



HAL
open science

Mise en évidence du potentiel bioaccumulateur des
bryophytes aquatiques vis-a-vis des PCB et des
pesticides organochlores : étude in situ et en laboratoire
proposition de grilles d'évaluation de la contamination
par les organochlorés

Brigitte Gallissot

► To cite this version:

Brigitte Gallissot. Mise en évidence du potentiel bioaccumulateur des bryophytes aquatiques vis-a-vis des PCB et des pesticides organochlores : étude in situ et en laboratoire proposition de grilles d'évaluation de la contamination par les organochlorés. Ecotoxicologie. Université Paul Verlaine - Metz, 1988. Français. NNT : 1988METZ013S . tel-01775567

HAL Id: tel-01775567

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01775567v1>

Submitted on 24 Apr 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>

THESE

présentée à

L'UNIVERSITE DE METZ

en vue de l'obtention du DOCTORAT de l'Université

(Ecotoxicologie)

par

Brigitte GALLISSOT

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

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

Soutenue le 17 novembre 1988 devant la commission d'examen

Directeur de thèse : **M. NOURISSON**, Professeur à l'Université de METZ,

Rapporteurs : **J.-C. PIHAN**, Professeur à l'Université de METZ,

F. RAMADE, Professeur à l'Université de PARIS XI,

à l'Ecole Vétérinaire de LYON,

Ingénieur, l'Agence de l'Eau à METZ,

Maître de Conférences, B.R.G.M.. ORLEANS,

Professeur à l'Université de METZ.

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE DE METZ



022 420298 1

THESE

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

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE (Ecotoxicologie) - METZ	
N° inv.	10880265
Cote	S/M3 88/13
Loc	Magasin

par

Brigitte GALLISSOT



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

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

Soutenue le 17 novembre 1988 devant la commission d'examen

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

AVANT-PROPOS.

Au terme de ce travail, je tiens à témoigner toute ma gratitude à Mr C. MOUVET pour le soutien tant scientifique que matériel qu'il m'a apporté.

Je tiens également à remercier :

Mr P. MARLIN, Directeur du Laboratoire Départemental d'Analyses de la Moselle, pour les conseils précieux qu'il m'a prodigué et pour la mise à ma disposition d'un chromatographe pendant deux années.

Mr le Professeur M. NOURISSON à qui j'exprime toute ma reconnaissance pour m'avoir accueilli au Laboratoire d'Ecologie de l'Université de Metz et avoir accepté la présidence de ce jury.

Mrs les Professeurs F. RAMADE et J.C. PIHAN qui malgré leurs charges ont accepté le travail de rapporteur.

Mr le Professeur G. KECK , Mr F. LANGENFELD responsable du Département de la Qualité des Eaux à l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse et Mlle la Professeur P. VASSEUR pour l'honneur qu'ils m'ont fait en participant à ce jury.

Enfin, je ne saurais terminer cette page sans témoigner toute ma reconnaissance à l'équipe du Laboratoire d'Ecologie de l'Université de Metz et à ceux qui, par leur amical soutien, m'ont aidé à passer les moments difficiles.

Ce travail a été rendu possible grâce à plusieurs études commanditées par les Agences de l'Eau Rhin-Meuse, Rhône-Méditerranée-Corse et Seine-Normandie, qu'elles en soient remerciées.

ABSTRACT.

Organochlorine pollution of french rivers (Seine, Isère, Rhône) is studied with autochthonous and implanted aquatic bryophytes. Analysis of PCB, α -HCH, β -HCH, Lindane, HCB, DDT and its metabolites in mosses allows to localise different degrees of pollution in effluents.

Implantation at specific contaminated sites has shown the resistance of mosses to a multiform pollution (289 ppm of PCB in mosses implanted in a industrial effluent, 67 ppm of DDT and its metabolites in bryophytes in the Drac river close to Grenoble).

Transfer during 6 days seems to be sufficient to obtain a good analogy between micropollutant concentrations in autochthonous and implanted mosses. Half of equilibrium concentrations is reached in 24 hours.

Accumulation and depuration kinetics of PCB by aquatic bryophytes were studied *in situ* and in laboratory. Accumulation is rapid and the steady state is reached after 10 days of accumulation.

Depuration is slow : after 17 days of depuration, bryophytes had eliminated only 47% of initial PCB concentrations. Interspecific differences do not exceed a factor of two. Quality guides based on organochlorine pollution of bryophytes are proposed.

INTRODUCTION

INTRODUCTION.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

1 - ANALYSE
BIBLIOGRAPHIQUE

1 - ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE.

1. 1 POLLUTION ORGANOCHLOREE DES EAUX SUPERFICIELLES ET BIOINDICATEURS

1.1.1 Généralités.

Les recherches de micropolluants réalisées sur l'eau sont avantageuses dans la mesure où elles donnent directement des résultats utilisables pour le contrôle de certains usages de l'eau tels que l'alimentation humaine par exemple. Les risques que les micropolluants présentent pour la santé humaine et l'environnement ont amené les gestionnaires de l'eau à s'intéresser à la distribution des micropolluants dans d'autres compartiments de l'écosystème aquatique.

En raison des variations spatiotemporelles des concentrations en polluants dans les effluents et des phénomènes de dilution, s'est posé le problème de la représentativité des résultats obtenus à partir des seuls dosages dans l'eau. Les techniques d'analyse des micropolluants aussi bien métalliques qu'organochlorés sont sensibles mais elles ne permettent pas de mesures fiables des faibles concentrations dans l'eau.

Malgré l'utilisation de techniques basées sur la concentration d'importants volumes d'eau, les analyses de routine révèlent qu'une majorité d'échantillons sont contaminés par des concentrations voisines des seuils de détection. En raison de l'absence de protocoles rapides et performants permettant d'évaluer la biodisponibilité des PCB, on ne peut estimer leur toxicité pour l'écosystème aquatique. Pour pallier l'absence de relations mathématiques fiables entre les concentrations relevées dans les eaux et celles mesurées dans d'autres compartiments aquatiques (colloïdes, biomasse), l'étude de ces compartiments en

tant qu'intégrateurs de pollution susceptibles de compléter et/ou de remplacer les analyses d'eau a donc été envisagée.

1.1.2 Principales caractéristiques des bioindicateurs.

Selon PHILLIPS (1977), un organisme bioaccumulateur représentatif du niveau de pollution d'un maillon trophique devrait répondre à certains critères :

- * avoir une large répartition géographique et être abondant,
- * être sédentaire et vivace plusieurs années, de façon à suivre l'évolution de la pollution
- * résister à des concentrations importantes d'une gamme variée de toxiques,
- * donner des corrélations simples entre sa concentration en toxiques et celle du milieu ambiant (ceci suppose qu'il n'y ait ni anabolisme ni catabolisme du produit étudié),
- * posséder une taille, un biotope et un comportement facilitant l'échantillonnage,
- * intégrer les toxiques en grandes quantités afin d'analyser sans recourir à des étapes de préconcentration,
- * être stockable et conservable,
- * pouvoir être utilisé pour les expériences de laboratoire

