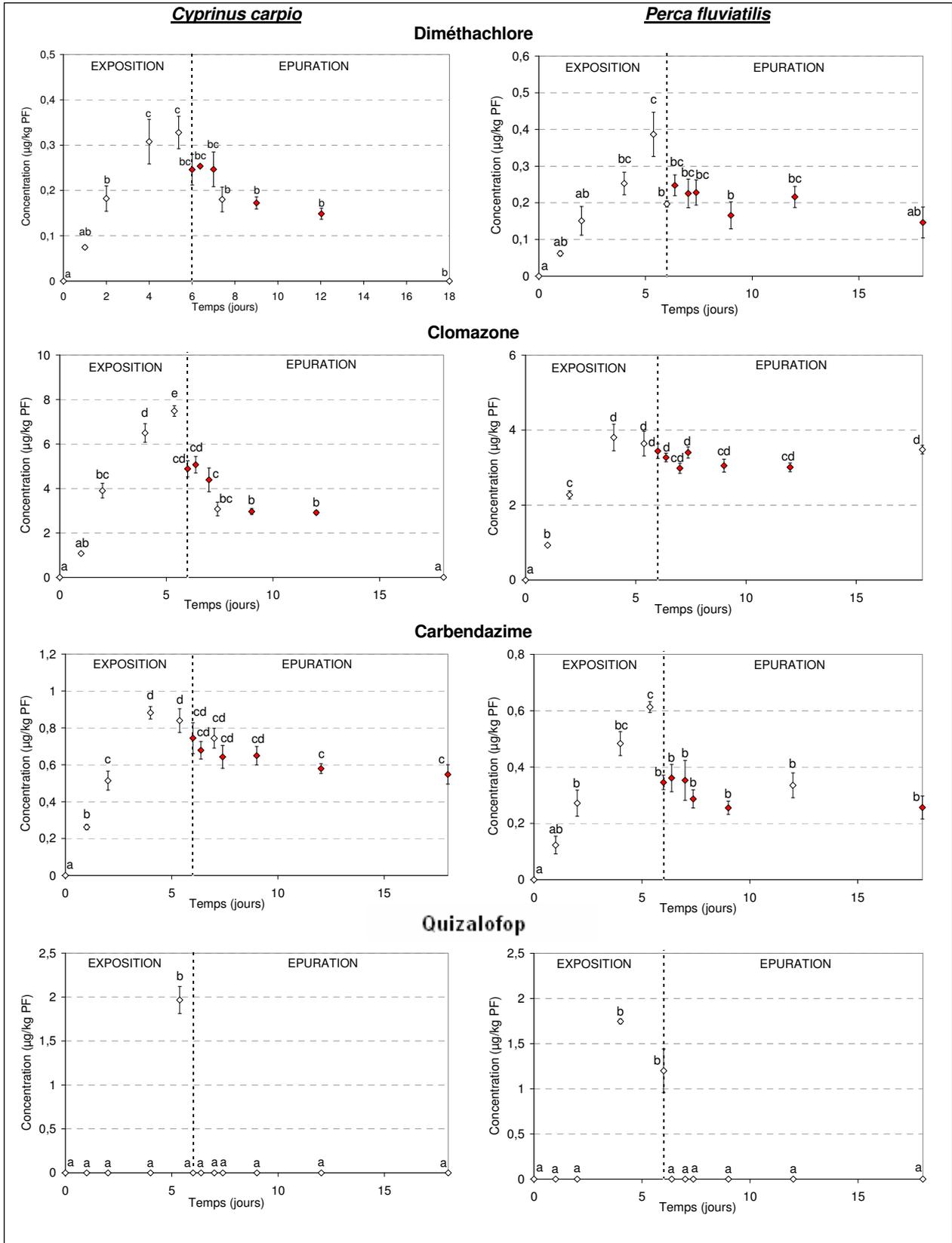


Figure D.8 : Cinétiques des concentrations de pesticides dans les muscles de *C. carpio* et *P. fluviatilis*.

N.B. Les points portant une lettre commune ne sont pas significativement différents ($p > 0,05$). Les points correspondent aux moyennes et les barres à l'erreur-type. Les points en rouges sont les points pris en compte dans le calcul de K_2

D. 4. 2. DEMI-VIES

Les demi-vies dans le muscle de carpe (*C. carpio*) et de perche (*P. fluviatilis*) sont présentées dans le tableau D.7, ainsi que les demi-vies théoriques calculées selon la méthode US-EPA (1996), celle-ci ayant été utilisée pour mettre en place l'expérimentation.

Tableau D.7 : Valeurs des constantes cinétique d'épuration (K_2) et des demi-vies (DT50) pour les 13 pesticides recherchés dans la carpe, la perche, et valeurs attendues (valeurs théoriques) selon l'US-EPA (1996).

- Les valeurs manquantes n'ont pue être déterminées lors de l'expérience.

Molécules	<i>Cyprinus carpio</i>		<i>Perca fluviatilis</i>		Valeurs théoriques (US-EPA, 1996)	
	K_2 (1/j)	DT50 (j)	K_2 (1/j)	DT50 (j)	K_2 (1/j)	DT50 (j)
Mésosulfuron-méthyl	0,659	1,1	0,883	0,8	48	0,01
Isoproturon	0,030	22,9	0,051	13,7	2,8	0,3
Iprodione	0,446	1,6	0,379	1,8	1,7	0,4
Fluroxypyr	-		-	-	4,4	0,2
Diméthachlore	0,096	7,2	0,037	18,7	3,3	0,2
Diflufénican	0,304	2,3	0,069	10,1	0,3	2,5
Clomazone	0,099	7,0	0,022	31,9	2,8	0,3
Carbendazime	0,023	29,7	0,022	31,8	6,5	0,1
Azoxystrobine	0,0775	8,9	0,1449	4,8	2,8	0,3
Métazachlore	0,044	15,9	0,164	4,2	4,0	0,2
Napropamide	0,017	40,3	0,088	7,8	1,1	0,6
Quizalofop	-	-	-	-	0,3	2,1
Thifensulfuron-méthyl	0,192	3,6	0,606	1,1	148	0,005

La demi-vie n'a pas été déterminée pour le fluroxypyr et le quizalofop, ceux-ci ne présentant pas assez de valeurs quantifiées en phase d'épuration. Ceux-ci étant tout de même visibles aux temps correspondant à 9 heures après une prise alimentaire contaminée, nous suspectons une demi-vie de quelques heures. Le mésosulfuron-méthyl et l'iprodione présentent les plus faibles demi-vies (< 2 jours), aussi bien chez la carpe que chez la perche. Chez la carpe, les demi-vies les plus élevées concernent la napropamide et le carbendazime (environ 40 et 30 jours respectivement). Chez la perche, la clomazone et le carbendazime ont la demi-vie la plus forte (environ 32 jours).

De manière générale, les demi-vies dans le muscle de carpe et de perche, pour la dose testée, sont nettement supérieures aux valeurs théoriques calculées à partir du K_{ow} des molécules (US-EPA, 1996). Seul le diflufénican présente une demi-vie théorique similaire à celle retrouvée pour la carpe (espèce recommandée par l'US-EPA pour mener ce type d'expérimentation) mais cette valeur reste inférieure à celle retrouvée dans la perche. Ceci peut trouver son explication dans les références utilisées par l'US-EPA pour établir les formules prédictives, qui se basent

essentiellement sur des molécules hydrophobes ($\text{Log Kow} \geq 4$ et majoritairement > 5). Le diflufénican, avec un log Kow de 4,9 qui rentre dans cette catégorie, est la molécule pour laquelle notre estimation se rapproche le plus des valeurs US-EPA. Une autre hypothèse serait que les interactions entre contaminants, dues aux conditions de multi-contamination, influent sur les résultats obtenus. Cette exposition pourrait potentiellement conduire à un excès de molécules, dépassant les capacités de métabolisation des poissons, d'où une persistance plus élevée dans l'organisme.

D. 4. 3. BMF

Les facteurs de bioaccumulation (BMF, BMF_K) ne sont pas tous déterminés lors de cette expérience (tableau D.8). En effet, le fluroxypyr, le quizalofop et le mésosulfuron-méthyl (pour la carpe) ne présentent pas assez de valeurs dans la cinétique pour établir ces paramètres.

Tableau D.8 : BMF et BMF_K pour les muscles de carpe et de perche
x BMF non quantifiable (Equilibre non atteint) ; *xx* BMF_K non quantifiable (équilibre atteint rapidement, données insuffisantes)
 - Données insuffisantes, α : assimilation de la molécule dans le muscle

Molécules	Cyprinus carpio				Perca fluviatilis			
	α (%)	BMF	BMF_K	$\frac{\text{BMF}_K}{\text{BMF}}$	α (%)	BMF	BMF_K	$\frac{\text{BMF}_K}{\text{BMF}}$
Mésosulfuron-méthyl	-	-	-	-	0,008	-	2,0E-06	-
Isoproturon	0,060	5,6E-04	2,0E-04	0,4	0,034	3,4E-04	1,3E-04	0,4
Iprodione	0,220	6,5E-04	4,9E-04	0,8	0,360	3,6E-03	xx	xx
Fluroxypyr	-	-	-	-	-	-	-	-
Diméthachlore	0,009	3,6E-05	9,1E-06	0,2	0,014	-	3,3E-05	-
Diflufénican	0,414	x	1,4E-04	-	0,534	-	1,9E-03	-
Clomazone	0,229	x	2,3E-04	-	0,100	1,0E-03	9,1E-04	0,9
Carbendazime	0,013	1,9E-04	5,7E-05	0,3	0,014	-	1,7E-04	-
Azoxystrobine	0,062	1,8E-04	8,0E-05	0,5	0,021	2,1E-04	xx	xx
Métazachlore	0,012	x	2,7E-05	-	0,029	-	3,7E-05	-
Napropamide	0,315	x	1,8E-03	-	0,405	-	1,0E-03	-
Quizalofop	-	-	-	-	-	-	-	-
Thifensulfuron-méthyl	0,022	2,9E-05	1,1E-05	0,4	0,007	7,2E-05	xx	xx

Le BMF_K est calculé pour toutes les molécules présentant plus de 3 valeurs dans la zone comprise entre t_{80} et t_{95} . Ainsi, il reste impossible de déterminer le BMF_K pour l'azoxystrobine, l'iprodione et le thifensulfuron-méthyl dans le muscle de perche. Concernant les valeurs où les deux paramètres d'accumulation ont pu être calculés, les valeurs de BMF_K semblent réalistes, donnant des valeurs comprises entre 0,2 et 0,9 fois le BMF calculé à l'équilibre (soit une sous-

estimation du BMF ; $BMF = 1,1 \text{ à } 4 \text{ BMF}_K$). Les facteurs de bioaccumulation les plus élevés sont de l'ordre de 1.10^{-3} et sont observés pour la napropamide chez la carpe et pour la napropamide, le diflufénican, la clomazone et l'iprodione chez la perche. Ces quatre molécules comptent parmi les plus hydrophobes des molécules testées⁴⁸. Cependant, les facteurs d'accumulation dans le muscle sont faibles pour les molécules testées, comparés à ceux relevés dans la littérature pour les composés plus hydrophobes (figure D.9). Ces résultats sont en accord avec les travaux de Gobas (1988, 1993, 1999) précisant le K_{ow} (coefficient de partage octanol/eau) comme un facteur essentiel pour expliquer l'assimilation des contaminants par le poisson (*cf.* Chapitre A. 3.).

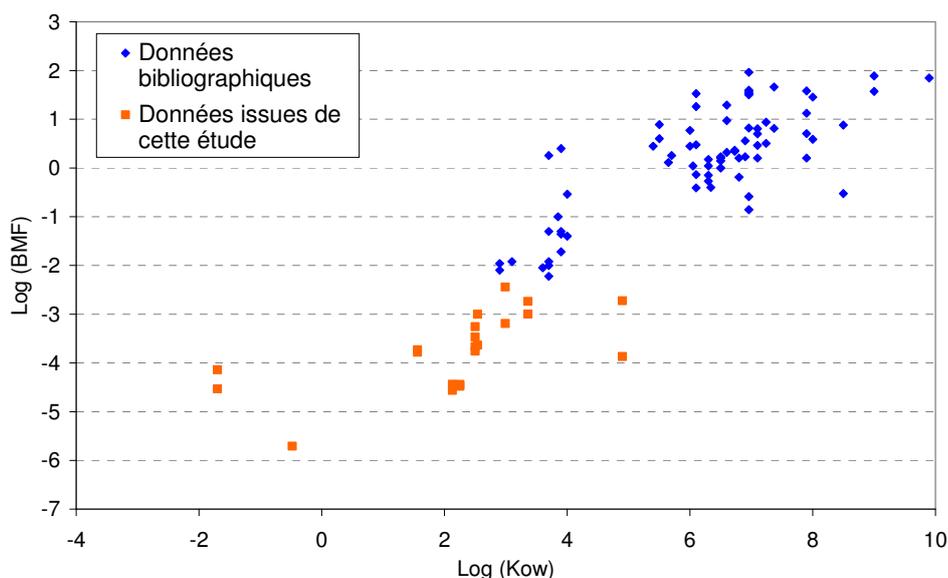


Figure D.9: Log (BMF) en fonction du log(Kow)
Données bibliographiques issues des travaux de Fisk *et al.* (1997, 1998), Tomy *et al.* (2004, 2007), Law (2006), Konwick *et al.* (2006a, 2006b), Berntssen *et al.* (2008)

La comparaison entre espèces dans cette expérience reste difficile, même si les facteurs d'accumulation (BMF) sont généralement plus importants chez la perche (jusque 14 fois pour le diflufénican) que chez la carpe. Cette différence pourrait, en partie, être due à une différence d'assimilation intestinale de l'aliment formulé et des contaminants qu'il contient. En effet, l'assimilation des contaminants étant influencée par l'assimilation des lipides (Vetter *et al.*, 1985 ; Gobas *et al.*, 1993), la teneur en lipides de l'aliment (8%) est peut-être mieux adaptée à l'espèce piscivore (perche), qu'à l'espèce omnivore (carpe).

En conclusion, les paramètres d'accumulation (BMF) et de demi-vie (DT50) apportent des informations relatives à l'accumulation et la persistance tissulaire (muscle). Cependant, il est important de préciser les conditions d'expérimentation (résidus dans l'eau, aliments riches en lipides, molécule issues de la dégradation – quizalofop - lors du procédé de fabrication

⁴⁸ Hormis le quizalofop, pour lequel nous n'avons pas de cinétique claire, malgré un $\log K_{ow}$ de 4,66.

d'aliment, méthodes de calcul, interactions entre contaminants) qui peuvent influencer les valeurs des paramètres mesurés.

Sur les 13 molécules, testées ici pour la carpe et la perche, les BMF et DT50 ont pu être évalués pour 10 d'entre elles. Les molécules sont peu accumulées dans le muscle, les molécules les plus hydrophobes (napropamide, iprodione, diflufenican) ayant les facteurs d'accumulation les plus élevés mais restant inférieurs à 10^{-2} . Cependant, ces molécules n'ont pas forcément les demi-vies les plus longues (excepté la napropamide).

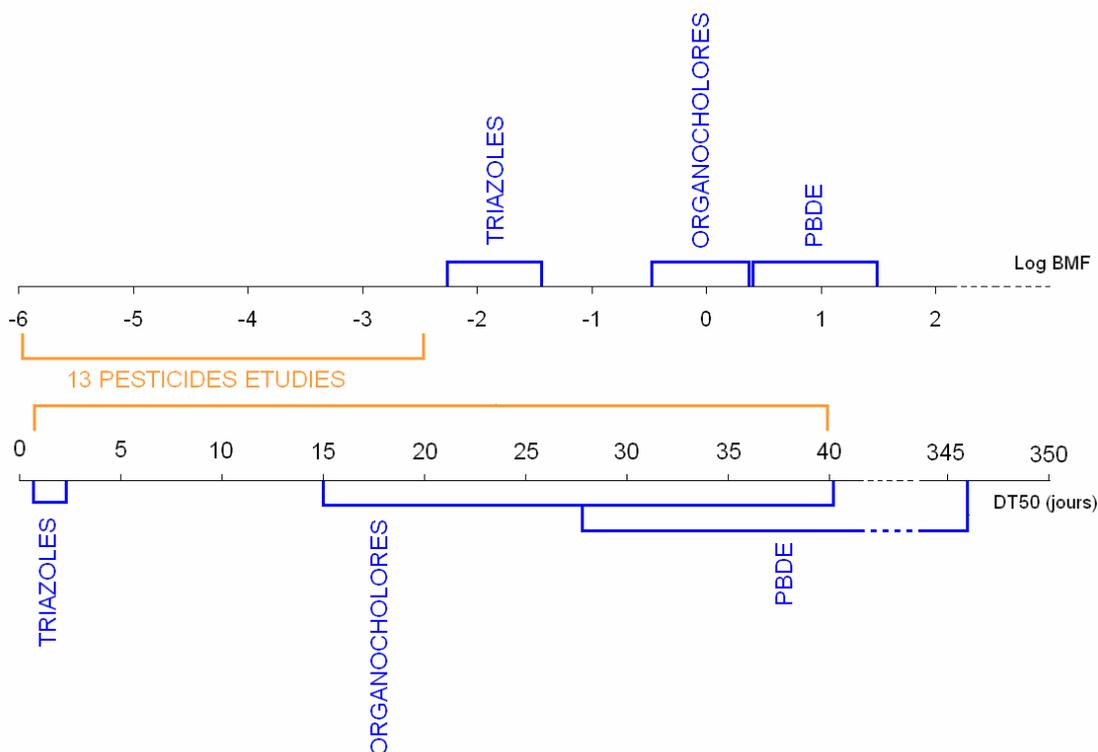


Figure D.10 : Comparaison du BMF (logarithme) et de la demi-vie (DT50, jours) des 13 pesticides étudiés (en orange) avec les valeurs issues de la littérature pour d'autres molécules (en bleu)

N.B. Les valeurs issues de la littérature sont calculées par la même méthode que dans ce travail de thèse. Ces valeurs sont issues des travaux de Fisk et al. (1998), Tomy et al. (2004, 2007), Law (2006), Konwick et al. (2006a), Berntssen et al. (2008)

Comparer ces données à la littérature (figure D.10) permet de montrer que les molécules étudiées dans ce travail ont une faible capacité d'accumulation dans le muscle (*i.e.* 500 à un million de fois moins que pour les pesticides organochlorés). Ces résultats confortent les faibles niveaux de ces composés en système de pisciculture d'étang. Cependant, certaines molécules ayant une DT50 dans le muscle aussi importante que celle des pesticides organochlorés (*i.e.* carbendazime, napropamide, isoproturon, métazachlore), il n'est pas impossible de les retrouver dans le muscle des poissons lors d'une capture.

D. 5. ANALYSE DES PROFILS DE CONTAMINATION DU MUSCLE DE POISSON ET FACTEURS INFLUANTS

D. 5. 1. ANALYSE SIMULTANEE DE TOUTES LES ESPECES, SITES ET TEMPS DE PRELEVEMENT

L'analyse en composante principale suivie d'une classification hiérarchique ascendante (ACP/CHA) permet l'analyse simultanée des niveaux de contamination musculaire chez la carpe, le gardon, et la perche pour les deux campagnes d'échantillonnage. Les axes de l'analyse sont portés par 7 molécules, en raison de données manquantes, en particulier pour la trifluraline. L'ACP/CHA permet de répartir les individus en 6 classes (tableau D.9) dans un système à 3 axes (expliquant 73,5% de la variance) mettant en avant des effets espèce, temps et site.

Tableau D.9 : Répartition des individus selon leur espèce, site et année de capture dans les classes de l'ACP/CHA.

Classe	Espèce	Site	Temps
C1	Carpes	C-0	T0
	Perches	C-0	T0
	Carpes	C-25	T0
	Perches	C-25	T0
	Carpes	C-45	TF
	Carpes	C-75	TF
	Carpes	C-85	T0
	Perches	C-85	T0
	Perches	C-85	TF
C2	Carpes	C-0	TF
	Perches	C-0	TF
	Carpes	C-45	T0
	Perches	C-45	T0
	Carpes	C-75	T0
C3	Carpes	C-25	TF
	Perches	C-75	T0
	Carpes	C-85	TF
C4	Tous les Gardons	Tous les sites	Tous les temps
C5	Perches	C-75	T0
	Perches	C-25	TF
C6	Perches	C-75	TF

L'axe 1 (40,1%), porté par les concentrations musculaires de clomazone, napropamide, métazachlore, azoxystrobine et isoproturon, permet de différencier les sites et les espèces. Ainsi, les classes C3, C5 et C6, correspondant majoritairement aux individus des sites C-25 et C-75, se répartissent sur cet axe, s'opposant aux autres classes. Les variables illustratives se positionnant sur cet axe sont relatives aux pratiques sur le bassin versant mais également aux paramètres topographiques des sites (figure D.11). L'axe 2 (17,7%) est porté par la concentration musculaire de diflufénican. La concentration de diflufénican dans les sédiments ainsi que la masse du poisson semblent être mises en avant comme facteurs liés à cet axe (figure D.11). L'axe 3 (15,7%) est porté par la concentration de carbendazime. La saison de capture et l'indice gonado-somatique apparaissent liés à cet axe (figure D.12).

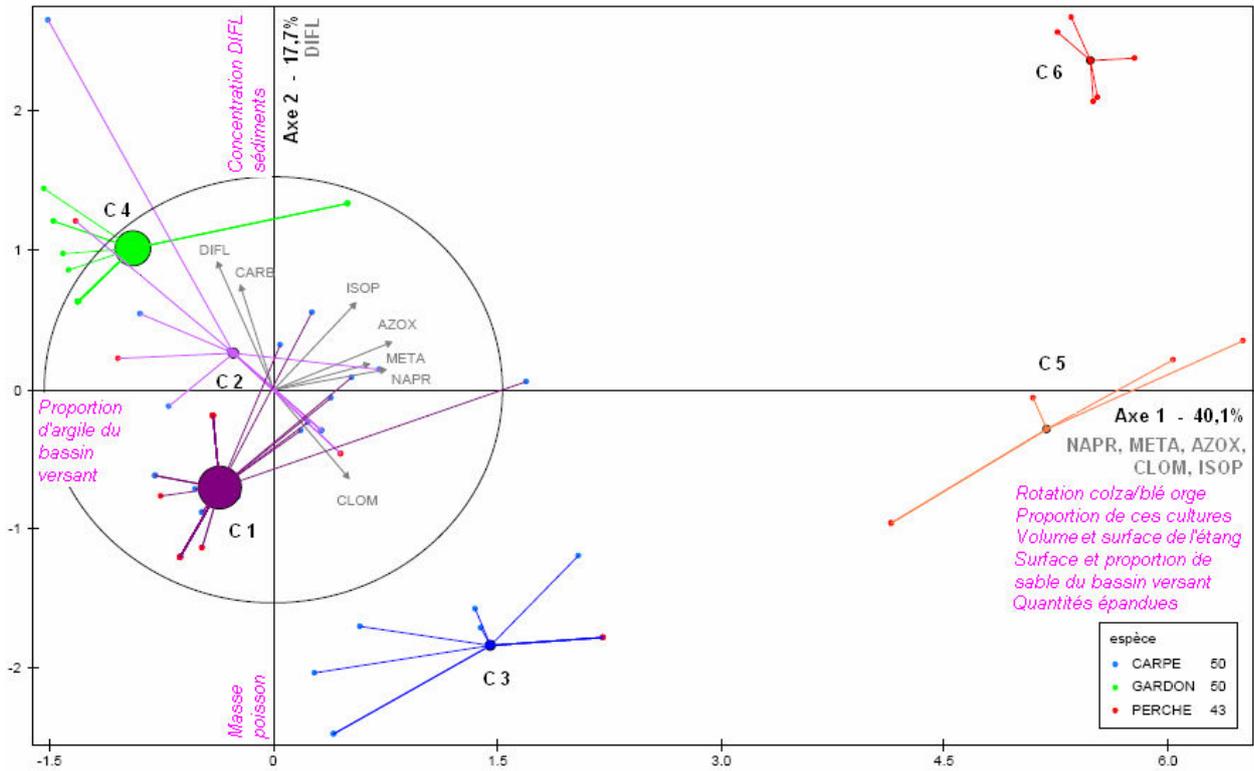


Figure D.11 : Plan 1/2 de l'analyse simultanée des niveaux de contamination musculaire par ACP/CHA chez la carpe, la perche et le gardon.

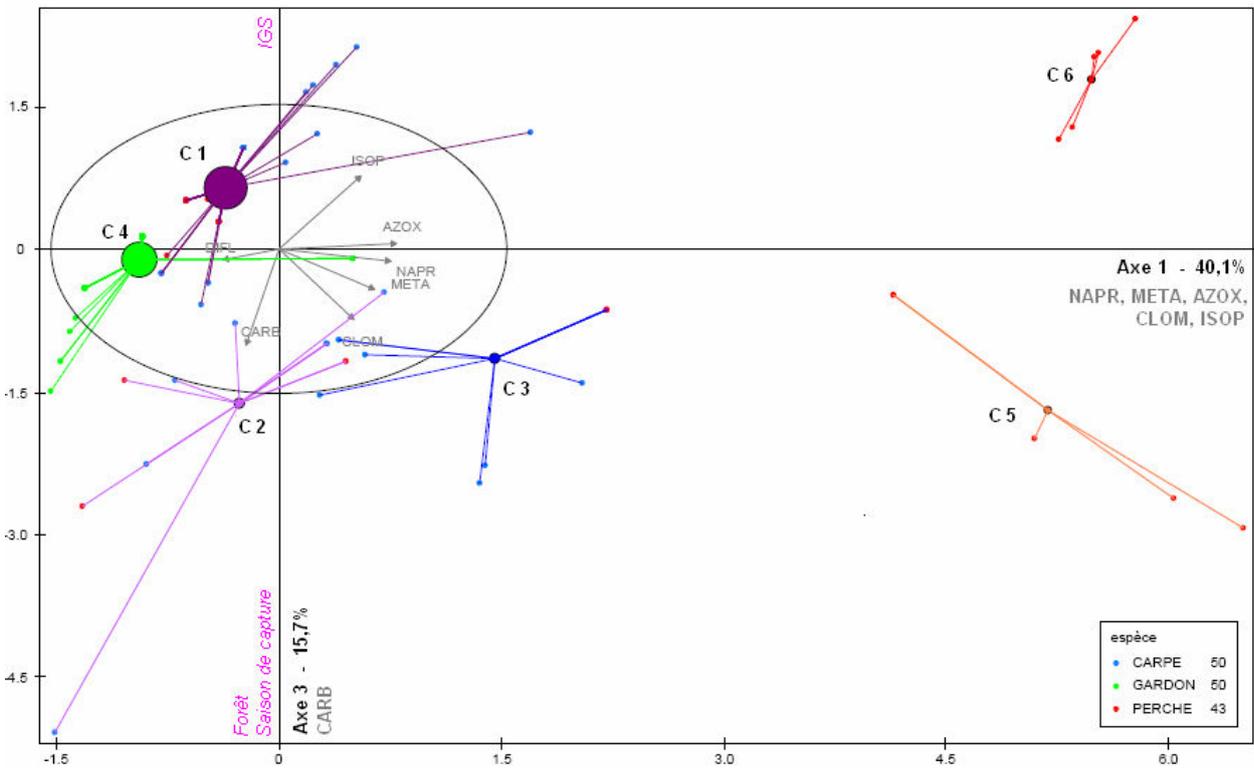


Figure D.12 : Plan 1/3 de l'analyse simultanée des niveaux de contamination musculaire par ACP/CHA chez la carpe, la perche et le gardon.

La combinaison des axes 2 et 3 va permettre la différenciation des individus peu contaminés, en 2 classes (C1, C2), selon la présence de carbendazime et/ou diflufénican.

La combinaison des 3 axes va permettre la différenciation des gardons par rapport aux carpes et aux perches. En effet, les gardons ont un profil différent et moins diversifié que les autres espèces. Tous les individus sont donc regroupés dans une seule classe (figures D.11 et D.12).

Lorsque l'on considère, au travers de l'ACP, l'évolution annuelle des niveaux de contamination, nous pouvons voir un comportement différent selon les espèces (figure D.13). Les perches et les gardons montrent une évolution en faveur d'une augmentation générale des niveaux de contamination, symbolisée par un déplacement entre T0 et TF selon les axes 1 et 2 de l'ACP, excepté pour les poissons du site C-0 qui ont un comportement caractérisé par une augmentation de carbendazime (carpes et perches, Axe 3). Pour le gardon, les faibles niveaux de contamination ne permettent pas de différencier les sites, ce qui limite l'interprétation des données. Les carpes des sites mis en culture suivent un profil différent du C-0, avec une augmentation légère des molécules portées par l'axe 1 comme l'isoproturon et une diminution de la contamination en diflufénican (Axe 2). En effet, nous avons vu que le BMF du diflufénican était 10 fois moins élevé chez la carpe que chez la perche, ce qui pourrait en partie expliquer cette différence. Ainsi, ces observations montrent que la perche est une espèce plus adaptée que la carpe ou le gardon pour la recherche de ce type de pesticides dans le muscle.

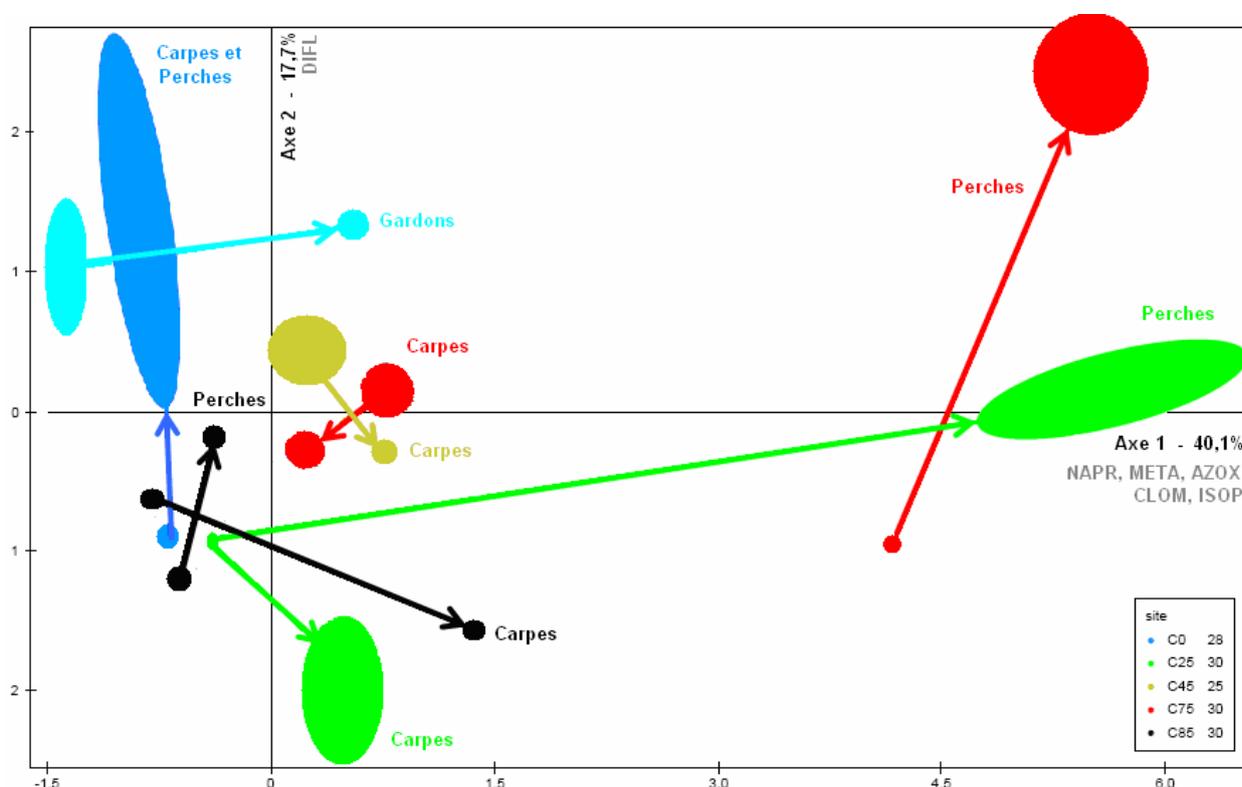


Figure D.13 : Evolution des profils de contamination entre T0 et TF sur le plan 1/2 l'ACP réalisée chez la carpe, la perche et le gardon.

D. 5. 2. ANALYSE SIMULTANEE DES CARPES ET DES PERCHES AU TEMPS DE PRELEVEMENT TF

L'analyse au temps de prélèvement TF permet de prendre en compte des variables supplémentaires par rapport à l'analyse précédente. Les niveaux de trifluraline sont ajoutés en variables explicatives et les concentrations dans l'eau des pesticides étudiés à différentes saisons sont ajoutées en variables illustratives. L'ACP/CHA, dans ces conditions, donne une répartition des individus en 4 classes, selon 3 axes (81,1% de la variance expliquée).

Le descriptif de cette ACP est décrit dans le tableau D.10.

Tableau D.10 : Description de l'ACP effectuée sur les niveaux de contamination des carpes et des perches au temps de prélèvement TF.

Axes	Variance expliquée	Position sur l'axe	Variables explicatives	Variables illustratives
1	43,6%	+	META, AZOX, NAPR, CLOM	-Rotation des cultures < 3ans -Proportion de surface en blé et en orge
		-		
2	25,3%	+	ISOP	-Rotation de 3 ans -Proportion de surface en colza (récolte l'année précédent TF) -Proportion de surface en blé (semis à l'automne précédent TF)
		-	CARB	-Saison de capture des poissons -Proportion de surface en forêt
3	12,3%	+		-Rotation de culture > 3ans -Proportions du sol en argiles et calcaire
		-	TRIF	-Surface, volume et temps de renouvellement de l'eau des étangs -Proportion du sol en limon et sable -Proportion de surface en colza et épandage de trifluraline (semis au temps TF-2ans)

Les 3 premiers axes sont portés par la présence de 7 molécules dans le tissu musculaire.

L'axe 1 est porté par le métazachlore, l'azoxystrobine, la napropamide et la clomazone. Les facteurs illustratifs venant se positionner sur cet axe sont les rotations sur moins de 3 ans et la proportion de blé et d'orge.

Les rotations de culture sur 3 ans et plus précisément la rotation colza/blé/orge viennent se positionner sur la partie positive de l'axe 2, correspondant à l'isoproturon. En outre, la succession Colza à T0 – Blé à TF est mise en avant. Les pratiques, enquêtées sur les bassins versants, montrent que ce changement de culture implique, pour la majorité des parcelles, un

épandage d'isoproturon entre ces deux cultures. Ainsi, la contamination en isoproturon du muscle de poisson dépendrait d'un épandage récent de cette molécule, ce qui impliquerait un transfert rapide vers le milieu aquatique et le poisson. L'axe 2 est porté, dans sa partie négative, par le carbendazime. La proportion de surface du bassin versant en forêt est mise en avant, du fait de la quantification de carbendazime dans les poissons du site C-0. La saison de capture est également positionnée sur la partie négative de l'axe 2 et témoigne d'une contamination plus importante en isoproturon lors des pêches de fin d'hiver et une contamination plus forte en carbendazime lors des pêches d'automne.

L'axe 3, dans sa partie négative, est porté par la trifluraline, herbicide du colza, interdite d'utilisation l'année succédant à l'étude. Le positionnement, dans la partie positive, des longues rotations incluant le colza, montre que la contamination est due à des épandages dans les dernières années précédant la saison de capture (< 5 ans). En particulier, la présence des parcelles en colza lors du semis à TF-2 ans (récolte à T0), et les épandages de trifluraline qui y sont associés, sont mis en jeu. Ceci pourrait être expliqué par la forte capacité de rétention de la trifluraline au sol (K_{OC} pouvant dépasser 15 000 selon la nature du sol), qui retarde l'arrivée de ce composé dans le milieu aquatique. Sont également positionnées sur l'axe 3 la proportion d'argile et de calcaire (partie positive) et la proportion de limon et de sable (partie négative).

Les variables relatives au fonctionnement hydraulique des étangs sont également mises en avant. Le positionnement, en partie négative de l'axe, de la surface, du volume et du temps de renouvellement de l'eau des étangs montrent que plus l'étang est grand et que le temps de renouvellement de l'eau est long, plus la contamination en trifluraline est élevée. Ceci implique que la trifluraline arrivant dans le milieu doit rester suffisamment longtemps pour engendrer une forte contamination des poissons.

Les variables illustratives concernant la contamination environnementale et les quantités épandues sur le bassin versant (autre que trifluraline) se répartissent uniformément sur les 3 axes de l'ACP, ce qui ne permet pas de relier ces teneurs aux profils de contamination de la chair de poisson. La différenciation de ces paramètres est peut-être masquée par l'effet site et les caractéristiques des étangs et bassins versants qui le déterminent.

D. 6. CONCLUSION

L'analyse plus approfondie de 14 pesticides a permis de mettre en évidence un panel de facteurs influençant la contamination de la chair des poissons élevés en étang.

Tout d'abord, l'importance de la contamination des matrices environnementales sur le profil de contamination du muscle des poissons est mise en évidence. En effet, l'eau des étangs étudiés peut être ponctuellement contaminée, en particulier par l'isoproturon et le métazachlore et les sédiments présentent surtout de l'isoproturon, du carbendazime et de la trifluraline. Ces

molécules, ayant les plus fortes concentrations dans les matrices environnementales, sont également celles quantifiées dans le muscle de poisson. Ainsi, les faibles teneurs environnementales peuvent expliquer les faibles concentrations retrouvées dans le poisson. De plus, les demi-vies de ces molécules dans le muscle de poisson sont les plus importantes parmi celles testées. Ceci pourrait expliquer en partie leur présence lors de la pêche.

Les profils de contaminations sont variables selon le site, l'espèce et l'année d'échantillonnage, supposant l'influence de nombreux facteurs. Ce travail a permis de mettre en évidence quelques facteurs relatifs aux pratiques agricoles tels que les épandages, les superficies de culture et leur rotation. Les propriétés relatives au fonctionnement de l'étang et à sa connexion au bassin versant sont aussi mises en avant. La gestion de l'étang a également une influence, avec, entre autres, la saison de pêche et la masse des poissons. La nature des sols est mise en jeu dans le processus de dispersion des pesticides, en particulier pour la trifluraline.

Au final, la contamination de la chair des poissons élevés dans les étangs étudiés reste la résultante de nombreux facteurs, liés principalement à l'environnement et aux propriétés des molécules. Mais globalement, même si l'on observe une augmentation de la contamination dans le muscle de poissons ayant séjourné un an dans l'étang, les concentrations restent faibles pour toutes les molécules, sauf pour la trifluraline. Ces teneurs peuvent être expliquées par une faible capacité de bioaccumulation dans le muscle pour ces composés, ce qui pourrait être cohérent compte-tenu que le BMF estimé dans nos travaux est nettement inférieur à celui des PCB ou des pesticides organochlorés. Ces derniers sont en effet reconnus pour leur accumulation dans la chair de poisson (chapitre A).

La suite de ce travail consistera à évaluer la contamination en PCB et pesticides organochlorés des étangs et de la faune piscicole afin de vérifier la conformité des produits proposés aux consommateurs vis-à-vis de ces POP.

Chapitre E. PCB ET PESTICIDES ORGANOCHLORES EN ETANG

E. 1. DEMARCHE

Les molécules proscrites, autrefois utilisées en agriculture ou en industrie, peuvent, de par leur rémanence, être encore présentes dans les milieux aquatiques. Les polychlorobiphényles (PCB) et pesticides organochlorés sont interdits d'usage dans de nombreux pays depuis les années 1970 (Loganathan et Kannan, 1994). Cependant, la recherche de ces composés représente un enjeu majeur, aussi bien pour des considérations environnementales que de santé publique. En France, les arrêtés préfectoraux interdisant la consommation de poisson, issus des principaux cours d'eau, se multiplient en raison de teneurs en PCB supérieures à la norme (8 pg TEQ_{WHO1998}/g de PCB non dioxin-like). Les grands fleuves et lacs sont concernés (Chevreuil *et al.*, 1995; Mazet *et al.*, 2005; Babut et Miege, 2007) et la Moselle présente ainsi certains tronçons soumis à une interdiction relative à la consommation des poissons (Préfecture de Moselle, 2009). Les étangs étudiés lors de ces travaux de thèse, se situent dans le réseau hydrographique de la Moselle, il est donc important d'évaluer les teneurs en Polluants Organiques Persistants (POP), tels que les PCB et pesticides organochlorés, qui peuvent éventuellement représenter un risque pour le consommateur.

Ainsi, ce chapitre vise à évaluer la contamination en PCB et pesticides organochlorés des matrices environnementales (eau, sédiments) et biologiques (muscle de poisson), afin de voir si ces molécules présentent un danger lors de la consommation de poissons d'étang.

E. 2. MATERIELS ET METHODES

E. 2. 1. ECHANTILLONNAGE DES MATRICES

Les sédiments ont été échantillonnés à T0 et TF (cf chapitre D). Différents échantillons d'eau ont été analysés, concernant les échantillonnages (cf. chapitre D) de fin octobre 2008 pour les sites C-0, C-45, C-75 et C-85, et de fin août 2008 pour le site C-25. Les poissons utilisés pour l'analyse des PCB sont issus de l'échantillonnage de vidange (TF), déjà décrit dans le chapitre D. Les poissons testés sont la carpe miroir (*Cyprinus carpio*) et la perche (*Perca fluviatilis*). Ces espèces, utilisées dans le plan national de surveillance des PCB, sont listées respectivement comme espèce fortement bioaccumulatrice et faiblement bioaccumulatrice (AFSSA 2008, 2009). Toutefois, les faibles productions de perches des sites C-45 et C-75 lors de l'année 2008-2009 (TF), n'ont pas permis un échantillonnage suffisant pour analyser les PCB et les pesticides organochlorés.

E. 2. 2. TECHNIQUES ANALYTIQUES

Ces méthodes, utilisées en routine par les laboratoires départementaux français, ne nécessitent pas de mises au point particulières pour les matrices testées. Ainsi, ces dosages sont sous-traités par le Laboratoire Départemental d'Analyses des Côtes d'Armor (LDA22, Ploufragan).

Les pesticides recherchés sont l'hexachlorobenzène (HCB), l'hexachlorocyclohexane (isomères α -, β -, δ - et γ -HCH), l'heptachlore, les cis- et trans- heptachlore époxydes, l'endosulfan (isomères α - β -endosulfan), le sulfate endosulfan, le DDT (o,p'- et p,p'-DDT) et ses métabolites (o,p'- et p,p'-DDE, o,p'- et p,p'-DDD), le chlorothalonil, l'alachlore, l'aldrine, la dieldrine, le méthoxychlore, l'oxychlordane, le chlordane (isomères α - et γ -chlordane), le dicofol (o,p'- et p,p'-dicofol). Les congénères de polychlorobiphényles recherchés (IUPAC n° 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180) sont les 7 PCB-I (PCB-indicateurs). Les limites de quantification sont listées, pour chaque molécule et chaque matrice, en annexe 3.

Les données sont présentées sous forme de boîtes à moustaches (figure C.1). Les boîtes sont représentées par la médiane, les 1^{er} et 3^{ème} quartiles ainsi que les valeurs maximales et minimales (moustaches). La moyenne est symbolisée par une croix inscrite dans un cercle et les valeurs anormales sont annotées par un astérisque.

E. 2. 2. 1. MATRICE MUSCLE DE POISSON

La méthode utilisée pour le dosage des PCB-I et les pesticides organochlorés dans le muscle de poisson est normée par l'AFSSA (LERHQA CEN POP/01, « Dosage des pesticides organochlorés, pyréthriinoïdes et PCB's dans les aliments gras »). Cette méthode est appliquée sur les lipides musculaires préalablement extraits par la méthode correspondant à la norme AFNOR NF EN 1528-2 (Dosage des pesticides et des polychlorobiphényles [PCB indicateurs]). Brièvement, les composés organochlorés et les PCB-I sont extraits de la matière grasse par centrifugation à froid avec ajout de deux étalons internes (CB103 et CB187). Une purification sur cartouche SPE (de type C18 puis Florisil) est ensuite réalisée. L'analyse de l'extrait repose sur une séparation chromatographique en phase gazeuse avec identification et quantification par détection ECD (avec système de double colonne de polarité différente). La quantification tient compte du rendement spécifique de chaque molécule par l'établissement de droites étalons avec étalons internes et matrice.

E. 2. 2. 2. MATRICE SEDIMENT

La méthode de dosage des pesticides organochlorés et des PCB-I correspond à la norme AFNOR XP X 33 – 012 (« Dosage des Hydrocarbures Poly Aromatiques (HAP) et Polychlorobiphényles (PCB) : Caractérisation des boues »). Les composés sont extraits à chaud avec un appareillage de type Soxhlet avec ajout de deux étalons internes (CB103 et CB187). Un ajout de cuivre permet

le piégeage des éléments soufrés puis une purification sur colonne de florisil est réalisée. L'obtention d'un extrait analysable est possible par une centrifugation à froid suivi d'une reconcentration. Les molécules de l'extrait sont séparées, identifiées et quantifiées par système CPG-détection ECD (avec système de double colonne de polarité différente). La quantification prend en compte le rendement.

E. 2. 2. 3. MATRICE EAU

Les dosages des PCB-I et des pesticides organochlorés dans la matrice eau (filtrée 45 μ m) sont réalisés selon la Norme AFNOR NF EN ISO 6468 (indice de classement : T 90-120, « Dosage des pesticides organochlorés, PCB et chlorobenzènes dans les eaux »). Cette méthode repose sur une extraction liquide/liquide des pesticides par de l'hexane avec ajout de deux étalons internes (CB103 et CB187). Un séchage et une reconcentration des extraits organiques permettent une analyse par système CPG-détection ECD (avec système de double colonne de polarité différente). Cette méthode d'analyse tient également compte des rendements d'extraction.

E. 3. PESTICIDES ORGANOCHLORES ET PCB EN ETANG

Les PCB et pesticides organochlorés, molécules hydrophobes, sont rarement retrouvés dans l'eau d'étang filtrée (tableau E.1). Le chlorothalonil, l'heptachlore époxyde, l'o-p' DDE et le p-p' DDT sont retrouvés dans quelques échantillons d'eau mais ne concernent jamais tous les sites (20 à 80% des sites). En particulier, aucune molécule n'a été quantifiée dans l'eau du site C-85 et seul l'o,p'-DDE a été quantifié pour le site C-45. Les PCB majoritaires sont ceux de faible poids moléculaire (IUPAC n° 28 et 52). Ces derniers sont également quantifiés dans le muscle de poisson. Les molécules sont retrouvées en faibles concentrations dans les sédiments et le muscle de poisson, avec un profil de contamination similaire, excepté pour les HCH, qui ne sont retrouvés que dans le muscle de carpe (tableau E.1.). De nombreux pesticides ne sont jamais quantifiés dans ces deux matrices : l'aldrine, l'alachlore, l'endosulfan, le sulfate endosulfan, l'heptachlore, les cis-et trans-heptachlore époxydes, le chlorothalonil, le méthoxychlore, l'oxychlordane, le chlordane, l'isomère δ -HCH et le dicofol.

Dans les sédiments (tableau E.1.), seuls les métabolites du DDT (o,p'-DDD, o,p'-DDE, p,p'-DDD, p,p'-DDE) sont quantifiés dans 40 % des échantillons. La somme des DDT (Σ DDT) présente une concentration moyenne de $0,66 \pm 0,27$ μ g/kg (PS), et ne dépasse pas 2,40 μ g/kg (PS). Les sédiments présentent également des concentrations faibles de PCB, excepté pour les congénères 28 et 52, qui ne sont présents qu'à l'état de traces. Les autres congénères sont, quant à eux, quantifiés dans 20 à 40% des sédiments testés. La somme des PCB-I (Σ PCB-I) ne dépasse pas 3,55 μ g/kg (PS) avec une moyenne de $1,27 \pm 0,50$ μ g/kg (PS).

Tableau E.1. : Concentrations (moyenne, minimum et maximum) de pesticides et de PCB-I retrouvés dans l'eau ($\mu\text{g/L}$), les sédiments ($\mu\text{g kg}^{-1}$ PS) et le muscle de poisson ($\mu\text{g kg}^{-1}$ PF), pour l'ensemble des 5 sites étudiés en 2008-2009 (TF).

N.D. Molécules non détectées, les molécules détectées ont leur valeur attribuée à LOQ/2, les moyennes sont précisées avec leur erreur-type..

	EAU (n=5)		SEDIMENTS (n=10)		MUSCLE DE CARPE (n=25)		MUSCLE DE PERCHE (n=12)	
	Moyenne $\mu\text{g / L}$	Min-Max $\mu\text{g / L}$	Moyenne $\mu\text{g / kg PS}$	Min-Max $\mu\text{g / kg PS}$	Moyenne $\mu\text{g / kg PF}$	Min-Max $\mu\text{g / kg PF}$	Moyenne $\mu\text{g / kg PF}$	Min-Max $\mu\text{g / kg PF}$
PESTICIDES								
α-HCH	N.D.	N.D.	0,03 \pm 0,01	N.D. - 0,05	0,08 \pm 0,04	N.D. - 0,90	N.D.	N.D.
β-HCH	N.D.	N.D.	0,03 \pm 0,01	N.D. - 0,05	0,03 \pm 0,02	N.D. - 0,60	N.D.	N.D.
γ-HCH	N.D.	N.D.	0,02 \pm 0,01	N.D. - 0,05	0,07 \pm 0,05	N.D. - 1,15	N.D.	N.D.
HCB	N.D.	N.D.	0,01 \pm 0,01	N.D. - 0,05	0,11 \pm 0,04	N.D. - 0,20	N.D.	N.D.
Chlorothalonil	0,005 \pm 0,001	N.D. - 0,008	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Heptachlore époxyde (cis+trans)	0,005 \pm 0,005	N.D. - 0,025	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Dieldrine	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,01 \pm 0,01	N.D. - 0,20	N.D.	N.D.
<i>o,p'</i>-DDD	N.D.	N.D.	0,20 \pm 0,12	N.D. - 0,70	0,07 \pm 0,03	N.D. - 0,55	0,05 \pm 0,02	N.D. - 0,25
<i>o,p'</i>-DDE	0,016 \pm 0,09	N.D. - 0,045	0,10 \pm 0,04	N.D. - 0,30	0,04 \pm 0,01	N.D. - 0,25	0,09 \pm 0,04	N.D. - 0,50
<i>o,p'</i>-DDT	0,022 \pm 0,014	N.D. - 0,065	0,02 \pm 0,01	N.D. - 0,05	0,02 \pm 0,01	N.D. - 0,05	0,03 \pm 0,01	N.D. - 0,05
<i>p,p'</i>-DDD	N.D.	N.D.	0,03 \pm 0,01	N.D. - 1,20	0,07 \pm 0,02	N.D. - 0,38	0,08 \pm 0,03	N.D. - 0,40
<i>p,p'</i>-DDE	0,017 \pm 0,09	N.D. - 0,050	0,22 \pm 0,09	N.D. - 0,40	0,41 \pm 0,09	N.D. - 1,80	0,32 \pm 0,09	0,05 - 0,85
<i>p,p'</i>-DDT	0,001 \pm 0,001	N.D. - 0,005	0,02 \pm 0,01	N.D. - 0,05	0,02 \pm 0,01	N.D. - 0,05	0,05 \pm 0,01	N.D. - 0,05
ΣDDT	0,056 \pm 0,029	N.D. - 0,165	0,66 \pm 0,27	N.D. - 2,40	0,63 \pm 0,12	N.D. - 2,30	0,61 \pm 0,09	0,20 - 0,95
PCB								
CB-28	0,004 \pm 0,004	N.D. - 0,020	0,02 \pm 0,01	N.D. - 0,05	0,26 \pm 0,06	N.D. - 1,00	0,19 \pm 0,11	N.D. - 1,30
CB-52	0,011 \pm 0,011	N.D. - 0,055	0,02 \pm 0,01	N.D. - 0,05	0,56 \pm 0,15	N.D. - 3,00	0,89 \pm 0,19	N.D. - 2,00
CB-101	0,004 \pm 0,004	N.D. - 0,020	0,13 \pm 0,05	N.D. - 0,4	0,12 \pm 0,03	N.D. - 0,50	0,15 \pm 0,06	0,50 - 0,70
CB-118	N.D.	N.D.	0,21 \pm 0,12	N.D. - 1,00	0,30 \pm 0,07	N.D. - 1,50	0,36 \pm 0,09	0,50 - 0,90
CB-138	0,002 \pm 0,002	N.D. - 0,010	0,24 \pm 0,12	N.D. - 1,00	0,59 \pm 0,17	N.D. - 4,00	0,64 \pm 0,11	0,05 - 1,30
CB-153	N.D.	N.D.	0,54 \pm 0,30	N.D. - 3,00	0,28 \pm 0,08	N.D. - 1,40	0,30 \pm 0,08	0,05 - 0,70
CB-180	0,001 \pm 0,001	N.D. - 0,005	0,13 \pm 0,06	N.D. - 0,50	0,13 \pm 0,04	N.D. - 0,60	0,08 \pm 0,03	N.D. - 0,45
ΣPCB-I	0,023 \pm 0,014	N.D. - 0,065	1,27 \pm 0,50	N.D. - 3,55	2,24 \pm 0,39	0,1 - 6,45	2,61 \pm 0,41	0,35 - 5,65

Les niveaux retrouvés dans l'eau et les sédiments supposent probablement une source de contamination atmosphérique, hypothèse confortée par les profils de contamination établis dans ces deux matrices. En effet, ces profils sont compatibles avec le dépôt atmosphérique observé dans le nord-est de la France (Teil *et al.*, 2004). Les travaux de Teil *et al.* (2004) montrent un dépôt faible des pesticides organochlorés (*i.e.* HCB : 1,4 à 3,4 $\mu\text{g}/\text{m}^2\cdot\text{an}$) et des 7 PCB-I (12 à 47 $\mu\text{g}/\text{m}^2\cdot\text{an}$), les dépôts étant plus importants pour les composés les plus légers et volatiles (tel le CB28 et le CB52).

Concernant les poissons (tableau E.1.), les pesticides organochlorés les plus fréquemment retrouvés dans le muscle de poisson sont les métabolites du DDT, quantifiés dans 80% des échantillons de carpes et 58% des échantillons de perches. Le p,p'-DDE est majoritaire et atteint une concentration moyenne de $0,41 \pm 0,09 \mu\text{g}/\text{kg}$ (PF) et $0,32 \pm 0,09 \mu\text{g}/\text{kg}$ (PF) pour les carpes et les perches, respectivement. Les isomères du HCH, l'HCB et la dieldrine sont seulement quantifiés dans 4 à 24% des échantillons de carpe. Les PCB sont également présents à faibles concentrations, la somme des 7 PCB-I a une concentration moyenne comprise entre $2,2 \pm 0,4 \mu\text{g}/\text{kg}$ (PF) et $2,6 \pm 0,4 \mu\text{g}/\text{kg}$ (PF) dans les muscles de carpe et de perche, respectivement. Notons tout de même que les 7 congénères ne sont pas toujours présents simultanément. Par exemple, CB138 est le plus fréquemment retrouvé et n'est présent que dans 60% et 83% des échantillons de carpe et perche, respectivement. Dans cette étude, quel que soit le site, les profils de contamination en pesticides organochlorés (figure E.1) et PCB (figure E.2) dans le muscle de poisson sont similaires pour la carpe (*C. carpio*) et la perche (*P. fluviatilis*) mais les concentrations excèdent rarement la valeur de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (PF). Les concentrations de PCB-NDL (correspondant aux PCB-I à l'exception du CB118) dans le muscle de carpe ou de perche n'excèdent pas 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (PF).

Les concentrations de PCB et pesticides organochlorés, relevées dans ces travaux, se situent dans des valeurs de « bruit de fond » (Arnich *et al.*, 2009) et sont souvent inférieures aux niveaux retrouvés pour d'autres sites français et européens (CIPMS, 1994 ; Chevreuil *et al.*, 1995 ; Teil *et al.*, 1996 ; Svobodová *et al.*, 2004 ; Mazet *et al.*, 2005 ; Covaci *et al.*, 2006 ; Waszak et Dabrowska, 2009). A titre d'exemples, Svobodová *et al.* (2004) rapportent des valeurs de PCB-NDL comprises entre $3,9 \pm 0,4$ et $91 \pm 14 \mu\text{g} / \text{kg}$ (PF), dans le muscle de carpes issues d'étangs tchèques et Waszak et Dabrowska, (2009) mesurent le p-p'-DDE à $21,5 \mu\text{g} / \text{kg}$ (PF) dans le muscle de perches provenant d'un réservoir artificiel polonais (*cf.* Chapitre A.3.1). De même, les concentrations retrouvées dans les poissons d'étang sont faibles par rapport aux teneurs moyennes retrouvées dans le poisson d'eau douce en France soit environ $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ (PF) pour les poissons à chair grasse (> 2% M.G.) et autour de $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ (PF) pour les poissons à chair maigre (< 2% M.G.) (Arnich *et al.*, 2009).

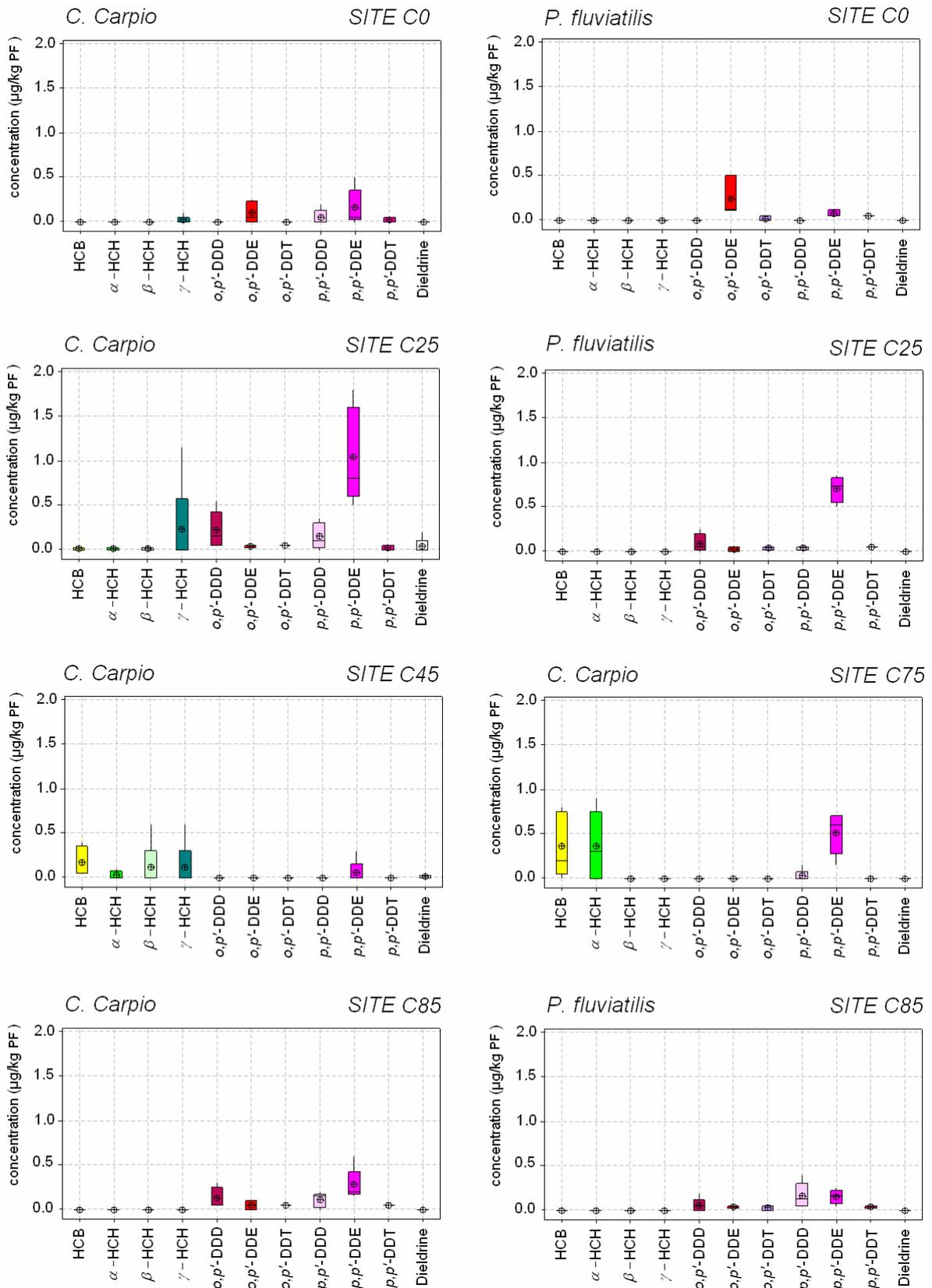


Figure E.1 : Concentration de pesticides organochlorés dans le muscle de poissons pêchés à TF.

N.B. La valeur zéro est attribuée aux molécules non détectées, la valeur LOQ/2 est attribuée aux molécules détectées, la valeur mesurée est attribuée aux molécules quantifiées.