Les investigations commanditées par les gestionnaires français de l'eau ont permis la réalisation d'inventaires de pollution sur l'ensemble du réseau hydrologique national (MINISTERE DE L'ENVIRONNEMENT ET DU CADRE DE VIE, 1983). En ce qui concerne les micropolluants métalliques et organochlorés, leur choix s'est essentiellement porté sur les sédiments et les poissons. Que ce soit en eaux douces ou marines, ce choix n'est pas exhaustif et d'autres bioindicateurs de pollution organochlorée tels que les lamellibranches (*Dreissena polymorpha* en eaux douces, *Mytilus edulis*, *Abra nitida*, *Corbicula fluminea*, *Corbicula manilensis*, *Crassostrea virginica* en milieu marin), les crustacés (diverses espèces de crevettes dont *Palaemonetes pugio* et de crabes), les polychètes (*Capitella capitata*) ainsi que des

invertébrés d'eaux douces (chironome : *Chironomus riparius* ; larve de trichoptères) sont couramment utilisés (EKELUND et al., 1987; LEGLIZE & CROCHARD, 1987; SHAW & CONNELL, 1987; THOME et al., 1987; CLARK et al., 1986; TATEN, 1986; BUSH et al., 1985; FISHER, 1985; FORTNER & SICK, 1985; ELDER & MATTRAW, 1984; DUINKER et al., 1983; KOCK, 1981; NIMMO et al., 1974; VREELAND, 1974; SANDERS & CHANDLER, 1972; NIMMO et al., 1971).

Certains des bioindicateurs sus-cités ne possèdent pas tous les critères énumérés dans la liste de Phillips.

L'emploi des sédiments se heurte au problème de la sédentarité. En effet, s'ils sont relativement statiques en milieu lacustre, ce n'est pas le cas dans les rivières rapides. Outre les difficultés liées à l'échantillonnage, se pose aussi le problème de la représentativité de la granulométrie. En raison de profils hydrologiques complexes, la granulométrie des sédiments, leur teneur en carbone organique et leur vitesse de sédimentation sont autant de paramètres variables rendant peu aisée l'interprétation des résultats et la comparaison des teneurs dans des biotopes diversifiés.

Bien que la recherche de molécules organochlorées chez les poissons soit facilitée par leur richesse en lipides, leur utilisation comme bioindicateurs est cependant délicate. Outre le coût et les difficultés d'échantillonnage, les poissons ne sont pas sédentaires, ils ne résistent pas à des concentrations élevées de toxiques, et leur pool lipidique fluctue énormément selon les espèces, l'âge, le sexe, les saisons et les organes. De plus, les corrélations entre les teneurs de l'eau et celles des tissus sont d'une part compliquées par l'absorption et le métabolisme sélectif de certains isomères et d'autre part, liées aux difficultés à différencier la bioaccumulation de la biomagnification. Leur position dans les chaînes trophiques justifie cependant leur étude.

Tableau 1 Comparaison des avantages et des inconvénients respectifs des végétaux utilisables comme accumulateurs de micropolluants.

	AVANTAGES	INCONVÉNIENTS
PHYTOPLANCTON PERIPHYTON	<ul style="list-style-type: none"> . Rôle important dans les chaînes trophiques . Facteurs de concentration très élevés . Abondant et ubiquiste 	<ul style="list-style-type: none"> . Dérive spatiale (surtout le phytoplancton) . Très sensible aux toxiques . Prélèvement quantitatif délicat . Indissociable des particules minérales . Développement très saisonnier (surtout phytoplancton)
PHANEROGAMES (<i>Potamogeton</i> , <i>Elodea</i> , <i>Nuphar</i> , <i>Phragmites</i> ...)	<ul style="list-style-type: none"> . Identification facile . Prélèvement aisé . Fixés la plupart du temps 	<ul style="list-style-type: none"> . Présents seulement dans les milieux peu altérés physiquement et chimiquement . Très grande différence d'accumulation selon les espèces . Concentration très variable selon l'organe prélevé . Très grande variabilité des concentrations entre individus d'une même espèce . Relation très complexe et variable selon le métal entre concentrations dans la plante et concentrations dans les sédiments ou dans l'eau
ALGUES MACROSCOPIQUES (<i>Cladophora</i> , <i>Lemanea</i> , <i>Enteromorpha</i> ...)	<ul style="list-style-type: none"> . Identification et prélèvement aisés . Fixées la plupart du temps . Facteurs de concentration élevés . Abondantes et relativement ubiquistes . Assez résistantes aux toxiques . Présentes dans des milieux très dégradés . Reflètent les concentrations dans l'eau 	<ul style="list-style-type: none"> . Développement très saisonnier . Très sensibles aux conditions hydrologiques (crues)
BRYOPHYTES (<i>Fontinalis</i> , <i>Cinclidotus</i> , <i>Platyhypnidium</i> , <i>Scapania</i> ...)	<ul style="list-style-type: none"> . Identification et prélèvement aisés . Fixées et pérennes . Facteurs de concentration très élevés . Abondantes et ubiquistes . Très résistantes aux toxiques et présentes dans des milieux très dégradés . Reflètent bien les concentrations dans l'eau 	<ul style="list-style-type: none"> . Sensibles aux conditions physiques du milieu (nécessitent un support stable)

1.1.3 Mousses aquatiques et micropollutions.

L'utilisation des mousses aquatiques comme bioindicateurs de pollution métallique a fait l'objet de nombreux travaux (JONES et al., 1985 ; MOUVET et al., 1985a; MOUVET, 1983; SATAKE et al., 1983; SAY & WHITTON, 1983; WEHR & WHITTON, 1983; SAY et al., 1981; EMPAIN et al., 1980; EMPAIN, 1978; EMPAIN, 1977; EMPAIN, 1976; EMPAIN, 1973 a et b). Les avantages de ces organismes sont résumés au tableau 1. Si leur potentiel bioaccumulateur de métaux n'est plus à démontrer, il existe en revanche peu de travaux concernant leur utilisation en tant que bioindicateurs de pollution organochlorée (MOUVET et al., 1985c; FRISQUE et al., 1983; ASWALD et al., 1979; KECK & RAFFENOT, 1979). Par contre, la bioaccumulation des molécules organochlorées par les bryophytes terrestres est mieux connue (BACCI et al., 1988; BACCI & GAGGI, 1986; BACCI et al., 1986; THOMAS et al., 1985; OEHM et al., 1985; THOMAS, 1984 ; THOMAS et al., 1984; THOMAS, 1979).

1.1.3.1 Description sommaire de la systématique des bryophytes.

D'un point de vue taxonomique, les mousses aquatiques sont caractérisées par l'absence de système vasculaire, elles appartiennent à la superclasse des bryophytes elle-même divisée en trois classes : *Hepaticae*, *Musci* et *Anthocerotae*. Les hépatiques sont représentées par deux sous-classes (*Jungermanniiidae* et *Marchantiidae*) totalisant 7 ordres différents. Les hépatiques dont le biotope est essentiellement humide ont des feuilles constituées d'un épithélium unistratifié dont les cellules sont presque toutes identiques.

Les mousses de la classe des *Musci*, qu'elles soient aquatiques ou terrestres, possèdent des tiges à faisceau axial et du parenchyme différencié. Leurs feuilles peuvent être pluristratifiées et présenter des nervures différenciées. Les feuilles s'insèrent autour de la tige et les rhyzoïdes sont pluricellulaires. Les genres *Fontinalis*, *Cinclidotus*, *Platyhypnidium*, *Racomitrium*, *Brachytecium* et *Sphagnum* font partie de

cette classe. La classe des *Anthocerotae* qui ne comporte qu'un seul genre ne sera pas évoquée dans ce travail.