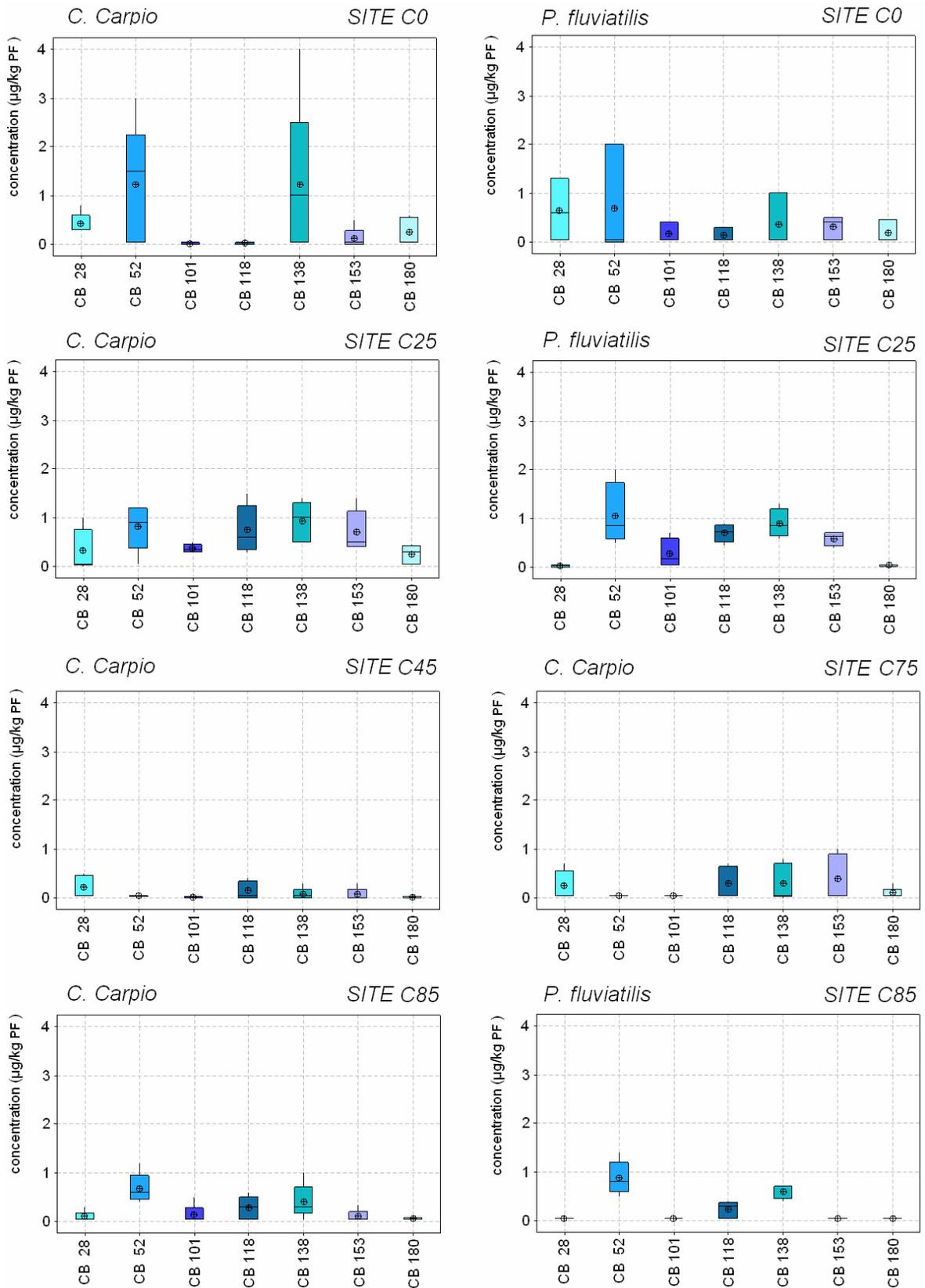


Figure E.2 : Concentration de PCB dans le muscle de poissons pêchés à TF.

N.B. La valeur zéro est attribuée aux molécules non détectées, la valeur LOQ/2 est attribuée aux molécules détectées, la valeur mesurée est attribuée aux molécules quantifiées.

D'une manière générale, ces résultats montrent que de faibles teneurs environnementales conduisent à une faible exposition des poissons et donc à un faible niveau de contamination de leur tissu musculaire.

E. 4. CONFORMITE A LA NORME POUR LE CONSOMMATEUR

Les PCB et pesticides organochlorés peuvent, même à faible concentration, engendrer des effets délétères chez le consommateur. Afin d'évaluer le risque pour le consommateur, il semble important de discuter de ces résultats par rapport aux normes. Mais, à ce jour, il n'existe pas encore de norme concernant les résidus de pesticides organochlorés ou de PCB-NDL dans les produits issus de l'aquaculture. Les normes existantes concernent les polychlorobiphényles de type « dioxine-like » (PCB-DL), les polychlorodibenzodioxines (PCDD) et les polychlorodibenzofuranes (PCDF), en raison de leur toxicité due à leur affinité pour le récepteur Arylcarbone (Ah) (Safe, 1994). La somme de ces composés ne doit pas excéder 8 pg TEQ_{WHO1998} / g (PF) (Règlement 1881/2006, EC, 2006 a, b).

Les PCB-DL n'ont pas été recherchés dans nos sites lorrains étant donné la faible teneur en PCB-I dans le muscle des poissons. Cependant, une corrélation (tableau E.2) a été mise en place afin de relier les concentrations musculaires de PCB-NDL et PCB-DL (Mahé *et al.*, 2010).

Tableau E.2 : Paramètres de corrélation entre concentrations de PCB-NDL ($\mu\text{g}/\text{kg}$ PF) et PCB-DL (pg TEQ / g) dans le muscle de poisson (Mahé *et al.*, 2010)

Bassin hydrographique	Espèces d'eau douce (Hors anguilles)		
	n	R	p
Adour-Garonne	8	0,98	<0,0001
Artois-Picardie	168	0,96	<0,0001
Loire-Bretagne	139	0,93	<0,0001
Rhin-Meuse	45	0,88	<0,0001
Rhône-Méditerranée-Corse	1101	0,90	<0,0001
Seine-Normandie	184	0,94	<0,0001
Poisson d'eau douce	1645	0,90	<0,0001

La figure E.3 issue des travaux de Mahé *et al.* (2010) permet, en replaçant les valeurs maximales de PCB-NDL ($\mu\text{g}/\text{kg}$ PF) retrouvées en étang, d'évaluer l'ordre de grandeur des concentrations de PCB-DL attendues, comprise entre 0 (min) et 2 (max) pg TEQ_{WHO1998} / g (PF). Ces valeurs restent inférieures à la limite réglementaire française de 8 pg TEQ_{WHO1998} / g (PF). Les PCB-NDL, ayant un autre mécanisme d'action que les PCB-DL, ne se fixent pas au récepteur Ah et n'entrent donc pas dans le système de normalisation TEQ. Cependant, ils présentent d'autres mécanismes toxiques et, de par leur présence dans l'environnement, peuvent causer des problèmes de sécurité sanitaire malgré l'absence de réglementation en France et en Europe. Ainsi, un projet de norme est initié et propose, à l'heure actuelle, un niveau maximal de PCB-NDL de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (PF) dans le muscle de poisson d'eau douce,

excepté pour l'anguille, dont la teneur maximale ne devrait pas dépasser 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (PF) (AFSSA, 2007; Arnich et al., 2009).

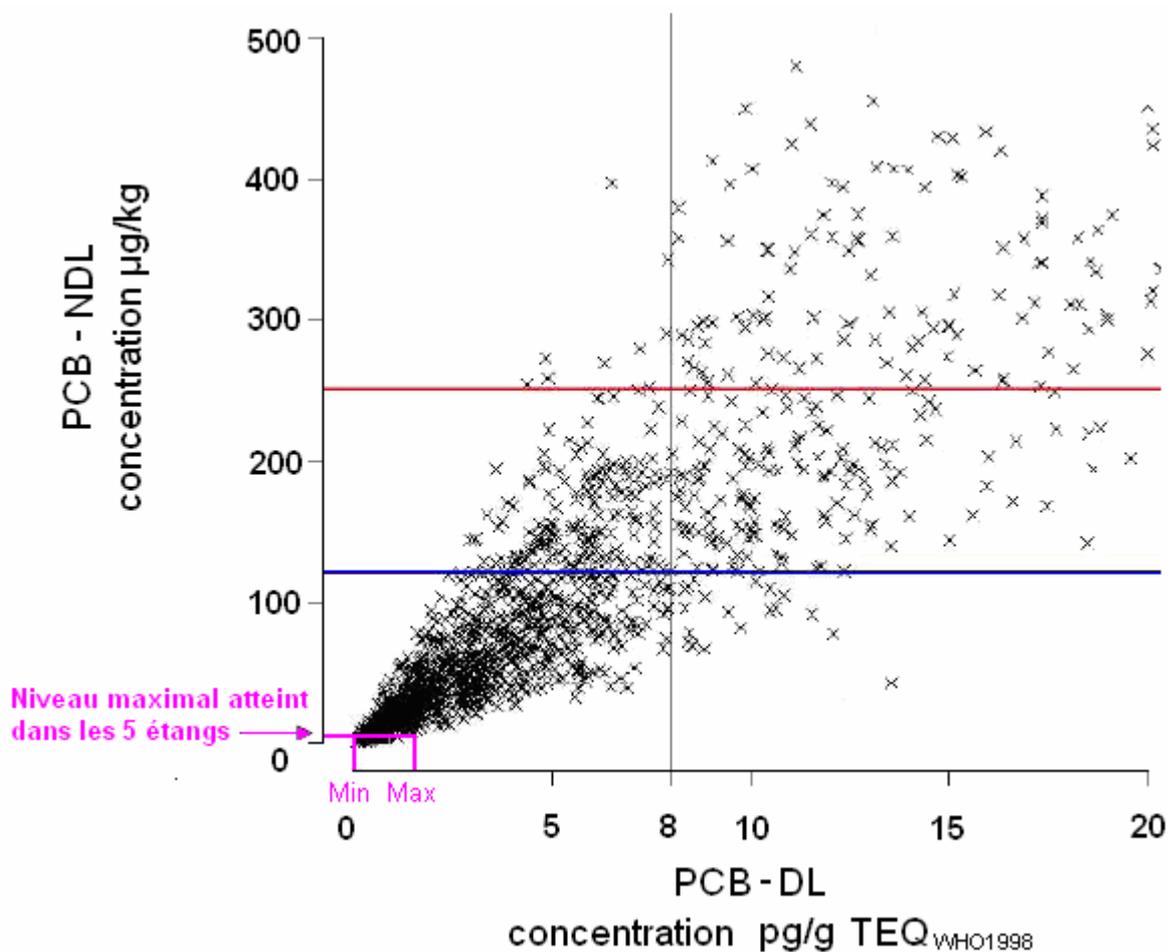


Figure E.3 : Application de la corrélation de Mahé et al. (2010) aux concentrations de PCB-NDL ($\mu\text{g} / \text{kg}$ PF) retrouvées dans les muscles des poissons pêchés dans notre étude.

E. 5. CONCLUSION

De faibles concentrations de PCB et pesticides organochlorés, situées dans le « bruit de fond » français, sont observées pour les cinq étangs lorrains étudiés. La faible contamination de compartiments environnementaux (eau, sédiments), probablement issue de dépôts atmosphériques, conduit à une faible exposition et, par conséquent, à une faible contamination des poissons. Les valeurs de PCB-NDL ($< 6 \mu\text{g} / \text{kg}$ PF) mesurées dans le muscle des poissons d'étang, et celles de PCB-DL estimées ($< 2 \text{pg TEQ}_{\text{WHO1998}} / \text{g}$ PF) lors de ces travaux de thèse, ne dépassent pas les normes en vigueur ou en projet, et ne Constituent pas, par conséquent, un risque pour le consommateur.

Chapitre F. DISCUSSION GENERALE

F. 1. RAPPEL DES PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS

Les cinq sites étudiés, représentant un gradient d'intensification agricole, présentent des fonctionnements diversifiés, que ce soit au niveau du bassin versant ou de l'étang. Une recherche de 160 pesticides dans l'eau des étangs a montré une contamination fluctuante de cette matrice, dépendante des saisons d'épandage sur le bassin versant. L'impact de cette contamination sur le poisson est mis en avant par l'étude simultanée de la réponse de huit biomarqueurs, permettant de différencier les sites. Une recherche plus particulière, intéressant 13 pesticides homologués (dosés par une analyse multi-résidus) et la trifluraline, pesticide interdit d'usage en 2008, montre la présence de certains composés dans les sédiments et la chair de poisson. Cependant, leurs teneurs restent faibles, en comparaison aux apports sur le bassin versant. Ceci peut être expliqué par leur faible bioaccumulation, paramètre déterminé lors d'une expérimentation en laboratoire sur deux espèces piscicoles. L'étude a tout de même permis de mettre en avant l'action de nombreux facteurs sur les profils de contamination, en particulier, les propriétés des molécules, des sites et des matrices étudiées mais également les pratiques agronomiques. Ainsi, sur les cinq sites étudiés, la contamination en pesticides homologués semble liée au bassin versant. Les PCB et pesticides organochlorés dont les teneurs, assimilables à un bruit de fond, seraient plutôt le témoin d'une contamination atmosphérique.

Ces résultats dépendent des méthodologies utilisées. Ainsi, la première partie de cette discussion consistera à établir les intérêts et limites des méthodologies employées afin de proposer des améliorations du dispositif d'étude. Ensuite, le choix des espèces piscicoles étudiées ainsi que leur position en tant qu'indicateur de contamination sera débattu. Enfin, un bilan des facteurs clés de la contamination des étangs sera exposé afin d'évaluer les possibilités d'action pour améliorer la qualité du poisson vis-à-vis des pesticides.

F. 2. INTERETS ET LIMITES DES METHODOLOGIES UTILISEES

F. 2. 1. ANALYSE MULTI-RESIDUS

Les approches multi-résidus sont nécessaires pour évaluer les niveaux de pesticides ayant des propriétés physico-chimiques différentes. La chromatographie en phase gazeuse (GC) et chromatographie en phase liquide (LC) couplée à la spectrométrie de masse (MS) sont les techniques les plus utilisées pour la surveillance de résidus de pesticides dans les aliments et les matrices environnementales (Hogenboom *et al.*, 2001; Reemtsma, 2003 ; Irace-Guigand *et al.*, 2004 ; Pico *et al.*, 2004; Alder *et al.*, 2006; Kuster *et al.*, 2006; Ferrer *et al.*, 2007 ; Malik *et*

al., 2010). En raison des propriétés de faible volatilité de nombreux composés, la GC-MS nécessite une dérivation avant analyse (Ranz *et al.*, 2008). Toutefois, la LC-MS/MS reste le choix principal pour explorer une large gamme de pesticides, y compris pour les composés à basse volatilité ou forte polarité (Petrovick *et al.*, 2010). Dans ce contexte, ce travail a permis le développement d'une méthode multi-résidus pour l'analyse simultanée d'une liste de 13 pesticides, parmi les plus couramment utilisés pour les céréales ou les cultures oléagineuses. Cette analyse est mise au point dans trois matrices (eau, sédiments, muscle de poisson), avec notamment la même méthode d'extraction pour les sédiments et les muscles de trois espèces piscicoles.

Avant ce travail, plusieurs méthodes d'analyse des muscles de poisson avaient été signalées, mais la plupart d'entre elles portaient sur une famille spécifique tels que les organochlorés (Fernandez *et al.*, 1996; Basheer *et al.*, 2002; Shukla *et al.*, 2006; Wurl et Obbard, 2006; Nardelli *et al.*, 2010) ou des pesticides organophosphorés (Qu *et al.*, 2010). Toutefois, les progrès récents de l'analyse multi-résidus par LC-MS/MS, avaient déjà permis la quantification de polluants aux propriétés diverses. Les dosages ont tout d'abord été développés dans l'eau (Rodil *et al.*, 2009; Barrek *et al.*, 2009; Baugros *et al.*, 2008). Puis, avec le développement de méthodes d'extraction particulières comme Quetchers (Anastassiades *et al.*, 2003), l'analyse multi-résidus s'est étendue à quelques matrices complexes (Peters *et al.*, 2009; Nardelli *et al.*, 2010). Les méthodes multi-résidus montrent tout leur potentiel dans les expérimentations *in-situ* car elles permettent simultanément :

- d'éliminer des échantillons les impuretés et les contaminants non recherchés interférant avec la quantification lors de l'analyse.
- de cibler et quantifier des contaminants ciblés de propriétés très différentes avec une faible limite de quantification.

Ces méthodes multi-résidus facilitent également les expérimentations en laboratoire même si, dans ce cas, l'obtention d'une faible limite de quantification n'est pas essentielle. En effet, l'analyse simultanée diminue la quantité de matrice nécessaire (*i.e.* 3 g de muscle dans ces travaux) et permettent les expérimentations en conditions de multi-contamination.

F. 2. 2. EXPERIMENTATIONS EN LABORATOIRE

Les expérimentations en laboratoire sont répétables étant donné que la plupart des facteurs influençant le devenir des pesticides sont contrôlés. Elles permettent donc d'explicitier certains mécanismes. Dans ce travail, l'expérience a permis d'obtenir des données sur le devenir, dans le poisson d'étang, de molécules peu étudiées. Cependant, les résultats obtenus dépendent des conditions expérimentales appliquées.

Les espèces étudiées ont reçu le même traitement alimentaire, dans des conditions quasi-similaires, alors qu'elles ont une physiologie et des besoins différents. Le choix de l'alimentation formulée (aliment pour bar avec ajout de blé) n'a pas tenu compte des besoins nutritionnels réels des poissons. Donner le même aliment aux carpes et aux perches permet d'éviter un biais relatif aux éventuelles interactions entre aliment et pesticides. L'absorption des pesticides n'a peut-être pas été optimale dans ces conditions de régime alimentaire. Cela aurait pu conduire, par exemple, à une sous-estimation des BMF des molécules lipophiles chez la perche (moins de possibilité d'émulsion dans l'intestin favorable à l'absorption des composés lipophiles testés).

Outre les effets causés par la nature de l'aliment, les conditions expérimentales n'étaient pas idéales pour l'évaluation d'un transfert par voie trophique. En particulier, la présence de résidus dans l'eau, pendant les phases d'exposition et d'épuration, est un biais important. Deux pistes d'amélioration sont mises en avant :

- Augmentation de la compaction de l'aliment (extrusion),
- Renouvellement régulier de l'eau du dispositif (quotidien, après prise alimentaire).

F. 2. 3. EXPERIMENTATION *IN-SITU*

F. 2. 3. 1. L'ÉTANG EST-IL ADAPTE AUX ETUDES *IN-SITU* ?

Contrairement aux expériences en laboratoire, les expérimentations *in-situ* permettent d'obtenir une vision globale de l'état de contamination d'un milieu et de son biota. En effet, l'exposition des poissons aux pesticides lors de notre étude tient compte des fluctuations naturelles de nombreuses caractéristiques du milieu (physico-chimie, apports de pesticides, mode de gestion des étangs...) qui peuvent jouer un rôle sur la physiologie de l'individu ou encore sur la biodisponibilité et de la toxicité des contaminants. Aussi, il est parfois difficile d'interpréter les données (biomarqueurs, résidus) ou de déterminer les facteurs environnementaux influençant les niveaux de contamination. Les causes principales des difficultés d'interprétation résident pour une part dans l'historique et la mobilité des espèces, qui sont exposées lors de leur passage dans de nombreux habitats différents (Geffard *et al.*, 2010).

Afin de palier ces limites, nous avons proposé comme milieu d'étude l'étang de barrage vidangeable. Contrairement à d'autres écosystèmes, tels que les rivières où les populations piscicoles peuvent circuler sur un long linéaire, les étangs restreignent la mobilité des poissons dans un volume d'eau mesurable. Ensuite, l'espace dédié aux poissons est suffisant pour ne pas influencer sur leur comportement natatoire ou alimentaire. Nous avons limité l'impact de l'historique des populations en introduisant dans l'étang des individus déjà présents sur le lieu avant les campagnes de prélèvement à l'alevinage (T0) et au moment de la vidange (TF). De plus, les populations, choisies pour l'étude, ont été marquées par ablation d'une nageoire

pelvienne afin d'échantillonner les mêmes populations lors des deux campagnes d'échantillonnage. Cet historique devient alors maîtrisable en étang alors qu'il reste non défini dans les rivières (populations naturelles mélangées aux poissons ajoutés par alevinage ou empoissonnement)

Cependant, il n'a pas été possible, lors de cette étude, d'introduire les mêmes populations sur l'ensemble des sites étudiés, d'où une part de variabilité de la contamination entre les sites due à des paramètres relatifs à l'historique des poissons tels que l'âge ou encore l'état nutritionnel. Enfin, les saisons de pêche et périodes de grossissement sont différentes entre les sites, conduisant à la capture de poissons à des stades physiologiques différents, ce qui complexifie la comparaison entre sites. Ainsi, nous avons pu montrer que ce paramètre était un facteur agissant sur les profils de contamination des poissons. Ce choix a également l'avantage de fournir une image calée sur la réalité des pratiques de production piscicole en étang lorrain.

L'étang est également adapté au travail à l'échelle du bassin versant ainsi qu'à la qualification et/ou quantification des facteurs mis en jeu dans la dissipation des pesticides. En effet, les poissons vivant dans un espace délimité, les facteurs environnementaux, tels que la météorologie, le fonctionnement hydraulique ou encore les usages de pesticides sur le bassin versant, sont caractérisables. En particulier, l'évaluation de certains de ces facteurs s'est faite en partie par des enquêtes auprès des différents acteurs concernés. Cependant, ces enquêtes ne comportent pas de dédommagement ni d'obligations. Elles dépendent fortement du contexte relationnel entre les pisciculteurs, les agriculteurs et les chercheurs, nécessitant une sensibilisation au projet durable des différents acteurs.

Notre étude a aussi mis en avant plusieurs limites aux méthodes utilisées en étang. Les prélèvements peuvent également être améliorés. Des prélèvements plus fréquents (voire automatisés en fonction du débit d'apport de l'eau de surface), en entrée et en sortie d'étang, auraient permis une meilleure connaissance des fluctuations de contamination dans cette matrice (Collavini *et al.*, 2010). De même, le prélèvement de sédiments en continu par des systèmes de trappes cylindriques aurait été plus riche en informations (Banas, 2001). En effet, les sédiments ont été prélevés en surface, à sec après la vidange, soit après le départ d'une partie de la matière en cours de sédimentation, voire récemment sédimentée. Les trappes à sédiment cylindriques, adaptées aux milieux peu profonds, captent les particules sédimentant lors de l'échelle de temps considérée. Ce dispositif aurait pu améliorer et compléter de manière adéquate l'échantillonnage effectué. Les prélèvements de l'eau et des sédiments améliorent la compréhension des apports issus du bassin versant mais il serait également possible de s'intéresser aux apports atmosphériques. En effet, dans cette étude, certaines molécules ont été quantifiées dans le site C-0. Ce bassin versant forestier attire les dépôts humides (Andréassian, 2002) pouvant contenir des contaminants. Les molécules volatiles telles que le

métaldéhyde, le carbendazime ou les PCB légers (CB28, CB52), sont retrouvées dans l'eau ou les sédiments de l'étang et témoignent d'un apport atmosphérique (Dubus *et al.*, 2000 ; Asman *et al.*, 2005 ; Scheyer, 2005 ; Sauret *et al.*, 2009). Aussi, des préleveurs de dépôts atmosphériques seraient utiles pour évaluer la part du transport aérien dans la contamination des étangs. Ainsi, l'échantillonnage effectué met en avant un problème en termes d'intégration des fluctuations des apports de contaminants, préconisant d'autres systèmes de prélèvement, en particulier pour les matrices eau et sédiments.

L'étang est un milieu adapté aux études *in-situ*. Comme dans tout milieu d'expérimentation *in-situ*, la compréhension des mécanismes reste difficile. Cependant, dans le cas de l'étang vidangeable, des améliorations sont envisageables.

F. 2. 3. 2. VERS UN DISPOSITIF IN-SITU INSTRUMENTÉ ?

Les étangs vidangeables ont un niveau d'intégration écosystémique inférieur aux rivières. Cela tient compte en particulier de la sédentarité « forcée » des espèces et de l'action du pisciculteur qui détermine la part piscicole du réseau trophique présent. Cependant, ils permettent les expérimentations *in-situ* et tiennent compte des fluctuations naturelles d'une multitude de facteurs, ce qui les place tout de même à un niveau d'intégration écosystémique supérieur à d'autres milieux d'expérimentations tels que les mésocosmes. Ces facteurs complexifient l'interprétation des résultats et la caractérisation des mécanismes mis en jeu (figure F.1).

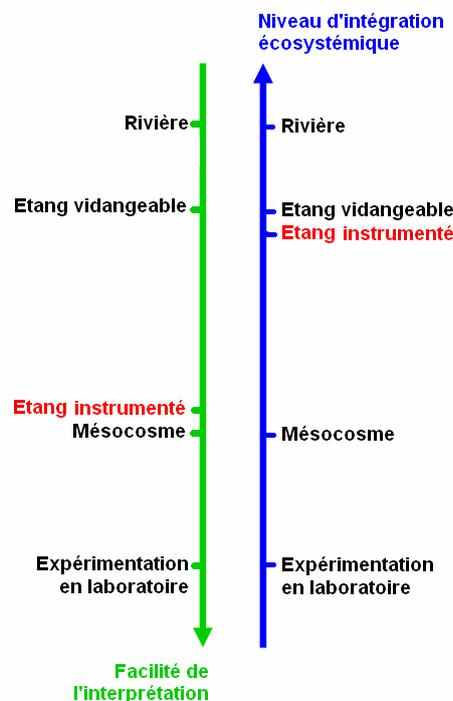


Figure F.1 : Niveau d'intégration écosystémique et facilité d'interprétation des données selon les dispositifs expérimentaux

Aussi, créer des aménagements et conditions d'exploitation spécifiques (figure F.2) permettrait de créer un « étang instrumenté » pour l'étude des pesticides et augmenterait la part explicative des études *in-situ* en étang (plaçant l'interprétation au niveau de celle relative aux mésocosmes), sans pour autant modifier son réalisme en tant qu'écosystème (figure F.1). L'optimisation permettrait de gagner en information et *in fine* d'avoir une meilleure compréhension des transferts inter-matrices, des flux et du bilan entrée-sortie des contaminants. Ces aménagements prévisionnels (figure F.2) portent sur :

- la caractérisation des flux de contaminants (Zonta *et al.*, 2010) par préleveurs automatiques, trappes à sédiments voire préleveurs de retombées atmosphériques.
- l'évaluation de la météorologie locale (station météorologique)
- le contrôle de la gestion piscicole et agricole.

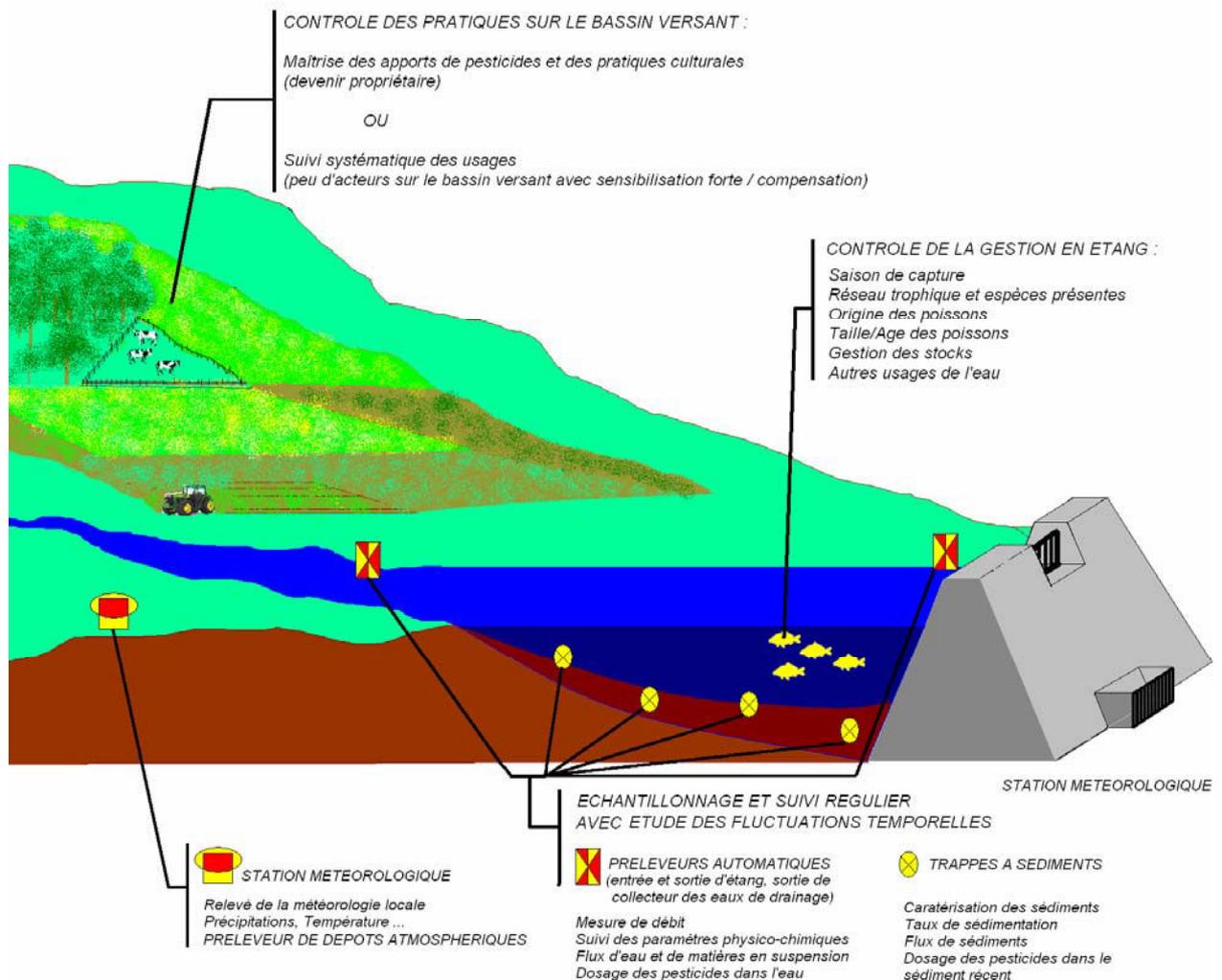


Figure F.2 : Optimisation du dispositif expérimental en étang

F. 2. 4. CHOIX DES ESPECES

Dans ce travail, la gestion piscicole permet d'établir un réseau trophique particulier. Aussi, plusieurs espèces de ce réseau ont été étudiées (gardon, carpe, perche) afin de mieux prendre en compte les différents mécanismes possibles dans le devenir des pesticides en polyculture. Ces mécanismes dépendent des propriétés des espèces (figure A.23), en particulier de leurs nombreuses différences biologiques (*cf.* chapitre A) comme, par exemple, les taux de ventilation, la physiologie intestinale et les mécanismes d'absorption, les taux de matière grasse dans différents pools (foie, gras péri-viscéral et dynamique de transfert vers les gonades) ou encore le métabolisme (*cf.* réponses des biomarqueurs entre gardon et carpe). Il en est de même de leurs stratégies de vie, en particulier leurs régimes alimentaires :

- le gardon est un omnivore (à dominante herbivore) benthopélagique
- la carpe est un omnivore benthique
- la perche est un piscivore benthopélagique

De plus, certains composés étant considérés comme bioamplifiés dans le réseau trophique, il semblait important de prendre en compte plusieurs niveaux du réseau.

Dans ce travail, une chaîne trophique à 3 niveaux a été évaluée. Elle n'a pas été déterminée de manière précise par des analyses isotopiques. Cela aurait permis de caractériser les niveaux trophiques propres à chaque site mais la comparaison entre les sites aurait été difficile. De nombreux facteurs agissent sur les isotopes stables. En particulier, les apports exogènes d'engrais azotés sur le bassin versant auraient probablement parasité la réponse en $\delta^{15}\text{N}$ (en mettant la base du réseau à des niveaux différents selon les apports d'azote sur les sites) et rendu toute comparaison entre site hasardeuse⁴⁹ (Anderson, 2008). De plus, les pratiques de gestion piscicole, consistant à un stockage en pisciculture suivi d'un empoissonnement annuel dans l'étang, modifient également les structures trophiques et leur traçage par isotopes stables (Kidd *et al.*, 1999).

Le réseau trophique aurait pu être complété par l'étude d'autres espèces présentes en étang, comme, par exemple, le rotengle, le brochet et le sandre.

Le rotengle a un régime alimentaire omnivore (à dominante zooplanctophage) et aurait représenté un maillon de plus dans le réseau trophique. Cependant, la position dans le réseau se serait située à un niveau très proche de celle du gardon. Ainsi, le choix s'est porté sur l'espèce la plus étudiée pour la recherche de résidus dans la chair ou de biomarqueurs : le gardon (Van der Oost *et al.*, 1994 ; Machala *et al.*, 2000 ; Covaci *et al.*, 2006 ; Sharma *et al.*, 2009).

⁴⁹ Notamment en absence d'espèce de référence à faible niveau de $\delta^{15}\text{N}$ quelque soient les apports d'engrais (*i.e.* macro-invertébrés brouteurs)

L'étude des hauts niveaux trophiques est importante de par le potentiel de bioamplification de certains composés tels que les pesticides organochlorés. Les superprédateurs, comme le sandre ou le brochet, seraient susceptibles de davantage bioaccumuler et permettre ainsi de relever les niveaux de résidus (quantification au lieu de détection) observés pour les autres espèces. Cependant, en étang, il est difficile de situer la place de ces espèces dans le réseau trophique. En effet, la gestion piscicole engendre une diminution de la compétitivité prédateurs (perches) / super prédateurs (brochets, sandres) afin d'augmenter la productivité de l'étang pour les carnassiers. Ainsi, le pisciculteur empoissonnera avec des classes de tailles peu adaptées à la prédation. Par exemple, les populations de géniteurs de perches peuvent être empoissonnées avec des brochetons de taille moyenne. Ces derniers mangeront préférentiellement des gardons (ou rotengles) et des macro-invertébrés si le stock de gardon est insuffisant (Eklöv et VanKooten, 2001), les perches étant trop grosses et trop durables lors de la fuite. Ainsi, dans ce cas, le brochet n'aura pas un niveau trophique réellement supérieur à la perche.

Le choix des espèces étudiées est important pour évaluer leur contamination en pesticides ou leur capacité à les accumuler. Dans ces conditions, il est important de déterminer quelles espèces sont les plus à même de refléter la contamination du milieu.

F. 3. EVALUATION DE LA CONTAMINATION DU MILIEU

F. 3. 1. RECHERCHE DES MOLECULES DANS LES MATRICES ABIOTIQUES

Le suivi des niveaux de contaminants dans les matrices abiotiques donne une indication sur la contamination chimique des étangs. Ces informations sont importantes pour la compréhension des relations entre bassin versant et étang mais également pour mieux prendre en compte les propriétés physico-chimiques des molécules. Par exemple, le métazachlore, molécule soluble (430mg/L), épandu fin août /début septembre sur le bassin versant, se retrouvera en forte quantité dans les eaux d'étang en octobre. La trifluraline, molécule hydrophobe à fort Koc (15000), ira en priorité dans les sédiments, après une longue rétention par le bassin versant. L'isoproturon, ayant des propriétés intermédiaires, se partagera entre eau et sédiments. Certaines molécules comme l'iprodione ou le fluroxypyr, sont épandues en forte quantité sur les bassins versants agricoles mais ne sont pas retrouvées dans les matrices abiotiques. Les molécules sont peut-être rapidement dégradées sur le bassin versant ou les temps de prélèvements de l'eau n'ont pas permis de les voir. Quant aux molécules volatiles, elles sont retrouvées dans le site C-0, comme le métaldéhyde dans l'eau (pression de vapeur 4400 mPa à 25°C), et témoignent donc d'un dépôt atmosphérique important, non pris en compte dans l'étude.

Globalement, la contamination de ces matrices présente de nombreuses fluctuations, ce qui n'a pas permis une analyse détaillée de l'influence des facteurs liés à l'étang et au bassin versant. En effet, le nombre de dosages était insuffisant pour faire face à l'augmentation des paramètres à prendre en compte, rendant ainsi l'analyse (ACP/CHA) peu explicative (résultats non montrés). Aussi, prendre en compte le compartiment piscicole, plus intégrateur de la contamination que les matrices abiotiques, semble pertinent. Deux approches sont mises en avant : la recherche de résidus présents dans la chair de poisson (considérations relatives à la consommation humaine) et le biomarquage qui vise à évaluer la réponse des poissons à la contamination (considérations environnementales).

F. 3. 2. LE POISSON COMME INDICATEUR DE LA CONTAMINATION DU MILIEU

F. 3. 2. 1. RECHERCHE DES RESIDUS DANS LE POISSON

La recherche de résidus dans la chair de poisson a révélé de faibles niveaux de contaminants. Toutefois, la mesure des molécules mères dans le muscle a permis une comparaison entre les sites en apportant des pistes d'interprétation diversifiées sur les facteurs mis en cause. En particulier, l'étude des résidus dans la perche permet une meilleure différenciation des sites que pour la carpe et le gardon.

En absence d'étude sur la distribution des contaminants et la caractérisation des tissus cibles, le muscle est généralement surveillé pour des considérations alimentaires. Mais, selon les objectifs considérés, ce n'est pas le seul organe pris en compte (Tilghman *et al.*, 2009). Par exemple, en complément du muscle, le foie est souvent analysé dans les réseaux de surveillance européens, de par sa caractéristique de site préférentiel de biotransformation. Le poisson entier apporte également une information mais plutôt sur des considérations écosystémiques (contamination des chaînes trophiques, flux de contaminants dans l'écosystème).

Les pesticides étudiés sont faiblement accumulés dans la chair des carpes et des perches. Une hypothèse possible reste une métabolisation efficace de ces composés. Dans le cas de molécules fortement métabolisées, la mesure de métabolites dans la bile peut également donner un descriptif de l'exposition des poissons. Cependant, cela nécessite de connaître les différents métabolites de chaque molécule dans le poisson, en particulier les métabolites majoritaires et représentatifs de l'exposition aux molécules-mères. C'est le cas par exemple de la mesure de 1-hydroxypyrrène dans la bile, qui est un bioindicateur de l'exposition du poisson aux HAP (Mazéas, 2004). Cependant, les pesticides sont encore trop peu connus pour considérer ce genre d'approche. En particulier, la bioindication nécessite l'évaluation des corrélations entre les niveaux d'exposition et les concentrations dans différents organes-cibles du poisson. Aussi, de telles corrélations n'ont pas pu être établies dans ce travail.

F. 3. 2. 2. BIOMARQUAGE

Les biomarqueurs sont des réponses endogènes du poisson à l'état général de contamination du milieu. Ces mesures sont donc plus intégratrices que de simples dosages de résidus. Cependant, de nombreux facteurs peuvent interférer dans la réponse des biomarqueurs et en rendre difficile l'interprétation.

Dans nos travaux, les résultats pour les anti-oxydants sont plus difficiles à interpréter que pour les biomarqueurs liés à la biotransformation en raison des nombreux facteurs, autre que la contamination en pesticides organiques du milieu, qui agissent sur la balance oxydative tels que la présence de métaux (Pandey *et al.*, 2008) ou encore la saison de capture (Falfushynska et Stolyar, 2009). Les métaux agissent également sur l'activité de l'EROD (Mikula *et al.*, 2009). L'activité de l'AchE représente le mieux le gradient de mise en culture des bassins versants, leur activité étant influencée par de nombreux pesticides épandus (Ghosh, 1990 ; Szabo *et al.*, 1992 ; Reddy et Philip, 1994 ; Davies *et al.*, 1994).

Aussi, toutes les réponses endogènes des poissons étant multifactorielles, il est difficile d'établir des valeurs et/ou des sites de référence. Des individus naïfs, par exemple élevés en laboratoire et n'ayant jamais connu les contaminants, pourraient servir de référence. Cependant, les conditions *ex-situ* peuvent induire un stress (biomasse, recirculation d'eau, aliment industriel) non comparable aux conditions *in-situ*. Des poissons élevés en étang et non exposés à la contamination s'avèrent difficile à trouver. Par exemple, le site C-0, ne recevant pas d'apport par le bassin versant, ne peut pas servir de référence étant donné la contamination en pesticides par dépôt atmosphérique. De plus, ce site présente une autre forme de contamination de par la présence de métaux⁵⁰.

Cependant, nous avons montré que la différenciation (relative) des sites par le biomarquage était possible par une étude simultanée de plusieurs biomarqueurs, visant différents mécanismes et cibles de toxicité. Mais l'espèce étudiée a une importance : dans notre étude, le gardon permet une réponse de plus forte amplitude de tous les biomarqueurs et une différenciation de tous les sites. Il reste ainsi plus indiqué que la carpe pour le biomarquage.

F. 3. 2. 3. QUELLE(S) ESPECE(S) CHOISIR COMME INDICATEUR ?

La recherche de résidus et le biomarquage sont deux approches complémentaires qui intègrent de nombreux facteurs liés à la contamination des milieux. Mais leur portée dépend fortement des espèces étudiées.

⁵⁰ Le dosage des métaux (Cd, Cu, Pb, Zn) dans l'eau, les sédiments et les poissons (gardons, carpes) ont fait l'objet d'une étude (Université de Reims, S. Paris-Palacios). Ce travail a montré la présence, parfois en grande quantité, de ces métaux sur tous les sites et dans toutes les matrices.

Dans le cas du gardon et de la carpe, les tendances sont opposées.

- Le biomarquage est plus indiqué chez le gardon mais l'analyse des résidus ne permet pas d'interprétation sur la différenciation des sites.

- Les biomarqueurs chez la carpe ne font qu'opposer le site forestier aux autres sites mais les niveaux de contaminants dans le muscle sont supérieurs à ceux du gardon.

Ainsi, des analyses de résidus voire de métabolites dans différents organes et l'établissement de corrélations explicitant une bioindication pourraient compléter ces données. En ce qui concerne la perche, les variations de concentrations de pesticides dans le muscle étaient plus importantes, engendrant une meilleure différenciation des sites. Une recherche des relations entre concentrations dans la perche et dans le milieu (donc définir une bioindication) ainsi que l'étude des biomarqueurs seraient donc nécessaires afin de voir si cette espèce optimise la complémentarité entre biomarquage et bioindication.

Toutes ces espèces sont évaluées en tant que sentinelles (ou sentinelles alternatives) dans les plans de surveillance nationaux liés à la bioindication en milieu continental (Tilghman *et al.*, 2009). En général, il est préférable de suivre l'évolution de plusieurs espèces pour comparer des sites très différents. En effet, toutes les espèces ne répondent pas de la même manière aux variations des paramètres extérieurs à la contamination, liés aux caractéristiques des sites. Plusieurs de ces facteurs ont été mis en avant dans cette thèse ce qui permet de mettre en place un schéma explicatif des relations entre bassin versant et étang, afin de voir leur impact sur la contamination du milieu et des poissons.

F. 4. QUELQUES FACTEURS CLES DE LA CONTAMINATION DE LA CHAIR DE POISSON EN ETANG

F. 4. 1. QUELQUES FACTEURS CLES...

La contamination de la chair de poisson est la résultante de nombreux facteurs liés aux caractéristiques extrinsèques des sites (*i.e.* météorologie), les propriétés intrinsèques des sites, des molécules et des matrices (valable aussi pour les matrices abiotiques eau et sédiments, *cf* Chapitre A). Cependant, les pratiques sur le bassin versant et l'étang s'avèrent également être déterminantes pour expliquer cette contamination. Aussi, ces facteurs ont été mis en avant lors de cette étude pour aggraver ou limiter le risque de contamination de la chair de poisson (tableau F.1).

Tableau F.1 : Facteurs mis en évidence lors de l'étude comme ayant une action sur les niveaux de résidus dans la chair de poisson en étang.

Propriétés	Facteurs aggravant la contamination du poisson, mis en évidence dans l'étude
Structure des sites	Ratio Ao/Ad élevé (Ao : Superficie du bassin versant, Ad : superficie de l'étang) Nature sableuse du sol
Pratiques	Rotation des cultures inférieure à 3 ans Faible diversité des cultures sur le bassin versant Part du bassin versant mis en culture Saison de capture des poissons en fin d'hiver
Molécules	DT50 élevée
Propriétés	Facteurs limitant la contamination du poisson, mis en évidence dans l'étude
Structure des sites	Nature argileuse du sol
Pratiques	Rotation des cultures supérieure à 3 ans Semis sous couvert
Molécules	BMF faible

Les dates d'épandage et de pêche ont également une importance particulière. En effet, les molécules quantifiées dans la chair de poisson (métazachlore, isoproturon, trifluraline) proviennent essentiellement d'épandages d'automne. Cependant, du fait des temps nécessaires à la dissipation des pesticides dans le bassin versant et le milieu aquatique, les molécules ne proviennent pas forcément des mêmes années d'épandage. Des temps moyens entre l'épandage et la quantification de molécules dans la chair de poisson sont mis en évidence lors de cette étude. A titre d'exemple (figure F.3), il faudra 2 à 3 ans à la trifluraline épandue pour atteindre la chair de poisson et environ 6 mois à l'isoproturon. En effet, une part de la trifluraline épandue l'année n se retrouvera dans la chair des poissons l'année $n + 2$ et $n + 2,5$; avec des niveaux plus élevés dans les poissons en fin d'hiver ($n + 2,5$). L'isoproturon épandu l'année n se retrouvera dans la chair de poisson l'année $n + 0,5$ mais restera détecté dans la chair des poissons à l'automne suivant (année $n+1$).

Les pratiques de rotation des cultures sur le bassin versant sont déterminantes dans les profils de contamination des étangs et de leur faune piscicole. Par exemple, les rotations sur 2 ans (colza / blé et maïs / blé), favorisent la récurrence de l'usage de certaines molécules comme l'isoproturon et la trifluraline (interdite fin 2008). Ce facteur, couplé à une DT50 (dans les sédiments et/ou le muscle de poisson) élevée, aggrave le risque de présence de résidus dans la chair.

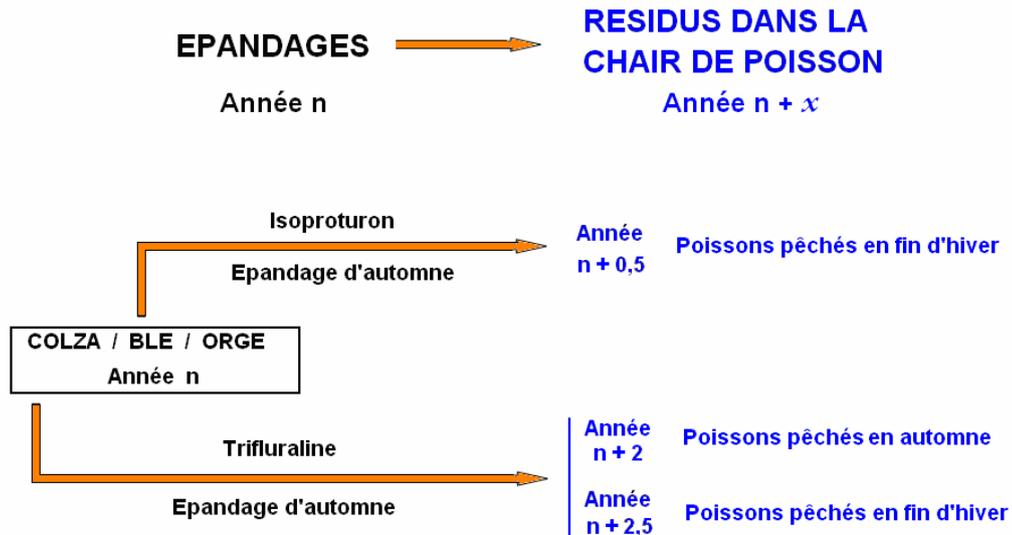


Figure F.3 : Temps entre l'épandage sur le bassin versant et la présence de résidus dans la chair de poisson pour la trifluraline et l'isoproturon.

Pour ces deux molécules, les niveaux de résidus dépendent de la saison de pêche, les poissons pêchés au printemps présentant les plus fortes quantités. Cependant, les temps séparant l'épandage et la quantification de résidus dans la chair de poisson sont identiques pour tous les sites, ce qui met en évidence des mécanismes analogues. Les sites ont volontairement été choisis de manière à évaluer une large variation de caractéristiques topographiques, concernant par exemple la pente ou le ratio A_0/A_d (qui agit sur le bilan hydraulique de l'étang). Par exemple, un ratio de 8,2 et de 26,8 est respectivement calculé pour les sites C-45 et C-75 alors que l'épandage de trifluraline à l'année n se répercute à l'année n+2 dans le poisson pour les deux sites. Cela indique que, pour les deux molécules évaluées, le poisson intègre bien les fluctuations temporelles de l'arrivée de contaminants et de sa répartition dans les sédiments et l'eau⁵¹. Ainsi, l'analyse dans le poisson gagne en qualité d'interprétation des mécanismes par rapport à une mesure ponctuelle dans les matrices abiotiques (en absence de dispositif permettant l'évaluation de flux).

F. 4. 2. ...POUR UNE MEILLEURE GESTION PISCICOLE

Les facteurs liés aux pratiques de gestions dépendent des décisions humaines. Celles-ci, encadrées par la législation et les attentes sociétales (Sattler et Nagel, 2010), peuvent être maîtrisées. A titre d'exemple, la législation engendre une politique de réduction des usages de pesticides. Son impact (additionné à l'impact de l'augmentation des prix des pesticides) se traduit sur les bassins versants par une réduction régulière des quantités appliquées depuis 2003.

⁵¹ De part leurs propriétés, la trifluraline arrive sous forme particulaire dans l'étang et l'isoproturon est partagé entre phase aqueuse et particulaire.

Tous les facteurs, qu'ils soient liés ou non aux décisions humaines, peuvent également interagir (figure F.4). Par exemple, le cadre législatif interdit progressivement l'utilisation des molécules bioconcentrées par le poisson et persistantes dans l'environnement. Ainsi, les molécules homologuées seront donc rapidement dégradées dans les matrices abiotiques et les poissons seront exposés moins longtemps. Cependant, le nombre de molécules autorisées se réduisant, l'utilisation de molécules « préférentielles » peut se généraliser sur le bassin versant, d'où une potentielle augmentation des quantités épandues pour ces molécules. Le poisson serait donc exposé moins longtemps mais à des niveaux plus élevés. L'assimilation et les paramètres d'accumulation, en particulier par exposition à un aliment ou à des sédiments contaminés, ne sont pas vérifiés dans le processus d'homologation. Ainsi, il n'est pas certain que les molécules peu bioconcentrées ne soient pas accumulées par d'autres voies de contamination (sédiment, aliment). Mais, même si l'assimilation par le poisson, voire l'accumulation, est faible, la demi-vie des molécules peut être élevée. Il est alors possible de retrouver des résidus dans la chair sous certaines conditions déterminées, entre autres, par les caractéristiques des sites, des molécules et par les décisions relatives à la gestion de l'étang comme la date de pêche. Dans ce cas, les résidus seront à des niveaux plus élevés si la saison de capture correspond à une arrivée récente dans le milieu des pesticides épandus sur le bassin versant en forte quantité. Au final, l'interaction des caractéristiques des milieux et des molécules, des facteurs environnementaux et humains déterminent les profils et les niveaux de la multi-contamination observée en étang. De manière générale, les facteurs environnementaux sont peu maîtrisables. Ainsi, mieux prendre en compte l'impact des facteurs liés aux décisions humaines permettra de faciliter des changements de pratique si nécessaire. Par exemple, lors de l'identification d'une molécule posant problème pour la consommation de la chair de poisson, le pisciculteur pourrait, en se renseignant sur la période d'épandage sur le bassin versant, reporter (ou avancer) sa date de capture de quelques semaines ou exclure l'espèce concernée. Si cela ne résout pas le problème, la molécule étant peut-être rémanente et/ou bioaccumulable dans le poisson, il serait adéquat de faire des expérimentations supplémentaires visant l'amélioration de l'action législative.



Figure F.4 : Facteurs clés de la contamination en étang.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Cinq sites, comportant chacun un étang de barrage vidangeable et son bassin versant, ont été caractérisés. Ils se placent sur un gradient d'intensification agricole du bassin versant.

Les apports de pesticides sur le bassin versant, principalement en automne et au printemps, se réduisent progressivement d'une année à l'autre mais restent cependant élevés et diversifiés. L'étang de barrage intercepte une partie de cette contamination dans les matrices abiotiques et biologiques. En effet, le dosage de 160 molécules dans l'eau des étangs a montré la présence de nombreux pesticides en concentrations variables selon les sites et les saisons. La somme des molécules recherchées s'échelonne de 0,17 µg/L pour le site C-0 (mars) à 8,81 µg/L pour le site C-25 (octobre). De nombreuses molécules dépassent 0,1 µg/L et certaines molécules peuvent parfois atteindre une concentration très élevée, supérieure à 1 µg/L. C'est le cas, par exemple, pour les valeurs maximales de métaldéhyde (7,0 µg/L), d'AMPA (5,2 µg/L), d'isoproturon (2,7 µg/L), de bentazone (2,2 µg/L), de glyphosate (1,7 µg/L) et de quinmérac (1,2 µg/L).

Une réponse biologique est induite chez les poissons élevés en polyculture d'étang. La recherche de huit biomarqueurs a pris en compte les activités EROD, CYP 3A, GST, CAT, SOD, GSH, GPx et AChE. Ce dernier biomarqueur est celui qui traduit le mieux le gradient d'intensification de l'agriculture sur le bassin versant. L'AChE présente une inhibition progressive entre le site C-0 (84 ± 9 et 86 ± 6 U/mg prot. chez la carpe et le gardon respectivement) et le site C-85 (55 ± 8 et 42 ± 11 U/mg prot. chez la carpe et le gardon respectivement). L'analyse simultanée des huit biomarqueurs a permis d'établir des différences entre les espèces et les sites étudiés. La réponse biologique de ces deux espèces peut être comparée : carpe < gardon. Les gardons permettent une meilleure différenciation des sites. Plusieurs facteurs semblent influencer la réponse de ces huit biomarqueurs dans le poisson :

- la contamination de l'eau, en particulier les concentrations de carbamates, d'urées substituées, de sulfonilurées et des produits de dégradation de l'atrazine,
- les critères relatifs aux poissons et à leur capture tels que la masse des poissons, l'indice gonado-somatique et la saison de capture,
- la gestion des bassins versants, notamment les quantités de pesticides épandus, la rotation des cultures et la proportion de chaque culture,
- le ratio entre la superficie de l'étang et celle du bassin versant.

Une recherche ciblée de 14 pesticides, épandus sur grandes cultures, a été effectuée dans l'eau, les sédiments et la chair de poisson. L'isoproturon et le métazachlore sont les plus

fréquemment quantifiés et présentent les concentrations maximales dans l'eau (2,69 et 0,54 µg/L respectivement). Les concentrations sédimentaires maximales concernent la trifluraline (0,5 à 13 µg/kg PS) et l'isoproturon (0,7 à 56,4 µg/kg PS), cependant, certains sites sont remarquables par la présence du diflufenican et du carbendazime. La chair des poissons présente des profils variés de contamination mais les niveaux observés restent peu élevés. Les espèces montrent des profils similaires mais des niveaux de contaminants différents. Globalement, la contamination musculaire peut être hiérarchisée : gardon < carpe < perche. Les molécules ayant les niveaux les plus élevés dans le muscle de poisson correspondent aux pesticides présentant les plus fortes concentrations dans les matrices abiotiques. Ainsi, seuls la trifluraline, l'isoproturon, le métazachlore et le carbendazime (valeurs maximales de 21 ; 0,75 ; 0,13 et 0,20 µg/kg PF, respectivement) sont quantifiés dans le muscle. La trifluraline est connue pour avoir un potentiel de bioaccumulation « modéré », expliquant sa présence à une concentration dans le muscle parfois supérieure à celle observée dans les sédiments. Pour les autres molécules, les faibles niveaux observés en étang peuvent être expliqués par les faibles valeurs de facteur de bioaccumulation, établies en conditions contrôlées pour la carpe et la perche (entre 10^{-3} et 10^{-6}). Cependant, la demi-vie des molécules dans le muscle peut être de plusieurs semaines (carbendazime, isoproturon, métazachlore, napropamide, clomazone) selon les espèces testées, ce qui peut expliquer que l'on puisse les quantifier dans la chair des poissons en étang. Malgré ces faibles niveaux de contamination, le profil des pesticides dans le muscle de poisson a permis de mettre en évidence l'influence de divers facteurs.

- Les facteurs non maîtrisables, liés aux sites. Il s'agit des superficies de l'étang et du bassin versant ainsi que de leur ratio, du temps de renouvellement de l'eau de l'étang et de la nature du sol au niveau du bassin versant.
- Les facteurs maîtrisables, liés aux décisions humaines et relatifs à :
 - o la gestion des bassins versants. En particulier la rotation des cultures et les quantités de pesticides épandues sont concernées. Globalement, les cultures diversifiées dans des rotations pluriannuelles favorisent une diversité des molécules épandues et un étalement dans le temps des dates d'épandages. Aussi, le risque de contamination de la chair de poisson par les pesticides est diminué.
 - o la gestion des étangs et essentiellement la saison de capture (également l'indice gonado-somatique dépendant lui-même de la saison de capture et de la stratégie de reproduction des poissons).

Dans les étangs, les molécules connues pour être rémanentes et bioaccumulables (PCB, pesticides organochlorés) sont également retrouvées en faibles concentrations. En effet, les valeurs maximales dans les sédiments sont 3,6 µg/kg PS pour la somme des PCB-I et 2,4 µg/kg PS pour la somme des DDT. Le poisson montre la même tendance, avec des concentrations maximales dans le muscle de 6,5 et 2,3 µg/kg PF pour les sommes des PCB-I et des DDT, respectivement. Les liens entre contamination et bassin versant n'ont pu être établis du fait que ces molécules sont interdites d'utilisation. De plus, une hypothèse probable à ces faibles teneurs serait une origine atmosphérique des sources de contamination.

En perspective de ce travail, différentes approches peuvent être envisagées pour compléter les connaissances sur le devenir des pesticides dans le poisson :

- Diminuer les limites de quantification et étendre l'analyse multi-résidus à plus de molécules pourraient être une démarche pertinente en vue d'améliorer cet outil d'étude.

- Une démarche *in-situ* sur un étang aménagé et optimisé pour la compréhension des mécanismes pilotant la contamination des milieux et de la faune. Ces aménagements supplémentaires tels des préleveurs automatiques, des trappes à sédiments et une station météorologique, auraient pour but de mieux prendre en compte la contamination environnementale en raisonnant en termes de flux. Ceci permettrait d'intégrer l'échelle temporelle et les fluctuations qui en découlent.

- Une modélisation de la dissipation des pesticides du bassin versant aux poissons permettrait de mieux comprendre, voire prédire, les niveaux de contamination. Par exemple, le modèle FOCUS prend en compte la variation de nombreux facteurs dans une échelle spatiale et temporelle afin de déterminer les niveaux dans l'eau de surface (échelle régionale). Ce type de modèle pourrait être amélioré pour prendre en compte les matières en suspension, mais également adapté à l'échelle du bassin versant et au pas de temps relatif au cycle de production piscicole. Il pourrait également être couplé à d'autres types de modèles (*i.e.* aquatox) de manière à prendre en compte les compartiments biologiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abarnou A., Burgeot T., Chevreuil M., Leboulenger F., Loizeau V., Madoulet-Jaouen A., Minier C., 2000.** Programme scientifique Seine-Aval n°13 : Les contaminants organiques, quels risques pour le monde vivant. Ifremer Editions, 35p.
- AERM, 2010.** Agence de l'Eau Rhin-Meuse. Suivi de pesticide dans les eaux de la Moselle. www.eau-rhin-meuse.fr.
- AFSSA, 2007.** Avis du 23 octobre 2007 de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments relatif à l'établissement de teneurs maximales pertinentes en polychlorobiphényles qui ne sont pas de type dioxine (PCB « non dioxin-like », PCB-NDL) dans divers aliments. 2006-SA-0305.
- AFSSA, 2008.** Avis du 5 février de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments relative au plan d'échantillonnage national des PCB dans les poissons de rivière : proposition de méthodologie. 2008-SA-0019.
- AFSSA, 2009.** Appui scientifique et technique de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments relative à l'interprétation des données du plan national PCB 2008 dans les poissons de rivière et à la proposition du plan d'échantillonnage 2009. 2009-SA-0118.
- Agreste, 2009.** Agreste Lorraine conjoncture numéro 3, mai - juin 2009, 4 pages. http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf_R4109A07.pdf
- AGRITOX. 2007.** Base de données sur les substances actives phytopharmaceutiques. <http://www.inra.fr/agritox/php/fiches.php>.
- Alder L., Greulich K., Kempe G., Vieth B., 2006.** Residue analysis of 500 high priority pesticides: Better by GC-MS or LC-MS/MS? *Mass Spectrometry Reviews*. 25 (6) : 838-865.
- Alexander, M. 2000.** Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environmental Science and Technology*. 34 : 4259-4265.
- Alexander R.R. et Alexander M., 2000.** Bioavailability of genotoxic compounds in soils. *Environmental Science and Technology*. 34 : 1589-1593.
- Alfaro S. C., Rajot J-L., Nickling W., 2004.** Estimation of PM20 emissions by wind erosion : main sources of uncertainties. *Geomorphology*. 59 : 63-74.
- Ambroise B., 1999.** La dynamique du cycle de l'eau dans un bassin versant, H.G.A. Editions, Bucarest. 200 p.
- Anastassiades M., Lehotay S.J., Štajnbaher D., Schenck F.J., 2003.** Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*. 86 (2) : 412-431.
- Anderson C., 2008.** Utilisation des isotopes stables de l'azote dans l'étude de l'impact des activités humaines sur la structure des communautés aquatiques. Thèse de doctorat, Université du Québec à Trois-Rivières (Canada), 256 p.
- Andréassian, 2002.** Impact de l'évolution du couvert forestier sur le comportement hydrologique des bassins versants. Thèse de doctorat. Université Paris 6. 275 p.
- APHA, 1976.** Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association. Washington. 420-423.
- Arnich N., Tard A., Leblanc J.-C., Bizet B.L., Narbonne J.-F., Maximilien R., 2009.** Dietary intake of non-dioxin-like PCBs (NDL-PCBs) in France, impact of maximum levels in some foodstuffs. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 54 (3) : 287-293.
- Asman, W.A.H., Jorgensen, A., Bossi, R., Vejrup, K.V., Mogensen, B.B., Glasius, M. 2005.** Wet deposition of pesticides and nitrophenols at two sites in Denmark: measurements and contributions from regional sources. *Chemosphere*, 59 : 1023-1031.
- Atkinson, R., Aschmann, S.M., Arey, J. and Carter, W.P.L. 1989.** Formation of ring-retaining products from the OH radical-initiated reactions of benzene and toluene. *International Journal of Chemical Kinetics*, 21 : 801-827.
- Atkinson, R., Guicherit, R., Hites, R. A., Palm, W.-U., Seiber, J. N., de Voogt, P. 1999** Transformation of pesticides in the atmosphere: a state of the art. *Water, Air and Soil Pollution*, 11 : 219-243.
- Babo S. et Vasseur P., 1992.** In vitro effects of Thiram on liver antioxidant enzyme activities of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*. 22 : 61-68.
- Babut M. et Miege C., 2007.** Contamination des poissons et des sédiments du Rhône par les polychlorobiphényles. Synthèse des données recueillies en 2005-2006. Cemagref éditions, Juin 2007, 39 p.