1.1.3.2 Adaptations physiologiques des mousses aquatiques.

Les mousses aquatiques s'adaptent à des conditions naturelles extrêmes dans lesquelles la plupart des autres macrophytes aquatiques ne subsisteraient pas. En effet, les mousses peuvent croître dans des milieux peu éclairés, résistent à la déshydratation et survivent en étant hydratées à des températures élevées.

A faible intensité lumineuse, l'adaptation consiste en une modification de la balance des pigments chlorophylliens, la concentration en chlorophylle totale n'étant cependant pas modifiée. Quand *Fontinalis* est exposée à des températures supérieures à 20 °C, elle est incapable de faire prévaloir la photosynthèse sur la photorespiration si bien que cette espèce est absente des milieux tropicaux (GLIME & VITT, 1984). Seul, dans ces conditions, le gaz carbonique est utilisé pour la photosynthèse. Les mousses aquatiques sont incapables d'utiliser les bicarbonates comme source de carbone; elles possèdent néanmoins une chaîne de transfert d'électrons leur permettant d'abaisser le pH de l'eau, ce qui provoque une dissociation des bicarbonates et crée ainsi un gradient de gaz carbonique à la surface des feuilles (MOUVET, 1986).

L'influence de la température sur la croissance des mousses aquatiques est importante, l'optimum se situant entre 10°C et 20°C. Toutefois, les bryophytes issues de milieux soumis à une pollution thermique peuvent s'adapter à des températures de l'ordre de 25°C (EMPAIN, 1977) voire résister à 4 jours d'immersion dans de l'eau à 100°C (GLIME & CARR, 1974).

En période d'étiage, les bryophytes résistent à la dessiccation; celle-ci induit des modifications de la répartition cellulaire des ions potassium et magnésium (BROWN & BUCK, 1979).

Une exposition de 5 jours à une température comprise entre 45 et 85°C ne suffit pas à tuer *Fontinalis novae-angliae* qui, replacée dans un cours d'eau, produit de nouvelles ramifications dans les 6 mois suivants (GLIME & CARR, 1974). *Fontinalis novae-angliae* et *Fontinalis dalecarlica* conservent leur potentiel de croissance après une émergence de 12 mois, quelques semaines d'immersion suffisent pour qu'elles produisent à nouveau des bourgeons (GLIME, 1971). Les espèces du genre *Cinclidotus* résistent également à une dessiccation à 45°C pendant 3 jours (EMPAIN, 1977). A basses températures, la glace constitue un isolant et la concentration ionique intracellulaire est suffisante pour abaisser le point de congélation en-dessous de zéro. Certaines espèces peuvent supporter une température de -10°C pendant 6 heures sans que la photosynthèse, la respiration et la concentration en chlorophylle en soient altérées (DILKS & PROCTOR, 1975).

En ce qui concerne la lumière, les exigences des mousses aquatiques sont faibles, elles survivent d'ailleurs jusqu'à 12 mètres de profondeur dans les lochs écossais (LIGHT & LEWIS SMITH, 1976) et même à 129 mètres dans certains lacs américains (HASLER, 1983 in: GLIME & VITT, 1984). Cette faculté réside dans l'inhibition de la photorespiration aux faibles intensités lumineuses (JACKSON & VOLK, 1970). Les cycles de reproduction des bryophytes sont régulés par la photopériode. Ainsi, une courte photopériode induit la différenciation des archégones de *F. dalecarlica*, alors qu'une longue photopériode favorise la croissance végétative et l'apparition de rhyzoïdes (GLIME, 1984).

L'intensité lumineuse nécessaire à 90% de la photosynthèse maximale augmente avec la température, elle triple entre 5 et 30°C (EMPAIN, 1977). La prise en compte des exigences en lumière et en température déterminées *in vitro* pour différentes espèces permet de comprendre l'importance de la fréquence d'émergence et de l'ensoleillement dans la répartition observée *in situ*.

La principale source d'azote des mousses est sous forme de nitrates dissous. Grâce à un pool enzymatique spécifique, *F. antipyretica* (SCHWOERBEL & TILLMANN, 1974) et *Scapania undulata*

TABLEAU 2 : Gammes de valeurs de paramètres physico-chimiques et de micropolluants relevées dans différentes études de terrain faisant appel aux bryophytes aquatiques.

PARAMETRES	UNITES	MINIMUM	MAXIMUM
Température	°C	0,2	25
O ₂ : % saturation	%	35,5	144
Conductivité	µS/cm à 25 °C	44	3510
pH	-	3,9	9,4
Ca CO ₃	mg/L	0,5	356
NH ₄	µg/L N	<5	12522
NO ₂	µg/L N	<1	655
NO ₃	µg/L N	0,008	31,9
PO ₄	µg/L P	<5	3888
SO ₄	mg/L	1,3	938
Cl	mg/L	2,3	993
Ca	mg/L	2,4	438
As	µg/L	0,1	13
Cd	µg/L	0,1	69
Cr	µg/L	1	200
Cu	µg/L	0,9	71
Pb	µg/L	1	231
Zn	µg/L	6	58000
Hg	µg/L	< ld	0,6
COMPOSES ORGANOCHLORES : PCB ET PESTICIDES			
Lindane	ng/L	< ld	132
PCB	ng/L	< ld	730
HCB	ng/L	< ld	14
Σ DDT	ng/L	< ld	180

ld : limite de détection.

(MIYAZAKI & SATAKE, 1985) peuvent cependant utiliser l'azote ammoniacal. Une autre source d'azote potentielle résulterait d'une symbiose à cyanophycées, ces dernières ayant été observées sur des mousses humides (SATAKE & MIYASAKA, 1984; GRANHALL & SELANDER, 1973).

Les mousses se propagent à la fois de manière sexuée et asexuée. En raison du caractère dioïque de certaines espèces (*Fontinalis*, *Cinclidotus*), la fructification est rarement observée (VON DER DRUNK & VON DER DUNK, 1977). La propagation végétative s'effectue par la production de protonema à l'extrémité des feuilles ou de rhizoïdes à partir de fragments de tiges (GLIME et al., 1979). La propagation des mousses peut également être assurée par l'intermédiaire de la faune aquatique (GLIME, 1978).

1.1.3.3 Niche écologique et aire de répartition des mousses.

En raison de leur faible exigence et de leur résistance à des pollutions multiformes, les mousses aquatiques s'adaptent à des eaux dont les caractéristiques physicochimiques sont très diversifiées (Tableau 2 in : MOUVET, 1986). Pour se développer, elles ont besoin d'un support stable, ce qui peut, dans bien des cas, constituer un facteur limitant. La nature du substrat importe peu (rochers, racines d'arbres, arches de ponts, murs de soutènement de barrages ou de rives...). La vitesse du courant n'est pas un facteur limitant les peuplements puisqu'on les trouve dans certains lacs (LIGHT & LEWIS SMITH, 1976; WILLIAMS, 1930). Par contre, l'effet abrasif des matières en suspension conjugué à leur adsorption sur les feuilles réduisent probablement les échanges eau-mousse, ce qui peut constituer un facteur de contrôle des populations, de même que la turbidité de l'eau diminue la lumière dont peuvent disposer les mousses.