- Banas D., 2001.** Flux de matière en étang piscicole extensif : rétention, sédimentation, exportation. Thèse de doctorat. Université de Metz. 274p.
- Banas D., 2007.** La sédimentation en étang et son hétérogénéité géographique, dans Touchart L., 2007. Géographie de l'étang : des théories globales aux pratiques locales. Editions L'Harmattan, 228p.
- Banta G. T. et Andersen O., 2003.** Bioturbation and the fate of sediment pollutants: Experimental case studies of selected in fauna species. *Vie et milieu*. 53 (4) : 233-248.
- Barrek S., Cren-Olivé C., Wiest L., Baudot R., Arnaudguilhem C., Grenier-Loustalot M.-F., 2009.** Multi-residue analysis and ultra-trace quantification of 36 priority substances from the European Water Framework Directive by GC-MS and LC-FLD-MS/MS in surface waters. *Talanta*. 79 (3) : 712-722.
- Barriuso E. et Calvet R. 1992.** Soil Type and Herbicide Adsorption. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 46 : 117-128.
- Barriuso E., Gaillardon P., Schiavon M., 1994.** Biodisponibilité des pesticides dans le sol. XXIV Congrès Groupe Français des Pesticides, Bordeaux. 1-11.
- Barriuso E., Koskinen W.C., Sadowsky M.J., 2004.** Solvent extraction characterization of bioavailability of atrazine residues in soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52 : 6552-6556.
- Barriuso E., Benoit P., Charnay M.P., Coquet Y., Louchart X., Schiavon M., Aurousseau P., 2005.** Pollutions organiques diffuses : mobilité et persistance des polluants organiques dans les sols. Dans "Sols et Environnement", Girard M.C., Walter C., Rémy J.C., Berthelin J., Morel J.L., Editions Dunod, Paris, chap. 18. <http://www.dunod.com/documents/45520/chapitre18.zip> ou <http://www.inra.fr/Internet/Hebergement/afes/>
- Basheer C., Lee H.K., Obbard J.P., 2002.** Determination of organochlorine pesticides in seawater using liquid-phase hollow fibre membrane microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 968 (1-2) : 191-199.
- Baugros J.-B., Giroud B., Dessalces G., Grenier-Loustalot M.-F., Cren-Olivé C. 2008.** Multiresidue analytical methods for the ultra-trace quantification of 33 priority substances present in the list of REACH in real water samples. *Analytica Chimica Acta*. 607 (2) : 191-203.
- Bayen S., Wurl O., Karuppiyah S., Sivasothi N., Lee H. K., Obbard J.P., 2005.** Persistent organic pollutants in mangrove food webs in Singapore. *Chemosphere*. 61 : 303-313.
- Bedos C., Flura D., Rousseau, M.F., Masson, S., Cellier, P., Barriuso, E. 2001.** Pesticide volatilization flux: a semi-field system. The eight Symposium on the Chemistry and Fate of Modern Pesticides, Denmark, août 2001.
- Bedos C., Cellier, P., Clavet, R., Barriuso, E., Gabrielle, B. 2002.** Mass transfer of pesticides into atmosphere by volatilization from soil and plants: overview. *Agronomie*. 22 : 21-33.
- Beigel C., Charnay M.P., Barriuso E., 1999.** Degradation of formulated and unformulated triticonazole fungicide in soil: effect of application rate. *Soil Biology and Biochemistry*. 31 (4) : 525-534.
- Belamie R., Calvet R., Chassin P., 1997.** Les transferts sol-eau des produits phytosanitaires, l'eau dans l'espace rural. *Protection végétale et qualité de l'eau*, INRA Editions, pp 231-248.
- Bengston R.L., Southwick L.M., Willis G.H., Carter C.E., 1990.** The influence of subsurface drainage practices on herbicide losses. *Transaction of American Society of the Agricultural Engineering*. 33 : 415-418.
- Bennech V. et Lek S., 1981.** Résistance à l'hypoxie et observations écologiques pour seize espèces de poissons du Tchad. *Revue d'Hydrobiologie Tropicale*. 14: 153-108.
- Berends A. G., Boelhouwers E. J., Thus J. L. G., de Gerlache J., de Rooij C. G., 1997.** Bioaccumulation and lack of toxicity of octachlorodibenzofuran (OCDF) and octachlorodibenzo-p-dioxin (OCDD) to early-life stages of zebra fish (*Brachydanio rerio*). *Chemosphere*. 35 : 853-865.
- Berntssen M.H.G., Glover C.N., Robbc D.H.F., Jakobsen J-V., Petri D., 2008.** Accumulation and elimination kinetics of dietary endosulfan in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquatic Toxicology*. 86: 104-111.
- Bervoets L., Van Campenhout K., Reynders, H. Knapen, D. Covaci, A. Blust R., 2009.** Bioaccumulation of micropollutants and biomarker responses in caged carp (*Cyprinus carpio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 72 (3) : 720-728.
- Bidleman T. F., 1988.** Atmospheric processes : Wet and dry deposition of organic compounds are controlled by their vapor-particle partitioning. *Environmental Science and Technology*. 22 : 361-367.
- Binelli A. et Provini A., 2003.** The PCB pollution of Lake Iseo (N. Italy) and the role of biomagnification in the pelagic food web. *Chemosphere*. 53 : 143-151.
- Björklund E., Nilsson T., Bowadt S., Pilorz K., Mathiasson L., Hawthorne S. B., 2000.** Introducing selective supercritical fluid extraction as a new tool for determining sorption/desorption behaviour and bioavailability of Persistent Organic Pollutants in sediment. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 43 : 295-311.

- Blais, J.M., Schindler, D.W., Muir, D.C.G., Kimpe, L.E., Donald, D.B., Rosenberg, B. 1998.** Accumulation of persistent organochlorine compounds in mountains of western Canada. *Nature*. 395 : 585-588.
- Blanchard M., Teil M.J., Carru A.M., Chesterikoff A., Chevreuil M., 1997.** Organochlorine distribution and mono-orthosubstituted PCB pattern in the roach (*Rutilus rutilus*) from the River Seine. *Water Research*, 31 : 1455-1461.
- Bollag, J. M. et Liu S. Y., 1990.** Biological transformation processes of pesticides. Dans : *Pesticides in the soil environment : processes, impacts, and modelling*. Cheng, H. H., Madison, Wisconsin, USA: Soil Science Society of America. 554p.
- Bossan, D., Wortham, H., Masclet, P. 1995.** Atmospheric transport of pesticides adsorbed on aerosols. I. Photodegradation in simulated atmosphere. *Chemosphere*. 30 : 21-29.
- Bradford M.M.A., 1976.** Rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72 : 248-54.
- Briand O., Bertrand F., Seux R., Millet M., 2002a** Comparison of different sampling techniques for the evaluation of pesticide spray drift in apple orchards, *The Science of The Total Environment*. 288 (3) : 99-213.
- Briand O., Millet M., Bertrand F., Clément M., Seux R., 2002b.** Assessing the transfer of pesticides to the atmosphere during and after application. Development of a multiresidue method using adsorption on Tenax and thermal desorption-GC/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 374 (5) : 848-857.
- Briggs G.G. 1981.** Theoretical and Experimental Relationships between Soil adsorption, Octanol-Water Partition Coefficients, Water Solubilities, Bioconcentration Factors, and the Parachor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 29 : 1050-1059.
- Bruslé J. et Quignard J-P., 2001.** *Biologie des poisons d'eau douce européens*. Editions Tech & Doc Lavoisier, Paris, 625p.
- Bureau S., Axelman J., Broman D., Jakobsson E., 1999.** Dietary uptake in pike (*Esox lucius*) of some polychlorinated biphenyl, polychlorinated naphthalenes and polybrominated diphenyl ethers administered in natural diet. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 16 : 2508-2513.
- Calvet, R., Tercé M., Arvieu J. C., 1980.** Mise au point bibliographique-Adsorption des pesticides par les sols et leurs constituants - IV. Conséquences des phénomènes d'adsorption. *Annales Agronomiques*. 31 (4) : 385-411.
- Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit p., Charnay M.P., Coquet Y., 2005.** *Les pesticides dans le sol: Conséquences agronomiques et environnementales*. Editions France Agricole, Paris, 637 p.
- Campfens J. et Mackay D., 1997.** Fugacity-based model of PCB bioaccumulation in complex aquatic food webs. *Environmental Science and Technology*. 31 (2) : 577-583.
- Celander M, Leaver MJ, George SG and Förlin L, 1993.** Induction of cytochrome P450 1A1 and conjugating enzymes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver: a time course study. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*. 106 : 343-349.
- Chambre d'Agriculture de Lorraine, 2005.** <http://cra-lorraine.fr/fichiers/div-pisciculture-etang.pdf>
- Chasseaud LF, 1979.** The role of glutathione and glutathione S-transferases in the metabolism of chemical carcinogens and other electrophilic agents. *Advanced Cancer Research*. 29 : 175-274.
- Cherif, S. et Wortham, H. 1997.** A new laboratory protocol to monitor the volatilization of pesticides from soil. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 68 : 199-212.
- Chevreuil, M., Carru, A.M., Chesterikoff, A., Boët, P., Tales, E., Allardi, J., 1995.** Contamination of fish from different areas of the river Seine (France) by organic (PCB and pesticides) and metallic (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn) micropollutants. *Science of the Total Environment*. 162 : 31-42.
- Christensen M., Andersen O., Banta G.T., 2002.** Metabolism of pyrene by the polychaetes *Nereis diversicolor* and *Arenicola marina*. *Aquatic Toxicology*. 58, 15-25.
- CIPMS, 2005.** Commissions Internationales pour la Protection de la Moselle et de la Sarre. Programme international de mesures PCB et substances analogues sur les matières en suspension et dans les poissons de la Moselle et de la Sarre en 2004. Rapport final, CIPMS Editions, pp 1-102.
- Ciutat A., Widdows J., Readman J.W., 2006.** Influence of cockle *Cerastoderma edule* bioturbation and tidal-current cycles on resuspension of sediment and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Marine Ecology Progress Series*. 328 : 51-64.
- Coquet, Y. et Barriuso E., 2002.** Spatial variability of pesticide adsorption within the topsoil of a small agricultural catchment. *Agronomie*. 22 : 389-398.
- Collavini F., Bettiol C., Zaggia L., Zonta R., 2005.** Pollutant loads from the drainage basin to the Venice Lagoon (Italy). *Environment International*. 31 (7 special issue) : 939-947.

- Commandeur J.N.M., Stijntjes G.J. et Vermeulen N.P.E., 1995.** Enzymes and transport systems involved in the formation and disposition of glutathione S-conjugates. Role in bioactivation and detoxication mechanisms of xenobiotics. *Pharmacology Revue.* 47 : 271-330.
- Cooper N.L. et Bidwell J.R., 2006.** Cholinesterase inhibition and impacts on behaviour of the asian clam *Corbicula fluminea* after exposure to an organophosphate insecticide. *Aquatic Toxicology.* 76 : 258-267.
- Cornelis, W.M. et Gabriels, D. 2005.** Optimal windbreak design for wind-erosion control. *Journal of Arid Environment.* 61 : 315-332.
- Corsi I., Mariottini M., Sensini C., Lancini L., Focardi S., 2003.** Cytochrome P450, acetylcholinesterase and gonadal histology for evaluating contaminant exposure levels in fishes from a highly eutrophic brackish ecosystem : the Orbetello Lagoon, Italy. *Marine Pollution Bulletin.* 46: 203-212.
- Cossu C., Doyotte A., Jacquin M.C., Vasseur P., 1997.** Mécanismes de formations et effets des espèces réactives de l'oxygène. Dans Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., Ramade F. *Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux.* Masson Editions, Paris, 432 p.
- Couteux A., 2003.** Index phytosanitaire, Editions ACTA, Lille, France. 844p.
- Covaci A., Gheorghe A., Voorspoels S., Maervoet J., Steen Redeker E., Blust R., Schepens P., 2005.** Polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in sediment cores from the Western Scheldt river (Belgium): Analytical aspects and depth profiles. *Environment International.* 31 (3) : 367-375.
- Covaci A., Gheorghe A., Hulea O., Schepens P. 2006.** Levels and distribution of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in sediments and biota from the Danube Delta, Romania. *Environmental Pollution.* 140 (1) : 136-149.
- Cross, J.V., Walklate, P.J., Murray, R.A., Richardson, G.M. 2001.** Spray deposits and losses in different sized apple trees from an axial fan orchard sprayer: 1. Effects of spray liquid flow rate. *Crop Protection.* 20, 13-30.
- Dauberschmidt C. et Hoffmann L., 2001.** Distribution of persistent lipophilic contaminants in fish from the Grand Duchy of Luxembourg. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.* 66 (2) : 222-230.
- Davies P.E., Cook L.S.J., Goenarso D., 1994.** Sublethal responses to pesticides of several species of Australian freshwater fish and crustaceans and rainbow trout. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 13 : 1341-1354.
- Davis J.A., 2004.** The long-term fate of polychlorinated biphenyls in San Francisco Bay (USA). *Environmental Toxicology and Chemistry.* 23 (10) : 2396-2409.
- Devault D.A., Merlina G., Lim P., Probst J.-L., Pinelli E., 2007.** Multi-residues analysis of pre-emergence herbicides in fluvial sediments: Application to the mid-Garonne River. *Journal of Environmental Monitoring.* 9 : 1009-1017.
- Devault D.A., Gérino M., Laplanche C., Julien F., Winterton P., Merlina G., Delmas F., Lim P., Sánchez-Pérez J.M., Pinelli E., 2009.** Herbicide accumulation and evolution in reservoir sediments. *Science of the Total Environment.* 407 (8) : 2659-2665.
- Dickhut, R.M. et Gustafson, K.E. 1995.** Atmospheric Inputs of Selected Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Polychlorinated Biphenyls to Southern Chesapeake Bay. *Marine Pollution Bulletin.* 30, 385-396.
- Dietz, R., Riget, F., Cleemann, M., Aarkrog, A., Johansen, P., Hansen, J.C. 2000.** Comparison of contaminants from different trophic levels and ecosystems. *Science of the Total Environment.* 245 (1-3) : 221-231.
- Di Giulio R.T., Hinton D.E., 2008.** *The Toxicology of Fishes.* Francis et Taylor Editions, 1096 p.
- Donald, D.B., Stern, G.A., Muir, D.C.G., Fowler, B.R., Miskimmin, B.M., Bailey, R. 1998.** Chlorobornanes in Water, Sediment, and Fish from Toxaphene Treated and Untreated Lakes in Western Canada. *Environmental Science and Technology.* 32 : 1391-1397.
- Dubus I.G., Hollis J.M., Brown C.D., 2000.** Pesticides in rainfall in Europe. *Environmental Pollution.* 110 : 331-344.
- Eisenreich, S.J., Looney, B.B., Thornton, J.D. 1981.** Airborne organic contaminants in the Great Lakes ecosystem. *American Chemical Society.* 15 : 30-38.
- Eklöv P. et VanKooten T., 2001.** Facilitation among piscivorous predators: Effects of prey habitat use. *Ecology.* 82 (9) : 2486-2494.
- Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V. Jr., Feather-Stone R.M., 1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology.* 7 : 88-95.
- Environnement Canada, 1996.** Rapport sur l'état de l'environnement au Canada. Chapitre 6. Disponible sur <http://www.ec.gc.ca/soer-ree/Francais/soer/1996Report/Doc/1-6-6-4-8-2-1.cfm>, consulté en janvier 2008.
- Environnement Canada, US-EPA, 2005.** L'état des grands lacs en 2005. <http://binational.net/solec/French/SOGL%202005%20Report/French%20Version/Complete%20Report.pdf>

- Erdoğrul O., Covaci A., Schepens P., 2005.** Levels of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in fish species from Kahramanmaraş, Turkey. *Environment International*. 31 : 703-711.
- Erickson M.J., Turner C.L., Thibodeaux L.J., 2005.** Field observation and modeling of dissolved fraction sediment - Water exchange coefficients for PCBs in the Hudson River. *Environmental Science and Technology*. 39 : 549-556.
- Estabrook R.W., Werringloer J., Capdevila J., Prough R.A., 1978.** The role of cytochrome P-450 and the microsomal electron transport system : the oxidative metabolism of benzo(a)pyrene. Dans *Polycyclic hydrocarbons and cancer*, Gelboin HV and Ts'o POP, éditions. Academic Press.
- Evans D.H., 1987.** The Fish Gill: Site of Action and Model for Toxic Effects of Environmental Pollutants. *Environmental Health Perspectives*. 71 : 47-58.
- Evans R.O., Skaggs R.W., Gilliam J.W., 1995.** Controlled versus conventional drainage effects on water quality. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*. 121 : 271-276.
- Falfushynska H.I. et Stolyar O.B., 2009.** Responses of biochemical markers in carp *Cyprinus carpio* from two field sites in Western Ukraine. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 72 (3) : 729-736.
- Farré M., Martínez E., Ramón J., Navarro A., Radjenovic J., Mauriz E., Lechuga L., Marco M.P., Barceló D., 2007.** Part per trillion determination of atrazine dans "natural water samples by a surface plasmon resonance immunosensor". *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 388 (1) : 207-214.
- Feigenbrugel V., 2005.** Devenir atmosphérique des pesticides : distribution entre les différentes phases de l'atmosphère et oxydation photochimique. Thèse de doctorat, Université Strasbourg, 215p.
- Fernandez M.J., Garcia C., Garcia-Villanova R.J., Gomez J.A., 1996.** Evaluation of liquid-solid extraction with a new sorbent and liquid-liquid extraction for multiresidue pesticides. Determination in raw and finished drinking waters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44 (7) : 1790-1795.
- Ferrer I., Thurman E.M., Zweigenbaum J.A., 2007.** Screening and confirmation of 100 pesticides in food samples by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 21 (23) : 3869-3882.
- Finizio, A., Mackay, D., Bidleman, T., Harner, T. 1997.** Octanol-air partition coefficient as a predictor of partitioning of semi-volatile organic chemicals to aerosols. *Atmospheric Environment*. 31 : 2289-2296.
- Fisk A.T., Yarechewski A. L., Metner D. A., Evans R. E., Lockhart L. W., Muir D. C. G., 1997.** Accumulation, depuration and hepatic mixed-function oxidase enzyme induction in juvenile rainbow trout and lake whitefish exposed to dietary 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Aquatic Toxicology*. 37 : 201-220.
- Fisk A.T., Cymbalisty C.D., Tomy G.T., Muir D.C.G., 1998.** Dietary accumulation and depuration of individual C10-, C11- and C14-polychlorinated alkanes by juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology* 43: 209-221.
- Flammarion P., Migeon B., Urios S., Morfin P., Garric J., 1998.** Effect of methidathion on the cytochrome P450 1A in the cyprinid fish gudgeon (*Gobio gobio*). *Aquatic Toxicology*. 42 : 93-102.
- Flammarion P., Noury P., Garric J., 2002.** The measurement of cholinesterase activities as a biomarker in chub (*Leuciscus cephalus*): the fish length should not be ignored. *Environmental Pollution*. 120 : 325-330.
- Floesser-Muller H. et Schwack W. 2001.** Photochemistry of organophosphorus insecticides. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 172 : 129-228.
- FranceAgriMer, 2009.** Les chiffres clés de la filière pêche et aquaculture en France, édition 2009. Editions OFIMER, Montreuil-sous-Bois, 36 pages. http://www.ofimer.fr/99_up99load/2_actudoc/1723d1_01.pdf
- Gdaniec-Pietryka M., Wolska L., Namieśnik J., 2007.** Physical speciation of polychlorinated biphenyls in the aquatic environment. *Trends in Analytical Chemistry*. 26 (10) : 1005-1012.
- Geffard O., Ferrari B., Chaumot A., Montuelle B., 2010.** Expérimentation in situ : principes et perspectives. *Sciences Eaux et Territoires*. 1 : 20-25.
- George S.G., 1994.** Enzymology and molecular biology of phase II xenobiotic-conjugating enzymes in fish. Dans *Aquatic Toxicology; Molecular, Biochemical and Cellular perspectives*. Malins DC and Ostrander GK, Editions, pp 37-85.
- Ghosh T.K., 1990.** Synthetic pyrethroid intoxication on tissue acetylcholine and acetylcholinesterase in the fish *Tilapia mossambica*. *Environmental Toxicology*. 8 : 950-954.
- Glass M.L., Andersen N.A., Kruhoffer M., Williams E.M., Heisler N., 1990.** Combined effects of environmental PO₂ and temperature on ventilation and blood gases in the carp *Cyprinus carpio* L. *Journal of experimental Biology*. 148: 1-17.
- Glickman A.H., Shono T., Casida J.E., Lech, J.J. 1979.** In vitro metabolism of permethrin isomers by carp and rainbow trout liver microsomes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 27 (5) :1038-1041.
- Glickman A.H., Hamid A.A.R., Rickert D.E., Lech J.J. 1981.** Elimination and metabolism of permethrin isomers in rainbow trout. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 57 (1) : 88-98.

- Glickman, A.H. et Casida, J.E., 1982.** Species and structural variations affecting pyrethroid neurotoxicity. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*. 4 (6) : 793-799
- Glottelty, D. E., Taylor, A. W., Turner, B.C., Zoller, W.H. 1984.** Volatilization of surface applied pesticides from fallow soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 32 : 638-643.
- Glottelty D.E., Leech M.M., Jersey J., Taylor A.W., 1989.** Volatilization and Wind Erosion of Soil Surface Applied Atrazine, Simazine, Alachlor and Toxaphene. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 37 : 638-643.
- Gobas F.A.P.C., Muir D.C.G., Mackay D, 1988.** Dynamics of dietary bioaccumulation and faecal elimination of hydrophobic organic chemicals in fish. *Chemosphere*. 17 (5) : 943-962.
- Gobas F.A., McCorquodale J.R., Haffner G.D., 1993.** Intestinal absorption and biomagnification of organochlorines. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 12 : 567-576.
- Gobas F.A., Wilcockson J.B., Russel R.W., Haffner G.D., 1999.** Mechanism of biomagnification in fish under laboratory and field Condition. *Environmental Science and Technology*. 33 : 133-141.
- Gong P., Wang X., Sheng J., Yao T., 2010.** Variations of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in atmosphere of the Tibetan Plateau: Role of the monsoon system. *Atmospheric Environment*. 44 (21-22) : 2518-2523.
- Gonzalez R., M.F. Araújo, D. Burdloff, M. Cachão, J. Cascalho, C. Corredeira, J.M.A. Dias, C. Fradique, J. Ferreira, C. Gomes, A. Machado, I. Mendes, F. Rocha, 2006.** Sediment and pollutant transport in the Northern Gulf of Cadiz: A multi-proxy approach. *Journal of Marine Systems*. 68 : 1-23.
- Gosset A., 2009.** Pisciculture et ressource en eau : le rôle des étangs piscicoles. Rapport de bourse d'expérimentation région Lorraine/DESU, Université Paul Veraine, Metz, 73p.
- Gouy, V., Gril, J.-J., Laillet, B., Garon-Boucher, C., Dubernet, J.-F. et Cann, C., 1997.** Étude du transfert des produits phytosanitaires sur les bassins versants et modélisation. CEMAGREF, L. (Ed.). *HydrOsystemes*. Groupe Français des Pesticides. Nancy. 22-23 mai 1996. pp 89-103.
- Gramatica, P., M. Corradi, and V. Consonni. 2000.** Modelling and prediction of soil sorption coefficient of non-ionic organic pesticides by molecular descriptors. *Chemosphere*. 41 (5) : 763-777.
- Granberg M.E., Gunnarsson J.S., Hedman J.E., Rosenberg R., Jonsson P., 2008.** Bioturbation-driven release of organic contaminants from Baltic Sea sediments mediated by the invading polychaete *Marenzelleria neglecta*. *Environmental Science and Technology*. 42 (4) : 1058-1065.
- Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B., 1974.** Glutathione-S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*. 249 : 7130-7139.
- Harris G.L., Nicholls P.H., Bailey S.W., Howse K.R., Mason D.J., 1994.** Factors influencing the loss of pesticides in drainage from a cracking clay soil. *Journal of Hydrology*. 159 : 235-253.
- Heath E., Ščančar J., Zuliani T., Milačič R. 2009.** A complex investigation of the extent of pollution in sediments of the Sava River: part 2: persistent organic pollutants. *Environmental Monitoring and Assessment*. 163 (1-4) : 277-293.
- Hela D.G., Lambropoulou D.A., Konstantinou I.K., Albanis T.A. 2005.** Environmental monitoring and ecological risk assessment for pesticide contamination and effects in Lake Pamvotis, northwestern Greece. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 24 (6) : 1548-1556.
- Henczová M., Deér A.K., Filla A., Komlósi V., Mink J., 2008.** Effects of Cu²⁺ and Pb²⁺ on different fish species: Liver cytochrome P450-dependent monooxygenase activities and FTIR spectra. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*. 148 (1) : 53-60.
- Hines, R.N., Cashman, J.R., Philpot, R.M., Williams, D.E., Ziegler, D.M. 1994.** The mammalian flavin-containing monooxygenases: Molecular characterization and regulation of expression. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 125 (1) : 1-6.
- Hjulström F., 1935.** Studies of the morphological activity of rivers as illustrated by the river Fyris. *Bulletin of Mineralogisk-geologiska institut. Uppsala Universitet*. 25 : 221-527.
- Hogenboom A.C., Niessen W.M.A., Brinkman U.A.T., 2001.** The role of column liquid chromatography-mass spectrometry in environmental trace-level analysis: Determination and identification of pesticides in water. *Journal of Separation Science*. 24 (5) : 331-354.
- Horvath R. S. 1972.** Microbial co-metabolism and the degradation of organic compounds in nature. *Bacteriological Reviews*. 36 (2) : 146-155.
- Huber A., Bach M., Frede H. G., 2000.** Pollution of surface waters with pesticides in Germany : modeling non-point source inputs. *Agriculture, Ecosystems and Environnement*. 80 : 191-204.
- IFEN, 2002-2007.** Les pesticides dans les eaux, données 2003 à 2005. Dossiers IFEN. www.ifen.fr/publications/dossiers/
- INRA et CEMAGREF, 2005.** Rapports d'expertise scientifique collective : Pesticides, agriculture et environnement - Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux, chapitre 3.

- http://www.inra.fr/l_institut/missions_et_strategie/les_missions_de_l_inra/eclairer_les_decisions/pesticides_rapport_d_expertise
- INSEE, 2010.** Occupation des terres arables en région Lorraine, données 2008 partielles. http://www.insee.fr/fr/insee_regions/lor/themes/TABLEAUX/AGRTC001.xls
- INSERM, 2000.** Dioxines dans l'environnement. Quels risques pour la santé? Rapport d'expertise collective. INSERM Editions, 57p.
- Irace-Guigand S., Aaron J.J., Scribe P., Barcelo D. 2004.** A comparison of the environmental impact of pesticide multiresidues and their occurrence in river waters surveyed by liquid chromatography coupled in tandem with UV diode array detection and mass spectrometry. *Chemosphere*. 55 : 973-981.
- Itavi, 1999.** La pisciculture d'étang française. Itavi Editions, Paris, France, 57p.
- Jensen P. K. S., Henrik N., 2003.** Deposition of Pesticides on the Soil Surface. Danish Environmental Protection Agency Research. 65 : 1-59.
- Jensen A.R., Spliid N.H., Svensmark B., 2007.** Determination of volatilization (dissipation) and secondary deposition of pesticides in a field study using passive dosimeters. *International journal of Environmental Analytical Chemistry*. 93 : 913-926.
- Joulin A., Chalons A., Royer J., 2006.** Cartographie du potentiel de contamination des eaux par les produits phytosanitaires. Rapport Grappe Lorraine, Octobre 2006, 64 p. http://www.lorraine.environnement.gouv.fr/IMG/pdf/Carto_risques_potentiel_pesticide_Lorraine.pdf
- Junge, C. E. 1977.** Basic considerations about trace constituents in the atmosphere as related to the fate of global pollutants. *Fate of Pollutants in Air and Water Environments*. I. H. Suffett. Wiley, New York. Part I.
- Jurado E., Zaldivar J.M., Marinov D., Dachs J., 2007.** Fate of persistent organic pollutants in the water column: Does turbulent mixing matter? *Marine Pollution Bulletin*. 54 : 4, 441-451
- Kamimura S. et Tsuchiya M. 2004.** The effect of feeding behavior of the gastropods *Batillaria zonalis* and *Cerithideopsis cingulata* on their ambient environment. *Marine Biology*. 144 (4) : 705-712.
- Katsoyiannis A., 2006.** Occurrence of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the Soulou stream in the power generation area of Eordea, northwestern Greece. *Chemosphere*. 65 (9) : 1551-1561.
- Kavitha P., Venkateswara Rao J., 2007.** Oxidative stress and locomotor behaviour response as biomarkers for assessing recovery status of mosquito fish *Gambusia affinis* after lethal effect of an organophosphate pesticide, monocrotophos. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 87 : 182-188.
- Keizer, J., D'Agostino, G., Vitozzi, L. 1991.** The importance of biotransformation in the toxicity of xenobiotics to fish. I. Toxicity and bioaccumulation of diazinon in guppy (*Poecilia reticulata*) and zebra fish (*Brachydanio rerio*). *Aquatic Toxicology*. 21 (3-4) : 239-254
- Keizer, J., D'Agostino, G., Nagel, R., Gramenzi, F., Vitozzi, L. 1993.** Comparative diazinon toxicity in guppy and zebra fish: Different role of oxidative metabolism. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 12 (7) : 1243-1250
- Keizer J., D'Agostino G., Nagel R., Volpe T., Gnemi P., Vitozzi L. 1995.** Enzymological differences of AChE and diazinon hepatic metabolism: Correlation of in vitro data with the selective toxicity of diazinon to fish species. *Science of the Total Environment*. 171 (1-3) : 213-220
- Kelly B.C., Ikonomou M.G., Blair J.D., Morin A.E., Gobas F.A.P.C., 2007.** Food web-specific biomagnification of persistent organic pollutants. *Science*. 317 (5835) : 236-239.
- Kennedy C. J., 1990.** Toxicokinetic studies of chlorinated phenols and polycyclic aromatic hydrocarbons in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Thèse de doctorat, Simon Fraser University.
- Kenneth D.K., Douglas T.S., Weiler K.W., 1995.** Hydrologic design of a wetland: advantage of continuous modelling. *Ecological Engineering*. 4: 99-116.
- Khan MAQ, Coello W, Khan AA and Pinto H, 1972.** Some characteristics of the microsomal mixedfunction oxidase in the freshwater crayfish, *Cambarus* Life Sciences. 11 : 405-415.
- Kidd K.A., Paterson M.J., Hesslein R.H., Muir D.C.G., Hecky R.E., 1999.** Effects of northern pike (*Esox lucius*) additions on pollutant accumulation and food web structure, as determined by $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$, in a eutrophic and an oligotrophic lake. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 56 (11) : 2193-2202.
- Kiziewicz B. et Czczuga B., 2003.** DDT and its metabolites in the tissues of certain fish species from Podlasie Province Polish Journal of Environmental Studies. 12 (1) : 123-127
- Klyszejko B., Dziaman R., Hajek G., 2003.** Effects of temperature and body weight on ventilation volume of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Ichthyologica et Piscatoria*. 33 (1) : 75-81.
- Kochany, J. et Maguire, R.J. 1994.** Sunlight photodegradation of metolachlor in water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42 : 406-412.