Dans les rivières européennes, les bryophytes se répartissent essentiellement dans la zone de battement entre les niveaux d'étiage et de crue, soit à une profondeur moyenne voisine de 50 cm. Outre le gradient d'immersion, d'autres facteurs (la

résistance à la dessiccation) expliquent la différenciation d'une zonation bien définie allant d'espèces strictement aquatiques à des espèces semi-aquatiques et enfin terrestres. La fréquence d'immersion et le degré de pollution peuvent modifier la morphologie de certaines espèces (EMPAIN, 1977).

En résumé, les populations de bryophytes aquatiques sont stables et présentes dans la plupart des rivières européennes. Leur croissance qui a lieu toute l'année permet un suivi permanent. Si leur réponse rapide et leur bonne résistance à une pollution métallique multiforme les désignent comme des bioaccumulateurs de choix, qu'en est-il en ce qui concerne les pesticides organochlorés et les PCB ?

1.2 ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE DE L'ECOTOXICITE DES PCB.

L'approche écotoxicologique de la contamination des systèmes naturels se heurte en permanence à leur complexité. La dimension écologique nécessite de prendre en compte outre les paramètres biotiques de l'environnement, les relations interspécifiques et leur variabilité dans le temps et l'espace. Aussi, pour permettre une approche analytique performante ainsi qu'une meilleure compréhension des relations eau-organochlorés-bryophytes, nous avons tout d'abord étudié l'écotoxicologie de micropolluants organochlorés type : les PCB.

1.2.1 Découverte de l'aspect écotoxicologique des PCB.

Les biphényles polychlorés ou PCB (abréviation de polychlorinated biphenyls) synthétisés *de novo* en 1881 par SCHMIDT et SCHLUM n'ont en fait été produits à l'échelle industrielle qu'à partir des années 1930. Ces molécules, à propriétés chimiques multiples, ont un vaste domaine d'application. En France, leur

production annuelle était de 1 800 tonnes en 1986 (DENIS-LEMPEREUR, 1986).

Bien que quelques cas d'intoxication aient été signalés à partir des années 1940 (O.M.S., 1976), les études toxicologiques des PCB n'ont véritablement débuté qu'à la suite de l'accident de Yusho en 1968 où plus d'un millier de personnes ont été intoxiquées après avoir ingéré du riz contaminé par un fluide hydraulique à base de PCB (JENSEN, 1972).

L'impact de telles molécules sur l'environnement est resté insoupçonné jusqu'en 1966. En effectuant des recherches de pesticides organochlorés sur la graisse de pygargue à queue blanche et de brochets, JENSEN avait remarqué la présence de résidus chlorés inconnus et non attribuables à des pesticides (JENSEN, 1972). La recherche de ces résidus dans des pygargues à queue blanche provenant des collections du muséum de Stockholom se révélait fructueuse sur les animaux collectés à partir de 1942. Les pesticides organochlorés n'ayant été utilisés qu'en 1945, les substances inconnues ne pouvaient donc correspondre à leur métabolites. L'amélioration des techniques d'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) confirmait l'identification des PCB (WIDMARK, 1967). Des études ultérieures (KUTZ *et al.*, 1979; WASSERMAN *et al.*, 1979; GREICHUS *et al.*, 1978 a et b; FUJIWARA, 1975; BENGTSON & SODERGREN, 1974; SODERGREN *et al.*, 1972; RISEBROUGH *et al.*, 1968) confirment la présence des PCB dans la plupart des composants de la biosphère : atmosphère, rivières, lacs, sédiments lacustres et océaniques, faune et flore domestiques et sauvages.

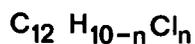
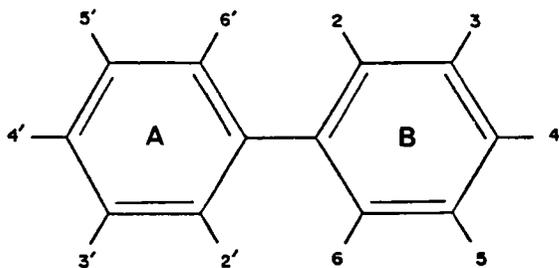
1.2.2 Structure chimique des PCB.

Les PCB sont constitués de deux cycles benzéniques substitués par un nombre n d'atomes de chlore variant de 1 à 10.

TABLEAU 3 : Principaux fabricants et noms usuels de produits contenant des PCB.

PAYS	NOMS COMMERCIAUX	FIRMES
U.S.A	Asbestol Chlorextol Diaclor Dykanol Elemex Hyvol Inerteen No-Flamol Pyranol Saf-T-Kuhl Therminol Aroclor	American Corporation Allis Chlamers Sangamo Electric Cornell Dubilier Mac Graw Edison Aerovox Westinghouse Electric Wagner Electric General Electric Kuhlman Electric Monsanto Monsanto
G.B.	Aroclor	Monsanto
R.F.A.	Clophen	Bayer
France	Phenoclor Pyralène Electrophényle	Rhône-Poulenc Prodélec Ugine-Kuhlman
U.R.S.S.	Soval	Sovol
TCHECOSLOVAQUIE	Delor	Chemko
JAPON	Santotherm Kanechlor	Mitsubishi-Monsanto Kanegafuchi Chem. Co.
ITALIE	Fenclor D.K.	Caffaro Caffaro

Inspiré de : RAFFENOT, 1979.



$$n = x + y$$

x = nombre d'atomes de chlore sur le cycle A

y = nombre d'atomes de chlore sur le cycle B

n = nombre d'atomes de chlore de la molécule de PCB

Figure 1 : Structure générale des PCB.

Les PCB sont obtenus par chlorations successives du biphényle en présence de divers catalyseurs. Selon la température, la nature et la quantité de catalyseur employées ainsi que le mode d'introduction du chlore dans la chambre réactionnelle, on aboutit à la formation d'un mélange d'isomères caractérisé par son pourcentage de chlore. Le terme "polychlorobiphényle" englobe donc une série de mélanges industriels d'isomères de biphényle différemment chlorés. Théoriquement, 209 isomères sont possibles mais en fait les mélanges commerciaux n'en contiennent qu'une centaine (WIDMARK, 1968).

1.2.3 Composition des mélanges commerciaux.

Les PCB ne sont pas vendus d'après leur composition, mais selon leurs propriétés physiques. La dénomination commerciale des PCB varie d'un pays à l'autre et suivant les firmes. Le tableau 3 résume les principales marques mondiales de PCB.

Dans le cas des Aroclor, produits commercialisés par MONSANTO, un code complète l'appellation. Les deux premiers chiffres (12) indiquent le nombre d'atomes de carbone du biphényle et les deux suivants représentent le pourcentage en poids de chlore du mélange. Par exemple, l'Aroclor 1221 contient 21% de chlore, l'Aroclor 1260, 60% de chlore. Pour les autres marques commerciales de PCB, les chiffres peuvent indiquer le nombre moyen d'atomes de chlore: ainsi le Chlophen A 60, le Phenochlor DP 6 et le Kaneklor 600 sont des biphényles avec un taux moyen de 6 atomes de chlore par molécule. Le tableau 4 décrit la composition de quelques mélanges commerciaux de PCB.

TABEAU 4 : Composition en % de poids de quelques mélanges commerciaux de PCB.

PCB	AROCLOR				KANECHLOR		
	1221	1242	1254	1260	300	400	500
Biphényle	11	0,1	0,1	*	n.d.	n.d.	n.d.
Monochlorés	51	8	0,1	*	n.d.	n.d.	n.d.
Dichlorés	32	16	0,5	*	17	3	*
Trichlorés	4	49	1	*	60	33	5
Tétrachlorés	2	25	32	*	23	44	27
Pentachlorés	0,5	8	48	12	0,6	16	55
Hexachlorés	*	1	23	38	n.d.	n.d.	13
Heptachlorés	*	0,1	6	41	n.d.	n.d.	n.d.
Octochlorés	n.d.	n.d.	n.d.	8	n.d.	n.d.	n.d.
Nonachlorés	n.d.	n.d.	n.d.	1	n.d.	n.d.	n.d.

Source : HUTZINGER et al., 1974 ; LLOYD et al., 1976.

1.2.4 Propriétés physiques des polychlorobiphényles.

Les PCB, dont la densité varie entre 1,34 et 1,94, forment une famille de molécules aux propriétés physiques variables selon le taux de chloration (HUTZINGER et al., 1974).

Les PCB légers se présentent sous forme huileuse mais au fur et à mesure que le nombre de chlore augmente, on passe de composés liquides incolores à des produits jaunâtres, huileux, visqueux puis résineux pour enfin aboutir à des solides blancs type Aroclor 1268. Ils sont solubles dans la plupart des solvants organiques (ex.: acétone, hexane, ether de pétrole etc...) mais très peu solubles dans l'eau (de l'ordre de quelques µg à quelques dizaines de µg/L selon les congénères et les mélanges considérés).

Les PCB sont ininflammables, bons conducteurs thermiques, résistants aux agents oxydants, aux bases et acides forts et sont sans action sur les métaux courants. Selon le taux de chloration, le point d'ébullition des PCB varie de 250 à 480°C, leur stabilité thermique est voisine de 300°C et ils sont détruits aux environs de 1000°C.

Compte-tenu de leur bonne stabilité chimique et thermique, de leur pouvoir diélectrique important et de leur faible coût de production, les PCB ont ainsi de nombreuses applications commerciales.

1.2.5 Principales applications industrielles des PCB.

D'un point de vue environnemental, on peut classer les applications industrielles en trois grandes catégories.

1 - Les systèmes clos contrôlables.

En raison de leurs propriétés diélectriques et de leur stabilité aussi bien thermique que chimique, les PCB sont utilisés comme fluides isolants dans les transformateurs et les gros

TABLEAU 5 : Principales utilisations des PCB de marque Aroclor
(firme Monsanto) selon leur degré de chloration.

Systemes clos.

Transformateurs électriques	1242, 1254, 1260
Condensateurs électriques	1221, 1254, 1016

Systemes semi-clos.

Fluide caloporteurs	1242
Fluide hydrauliques	1232, 1242, 1248, 1254, 1260

Systemes ouverts.

Adhésif	1221, 1232, 1242, 1248, 1254
Plastifiant des caoutchouc	1231, 1232, 1242, 1248, 1254, 1264
Plastifiant pour encaustiques	1242, 1254, 1268
Antipoussière, antistatique	1242, 1254, 1268
Adjuvant des encres	1254
Adjuvant des huiles de coupe	1254
Adjuvant des huiles de moteur	1260
Adjuvant de produits phytosanitaires	1254, 1260
Photocopies au carbone	1242
Huiles à immersion pour microscopes	1260
Plastifiant de résine synthétique	1248, 1254, 1260, 1262, 1268

Source: HUTZINGER *et al.*, 1974.

condensateurs. Les quantités de PCB utilisées dans ces appareils sont telles qu'elles peuvent justifier une récupération et (ou) une régénération lors de la mise au rebut.

2 - les systèmes semi-clos incontrôlables.

En raison de leurs propriétés caloportrices, les PCB sont utilisés dans des systèmes d'échangeurs thermiques et hydrauliques qui peuvent présenter certaines fuites. Leur emploi dans des appareils de taille restreinte (régulateurs de tension, redresseurs, transistors, petits condensateurs d'émetteurs radio et de moteurs électriques etc...) fait qu'après usure de ces appareils, une infrastructure de récupération semble peu envisageable compte tenu des coûts qu'elle entraînerait.

3 - Les systèmes ouverts incontrôlables.

Les PCB entrent dans la composition de toute une gamme de produits industriels. Puisqu'ils résistent bien aux agents oxydants, les PCB ont servi d'anticorrosifs dans la formulation des peintures et vernis utilisés pour peindre les coques de bateaux (JENSEN, 1972). On les retrouve aussi dans les huiles de coupe, de lubrification et de moulage, les colles, les plastiques, plastifiants et adhésifs, les encres d'imprimerie et de photocopie au carbone, les agents antipoussières et antistatiques, les textiles et papiers à propriétés hydrophobes et l'huile à immersion pour microscopes (ALVARES et al., 1977). Pour limiter la volatilisation des principes actifs de certaines préparations phytosanitaires, les PCB ont également été utilisés comme adjuvants (VEITH & LEE, 1970). Compte tenu du tonnage des produits phytosanitaires annuellement épandus sur la terre (0,5 Kg/habitant annuellement ; environ 2 millions de tonnes par an), ces préparations ont un rôle important dans la dispersion des PCB dans l'environnement (ANONYME, 1985).

Dans ces applications, les PCB sont en contact direct avec l'environnement, donc irrécupérables après utilisation ou épandage des produits. Le tableau 5 résume quelques unes des utilisations des PCB.

1.2.6 Production et législation relative aux PCB.

PRODUCTION.

En 1975, la production cumulée des Etats-Unis depuis 1930 était estimée à 570 000 tonnes (DURFEE in BROWN et al., 1987) dont 15 % (80 000 t.) ont été répandues dans l'environnement. Bien que la fabrication ait été arrêtée en 1977 (RUSSEL, 1977), SCHECTER et al., (1985a) supposent que les 40000 transformateurs et les 2,8 millions de capaciteurs encore actuellement en service au Etats-Unis recèlent des quantités respectives de 34000 et 40000 tonnes de PCB. On estime qu'à l'heure actuelle, un million de tonnes de PCB contaminent la biosphère (HUTZINGER et al., 1974). En France, la production essentiellement assurée par Rhône-Poulenc (Pont de Claix) et Pechiney-Ugine-Kulman (Jarrie) est passée de 9650 tonnes en 1973 à 7000 tonnes en 1981 (MONOD, 1983). Depuis quelques années, une fabrique commercialisant des PCB sous la dénomination de Prodelec a stoppé sa production et remplacé les PCB par un produit biodégradable à mêmes propriétés ininflammables (l'Ugilec T). Signalons toutefois que cette firme a continué à exporter les mélanges les moins chlorés jusqu'en 1988. En 1985, la consommation était de 1 800 tonnes dont 1 500 tonnes pour les transformateurs à Pyralène, 250 tonnes pour les condensateurs et environ 50 tonnes pour les fluides caloporteurs et hydrauliques type huiles de soutènement utilisées en industrie minière (KECK, 1977).