- Konwick B.J., Garrison A.W., Black M., Avants J.K., Fisk A.T., 2006a.** Bioaccumulation, Biotransformation, and Metabolite Formation of Fipronil and Chiral Legacy Pesticides in Rainbow Trout. *Environmental Science and Technology*. 40 : 2930-2936.
- Konwick B.J., Garrison A.W., JAvants .K., Fisk A.T., 2006b.** Bioaccumulation and biotransformation of chiral triazole fungicides in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*. 80 : 372-381.
- Kostamo A., Viljanen M., Pellinen J., Kukkonen J., 2000.** EOX and organochlorine compounds in fish and ringed seal samples from Lake Ladoga, Russia. *Chemosphere*. 41 : 1733-1740.
- Kuster M., De Alda L.M., Barceló D., 2006.** Analysis of pesticides in water by liquid chromatography-tandem mass spectrometric techniques. *Mass Spectrometry Reviews*. 25 (6) : 900-916.
- Kwong R.W., Yu P.K., Lam P.K., Wang W.X., 2008.** Uptake, elimination and biotransformation of aqueous and dietary DDT in marine fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 27 : 2053-2063.
- Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., 1997.** Biomarqueurs en écotoxicologie : principes et définitions. Dans Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., Ramade F. Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux. Masson Editions, Paris, 432 p.
- Larsson, P., Okla, L., Woln, P. 1990.** Atmospheric transport of persistent pollutants governs uptake by holarctic terrestrial biota. *Environmental Science and Technology*. 24 (10) : 1599-1601.
- Larson R. A. et Weber E. J., 1994.** Reaction mechanisms in environmental organic chemistry. London, Tokyo: Lewis Publishers. 433p.
- Lavado R., Rocio Ureña R., Martin-Skilton R., Torreblanca A., Del Ramo J., Raldúa D, Porte C., 2006.**The combined use of chemical and biochemical markers to assess water quality along the Ebro River. *Environmental Pollution*. 139 : 330-339.
- Law K.L., 2006.** Dietary accumulation of hexabromocyclododecane diastereoisomers in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*); bioaccumulation/depuration parameters and evidence of bioisomerization. Master of sciences, University of Manitoba, Winnipeg. 73p.
- Le Bihan J. et Font M., 2008.** Synthèse sur les zones humides françaises. Les étangs. Rapport janvier 2008. www.ifen.fr/zoneshumides/pages/ouvragesetrappports23.pdf
- Li A., Rockne K.J., Sturchio N., Song W., Ford J.C., Wei H., 2009.** PCBs in sediments of the Great Lakes - Distribution and trends, homolog and chlorine patterns, and in situ degradation. *Environmental Pollution*. 157 : 141-147.
- Loganathan B.G. et Kannan K., 1994.** Global organochlorine contamination trends: an Overview. *Ambio*. 23 : 187-191.
- Loki J., Rajkai K., Czyz E.A., Dexter A.R., Diaz-Pereira E., Dumitriu E., Enache R., Fleige H., Horn R., de la Rosa D., Simota C., 2005.** SIDASS project Part 4. Wind erodibility of cultivated soils in north-east Hungary. *Soil and Tillage Research*. 82 : 39-46.
- Loos R., Gawlik B.M., Locoro G., Rimaviciute E., Contini S., Bidoglio G. 2009.** EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters. *Environmental Pollution*. 157 (2) : 561-568.
- Macdonald R. W., Barrie L. A., Bidleman T. F., Diamond M. L., Gregor D. J., Semkine R. G., Strachane W. M. J., Lib Y. F., Wania F., Alaei M., Alexeev L. B., Backus S. M., Bailey R., Bewers, C. Gobeil, C. J. Halsall, T. Harner, J. T. Hoff, L. M. M. Jantunen, W. L. Lockhart, D. Mackay, J. M., Muir D. C. G., Pudykiewicz J., Reimer K. J., Smith J. N., Stern G. A., Schroeder W. H., Wagemann R., Yunker M. B., 2000.** Contaminants in the Canadian Arctic: 5 years of progress in understanding sources, occurrence and pathways. *Science of the Total Environment*. 254 (2-3) : 93-234.
- Machala M., Ulrich R., Neča J., Vykusová B., Kolářová J., Máchová J., Svobodová Z., 2000.** Biochemical monitoring of aquatic pollution: Indicators of dioxin-like toxicity and oxidative stress in the roach (*Rutilus rutilus*) and chub (*Leuciscus cephalus*) in the Skalce river. *Veterinarni Medicina*. 45 (2) : 55-60.
- Mackay D. et Fraser A. 2000.** Bioaccumulation of Persistent Organic Chemicals: Mechanisms and Models. *Environmental Pollution*. 110 : 375-391.
- Mahé A., Leblanc J-C., Babut M., Badot P-M., Bresret C., Bordet F., Feidt C., Le Bizec B., Merlo M., Narbonne J-F., Vernoux J-P., Volatier J-L., 2010.** Determination of threshold values for NDL-PCBs to predict (non-) compliance of fish according to current EC regulation. 6th international PCB workshop, Visby, Sweden, 30 May - 2 June 2010.
- Maillet J. et Mezeray J. T. A., 2007.** Bassin versant de la Fontaine du Theil : quand l'agriculture restaure la qualité des eaux. *Perspectives Agricoles*. 332 : 18-21.
- Majewski, M. S., Mc Chesney, M. M., Seiber, J.N. 1991.** A field comparison of two methods for measuring DCPA soil evaporation rates. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 10 : 301-311.
- Malik A.K., Blasco C., Picó Y., 2010.** Liquid chromatography-mass spectrometry in food safety. *Journal of Chromatography A*. 1217 (25) : 4018-4040.

- Malterre, F., Grebil, G., Pierre, J.-G., Schiavon, M. 1997.** Trifluralin behaviour in soil: A microlysimeter study. *Chemosphere*. 34 (3) : 447-454.
- Marcheterre L., Choudry G.G., Webster G.R., 1988.** Environmental photochemistry of herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 10 : 61-126.
- Matsuo, A.Y.O., Gallagher, E.P., Trute, M., Stapleton, P.L., Levado, R., Schlenk, D. 2008.** Characterization of Phase I biotransformation enzymes in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*. 147 (1) : 78-84
- Mazéas O., 2004.** Evaluation de l'exposition des organismes aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans le milieu marin par le dosage des métabolites de HAP. Thèse de doctorat, Université Bordeaux I, 479p.
- Mazet, A., Keck, G., Berny, P., 2005.** Concentrations of PCBs, organochlorine pesticides and heavy metals (lead, cadmium, and copper) in fish from the Drôme river: Potential effects on otters (*Lutra lutra*). *Chemosphere*. 61 : 810-816.
- McCord J.M. et Fridovich I., 1969.** Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte cytochrome c (hemocyanin). *Journal of Biological Chemistry*. 244 (22) : 6049-6055.
- McFall J.A, Antoine S.R., DeLeon I.R., 1985.** Organics in the water column of lake Pontchartrain. *Chemosphere*. 14 : 1253-1265.
- McKim J.M., Goeden H.M, 1982.** A direct measure of the uptake efficiency of a xenobiotic chemical across the gills of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) under normoxic and hypoxic conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*. 72 : 65-74.
- McKim J.M., Schmieder P., Veith G., 1985.** Absorption dynamics of organic chemical transport across trout gills as related to octanol-water partition coefficient. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 77 : 1-10.
- McKim J. M., Nichols J. W., Lien G. J., Hoffman A.D., Gallinat C. A., Stokes G. N., 1996.** Dermal absorption of three waterborne chloroethanes in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Fundamental and Applied Toxicology*. 31 : 218-228.
- McKim J.M., Lien G.J., Hoffman A.D., Jenson C.T, 1999.** Respiratory–cardiovascular physiology and xenobiotic gill flux in the lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*. 123 : 69–81.
- Meijer S.N., Dachs J., Fernandez P., Camarero L., Catalan J., Del Vento S., van Drooge B., Jurado E., Grimalt J.O., 2006.** Modelling the dynamic air–water–sediment coupled fluxes and occurrence of polychlorinated biphenyls in a high altitude lake. *Environmental Pollution*. 140 : 546-560.
- Meijer, S.N., Grimalt, J.O., Fernandez, P., Dachs, J. 2009.** Seasonal fluxes and temperature-dependent accumulation of persistent organic pollutants in lakes: The role of internal biogeochemical cycling. *Environmental Pollution* 157 (6) : 1815-1822.
- Mermillod-Blondin F. et Rosenberg R. 2006.** Ecosystem engineering: The impact of bioturbation on biogeochemical processes in marine and freshwater benthic habitats. *Aquatic Sciences*. 68 (4) : 434-442.
- MétéoFrance, 2009.** Risques météorologiques. <http://www.risques.meteo.edu/>
- Mikula P., Blahova J., Kruzikova K., Havelkova M., Nemethova D., Hulak M., Svobodova, Z., 2009.** Effects of the herbicide LASSO MTX (alachlor 42% W/V) on biometric parameters and liver biomarkers in the common carp (*Cyprinus carpio*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 93 (1) : 13-17
- Miller V.P., Stresser D.M., Blanchard A.P., Turner S., Crespi C.L., 2000.** Fluorimetric high-throughput screening for inhibitors of cytochrome P450. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 919 : 26–32.
- Ministère de l'agriculture et de la pêche, 2005** <http://agriculture.gouv.fr/sections/thematiques/peche-aquaculture/aquaculture/la-pisciculture/>
- Moza, P.N., Hustert, K., Feicht, E., Kettrup, A. 1998.** Photolysis of imidacloprid in aqueous solution. *Chemosphere*. 36 : 497-502.
- Muir, D.C.G., Grift, N.P., Lockhart, W.L., Wilkinson, P., Billeck, B.N., Brunskill, G.J. 1995.** Spatial trends and historical profiles of organochlorine pesticides in Arctic lake sediments. *The Science of the Total Environment*. 160/161 : 447-457.
- Mulder G.J., Coughly M.W.H., Burchell B., 1990.** Glucuronidation. Dans *Conjugation Reactions in Drug Metabolism ; an Integrated Approach*. Mulder G.J, Editions. Taylor and Francis, London, 413p.
- Mun R.P., Young B.W., Boger D.V., 1999.** Atomisation of dilute polymer solutions in agricultural spray nozzles. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*. 83 : 163-178.
- Musy A. Higy C., 2004.** Hydrologie : une science de la nature. Presses polytechniques et universitaires Romandes. Lausanne, Suisse, 314p.

- Namdari R. et Law F. C. P., 1996.** Toxicokinetics of waterborne pyrene in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following branchial or dermal exposure. *Aquatic Toxicology*. 35 : 221-235.
- Nardelli V., dell'Oro D., Palermo C., Centonze D., 2010.** Multi-residue method for the determination of organochlorine pesticides in fish feed based on a cleanup approach followed by gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1217 (30) : 4996-5003.
- Nebert DW, Nelson DR, Coon M.J, Estabrook RW, Feyereisen R, Furji-Kuriyama Y, Gonzalez FJ, Guengerich FP, Gunsalus IC, Johnson EF, Loper JC, Sato R, Waterman MR and Waxmann DJ, 1991.** The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping and recommended nomenclature. *DNA and Cell Biology*. 10 : 1-14.
- Nelson DR, Koymans L, Kamataki T, Stegeman JJ, Feyereisen R, Waxman DJ, Waterman MR, Gotoh O, Coon MJ, Estabrook RW, Gunsalus IC and Nebert DW, 1996.** P450 superfamily : Update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics*. 6 : 1-42.
- Nichols J. W., McKim J. M., Lien G. J., Hoffman A.D., Bertelsen S. L., Elonen C. M., 1996.** A physiologically based on toxicokinetic model for dermal absorption of organic chemicals by fish. *Fundamental and applied toxicology*. 31 : 229-242.
- Niimi A.J., 1996.** Evaluation of PCBs and PCDD/Fs retention by aquatic organisms. *Science of the Total Environment*. 192 : 123-150.
- Norstrom R.J., Letcher R.J., 1996.** Role of biotransformation in bioconcentration and bioaccumulation. Annex I. Dans : *Biotransformation in environmental risk assessment; a SETAC Workshop Noordwijkerhout, the Netherlands, 28 April-1 May 1996.* Sijm D.T.H.M., de Bruijn J., de Voogt P. & de Wolf W. Editions 1997. 130p
- Novack S. ,1999.** Dynamique de transfert des produits phytosanitaires vers les eaux superficielles : de l'étude de terrain à l'approche modélisatrice. *Sciences du sol, Université Henri Poincaré, Nancy I, Nancy*. 285 p.
- Noyes P.D., McElwee M.K., Miller H.D., Clark B.W., Van Tiem L.A., Walcott K.C., Erwin K.N., Levin E.D., 2009.** The toxicology of climate change: Environmental contaminants in a warming world. *Environment International*. 35 (6) : 971-986.
- Oliver B.G., 1988.** Trophodynamic analysis of polychlorinated biphenyl congeners and other chlorinated hydrocarbons in the lake Ontario ecosystem. *Environmental Science and Technology*. 22 (4) : 388-397.
- Orban E., Nevigato T., Masci M., Di Lena G., Casini I., Caproni R., Gambelli L., De Angelis P., Rampacci M., 2007.** Nutritional quality and safety of European perch (*Perca fluviatilis*) from three lakes of Central Italy. *Food Chemistry*. 100 (2) : 482-490.
- Paglia D.E. et Valentine W.N., 1967.** Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 70 : 158-169.
- Pandey S., Parvez S., Ansari R.A., Ali M., Kaur M., Hayat F., Ahmad F., Raisuddin S., 2008.** Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa punctata* Bloch. *Chemico-Biological Interactions*. 174 (3) : 183-192.
- Paoletti F., Aldinucci D., Mocali A., Caparrini A., 1986.** A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide dismutase activity in tissue extracts. *Analytical Biochemistry*. 154 : 536-541.
- Park, J.-S., Wade, T.L., Sweet, S. 2001.** Atmospheric deposition of organochlorine contaminants to Galveston Bay, Texas *Atmospheric Environment*. 35 (19) : 3315-3324.
- Payne J.F., Mathieu A., Melvin W., Fancey L.L., 1996.** Acetylcholine esterase, an old biomarker with a new future? Field trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland. *Marine Pollution Bulletin*. 32 : 225 - 231.
- Peris E., Requena S., De La Guardia M., Pastor A., Carrasco J.M., 2005.** Organochlorinated pesticides in sediments from the Lake Albufera of Valencia (Spain). *Chemosphere*. 60 (11) : 1542-1549.
- Peters R.J.B., Bolck Y.J.C., Rutgers P., Stolker A.A.M., Nielen M.W.F., 2009.** Multi-residue screening of veterinary drugs in egg, fish and meat using high-resolution liquid chromatography accurate mass time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1216 (46) : 8206-8216.
- Petrovic M., Farré M., De Alda M.L., Perez S., Postigo C., Köck M., Radjenovic J., Gros M., Barcelo D., 2010.** Recent trends in the liquid chromatography-mass spectrometry analysis of organic contaminants in environmental samples. *Journal of Chromatography A*. 1217 (25) : 4004-4017.
- Picó Y., Blasco C., Font G., 2004.** Environmental and food applications of LC-tandem mass spectrometry in pesticide-residue analysis: An overview. *Mass Spectrometry Reviews*. 23 (1) : 45-85.
- Pimentel, 1995.** Amounts of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*. 8 : 17-29.

- Pons N., Orlando D., Barriuso E., 1997.** Evaluation des risques de phytotoxicité du metsulfuron-méthyle avec des plantes tests. CEMAGREF, L. (Ed.), HydrOsystemes. HydrOsystemes. Actes du 26^{ème} congrès du Groupe Français des Pesticides. Nancy. 22-23 mai 1996. pp 74-83.
- Poulsen L.L. et Ziegler D.M., 1979.** The liver microsomal FAD-containing monooxygenase. Spectral characterization and kinetic studies. *Journal of Biological Chemistry*. 254 (14) : 6449-6455.
- Préfecture de Moselle, 2009.** Arrêté préfectoral n°2009-DEBB/BEN-09 en date du 30 avril 2009 portant interdiction de consommation et de commercialisation des poissons pêchés dans la Moselle et ses affluents.
- Qu L.-J., Zhang H., Zhu J.-H., Yang G.-S., Aboul-Enein H.Y., 2010.** Rapid determination of organophosphorous pesticides in leeks by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. *Food Chemistry*. 122 (1) : 327-332.
- Ranz A., Maier E., Motter H., Lankmayr E., 2008.** Extraction and derivatization of polar herbicides for GC-MS analyses *Journal of Separation Science*. 31 (16-17) : 3021-3029.
- Reddy P.M. et Philip G.H., 1994.** In vivo inhibition of AChE and ATPase activities in the tissues of freshwater fish, *Cyprinus carpio* exposed to technical grade cypermethrin. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 52 : 619-626.
- Reemtsma T., 2003.** Liquid chromatography-mass spectrometry and strategies for trace-level analysis of polar organic pollutants. *Journal of Chromatography A*. 1000 (1-2) : 477-501.
- Rodil R., Quintana J.B., López-Mahía P., Muniategui-Lorenzo S., Prada-Rodríguez D., 2009.** Multi-residue analytical method for the determination of emerging pollutants in water by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1216 (14) : 2958-2969.
- Rodriguez-Fuentes, G., Aparicio-Fabre, R., Li, Q., Schlenk, D. 2008.** Osmotic regulation of a novel flavin-containing monooxygenase in primary cultured cells from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Drug Metabolism and Disposition*. 36 (7) : 1212-1217.
- Rüdel H., 1997** Volatilisation of pesticides from soil and plant surfaces. *Chemosphere*. 35 : 143-152.
- Ruus A., Sandvik M., Ugland K.I., Skaare J.U., 2002.** Factors influencing activities of biotransformation enzymes, concentrations and compositional patterns of organochlorine contaminants in members of a marine food web. *Aquatic Toxicology*. 61: 73-87.
- Safe S.H., 1994.** Polychlorinated biphenyls (PCBs): Environmental impact, biochemical and toxic responses, and implications for risk assessment. *Critical Reviews in Toxicology*. 24 (2): 87-149.
- Sanchez W., 2007.** Approche multi-biomarqueurs chez l'épinoche à trios épines (*Gasterosteus Aculeatus L.*) : un modèle pour la surveillance des écosystèmes aquatiques continentaux. Thèse de doctorat, Muséum national d'histoire naturelle, Paris, 156p.
- Sanchez W., Piccini B., Ditche J.-M., Porcher J.-M., 2008.** Assessment of seasonal variability of biomarkers in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus L.*) from a low contaminated stream: Implication for environmental biomonitoring. *Environment International*. 34: 791-798.
- Sanchez W., Piccini B., Maillot-Maréchal E., Porcher J.-M., 2010.** Comparison of two reference systems for biomarker data analysis in a freshwater biomonitoring context. *Environment International*. 36: 377-382.
- Sattler C. et Nagel U.J., 2010.** Factors affecting farmers' acceptance of conservation measures-A case study from north-eastern Germany. *Land Use Policy*. 27 (1) : 70-77.
- Sauret N., Wortham H., Streckowski R., Herckès P., Nieto L.I., 2009.** Comparison of annual dry and wet deposition fluxes of selected pesticides in Strasbourg, France. *Environmental Pollution*. 157 (1) : 303-312.
- Scheunert, I. 1992.** Transformation and degradation of pesticides in soil. *Collection Chemistry of plant protection*. Ebing, W. Editions, Berlin: Springer-Verlag, 141p.
- Scheyer, A. 2005.** Développement d'une méthode d'analyse par CPG/MS/MS de 27 pesticides identifiés dans les phases gazeuse, particulaire et liquide de l'atmosphère. Application à l'étude des variations spatio-temporelles des concentrations dans l'air et dans les eaux de pluie. Thèse de doctorat à l'Université Louis Pasteur de Strasbourg. 273p.
- Schiavon M., Perrin-Ganier C., Portal J.M., 1995.** La pollution de l'eau par les produits phytosanitaires : état et origine. *Agronomie*. 15 : 157-170.
- Schick, B., Moza, P.N., Hustert, K., Kettrup, A. 1999.** Photochemistry of vinclozolin in water and methanol-water solution. *Pesticide Science*. 55 : 1116-1122.
- Schlenk, D. 1993.** A comparison of endogenous and exogenous substrates of the flavin- containing monooxygenases in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*. 26 (3-4) : 157-162.
- Schlenk D. et Buhler D.R., 1993.** Immunological characterization of flavin-containing monooxygenases from the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Sexual- and age-dependent differences and the effect of trimethylamine on enzyme regulation. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. 1156 (2) : 103-106.

- Schlenk, D., Ronis, M.J.J., Miranda, C.L., Buhler, D.R. 1993.** Channel catfish liver monooxygenases. Immunological characterization of constitutive cytochromes P450 and the absence of active flavin-containing monooxygenases. *Biochemical Pharmacology*. 45 (1) : 217-221.
- Schlenk D., 1995.** Use of aquatic organisms as models to determine the in vivo contribution of flavin-containing monooxygenases in xenobiotic biotransformation. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 4 (4) : 323-330.
- Schlenk, D., Peters, L., Shehin-Johnson, S., Hines, R.N., Livingstone, D.R. 1995.** Differential expression and activity of flavin-containing monooxygenases in euryhaline and stenohaline flatfishes indicates potential osmoregulatory role. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Pharmacology Toxicology and Endocrinology*. 112 (2) : 179-186.
- Schlumberger O., 2000.** Mémento de pisciculture d'étang. 4^{ème} édition. Edition Quae. 240p.
- Schmitt C.J., Hinck J.E., Blazer V.S., Denslow N.D., Dethloff G.M., Bartish T.M., Coyle J.J., Tillit, D.E., 2005.** Environmental contaminants and biomarker responses in fish from the Rio Grande and its U.S. tributaries: Spatial and temporal trends. *Science of the Total Environment* 350 (1-3): 161-193.
- Seinfeld J.H. et Pandis S.N., 1998.** Atmospheric Chemistry and Physics, Wiley-Interscience, New York. 1326p.
- Sharma, C.M., Rosseland B.O., Almvik M., Eklo O.M., 2009.** Bioaccumulation of organochlorine pollutants in the fish community in Lake Årungen, Norway. *Environmental Pollution*. 157 (8-9) : 2452-2458.
- Shukla G., Kumar A., Bhanti M., Joseph P.E., Taneja A., 2006.** Organochlorine pesticide contamination of ground water in the city of Hyderabad. *Environment International*. 32 (2) : 244-247.
- Sies H., 1999.** Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radical Biology and Medicine*. 27: 916-921.
- Simonich, S.L. et Hites, R.A. 1995.** Global distribution of persistent organochlorine compounds. *Science*. 269 : 1851-1854.
- Singer S.C. et Lee R.F., 1977.** Mixed-function oxygenase activity in blue crab *Callinectes sapidus*: tissue distribution and correlation with changes during molting and development. *Biology Bulletin*. 153 : 377-386.
- Singer S.C., March P.E., Gonsoulin F., Lee R.F., 1980.** Mixed function oxygenase activity in the blue crab, *Callinectes sapidus*: characterization of enzyme activity from stomach tissue. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Part C. 65 : 129-134.
- Smith A. A., New R. A., Wiles J. E., Kleinow K. M., 1996.** Effect of varying sediment organic carbon content upon the dermal bioavailability and disposition of benzo(a)pyrene in the catfish (*ictalurus punctatus*). *Marine Environmental Research*. 42, 87-91.
- Solbakken JE and Palmork KH, 1981.** Metabolism of Phenanthrene in various marine animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*. 70 : 21-26.
- Soulas G., 1993.** Evidence for the existence of different physiological groups in the microbial community responsible for 2,4-D mineralization in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 25 : 443-449.
- Southwick L.M., Willis G.H., Bengston R.L., Lormand T.J., 1990.** Effect of subsurface drainage on runoff losses of atrazine and metolachlor in southern Louisiana. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 45 : 113-119.
- Spencer, W.F. et Cliath, M.M. 1969.** Vapor density of dieldrin. *Environmental Science and Technology*. 3 : 670-674.
- Stegeman J. J. et Livingstone D.R., 1998.** *Comparative Biochemistry and Physiology*, part C. 121 : 1-412.
- Stone, 2000.** Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des affaires rurales de l'Ontario. Equation universelle des pertes en terres. <http://www.omafra.gov.on.ca/french/engineer/facts/00-002.htm>
- Su Y., Hung H., Blanchard P., Patton G.W., Kallenborn R., Konoplev A., Fellin P., Li H., Geen C., Stern G., Rosenberg B., Barrie L.A. 2008.** A circumpolar perspective of atmospheric organochlorine pesticides (OCPs): Results from six Arctic monitoring stations in 2000-2003. *Atmospheric Environment*. 42 (19) : 4682-4698.
- Svobodová Z., Žlábek V., Randák T., Máchová J., Kolářová J., Hajšlová J., Suchan P., Dušek L., Jarkovský J., 2004.** Profiles of PCBs in tissues of marketable common carp and bottom sediments from selected ponds in South and West Bohemia. *Acta Veterinaria Brno*. 73 (1) : 133-142.
- Szabo A., Nemcsos J., Asztalos B., Rakonczay Z., Kasa P., Le Huu H., 1992.** The effects of pesticides on carp (*Cyprinus carpio*) acetylcholinesterase and its biochemical characterization. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 23 : 39-45.
- Teil, M.J., Blanchard, M., Carru, A.M., Chesterikoff, A., Chevreuil, M., 1996.** Partition of metallic and organochlorinated pollutants and monoorthosubstitued PCB pattern in the trophic web from different areas of the river Seine. *The Science of the Total Environment*. 181 : 111-123.
- Teil M.-J., Blanchard M., Chevreuil M., 2004.** Atmospheric deposition of organochlorines (PCBs and pesticides) in northern France. *Chemosphere*. 55 (4) : 501-514.

- Tilghman A., Garric J., Coquery M., 2009.** La mesure des contaminants dans le biote : avantages et inconvénients pour la surveillance chimique du milieu continental. ONEMA-Cemagref, Lyon, 49p.
- Timmermann K., Christensen M., Banta G.T., Andersen O. 2000.** Bioavailability and metabolism of pyrene in sediments with the polychaete *Arenicola marina*. *Water Studies*. 8 : 85-94.
- Timmermann K., Banta G. T., Larsen J., Andersen O., 2003.** Modelling particle and solute transport in sediment inhabited by *Arenicola marina*. Effect of pyrene on transport process. *Vie et Milieu*. 53 : 4, 187-200.
- Tomy G.T., Palace V.P., Halldorson T., Braekevelt E., Danell R., Wautier K., Evans B., Brinkworth L., Fisk A., 2004.** Bioaccumulation, Biotransformation, and Biochemical Effects of Brominated Diphenyl Ethers in Juvenile Lake Trout (*Salvelinus namaycush*). *Environmental Science and Technology*. 38 : 1496-1504.
- Tomy G.T., Palace V.P., Pleskach K., Ismail N., Roswald T., Danell R., Wautier K., Evans B, 2007.** Dietary Exposure of Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) to 1,2-bis(2,4,6-tribromophenoxy) ethane: Bioaccumulation Parameters, Biochemical Effects, and Metabolism. *Environmental Science and Technology*. 41 : 4913-4918.
- Touchart L., 2007.** Géographie de l'étang : des théories globales aux pratiques locales. Editions L'Harmattan, 228 p.
- Trintignac P. et Kerleo V., 2004.** Impact des étangs à gestion piscicole sur l'environnement. SMIDAP. 68p. http://www.observatoire-eau.vendee.fr/suivi/redirect_doc.asp?ID=136
- Tunkel, J., P. H. Howard, R. S. Boethling, W. Stiteler, and H. Loonen. 2000.** Predicting ready biodegradability in the japenese ministry of international trade and industry test. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 19 (10) :2478-2485.
- US-EPA 1996.** Ecological effect test guidelines. OPPTS 850.1730-Fish BCF. 23p.
- US-EPA, Gouvernement du Canada, 2006.** The Great Lakes Atlas, 3^{ème} Edition. www.epa.gov/glnpo/atlas/index-f.html
- Valters K., Olsson A., Asplund L., Bergman A., 1999.** Polychlorinated biphenyls and some pesticides in perch (*Perca fluviatilis*) from inland waters of Latvia. *Chemosphere*. 38 (9) : 2053-2064.
- Vandeputte C., Guizon I., Genestie-Denis I., Vannier B., Lorenzon G., 1994.** A microtiter plate assay for Total glutathione and glutathione disulfide contents in cultured/isolated cells: performance study of a new miniaturized protocol. *Cell Biology and Toxicology*. 10 : 415-421.
- Van der Oost R., Heida H., Opperhuizen A., Vermeulen N.P., 1991.** Interrelationships between bioaccumulation of organic trace pollutants (PCBs, organochlorine pesticides and PAHs), and MFO-induction in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*. 100 : 43-47.
- Van der Oost R., Van Gastel L., Worst D., Hanraads M., Satumalay K., Van Schooten F.J., Heida H., Vermeulen N.P., 1994.** Biochemical markers in feral roach (*Rutilus rutilus*) in relation to the bioaccumulation of organic trace pollutants. *Chemosphere*. 29, 801-817.
- Van der Oost R., Beyer J., Vermeulen N.P, 2002.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 13 : 57-149.
- Van Pul, W.A.J., De Leeuw, F.A.A.M., Van Jaarsveld, J.A., Van Der Gaag, M.A., Sliggers, C.J. 1998.** The potential for long-range transboundary atmospheric transport. *Chemosphere*. 37 (1) : 113-141
- Venkateswara Rao J., Begum G., Jakka N.M., Srikanth K., Nageswara Rao R., 2006.** Sublethal effects of profenofos on locomotor behavior and gill architecture of the mosquito fish *Gambusia affinis*. *Drug and Chemical Toxicology*. 29 : 255-267.
- Vermeulen N.P., Bessems J.G., Van de Straat R., 1992.** Molecular aspects of paracetamol-induced hepatotoxicity and its mechanism-based prevention. *Drug Metabolism Revue*. 24(3) : 367-407.
- Verweij F., Booij K., Satumalay K., Van der Molen N., Van der Oost R., 2005.** Assessment of bioavailable PAH, PCB and OCP concentrations in water, using semipermeable membrane devices (SPMDs), sediments and caged carp. *Chemosphere*. 54 : 1675-1689.
- Vetter R.D., Carey M.C., Patton J.S., 1985.** Co-assimilation of dietary fat and benzo(a)pyrene in the small intestine : an absorption model using killifish. *Journal of Lipid Residues*. 26 : 428-434.
- Vives I., Canuti E., Castro-Jiménez J., Christoph E.H., Eisenreich S.J., Hanke G., Huber T., Mariani G., Mueller A., Skejo H., Umlauf G., Wollgast J., 2007.** Occurrence of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/Fs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Lake Maggiore (Italy and Switzerland). *Journal of Environmental Monitoring*. 9 (6) : 589-598.
- Voltz M. et Louchart X., 2001.** Les facteurs clés de transfert des produits phytosanitaires vers les eaux de surface. *Ingénieries*. pp 45-54.
- Vulava, V.M., McKay, L.D., Driese, S.G., Menn, F.-M., Saylor, G.S., 2007.** Distribution and transport of coal tar-derived PAHs in fine-grained residuum. *Chemosphere*. 68 (3) : 554-563.
- Wania, F. et Mackay, D., 1993.** Global fractionation and cold condensation of low volatility organochlorine compounds in polar regions. *Ambio*. 22 : 10-18.