Le recensement officiel du parc français des transformateurs privés ou appartenant à E.D.F. s'est achevé en juillet 1988. Les gros transformateurs appartenant à EDF sont en grande partie remplis d'huiles minérales ; seuls 2% à 3% des 450000 unités en service contiennent du Pyralène. Par contre, sur le réseau privé, 50% à 60% des appareils vendus sont au Pyralène. On peut supposer qu'il existerait quelques 100000 transformateurs au Pyralène (10% appartenant à EDF, les autres privés) sur l'hexagone soit un réservoir de PCB qu'on peut évaluer entre 10000 et 100000 tonnes (MINISTERE DE L'ENVIRONNEMENT, 1987). Signalons qu'entre 1986 et 1988, E.D.F. a retiré du réseau 2000 appareils

défectueux ; on estime que dans 10 à 20 ans, l'ensemble du parc français des transformateurs au Pylalène sera remplacé (DENIS LEMPEREUR, 1985).

LEGISLATION.

Le tableau 6, inspiré de RAFFENOT (1979), donne un bref aperçu de la législation relative aux PCB.

L'arrêté du 8 juillet 1975 (J.O. du 26 juillet 1975) réglemente la collecte, la récupération et la destruction des PCB et réserve leur usage aux systèmes clos.

La circulaire du 30 septembre 1985 (J.O. du 6 février 1986) prévoit dans un délai de 2 ans de soumettre à déclaration la détention de composants imprégnés de PCB (au-delà de 30 litres) et à autorisation leur fabrication, réparation ou démontage. Cette circulaire fixe également des prescriptions d'ordre technique relatives à la manipulation et à l'utilisation industrielle des PCB.

D'autre part, la directive européenne adoptée par la France le 27 juin 1985 interdit à compter du 30 juin 1986 l'implantation de nouveaux appareils utilisant des PCB ou en contenant plus de 100 ppm. Après une mise en conformité, les appareils existants demeurent toutefois en service.

Le décret du 2 février 1987 interdit la vente et l'acquisition de PCB ou d'appareils en contenant. La mise en service d'appareils neufs en contenant est désormais interdite.

TABLEAU 6 : Bref aperçu historique de la législation relative aux PCB.

<u>1966</u>	Découverte par JENSEN de la contamination de l'environnement par les PCB.
<u>1968</u>	Epidémie de Yusho au Japon, plus de 1 000 intoxiqués.
<u>1970</u>	Suppression en Finlande de l'emploi des PCB dans les peintures anticorrosives, les laques et les colles.
<u>1972</u>	La loi de janvier supprime en Suède l'importation, la fabrication, la vente et l'utilisation des PCB sans l'accord des autorités.
<u>1972</u>	Arrêt de la production au Japon.
<u>1973</u>	L'OCDE recommande à ses membres de s'assurer que les PCB ne sont utilisés que dans les transformateurs, les fluides caloporteurs, les fluides hydrauliques du matériel minier et les petits condensateurs. Le Canada adhère immédiatement à cette proposition.
<u>1975</u>	En France, arrêté du 8 juillet. Inscription des PCB et des PCT à la section 1 du tableau C des substances vénéneuses.
<u>1977</u>	Arrêt de la fabrication aux U.S.A.
<u>1983</u>	L'arrêté du 10 octobre 1983 réglemente l'étiquetage et l'emballage des substances dangereuses, les PCB sont classés parmi les substances nocives.
<u>1985</u>	Directive européenne interdisant l'implantation de nouveaux appareils contenant plus de 100 ppm de PCB.
<u>1986</u>	Le décret du 6 février réglemente les installations utilisant des PCB.
<u>1987</u>	Le décret du 2 février 87 interdit la vente et l'acquisition de PCB ou d'appareils en contenant. La mise en service d'appareils neufs est désormais interdite.

Source: inspiré de RAFFENOT, 1979.

1. 3 CONTAMINATION DES ECOSYSTEMES AQUATIQUES PAR LES PCB.

Les publications sur les PCB sont très nombreuses dans toutes les disciplines concernées. Notre objectif n'est donc pas un exposé complet et détaillé de la littérature concernant les PCB, mais seulement une synthèse essentiellement axée sur leurs aspects écotoxicologiques et en particulier la spéciation des molécules hydrophobes. Les aspects toxicologiques des PCB (toxicologie aiguë et chronique, écotoxicité) sont sommairement abordés en Annexe 1.

La pénétration des PCB dans l'environnement a essentiellement eu lieu avant que n'interviennent les limitations de production et d'utilisation. Leur résistance aux agents chimiques et biologiques explique leur grande rémanence dans l'environnement. La pollution est aussi bien directe (fuites, remplacement ou ruptures de canalisation dans les usines de production, décharges volontaires de fluides caloporteurs,...) que diffuse (volatilisation, mise au rebut d'appareils renfermant des condensateurs à PCB, combustion incomplète de déchets à base de matières plastiques, de caoutchoucs, diffusion à partir de matières plastiques, de peintures, de solutions phytosanitaires, etc...).

1.3.1 Voies de pénétration dans les écosystèmes aquatiques.

1.3.1.1 Apports par les eaux usées.

1.3.1.1.1 Origine domestique.

Hormis les rejets ponctuels dus à des pollutions accidentelles (ou non), l'apport majeur en PCB dans les eaux continentales se fait par l'intermédiaire d'effluents domestiques et industriels. Ainsi les régions à haute densité de population et à forte activité industrielle ont des effluents dont les concentrations en PCB et la composition en congénères fluctuent en

fonction de l'heure et des activités socio-professionnelles (DE ALENCASTRO *et al.*, 1985; MONOD, 1984; DE ALENCASTRO & TARRADELLAS, 1983). L'épuration des eaux usées par dégradation bactérienne réduit les rejets en PCB légers (Mc INTYRE & LESTER, 1984) mais elle est limitée en ce qui concerne les congénères à plus fort taux de chloration (VITKUS *et al.*, 1985). Notons à ce propos que les souches bactériennes aérobies isolées des boues activées sont mieux adaptées et métabolisent plus rapidement que les souches anaérobies (BEDARD *et al.*, 1986).

1.3.1.1.2 Origine industrielle.

Les usines de production et/ou d'utilisation de PCB constituent des sources de pollution importantes. Ainsi, HORN *et al.* (1979) (in BROWN *et al.*, 1985) estiment que deux unités de fabrication de condensateurs ont déversé, pendant 30 ans, 14 Kg de PCB par jour dans l'Hudson (USA). Malgré plusieurs curages et l'élimination de 1,2 million de m³ de sédiments contaminés par 70 tonnes de PCB, on suppose qu'en 1978, il restait encore 288 tonnes de PCB dans le lit de cette rivière. En 1978, l'EPA a estimé les rejets annuels de PCB dans les effluents domestiques et industriels des USA à environ 110 tonnes (VITKUS *et al.*, 1985). En France, une étude menée par notre laboratoire estimait à 3,2 Kg, la quantité de PCB annuellement déversée dans la Moselle par une fabrique de condensateurs (MOUVET *et al.*, 1985b). Le flux moyen annuel de PCB dans le Rhin à la frontière germano-néerlandaise est évalué entre 400 et 900 Kg par an (estimation calculée sur la base de données recueillies en 1984).

1.3.1.2 Apports atmosphériques.

1.3.1.2.1 Evaluation quantitative.

Outre les apports en PCB par les effluents industriels et domestiques, les précipitations atmosphériques (pluies et dépôts secs) constituent une source longtemps restée insoupçonnée mais

néanmoins importante de pollution des eaux superficielles. En effet, la tension de vapeur des congénères présents dans les mélanges commerciaux est suffisamment élevée pour que les PCB se volatilisent (MURPHY et al., 1987 ; BURKHARD et al., 1985a) et subissent des réactions d'oxydation avec les radicaux libres et l'ozone de la troposphère (ATKINSON, 1987). Le temps de séjour dans l'atmosphère est proportionnel au nombre de carbones substitués en chlore ; il est de 14 à 30 jours pour les trichlorés et de 60 à 120 jours pour les pentachlorés.

Aux USA, à la suite des restrictions d'utilisation et de production, la charge en PCB des effluents a effectivement diminué et il est à l'heure actuelle prouvé que l'atmosphère constitue la source majeure de pollution en ce qui concerne les lacs Michigan, Supérieur et Huron (EISENREICH et al., 1981). En 1980, 90% de la pollution du Lac Supérieur par les PCB, soit 8 tonnes par an, était imputable aux apports atmosphériques (EISENREICH et al., 1980).

Les pluies des hémisphères Nord et Sud sont également polluées par les pesticides organochlorés et les PCB. Ainsi, THOMAS (1984) mesure en Bavière des concentrations en PCB de 8 à 13 ng/L d'eau de pluie. La densité, la taille et la nature des aérosols ainsi que le pH, la taille et la densité des gouttes de pluie influencent fortement les concentrations en PCB des précipitations. BACCI et al. (1986) suggèrent que les différences de teneurs en PCB dans l'air au-dessus de la Hollande (963 pg/m³) et de l'Antarctique (60 pg/m³) seraient imputables à la densité et à la nature des aérosols.

En milieu urbain et rural, les teneurs moyennes en PCB dans l'air des USA sont respectivement de 7 ng/m³ et de 0,5 à 2 ng/m³ ce qui équivaut, pour une colonne d'air de 2 km, à 18 tonnes de PCB adsorbés sur les aérosols (ATKINSON, 1987). En estimant le temps moyen de résidence dans l'atmosphère à une semaine, environ 900 tonnes de PCB transitent annuellement au dessus des USA, ce qui représente un dépôt annuel de 60 g de PCB par Km² de surface territoriale (MURPHY et al., 1985). Si l'apport atmosphérique en

micropolluants organochlorés est important pour les lacs et les océans, comparativement aux apports liés aux activités humaines s'exerçant à proximité, il est sans doute faible dans le cas des rivières et des fleuves .

1.3.1.2.2 Origine des apports atmosphériques.

Les sources de PCB dans l'atmosphère sont variées : évaporation à partir de peintures, de traitements phytosanitaires, de plastifiants, de fluides caloporteurs ; émission par des fours industriels brûlant des hydrocarbures et des fuels ; émission par les incinérateurs et par les dépôts d'ordures (GONNORD et al., 1985). L'émission de PCB par les incinérateurs est estimée entre 0,3 et 3 µg par m³ de déchets brûlés et pour les décharges, elle est de 0,3 µg par m³ de méthane produit par décomposition anaérobie des ordures. En 1978, MURPHY et al. (1985) supposent qu'aux USA, 140 000 tonnes de PCB sont déversées dans les décharges. De ce fait, des quantités de l'ordre de 10 à 100 Kg de PCB sont annuellement volatilisées par les décharges et environ 0,25 Kg/an par chaque cheminée d'incinérateur (MURPHY et al., 1985; BUSER, 1978).

1.3.1.2.3 Partage des PCB entre l'atmosphère et l'eau.

Le partage des PCB entre l'atmosphère et l'eau est modulé par plusieurs paramètres dont le plus important semble être le film organique situé à l'interface eau-air (BIGGAR & RIGGS, 1974). Ce film, composé de lipides (acides gras à longues chaînes, alcools et acides gras estérifiés), résulte de l'activité biologique de l'eau et représente une masse de 0,3 à 20 mg/m² de surface d'eau. Compte tenu de la lipophilie des PCB, et sur une base de 10 mg de lipides/m² de surface, OFSTAD-BAUMAN (1979) estime que les teneurs en PCB du film organique de l'interface eau-air de l'Antarctique sont de l'ordre de 5 à 50 ppm/m². La comparaison de ces valeurs avec celles des masses d'eau sous-jacentes révèle que le film d'interface est 10⁶ à 10⁷ fois plus chargé. La teneur en lipides de l'interface eau-air, la

température de l'eau, ses caractéristiques physico-chimiques ainsi que la vitesse des vents, l'amplitude et la fréquence des vagues, la constante de Henry dans l'eau et le coefficient de diffusion air-eau constituent les principaux paramètres physico-chimiques du milieu modulant le comportement des PCB à l'interface eau-air (WOLFF & VAN DER HEIJDE, 1982). Les propriétés physico-chimiques des PCB telles que la tension de vapeur, le point d'ébullition, la solubilité aqueuse et le poids moléculaire, sont des critères propres à chaque congénère dont la prise en compte permet d'observer des variations de comportement *in situ* pouvant aller jusqu'à des différences de magnitude d'ordre 4 (BURKHARD *et al.*, 1985a).

La volatilisation des PCB constitue également un processus d'épuration non négligeable dont l'importance est conditionnée par l'abondance des particules en suspension dans l'eau. Ainsi, respectivement 65% et 8% des apports annuels en PCB des lacs Michigan et Erié sont volatilisés. Cette différence de volatilisation est imputable à une plus grande teneur en MES des eaux du lac Michigan que celles du lac Erié (THOMANN & DI TORO, 1983).

1.3.2 Distribution des PCB dans l'écosystème aquatique.

Dans l'écosystème aquatique, les PCB sont distribués dans plusieurs compartiments : la biomasse, les sédiments, les solides en suspension, l'eau et le film organique d'interface eau-air. Leur comportement dans l'eau est d'une part conditionné par leurs propriétés physico-chimiques (en particulier la solubilité) et dans une moindre mesure par les facteurs biotiques et abiotiques.

TABLEAU 7 : Solubilité aqueuse et coefficient de partage n octanol-eau de certains congénères de PCB.

compounds	M_r	mp, K	molar volume, cm^3/mol	solubility, mol/m^3		$\log K_{ow}$
				C^s (measd)	C^s_L (calcd)	
PCBs						
biphenyl	154.21	342.6	178.3 ^b	0.0435	0.109	3.76
2-	188.7	305.3	205.5 ^b	0.0268	0.0315	4.50
2,5-	223.1	295	226.4 ^b	0.0087		5.16
2,6-	223.1	307.9	226.4 ^b	0.00623	0.00733	4.93
2,4,5-	257.5	349.5	247.3 ^b	6.32×10^{-4}	2.45×10^{-3}	5.51
2,4,6-	257.5	334.3	247.3 ^b	8.76×10^{-4}	1.80×10^{-3}	5.47
2,3,4,5-	292	363.9	268.2 ^b	7.17×10^{-5}	4.51×10^{-4}	5.72
2,2',4,5-	292	339.1	268.2 ^b	5.63×10^{-6}	1.77×10^{-4}	5.73
2,3,4,5,6-	326.4	347.6	287.1 ^b	1.68×10^{-6}	1.53×10^{-4}	630
2,2',4,5,5'-	326.4	350.1	287.1 ^b	5.92×10^{-6}	1.83×10^{-4}	5.92
2,2',3,3',6,6'-	360.9	385.2	310 ^b	1.67×10^{-6}	1.14×10^{-4}	6.63
2,2',3,3',4,4'-	360.9	424.9	310 ^b	7.84×10^{-7}	2.65×10^{-6}	6.93
2,2',4,4',6,6'-	360.9	386.7	310 ^b	1.13×10^{-6}	5.71×10^{-6}	7.55
2,2',3,3',4,4',6-	395.3	395.4	330.9 ^b	5.49×10^{-6}	4.13×10^{-6}	6.68
2,2',3,3',5,5',6,6'-	429.8	433.8	351.8 ^b	9.15×10^{-7}	1.63×10^{-6}	7.11
2,2',3,3',4,5,5',6,6'-	464.2	455.8	372.7 ^b	3.88×10^{-8}	9.13×10^{-7}	8.16
deca-	487.7	578.9	393.6 ^b	1.49×10^{-8}	4.12×10^{-6}	8.26

In : MILLER et al., 1985.