- Wallace, K.B. et Dargan, J.E., 1987.** Intrinsic metabolic clearance of parathion and paraoxon by livers from fish and rodents. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 90 (2) : 235-242.
- Waszak I. et Dabrowska H., 2009.** Persistent organic pollutants in two fish species of Percidae and sediment from the Sulejowski Reservoir in central Poland. *Chemosphere*. 75 (9) : 1135-1143.
- Wauchope R.D., 1978.** The pesticide content of surface water draining from agricultural fields - A review. *Journal of Environmental Quality*. 7 (4) : 459-472.
- Weber, J. B., Wilkerson G. G., Reinhardt C. F., 2004.** Calculating pesticide sorption coefficient (Kd) using selected soil properties. *Chemosphere*. 55 (2) :157-166.
- WHO, 2003.** Health risks of Persistent Organic Pollutants from long-range transboundary air pollution. WHO Regional Office for Europe Publication, Copenhagen, Denmark. 252p. <http://www.euro.who.int/document/e78963.pdf>
- Williams J., 1928.** The decomposition of hydrogen peroxide by liver catalase. *The Journal of General Physiology*. 11(4) : 309-337.
- Williams, R. T., 1959.** *Detoxication Mechanisms*, 2nd ed. London: Chapman & Hall, 288p.
- Wohlfahrt J., 2005.** Développement d'un indicateur d'exposition des eaux de surface aux pertes de pesticides à l'échelle du bassin versant. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, 192p.
- Wolfe N.L., Mangelgrin U., Miller G. C., 1990.** Abiotic transformations in water, sediments and soils. Dans *Pesticides in the soil environment : processes, impacts, and modeling*, edited by Cheng, H. H. (Madison, Wisconsin, USA: Soil Science Society of America), 384p.
- Wurl O. et Obbard J.P., 2006.** Distribution of organochlorine compounds in the sea-surface microlayer, water column and sediment of Singapore's coastal environment. *Chemosphere*. 62 (7) : 1105-1115.
- Yamaguchi N., Gazzard D., Scholey G., Macdonald D.W., 2003.** Concentrations and hazard assessment of PCBs, organochlorine pesticides and mercury in fish species from the upper Thames: River pollution and its potential effects on top predators. *Chemosphere*. 50 (3) : 265-273.
- Yamamoto, K.-I. 1991.** Relationship of respiration to body weight in the carp (*Cyprinus carpio*) under resting and normoxic condition. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A Physiology*. 100 (1) : 113-116.
- Ziegler D.M. et Mitchell C.H., 1972.** Microsomal oxidase IV: Properties of a mixed-function amine oxidase isolated from pig liver microsomes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 150 (1) : 116-125.
- Ziegler D.M., 1988.** Flavin-containing monooxygenases: Catalytic mechanism and substrate specificities. *Drug Metabolism Reviews*. 19 (1) : 1-32.
- Zonta R., Costa F., Collavini F., Zaggia L. 2005.** Objectives and structure of the DRAIN project: An extensive study of the delivery from the drainage basin of the Venice Lagoon (Italy). *Environment International*. 31 (7 special issue) : 923-928.

ANNEXES

ANNEXE. 1. FICHES D'ENQUETE AUPRES DES PISCICULTEURS ET AGRICULTEURS

QUESTIONNAIRE PISCICULTEURS

Nom -Prénom :

Adresse :

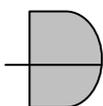
CARACTERISITIKES GENERALES DU PLAN D' EAU.

Question 1 : Quel est le nom de votre étang ?

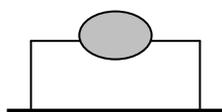
En quelle année a t -il été crée ?

Question 2 : Quelle est la superficie de votre étang ?

Question 3 : De quel type est votre étang ?



de barrage



de dérivation



sur source



vette artificielle autre

Question 4 : Quelle est la profondeur moyenne de l'étang ?

Quelle est la profondeur maximale de l'étang ?

Question 5 : Votre étang est-il alimenté en eau ?

• de façon permanente ? oui non

si oui, quelle(s) est (sont) l' (les) alimentation(s) ? (cours d'eau permanent, source, fossé...)



• de façon intermittente ? oui non

si oui, quelle(s) est (sont) l' (les) alimentation(s) ? (cours d'eau temporaire, source, fossé, ruissellement...)

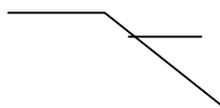


Question 6 : Connaissez-vous la pente moyenne des berges de votre plan d'eau ? oui non

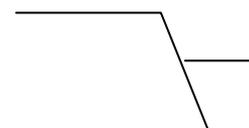
Berge en pente très douce



berge en pente moyenne



berge abrupte



LA DIVERSITE DU PLAN D'EAU (faune, flore ...).

Question 7 : Avez vous pu constater la présence d'espèces rares sur le plan d'eau ?
(poissons, oiseaux, végétaux...)

oui non

si oui quelle(s) espèce(s) ?

Question 8 : Y a-t-il des écrevisses dans votre plan d'eau ? oui non
Si oui, en connaissez vous l'(les) espèce(s) ?

LA GESTION DU PLAN D'EAU.

Question 9 : empoissonnez (alevinez) - vous votre étang ? oui non
Si oui, veuillez préciser les espèces, quantités, périodes et origines des poissons

espèces	période	quantité	origine

Question 10 : Faites-vous un apport d'aliment au niveau de votre étang ? oui non
Si oui, de quel type ? (céréales, aliments formulés, appâts ...). Veuillez préciser le nom commercial des aliments formulés).

Question 11 : Fertilisez- vous votre étang ? oui non
Si oui, avec quel type de fertilisants ?(minéral et / ou organique). Veuillez préciser la période et la quantité (kg/ha).

Question 12 : Luttez -vous contre l'envasement de votre plan d'eau ? oui non
Si oui comment ?

- curage
-
-
-
- pompage de vase
- produits chimiques
- autre (préciser)

Question 13 : Intervenez - vous sur la végétation de votre étang (végétation des rives, roselière, plantes aquatiques, algues, végétations envahissantes.) ? oui non

Type de végétation	Type d'intervention	Période	Fréquence

Question 14 : Vidangez- vous votre étang ? oui non

Si oui, à quelle fréquence ?

A quelle période ?

Question 15 : Réalisez-vous une période d'assèchement de votre étang ? oui non

Si oui, à quelle fréquence ?

A quelle période ?

Pendant combien de temps ?

LES ACTIVITES SUR LE PLAN D'EAU.

Question 16 : Vendez-vous le poisson issu des pêches de votre plan d'eau ? oui non

Si oui, à quel type d'acheteur ?

Question 17 : Votre plan d'eau sert-il à d'autres activités ? oui non

- pêche à la ligne
- loisirs
- réservoir d'eau
- autre (préciser)

LES EVENTUELS PROBLEMES SUR VOTRE PLAN D'EAU.

Question 18 : Avez -vous déjà rencontré un problème de mortalité excessive de poisson ?
oui non

Si oui, en connaissez vous les origines (parasitisme, maladies virales, pollution, canicule...)?

Question 19 : Rencontrez- vous un problème d'espèces indésirables?(végétales ou animales)

oui non

Si oui, lesquelles ?(ragondin, cormoran, algues, plantes aquatiques, poisson chat...)

Question 20 : Votre étang présente-t-il parfois des manques d'eau ? oui non

Si oui, de quelle hauteur ?

QUESTIONNAIRES AGRICULTEURS

Nom - Prénom :

Adresse :

CARACTERISTIQUES GENERALES DE L'EXPLOITATION :**Question 1 :** En quelle année votre exploitation a t'elle été crée ?

Comment ces terres étaient elles utilisée avant que vous les occupiez ?

Question 2 : Quelle est la superficie de l'exploitation ?**Question 3 :** Que cultivez vous ?**Question 4 :** Sur le tableaux ci-joint, veuillez nous présenter votre calendrier de culture.**Question 5 :** Vous faites de l'élevage, qu'élevez vous ?

Les animaux ont ils accès au plan d'eau ?

Si oui, mettez vous en place une clôture empêchant ceux ci d'y accéder (broutage de l'herbe autour de l'étang, écrasement de la terre...)

Question 6 : Avez vous des problèmes de ruissellement, érosion ? oui non

Si oui, que faites vous pour les limiter ?

Question 7 : Mettez vous en place des bandes enherbées près des cours d'eau sachant que cette mesure va être obligatoire à partir du 1^{er} Janvier 2007 ? oui non **Question 8 :** Implantez vous des haies aux alentours de vos parcelles (réduction de l'érosion, du taux de nitrates...)**Question 9 :** Etes vous sensible aux problèmes environnementaux, notamment à la préservation ou l'implantation d'auxiliaires ? oui non

Si oui, quelles mesures mettez vous en place pour favoriser leur installation ?

Question 10 : Choisissez vous vos produits en fonction de leur efficacité uniquement ou prenez vous aussi en compte leur effet sur l'environnement ? (vitesse de dégradation)**Question 11 :** Comment choisissez vous vos produits ? Faites vous appel à un technicien ?**Question 12 :** Avez vous une aire de remplissage du pulvérisateur ? oui non

Si non, où remplissez vous votre cuve ?

Question 13 : Votre pulvérisateur est il aux normes ? (clapet anti-retour, bac mélangeur-incorporateur...)?

Question12 : Que faites vous de vos fond de cuve ?

Question 13 : Avez vous participé à des journées d'informations organisées par la MSA ou des firmes phytosanitaires telles que SYNGENTA ?(réglage pulvérisateur, sécurité pour l'applicateur...) oui non

Question14 : Avez vous entendu parlé de l'opération Agri-Mieux ? oui non
Qu'en pensez- vous ?

USAGES DE PRODUITS CHIMIQUES

CARACTERISATION DE LA PARCELLE :

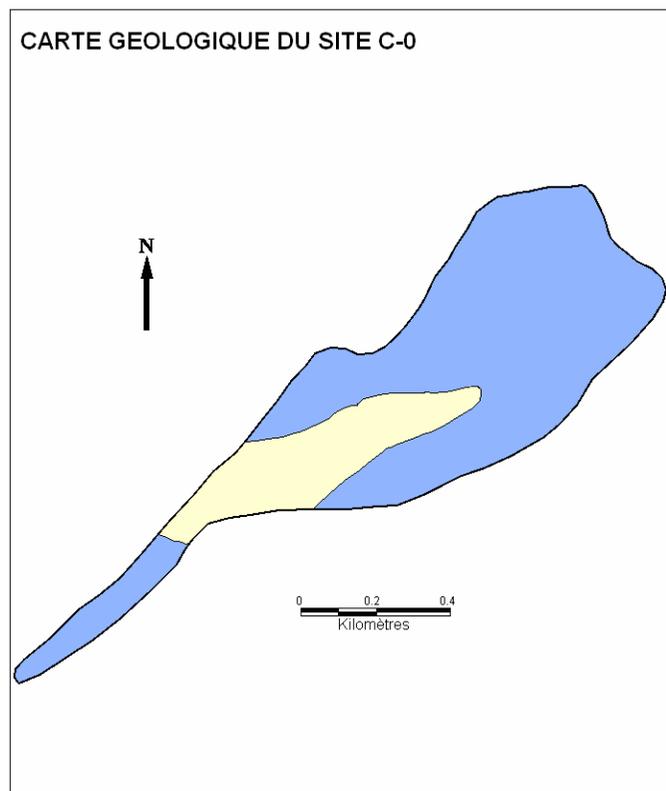
NUMERO DE PARCELLE	
SUPERFICIE (Ha)	
CULTURE 2008-2009	
LABOUR dates et profondeurs	

SOL ENTRE LES CULTURES	DATES (début – fin)
SOL NU	
EN HERBE	
CULTURE INTERMEDIAIRE (précisez :.....)	

USAGES D'ENGRAIS ET DE PHYTOSANITAIRES :

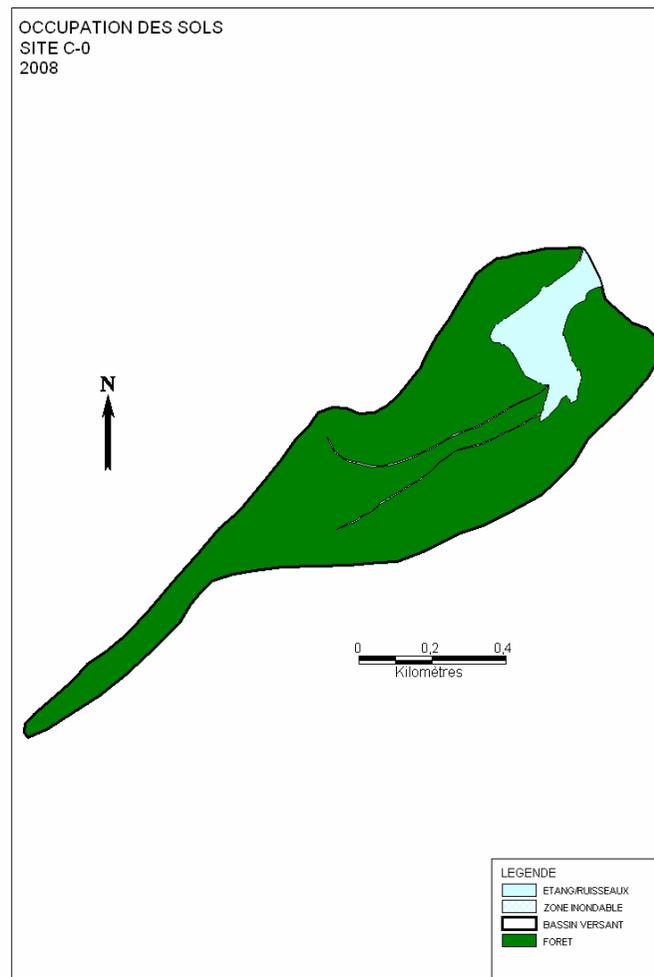
DATE	CATEGORIE	NOM COMMERCIAL	DOSE / Ha	Superficie traitée (si différente de la superficie totale) (Ha)
24/10/08	Herbicide	Celtic	1,5 L / Ha	(Exemple)

ANNEXE. 2. CARTOGRAPHIE DES SITES



LEGENDE

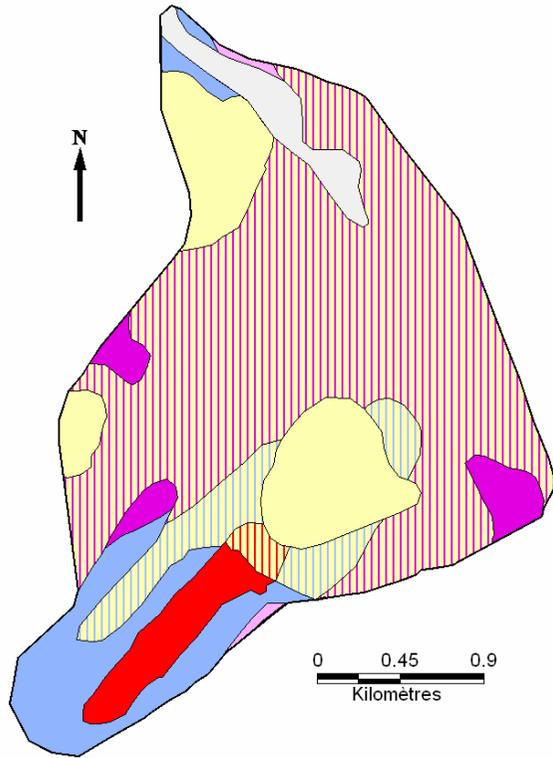
RUISSEAUX / ETANGS	AGE GEOLOGIQUE : QUATERNAIRE	AGE GEOLOGIQUE : LIAS
Bassin Versant	LIMONS	ARGILES



LEGENDE

ETANG/RUISSEAUX
ZONE NONDABLE
BASSIN VERSANT
FORET

CARTE GEOLOGIQUE DU SITE C-25



LEGENDE

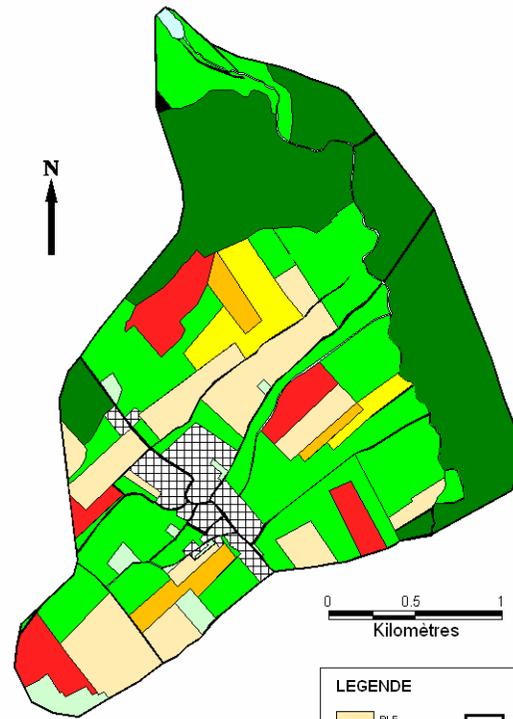
- RUISSEAUX / ETANGS
- Bassin Versant
- AGE GEOLOGIQUE : QUATERNAIRE**
- Alluvions
- Limon

AGE GEOLOGIQUE : LIAS

- Marnes
- Marnes + Limon
- Argile
- Argile + Limon
- Calcaire Ocreux
- Calcaire à Gryphées
- Calcaire à Gryphées + Limons

OCCUPATION DES SOLS

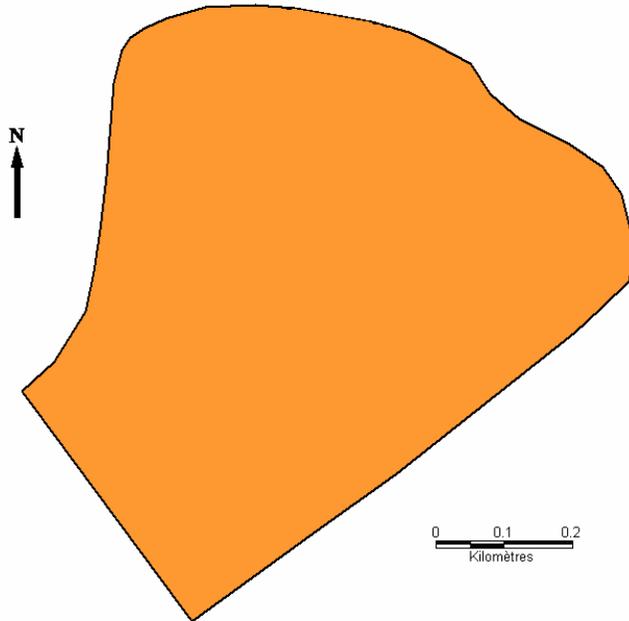
SITE C - 25
2008



LEGENDE

- BLE
- COLZA
- FORET
- FRICHE
- MAIS
- ORGE
- PARC
- ZONE URBAINE
- BASSIN VERSANT
- ETANG / RUISSEAUX
- ROUTES

CARTE GEOLOGIQUE DU SITE C-45

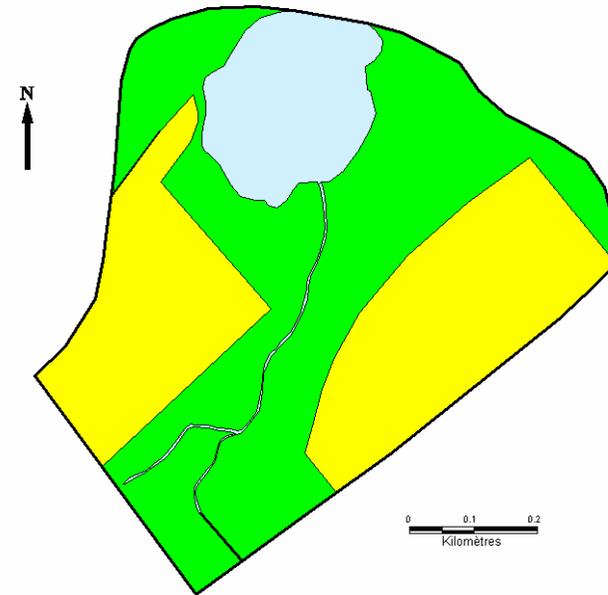


LEGENDE

AGE GEOLOGIQUE : KEUPER INFERIEUR

 MARNES VERSICOLORES

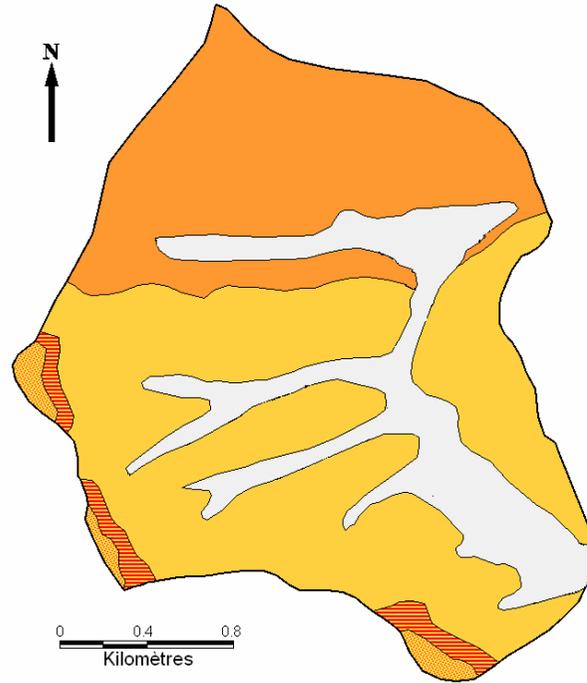
OCCUPATION DES SOLS SITE C - 45 2008



LEGENDE

 PARC
 COLZA
 BASSIN VERSANT
 ROUTES
 ETANG / RUISSEAUX

CARTE GEOLOGIQUE DU SITE C-75



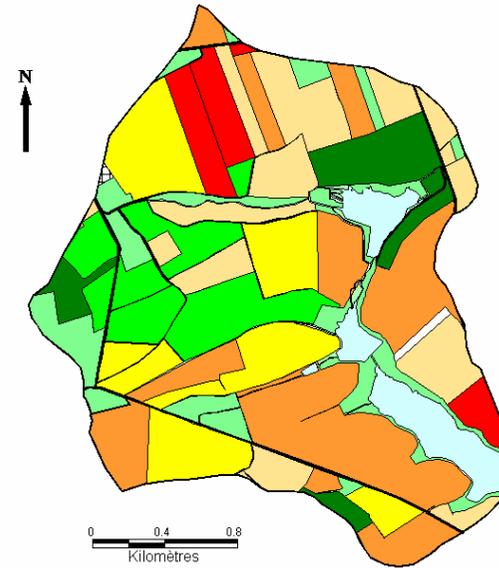
LEGENDE

RUISSEAUX / ETANGS
 Bassin Versant

AGE GEOLOGIQUE : KEUPER MOYEN A INFERIEUR

MARNE IRISEE
 GRES A ROSEAUX
 MARNE BARIOLEE
 DOLOMIE EN DALLES
 ALLUVIONS ACRUELLES

OCCUPATION DES SOLS SITE C-75 2008



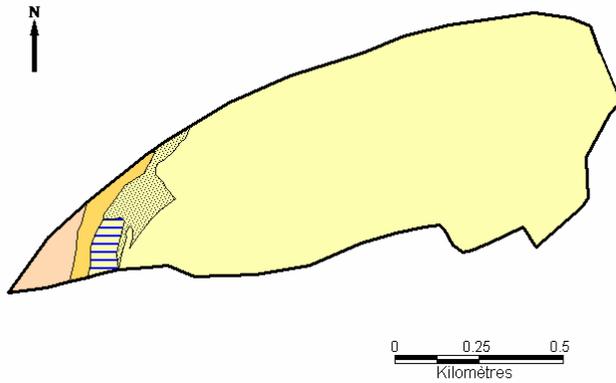
LEGENDE

ETANGS / RUISSEAUX
 BASSIN VERSANT
 ROUTES
 ZU

FORET
 PARC
 FRICHE

COLZA
 BLE
 ORGE
 MAIS

CARTE GEOLOGIQUE DU SITE C-85

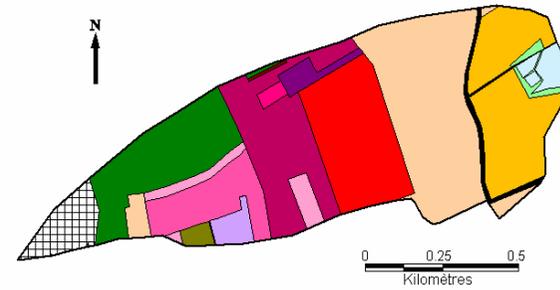


LEGENDE

- Etang
- Bassin versant

- AGE GEOLOGIQUE : KEUPER
- Marne irisée, gypsifère, anhydritique
 - Grès à roseaux
 - Marne bariolée intermédiaire
 - Dolomie
 - Marne bariolée et dolomie supérieure

OCCUPATION DES SOLS SITES C-85 2008



LEGENDE

- ETANG / RUISSEAUX
- BASSIN VERSANT
- Zone Urbaine

- FORET
- FRICHE
- BLE
- ORGE
- MAIS
- CHANVRE
- FRAISE

- QUETSCHES
- POMME
- PECHE
- MIRABELLE
- CERISE
- MURE
- VIGNE

ANNEXE. 3. MOLECULES RECHERCHEES DANS LES ETANGS ET LIMITES DE QUANTIFICATION

MOLECULES RECHERCHEES DANS L'EAU

PCB et organochlorés par GC-MS	LOQ (µg/L)	Pesticides par LC-MS-MS	LOQ (µg/L)	Pesticides par LC-MS-MS	LOQ (µg/L)	Pesticides par LC-MS-MS	LOQ (µg/L)
CB28	0,001	atrazine	0,02	flazasulfuron	0,02	napropamide	0,02
CB52	0,001	atrazine 2 hydroxy	0,02	florasulam	0,02	neburon	0,02
CB101	0,001	atrazine deethyl	0,02	fludioxonil	0,02	nicosulfuron	0,02
CB118	0,001	atrazine deisopropyl	0,02	fluometuron	0,02	norflurazone	0,02
CB138	0,001	azimsulfuron	0,02	fluquinconazole	0,02	oryzaline	0,02
CB153	0,001	azoxystrobine	0,02	flurochloridone	0,02	oxadiazon	0,02
CB180	0,001	banalaxyl	0,02	fluroxypyr	0,02	oxadixyl	0,02
OP'DDT	0,001	benoxacor	0,02	flurtamone	0,02	penconazole	0,02
PP'DDT	0,001	bentazone	0,02	flusilazole	0,02	pencycuron	0,02
OP'DDE	0,001	bifenox	0,02	fluthiamide	0,02	phoxim	0,02
PP'DDE	0,001	biteranol	0,02	flutriafol	0,02	picoxystrobine	0,02
OP'DDD	0,001	bromacil	0,02	foramsulfuron	0,02	pirimicarbe	0,02
PP'DDD	0,001	bromoxynil	0,02	hexaconazole	0,02	pretilachlore	0,02
alpha-HCH	0,001	bromuconazole	0,02	hexazinone	0,02	prochloraze	0,02
beta-HCH	0,001	buturon	0,02	imazalil	0,02	prometon	0,02
delta-HCH	0,001	carbaryl	0,02	imazamethabenz-methyl	0,02	prometryne	0,02
Lindane	0,001	carbendazime	0,02	imidaclopride	0,02	propachlore	0,02
Chlorothalonil	0,001	carbofuran	0,02	iodosulfuron methyl sodium	0,02	propazine	0,02
Alachlor	0,001	chlorprophame	0,025	ioxynil	0,02	propiconazole	0,02
Aldrine	0,001	chlorsulfuron	0,02	iprodione	0,05	propyzamide	0,02
Dieldrine	0,001	chlortoluron	0,02	isoproturon	0,02	prosulfocarb	0,02
Methoxychlore	0,001	clomazone	0,02	isoxaben	0,02	prosulfuron	0,02
Oxychlordan	0,001	clopyralide	0,02	isoxadifen ethyl	0,02	pyraclostrobine	0,02
heptachlore	0,001	cyanazine	0,02	isoxaflutole	0,02	quinmerac	0,02
Cis-heptachlor epoxyde	0,001	cymoxanil	0,02	kresoxym methyl	0,02	quinoxyfen	0,02
Trans-heptachlor epoxyde	0,001	cyproconazole	0,02	linuron	0,02	Quizalofop-ethyl	0,02
HCB	0,0005	cyprodinil	0,02	MCPA	0,02	secbumeton	0,02
p,p' dicofol	0,001	desmetrine	0,02	MCPB	0,02	simazine	0,02
o,p' dicofol	0,001	dicamba	0,02	Mecoprop	0,02	spiroxamine	0,02
alpha-chlordane	0,001	dichlobenyl	0,02	Mefenpyr diethyl	0,02	sulcotrione	0,02
gamma-chlordane	0,001	dichlorimid	0,02	Mesosulfuron methyl	0,02	sulfosulfuron	0,02
alpha-endosulfan	0,001	dichlorofuanide	0,02	mesotrione	0,02	tebuconazole	0,02
beta-endosulfan	0,001	dichlorprop	0,02	metalaxyl	0,02	tebutam	0,02
sulfate endosulfan	0,001	difenoconazole	0,02	metaldéhyde	0,02	terbumeton	0,02
		diffufenicanil	0,02	metamitron	0,02	terbutylazine	0,02
		dimetachlore	0,02	metazachlore	0,02	terbutylazine deethyl	0,02
Pesticides par LC-MS-MS	LOQ (µg/L)	dimetenamide	0,02	metconazole	0,02	terbutrine	0,02
Aminotriazole	0,05	dimethomorphe	0,02	methabenzthiazuron	0,02	tetraconazole	0,02
1-(3,4-dichlorophenyl)urée	0,02	diniconazole	0,02	methiocarb	0,02	thiabendazole	0,02
1-(4-isopropylphenyl)urée	0,02	diuron	0,02	methomyl	0,02	thifensulfuron methyl	0,02
Dimethyl-isoproturon	0,02	epoxycanazole	0,02	metobromuron	0,02	triadiméfon	0,02
2,4 D	0,02	EPTC	0,02	metolachlore	0,02	triadimenol	0,02
2,4 DB	0,02	ethofumesate	0,02	metosulam	0,02	triasulfuron	0,02
2,4,5 T	0,02	fenarimol	0,02	metoxuron	0,02	trichlorfon	0,02
2,6 Diethylaniline	0,02	fenbuconazole	0,02	metribuzine	0,02	triclopyr	0,02
Acetochlore	0,02	fenoprop	0,02	metsulfuron methyl	0,02	trifloxystrobine	0,02
aclonifen	0,02	fenoxycarb	0,02	monolinuron	0,02	glyphosate	0,05
alachlore	0,02	fenpropidine	0,02	monuron	0,02	AMPA	0,05
ametryne	0,02	fenpropimorph	0,02	myclobutanil	0,02	Glyphosinate ammonium	0,05
amidosulfuron	0,02	tipronil	0,02				
asulame	0,02						

MOLECULES RECHERCHEES DANS LE SEDIMENT

PCB et organochlorés par GC-MS	LOQ (µg/Kg PS)
CB28	0,3
CB52	0,3
CB101	0,3
CB118	0,3
CB138	0,3
CB153	0,3
CB180	0,3
OP'DDT	0,1
PP'DDT	0,1
OP'DDE	0,1
PP'DDE	0,1
OP'DDD	0,1
PP'DDD	0,1
alpha-HCH	0,1
beta-HCH	0,1
delta-HCH	0,1
Lindane	0,1
Chlorothalonil	0,1
Alachlor	0,1
Aldrine	0,1
Dieldrine	0,1
Methoxychlore	0,1
Oxychlordan	0,1
heptachlore	0,1
Cis-heptachlor epoxyde	0,1
Trans-heptachlor epoxyde	0,1
HCB	0,1
p,p' dicofol	0,1
o,p' dicofol	0,1
alpha-chlordane	0,1
gamma-chlordane	0,1
alpha-endosulfan	0,1
beta-endosulfan	0,1
sulfate endosulfan	0,1

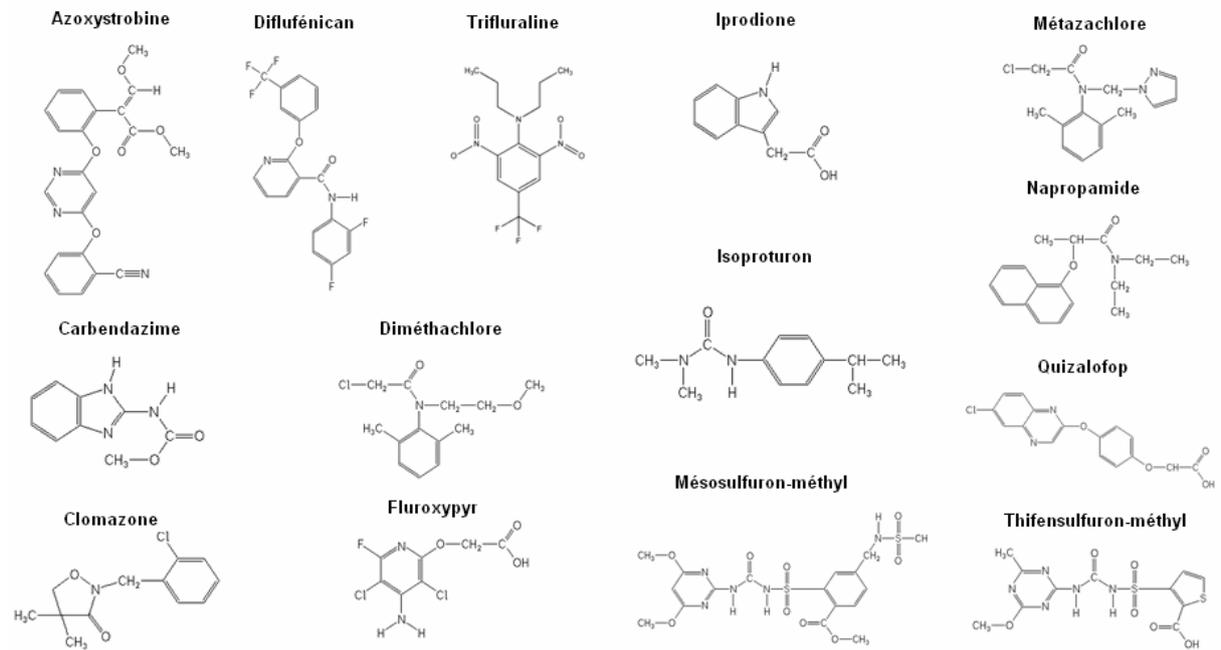
MOLECULES RECHERCHEES DANS LE POISSON

PCB et organochlorés par GC-MS	LOQ (µg/Kg PF)
CB28	0,3
CB52	0,3
CB101	0,3
CB118	0,3
CB138	0,3
CB153	0,3
CB180	0,3
OP'DDT	0,1
PP'DDT	0,1
OP'DDE	0,1
PP'DDE	0,1
OP'DDD	0,1
PP'DDD	0,1
alpha-HCH	0,1
beta-HCH	0,1
delta-HCH	0,1
Lindane	0,1
Chlorothalonil	0,1
Alachlor	0,1
Aldrine	0,1
Dieldrine	0,1
Methoxychlore	0,1
Oxychlordan	0,1
heptachlore	0,1
Cis-heptachlor epoxyde	0,1
Trans-heptachlor epoxyde	0,1
HCB	0,1
p,p' dicofol	0,1
o,p' dicofol	0,1
alpha-chlordane	0,1
gamma-chlordane	0,1
alpha-endosulfan	0,1
beta-endosulfan	0,1
sulfate endosulfan	0,1

Pesticides par LC-MS-MS	LOQ (µg/Kg PF)
Mesosulfuron-methyl	0,36
Isoproturon	0,34
Iprodion	24,01
Fluroxypyr	29,95
Dimethachlor	0,24
Diffufenican	49,02
Clomazone	0,63
Carbendazim	0,12
Azoxystrobin	0,15
Metazachlor	0,12
Napropamid	0,16
Quizalofop	5,03
Thifensulfuron-methyl	17,99

Figure X1.1 : Liste des molécules recherchées dans les différentes matrices (eau, sédiment, muscle de poisson) et limites de quantification (LOQ) associées aux dosages dans ces matrices.

ANNEXE. 4. CARACTERISTIQUES DES 14 PESTICIDES ETUDIES



	Trifluraline	Isoproturon	Chlortoluron	Glyphosate	Fluroxypyr	Epoxiconazole	Carbendazime	Diflufenicanil	Azoxystrobine
Famille	Dinitroanilines (Toluidines)	Urées substituées	Urées substituées	Amino-phosphonate	acide picolinique	Triazole	Benzimidazole	Pyridine carboxamides	Strobilurine
Catégorie	Herbicides	Herbicides	Herbicides	Herbicides	Herbicides	Fongicide	Herbicides	Herbicides	Fongicides
Toxicité	Xi	Xn	Xn	Xi-N	non toxique	Xn	T-N	non toxique	T-N
SOL									
KOC ml g-1	8765	139	141	21699	24600	1802	400	1991	423
DT 50 sol(j)typique	181	12	45	12	3	typique : 354	22	typique 542	70
DT 50 sédiments(j)	5,5	149	—	87	25	328	—	84	46
GUS	0,13	2	3,06	-0,36	-0,19	1,9	1,88	1,92	2,53
EAU									
Solubilité mg l-1 à 20 °C	0,22	70,2	74	12200	6500	7	8	0,05	6,7
DT 50 hydrolyse neutre 20 °C (j)	365	1560	365	stable	223	12	stable	30	stable
DT 50 par photolyse (J)	0,4	48	0,12	69	stable	—	12	97	11
POISSON									
BCF	5674	—	40	0,5	62,1	—	25	1100	17
Log KOW pH7 20°C	5,27	2,5	2,5	-3,2	2	3,44	1,48	4,9	2,5
CL50 tox aigüe mg l-1	0,088	18	35	8,2	14,3	2,2	0,83	78	0,47
NOEC 21 j tox chronique mg l-1	0,051	1	—	917	100	0,01	—	—	0,147
SANTE HUMAINE									
DJA mg kg-1 de poids corporel	0,015	0,015	0,04	0,3 (rat)	0,8	0,0032	0,03	0,185	0,1
ATMOSPHERE									
Pression vapeur	9,5	5,50*10 ⁻⁰³	0,005	0,0131	0,0000038	1,00*10 ⁻⁰²	0,15	4,25*10 ⁻⁰³	1,10*10 ⁻⁰⁷
Constante de Henry	10,2	1,46*10 ⁻⁰⁵	1,44	2,10*10 ⁻⁰⁷	1,10*10 ⁻⁰⁸	4,71*10 ⁻⁰⁴	3,60*10 ⁻⁰³	3,30*10 ⁻⁰²	7,30*10 ⁻⁰⁹

	Quizalofop-éthyl	Napropamide	Clomazone	Dimétachlore	Métazachlore	Metsulfuron	Thifensulfuron	Nicosulfuron	Iprodione
Famille	Arylophénoxy-propionates	Acétamides	Oxazolidine	Chloro - acetanilide	Chloro - acetamide	Sulfonylurée	Sulfonylurée	Sulfonylurée	Dicarbo--ximides
Catégorie	Herbicides	Herbicides	Herbicides	Herbicides	Herbicides	Herbicides	Herbicides	Herbicides	Fongicides
Toxicité	Xn--N	non toxique	Xn	Xn-N	Xi	N	N	non toxique	Xn-N
SOL									
KOC ml g-1	540	400	286,5	70	75	39,5	28	21	373
DT 50 sol(j)typique	45	70	54	7	77	10	4	26	84
DT 50 sédiments (j)	39	550		15,8	33	140	24	46	30
GUS	2,1	2,58	2,96	1,82	4,01	2,4	1,54	3,79	2,75
EAU									
Solubilité mg l-1 à 20 °C	0,3	73	1102	430	430	2790	2240	9500	12,2
DT 50 hydrolyse neutre 20 °c (j)	2	stable	30	1	1	30	190	15	3
DT 50 par photolyse (J)	0,01	0,02	—	stable	stable	stable	5	85	1
POISSON									
BCF	867	127	40	75	—	1	0,8	—	70
Log KOW pH7 20°C	4,28	3,36	2,54	2,17	2,13	-1,7	-1,7	-1,77	3,1
CL50 tox aigüe mg l-1	2,8	9,4	15,5	3,9	5620	150	100	65,7	3,7
NOEC 21 j tox chronique mg l-1	—	—	2,3	0,85	—	0,68	250	—	0,26
SANTE HUMAINE									
DJA mg kg-1 de poids corporel	0,009	0,1	0,133	0,1	0,036	0,22	0,01	—	0,06
ATMOSPHERE									
Pression vapeur	0,04	0,53	19,2		0,093		$7,50 \cdot 10^{-06}$	$8,00 \cdot 10^{-05}$	0,0005
Constante de Henry	$8,20 \cdot 10^{-02}$	$1,97 \cdot 10^{-03}$	$4,20 \cdot 10^{-03}$		$5,74 \cdot 10^{-05}$		$1,30 \cdot 10^{-12}$	$1,40 \cdot 10^{-13}$	$7,00 \cdot 10^{-06}$

ANNEXE. 5. DEMARCHE POUR EVALUER LES PARAMETRES D'ACCUMULATION ET DE DEMI-VIE LORS D'UNE EXPOSITION PAR VOIE TROPHIQUE EN LABORATOIRE.

Deux espèces piscicoles d'étang sont soumises à un mélange de 13 pesticides, actuellement homologués, par voie alimentaire (aliment formulé contaminé). Ce travail vise à déterminer des paramètres relatifs à l'accumulation et la demi-vie de ces pesticides dans le muscle afin de confronter ces données aux observations relevées sur nos sites d'étude.

PRINCIPE GENERAL DE CONTAMINATION PAR VOIE TROPHIQUE

ESPECES

Ces deux espèces (carpe, *Cyprinus carpio* et perche, *Perca fluviatilis*) sont choisies pour leurs différences du point de vue de :

- leur physiologie digestive et leur anatomie (absence vs présence d'estomac, de *cæca piloris* ; Hépatopancréas vs foie et pancréas)
- leur stratégie de vie (benthique vs pélagique) mais également par leur place dans le réseau trophique (omnivore vs piscivore)
- leur teneur en lipide intra-musculaire (chair grasse vs chair maigre)

Tous ces paramètres peuvent influencer sur les processus d'accumulation et de disparition des contaminants dans le muscle (*cf* Chapitre A). De plus, la carpe est la seule espèce produite en étang qui soit recommandée pour la mise en place de telles expérimentations (US-EPA, 1996).

PHASES EXPERIMENTALES

Chaque expérience se déroule en deux phases : une contamination suivie d'une épuration, qui permettent d'évaluer l'amplitude et la cinétique d'accumulation et d'élimination des molécules mères. Les méthodes employées sont adaptées des procédures guides de l'US-EPA relatives à la contamination par vecteur aqueux (US-EPA, 1996).

Lors de la phase de contamination, certaines molécules atteignent l'équilibre. Le BMF⁵² calculé sera égal au ratio entre la concentration de la molécule considérée dans le muscle et la concentration dans l'aliment. Les molécules n'atteignant pas le plateau rapidement donnent lieu à un calcul de temps pour arriver entre 80 et 95% de l'équilibre (zone de linéarité des constantes cinétiques d'apparition K1 et de disparition K2 de la molécule) basées sur les

⁵² BMF ou facteur de bioamplification est noté ici comme référence aux travaux de Tomy et al. (2004, 2007) définissant ce facteur de bioaccumulation par voie trophique suite à l'ingestion d'aliment formulé comme un facteur de bioamplification.

travaux de l'US-EPA (1996). Pour ces molécules, le BMF est égal au ratio de K1 sur K2 (cf Chapitre A).

Lors de la phase d'épuration, la disparition des molécules mères du muscle est observée. La constante de disparition K2 et la demi-vie dans le muscle de chaque molécule peuvent être calculées (US-EPA, 1996).

CHOIX DES MODALITES DE CONTAMINATION

TEMPS D'EXPOSITION

Le temps de la phase d'exposition doit donc correspondre à l'atteinte de 80 à 95% du palier (équilibre) ou bien, l'équilibre doit être atteint. (Le temps ne doit pas être inférieur à 80% ou se situer entre 95 et 100% pour des raisons de validité de la méthode). L'US-EPA (1996) se base sur les valeurs de Kow des molécules qui permet d'estimer une valeur théorique de K2 mais également une valeur théorique du temps nécessaire pour atteindre 80% (t80) ou 95% (t95) du palier selon les équations :

Équation 13: Estimation du K_2 par le K_{OW} $\text{Log}(K_2) = -0,414 \times \text{Log}(K_{OW}) + 1,47$ ($R^2 = 0,95$)

Avec K_2 constante cinétique de disparition de la molécule durant la phase d'épuration et K_{OW} coefficient de partage octanol/eau de la molécule.

Équation 14: Equation cinétique reliant K_2 à la concentration dans le poisson $\frac{C_f}{C_{f,e}} = 1 - e^{-K_2 t}$

Avec C_f , concentration de contaminant dans le poisson à un temps donné et ,
 $C_{f,e}$ concentration du contaminant dans le poisson à l'équilibre, t le temps et K_2 constante cinétique de disparition de la molécule durant la phase d'épuration.

Équation 15: Calcul de t_{80} et de t_{95} $t_{80} = \frac{1,6}{K_2}$, $t_{95} = \frac{3,0}{K_2}$

Avec t_{80} temps nécessaire pour atteindre 80% du palier pendant la phase d'exposition, t_{95} temps nécessaire pour atteindre 95% du palier pendant la phase d'exposition, K_2 constante cinétique de disparition de la molécule durant la phase d'épuration

Les résultats pour les 13 pesticides recherchés, s'appuyant sur les équations précédentes, sont représentés dans le tableau X2.1. La durée de **6 jours d'exposition** est retenue et nous permet de créer 2 classes de molécules :

- Celles dont le $t_{80} < 2$ jours : atteindront le palier et donnent un BMF réel,
- Celles dont le $4 < t_{80} < 6$ jours ($< t_{95}$) : n'atteindront pas le palier mais les valeurs cinétiques K1 et K2 peuvent permettre le calcul du BMF.

La phase d'**épuration** correspond au minimum à 2 fois le temps d'exposition soit **12 jours** (US-EPA, 1996).

Tableau X2.1 : Calculs de la durée de la phase d'exposition pour les 13 molécules étudiées.

MOLECULES	Log Kow	Log K2	K2(j-1)	T80 (jours)	T95 (jours)
Thifensulfuron-methyl	-1,7	2,17	149,21	0,01	0,02
Mesosulfuron-methyl	-0,5	1,68	47,53	0,03	0,06
Carbendazime	1,6	0,81	6,42	0,25	0,47
Fluroxypyr	2,0	0,64	4,39	0,36	0,68
Metazachlore	2,1	0,60	3,99	0,40	0,75
Dimethachlore	2,3	0,52	3,29	0,49	0,91
Azoxystrobine	2,5	0,44	2,72	0,59	1,10
Isoproturon	2,5	0,44	2,72	0,59	1,10
Clomazone	2,5	0,44	2,72	0,59	1,10
Iprodione	3,0	0,23	1,69	0,95	1,77
Napropamide	3,4	0,06	1,15	1,39	2,60
Quizalofop	4,7	-0,48	0,33	4,79	8,97
Diflufenicanil	4,9	-0,56	0,28	5,79	10,86

CHOIX DE LA DOSE D'EXPOSITION

Il n'existe pas encore de critères de choix de doses testées pour un vecteur de multi-contamination alimentaire. Une démarche visant à relier une contamination aqueuse avec une contamination alimentaire a donc été élaborée. Les normes US-EPA étant basées sur le vecteur de contamination aqueux, il nous est indispensable de rechercher une dose de contamination alimentaire compatible avec une expérience en vecteur aqueux qui satisfasse les critères de toxicité mais également une dose qualifiée de réaliste, autrement dit proche de ce que l'on pourrait trouver en milieu naturel. Ainsi, le choix des doses se basera sur une extrapolation d'une dose adaptée à une expérimentation de contamination de poissons par l'eau. Les critères que nous avons retenus pour déterminer une dose par vecteur aqueux sont la toxicité des molécules, l'établissement d'un facteur arbitraire de sécurité lié aux synergies possibles lors d'une multi-contamination ainsi que la vraisemblance de la dose en milieu naturel.

EN VECTEUR AQUEUX

La contamination aqueuse doit répondre à plusieurs contraintes.

- La dose maximale (dose haute) doit être suffisamment importante pour pouvoir observer l'évolution avec les techniques actuelles de dosage.

- La dose haute choisie ne doit pas entraîner d'effet toxique chez le poisson, ce qui pourrait modifier les cinétiques. Les données toxicologiques les plus courantes sont relatives

aux truites (*Oncorhynchus mykiss*) qui nous serviront de référence (tableau X2.2). La molécule la plus toxique servira de référence aux calculs.

- La concentration recommandée par l'US-EPA est de 1/100 de la Concentration Létale pour 50% des individus exposés durant 96 h, notée CL50 (96h), et ayant pour valeur 0,00109 mg/L). Toutefois si cela donne une dose trop basse pour les conditions analytiques, il s'agira alors de diviser par un ratio plus petit, qui dépendra de la concentration calculée par méthode chronique. La Concentration Sans Effet Observable, notée CSEO, peut donc également donner une indication de toxicité pour les poissons et aider à fixer la dose choisie.

Au final, la concentration 0,01 mg/L semble être un compromis possible pour le choix de la dose haute. Toutefois, la prévision de l'effet des mélanges étant difficile, l'ajout d'un facteur de sécurité 10 semble approprié.

Sur ces critères une « dose maximale » de 1 µg/L d'eau apparaît. Cependant, cette concentration paraît élevée par rapport au critère de vraisemblance environnementale. En effet, l'IFEN (2007), qualifie une qualité d'eau moyenne à mauvaise quand une molécule est à une concentration supérieure à 0,7 µg/L dans les eaux de surface. Par ailleurs, le déclassement d'une station de mesure est souvent dû à peu de molécules. La dose de **0,25 µg/L** apparaît comme une dose plus probable, sachant qu'en 2005, l'IFEN (2007), recense 47% des masses d'eau superficielles française comme étant de bonne qualité vis-à-vis des pesticides (figure 1), ayant des concentrations comprises entre 0,1 et 0,7 µg/L.

Tableau X2.2 : Données écotoxicologiques pour les 13 pesticides étudiés (Agritox, 2007)

^aLC50 : Concentration Léthale pour 50% des individus en 96 heures,

^bCSEO : Concentration Sans Effets Observés sur 21 jours.

MOLECULES	LC50 (96h) ^a (Truite) mg/L	CSEO (21j) ^b (Truite) mg/L	LC50 / CSEO	LC50 (96h) ^a (Carpe) mg/L
Thifensulfuron-methyl	>100	250	>0.5	
Mesosulfuron-methyl	>100	32	>3	
Carbendazime	0.83	0.011	75.5	0.61
Fluroxypyr	>100	100	>1	
Metazachlore	4	2.15	1.9	15
Dimethachlore	3.9	0.85	4.6	8
Azoxystrobine	0.47	0.16	2.9	1.6
Isoproturon	18	1	18.0	54.4
Clomazone	19	2.3	8.3	
Iprodione	4.1	0.26	15.8	
Napropamide	16.6	1.1	15.1	
Quizalofop	0.48	0.044	10.9	
Diflufenicanil	0.109	0.015	7.3	0.099
MINIMUM	0.109	0.011		

EXTRAPOLATION AU VECTEUR ALIMENTAIRE

Afin de pouvoir adapter la dose de contamination au vecteur alimentaire, la dose reçue par le poisson doit être du même ordre de grandeur en vecteur alimentaire qu'en vecteur aqueux.

En milieu aqueux, un volume d'eau contaminée à la concentration C_e , traverse plusieurs fois par jour par les branchies, le nombre de passages étant dépendant du volume d'eau ventilé quotidien. La dose d'exposition quotidienne dépend donc de la concentration, mais aussi du volume d'eau ventilé en un jour. Ce volume de ventilation, déterminé à des fins respiratoires, est dépendant du besoin en oxygène (et donc de l'espèce piscicole) et de la concentration en oxygène dissout de l'eau (et donc de la température de l'eau).

La dose D réellement reçue par le poisson en un jour, sera donc :

Équation 16 : Calcul de la dose perçue par le poisson lors d'une contamination par l'eau..... $D = C_e \times V_g \times 24$

Avec D , la dose perçue quotidiennement ($\mu\text{g}/\text{jour}/\text{Kg}$) ; V_g , le volume de ventilation branchiale relatif correspondant au volume d'eau traversant les branchies en 1h rapporté au Kg de poisson ($\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{Kg}^{-1}$) et C_e , la concentration dans l'eau. La constante 24 permet de rapporter au jour.

Le volume ventilatoire est connu pour la carpe mais pas pour la perche. Il dépend principalement de la concentration en oxygène dissout, de la température et du poids du poisson. En condition de normoxie, V_g augmente avec la température et diminue avec le poids des poissons (Figure X2.1).

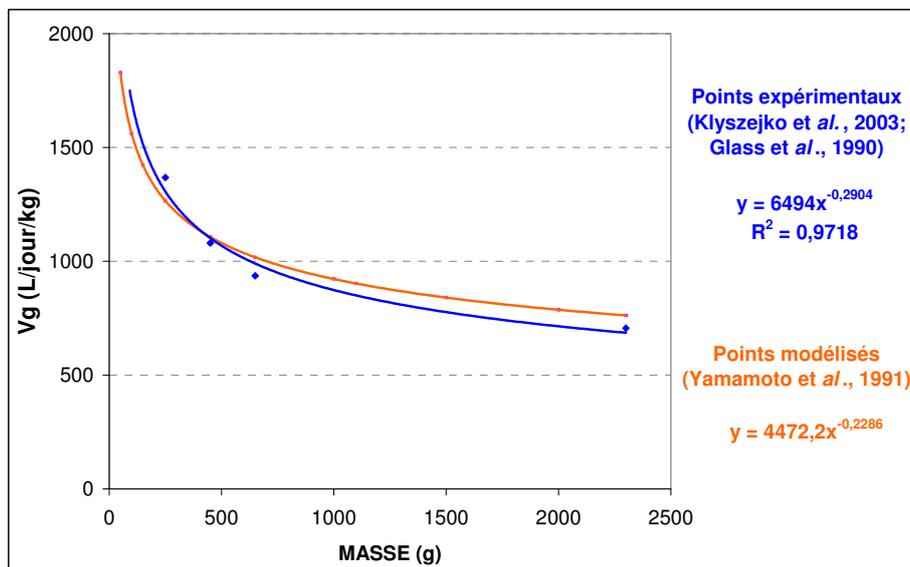


Figure X.2.1 : Volume ventilatoire de *C. carpio* en fonction de sa masse.

Par exemple, selon Klyszejko et al., (2003), $V_g = 57 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{Kg}^{-1}$ pour des carpes de 250 g à 20°C. Par contre, les données pour les carpes de masse inférieure à 250 g étant rares, une

extrapolation est nécessaire pour estimer V_g pour les masses étudiées ici. De ce fait, une deuxième référence est prise afin de valider l'ordre de grandeur V_g obtenu par l'extrapolation de l'expérimentation.

Yamamoto (1991) modélise le volume ventilé absolu V_{ga} par une fonction puissance :

Équation 17 : Modèle de Yamamoto (1991) pour le calcul du volume ventilatoire absolu $V_{ga} = 1,035226 W^{0,771371}$

Avec V_{ga} , le volume ventilé absolu (ml / min / poisson) et W la masse du poisson (g).

V_{ga} est alors déterminé pour la température 10°C. Les expériences de Klyszejko et al. (2003) permettent de calculer un facteur moyen de correction de température pour le passage de 10°C à 20°C, en considérant la moyenne des ratios expérimentaux de V_g (20°C) sur V_g (10°C) pour des poissons de différentes masses.

En transformant V_{ga} (10°C) en V_g (20°C), on obtient une modélisation du volume ventilé relatif (V_g , en $L \cdot h^{-1} \cdot Kg^{-1}$) en fonction de la masse de carpe, par l'équation :

Équation 18 : Calcul de V_g à partir du Modèle de Yamamoto (1991)..... $V_g = \frac{3 \times 60 \times V_{ga}}{W}$

Avec V_{ga} , le volume ventilé absolu (ml / min / poisson) et W la masse du poisson (g), V_g , le volume de ventilation branchiale relatif correspondant au volume d'eau traversant les branchies en 1h rapporté au Kg de poisson ($L \cdot h^{-1} \cdot Kg^{-1}$). 3 correspond au facteur de correction du paramètre température d'après les travaux de Klyszejko et al. (2003). 60 étant la constante de transformation des minutes en heure

Au final, pour des carpes de 60g, en normoxie, à 20°C, deux manières de calculer V_g co-existent, une issue de la modélisation de Yamamoto (1991) et une issue des données expérimentales de Klyszejko et al. (2003) (figure X.2.1):

V_g expérimental = 83 $L \cdot h^{-1} \cdot Kg^{-1}$

V_g modélisé = 74 $L \cdot h^{-1} \cdot Kg^{-1}$.

Dans les mêmes conditions de masse et de température, l'équation pour une concentration C_e de 0,25 $\mu g/L$ donne une dose journalière reçue :

$D_{\text{expérimentale}} = 498 \mu g \cdot j^{-1} \cdot kg^{-1}$.

$D_{\text{modélisée}} = 444 \mu g \cdot j^{-1} \cdot kg^{-1}$.

Ainsi, chez la carpe, la dose de **500 μg / jour / Kg (PV)** semble correspondre aux critères de détermination de dose pour un vecteur alimentaire qui correspondrait à une expérience de contamination par vecteur eau ($C_e = 0.25 \mu g/L$). Les données de ventilation sur la perche sont inconnues. Pour la cohérence de l'expérience, les mêmes doses journalières sont données à la perche et la carpe, à savoir 500 μg de chaque molécule par jour et par Kg de poids vif (PV).

AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE
DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL
POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

o0o

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :

Monsieur Philippe GARRIGUES, Directeur de Recherche, Université de Bordeaux, Talence

**Monsieur Benoît FAUCONNEAU, Directeur de Recherche, INRA-Bordeaux, Villenave
d'Ornion**

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

Madame LAZARTIGUES Angélique

à soutenir devant un jury de l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE,
une thèse intitulée :

**"Pesticides et polyculture d'étang : de l'épandage sur le bassin versant aux résidus dans
la chair de poisson"**

en vue de l'obtention du titre de :

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : « **Sciences Agronomiques** »

Fait à Vandoeuvre, le 04 novembre 2010

Le Président de l'I.N.P.L.,

F. LAURENT



NANCY BRABOIS
2, AVENUE DE LA
FORET-DE-HAYE
BOITE POSTALE 3
F - 5 4 5 0 1
VANDŒUVRE CEDEX

Pesticides et polyculture d'étang :
de l'épandage sur le bassin versant aux résidus dans la chair de poisson.

L'étang de barrage vidangeable est relié à son bassin versant et l'activité agricole peut engendrer une dissipation de pesticides dans l'environnement. Le transfert des pesticides homologués reste peu étudié. Aussi, l'objectif général de ce travail consiste à amener des connaissances relatives au devenir des pesticides en polyculture d'étang, en particulier sur la contamination de la chair des poissons proposés aux consommateurs. Cinq sites, correspondant chacun à un étang et à son bassin versant, ont été caractérisés. Ils s'échelonnent sur un gradient d'intensification agricole sur le bassin versant allant de 0% à 85% de la surface mise en culture, principalement en colza, blé, orge et maïs. De nombreux pesticides sont présents dans l'eau, en concentrations variables selon les sites et les saisons. La somme des molécules quantifiées s'échelonne de 0,17 µg/L pour le site C-0 (mars) à 8,81 µg/L pour le site C-25 (octobre). La réponse biologique des poissons, évaluée par la recherche de huit biomarqueurs (EROD, CYP 3A, GST, CAT, SOD, GSH, GPx et AChE) chez la carpe et le gardon, a permis d'établir des différences entre les espèces et les sites étudiés, le gardon permettant une meilleure discrimination des sites. Une recherche ciblée des pesticides épandus sur grandes cultures, a été effectuée par une méthode multi-résidus, dans l'eau, les sédiments et la chair de poisson. L'isoproturon et le métazachlore présentent les concentrations les plus élevées dans l'eau (valeurs maximales de 2,69 et 0,54 µg/L respectivement). La trifluraline (0,5 à 13 µg/kg PS) et l'isoproturon (0,7 à 56,4 µg/kg PS) sont les molécules majoritaires des sédiments. Les profils de résidus dans la chair de poisson sont variables et seuls la trifluraline, l'isoproturon, le métazachlore et le carbendazime (valeurs maximales de 21 ; 0,75 ; 0,13 et 0,2 µg/kg PF, respectivement) sont quantifiés. La trifluraline est connue pour avoir un potentiel de bioaccumulation « modéré », expliquant sa concentration dans le muscle parfois supérieure à celle observée dans les sédiments. Pour les 13 autres molécules, les faibles niveaux observés en étang peuvent être expliqués par un potentiel d'accumulation faible (évalué ex-situ, compris entre 10^{-6} et 10^{-3}). Cependant, la demi-vie des molécules dans le muscle peut être de plusieurs semaines selon les espèces testées, d'où la possibilité de les quantifier dans la chair des poissons en étang. Au final, de nombreux facteurs, liés en particulier aux caractéristiques des sites (non maîtrisables) et aux pratiques de gestion (améliorables), influencent le profil des pesticides dans le muscle et la réponse biologique des poissons.

Mots clés : Pesticides, PCB, biomarqueurs, bassin versant, étang, poisson, transfert.

Pesticides and polyculture pond: from spreading on watershed to residues in fish flesh.

Dam pond is connected to its watershed. Use of pesticides on watershed may lead to dissipation in the environment. Transfer of registered pesticides remains poorly studied. Thus, the main objective of this work was to improve knowledge about the fate of pesticides in polyculture pond, especially contamination of fish flesh. Five sites, each site corresponding to a pond and its watershed, were characterized. They are placed on a gradient of crop proportion ranging from 0% to 85% of the watershed area; mainly rapeseed, wheat, barley and maize. Many pesticides are found in water, with concentration varying between sites and seasons. The sum of quantified molecules ranged from 0.17 µg / L for Site C-0 (March) to 8.81 µg / L for Site C-25 (October). The biological response of fish, assessed by evaluation of eight biomarkers (EROD, CYP 3A, GST, CAT, SOD, GSH, GPx, and AChE) in carp and roach, establish differences between species and sites studied, roach allowing better discrimination of sites. A study of 14 targeted pesticides was conducted by a multi-residues method in water, sediments and fish flesh. Isoproturon and metazachlor have the highest concentrations in water (maximum values of 2.69 and 0.54 µg / L, respectively). Trifluralin (0.5 to 13 µg / kg PS) and isoproturon (0.7 to 56.4 µg / kg PS) are the main contaminants in sediments. Profiles of residues in fish flesh are variable and only trifluralin, isoproturon, carbendazim and metazachlor (maximum values of 21, 0.75, 0.13 and 0.2 µg / kg PF, respectively) are quantified. Trifluralin is known to have a moderate potential to bioaccumulate, explaining its concentration in muscle sometimes greater than that observed in the sediments. For the remaining 13 molecules, the low levels observed in fish can be explained by a low potential to bioaccumulate (measured ex-situ, between 10^{-6} and 10^{-3}). However, the half-life of molecules in the muscle may be several weeks depending on the species tested, explaining the possibility to find molecules in fish flesh. Finally, many factors, particularly related to site characteristics (uncontrollable) and management practices (upgradable), influence profile of pesticides in muscle and biological responses of fish.

Keywords: Pesticides, PCBs, biomarkers, watershed, pond, fish, transfer.