Table II. Solubilities at 25 °C of Chemicals in Water (S_w), in Water Saturated with Octanol (S_{wo}), in Octanol (S_o), and in Octanol Saturated with Water (S_{ow})

compounds	S_w , g/m^3	S_{wo} , g/m^3	S_o , kg/m^3	S_{ow} , kg/m^3
naphthalene	31.7	28.9	122.9	126.5
biphenyl	7.5	6.85	106.6	106.9
acenaphthene	3.9		39.5	37.4
fluorene	1.9		34.6	35.9
1-methylfluorene	1.09	1.05	50.1	39.9
anthracene	0.075		2.11	2.37
	0.046	0.031		
phenanthrene	1.18		71.5	71.6
fluoranthene	0.26		34.9	36.1
pyrene	0.135		28.3	29.4
chrysene	0.0012	0.0066	0.457	0.425
2,3-benzofluorene	0.04	0.037	3.83	3.83
perylene	0.0004		0.768	0.738
2,3-benzanthracene	0.00057		1.21	1.35
1,2:5,6-dibenzanthracene	0.0005		0.261	0.261
coronene	0.00014		0.116	0.112
4-chlorobiphenyl (CBP)	1.17	1.11	114.7	110.3
4,4'-diCBP	0.062	0.0343	15.9	14.8
2,4,5-triCBP	0.163		45.37	39.9
2,2',5,5'-tetraCBP	0.0265		68.41	64.85
2,3,4,5-tetraCBP	0.0209		40.8	37.23
decaCBP	7.43×10^{-6}		0.826	0.546

In : MILLER et al., 1985.

1.3.2.1 Solubilité des PCB.

1.3.2.1.1 Solubilité et coefficient de partage octanol-eau.

L'hydrosolubilité des PCB est faible (tableau 7). Elle est inversement proportionnelle à la teneur en chlore des congénères, elle varie entre isomères et elle est directement influencée par les paramètres physico-chimiques de l'eau : salinité, température, pH et matières en suspension (BANERJEE, 1985; BANERJEE et al., 1984).

Les caractéristiques de la solubilité d'un composé déterminant sa toxicité, l'état physique du xénobiotique en solution aqueuse doit être connu. A la suite d'un temps de latence, il se forme pour chaque couple soluté-solvant, des agrégats statistiquement équidistants les uns des autres dont la solubilité dépend de la température et des interactions moléculaires à l'interface soluté-solvant (SCHOOR, 1975).

La difficulté liée à la détermination de la solubilité aqueuse des mélanges commerciaux de PCB est la durée nécessaire pour atteindre l'équilibre soluté-solvant (Aroclor-eau). LEE et al. (1979) ont montré qu'il fallait environ 5 mois pour obtenir l'équilibre Aroclor 1242-eau bidistillée et 2 mois pour l'équilibre Aroclor 1254-eau bidistillée.

La dissolution des mélanges commerciaux de PCB (en terme de stabilité et de taille des agrégats) évolue au cours du temps. Puisque les PCB les moins chlorés sont les plus solubles, la composition des mélanges commerciaux en solution dans l'eau fluctue donc au cours du processus de solubilisation. La dissolution aqueuse des mélanges est également affectée par des phénomènes d'interactions moléculaires PCB-PCB. Ces auteurs signalent qu'en raison d'interactions dues à des effets stériques, la solubilisation des congénères les moins chlorés (mono- di- et tri- chlorés) est modulée par la présence de leurs homologues à plus fort taux de chlore et que la solubilité d'un congénère dans un mélange est réduite par comparaison à sa solubilité

TABLEAU 8 : Corrélations entre le coefficient de partage octanol-eau la solubilité aqueuse (C_s) et le volume molaire des PCB et des Chlorobenzènes. In : DOUCETTE et ANDREN, 1987.

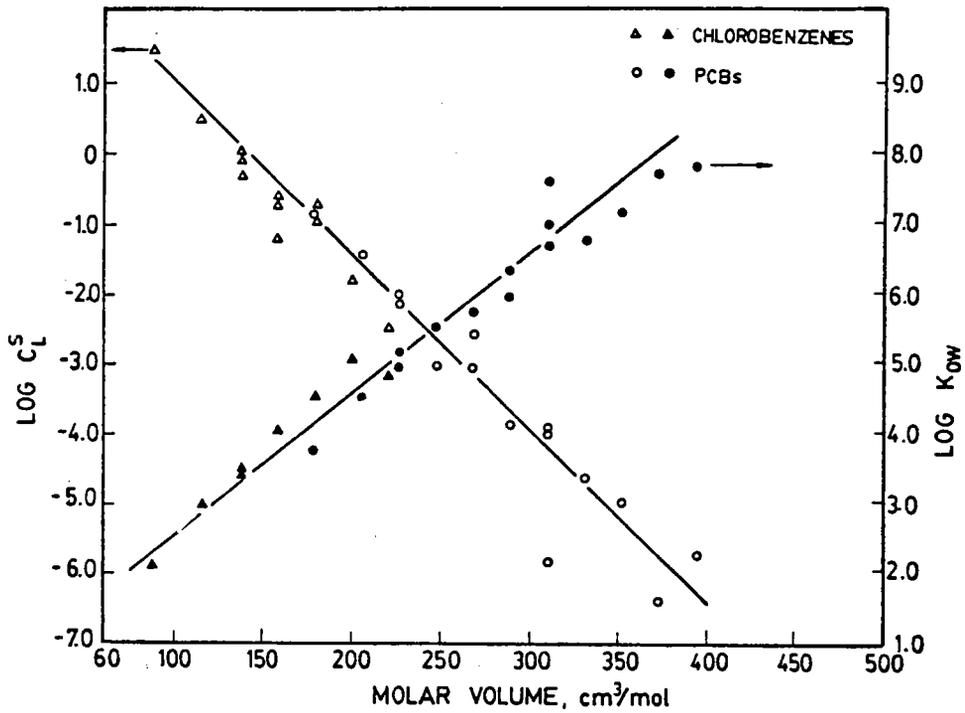


Figure 2. Plots of $\log C_L^S$ and $\log K_{OW}$ data (10) vs. molar volume for chlorobenzenes and PCBs.

individuelle. En revanche, en ce qui concerne les mélanges commerciaux les plus chlorés, il semblerait que les interactions PCB-PCB soient réduites.

Deux propriétés physiques importantes des PCB et des pesticides organochlorés à savoir la solubilité aqueuse et le coefficient de partage octanol-eau (P) jouent un rôle important dans la prédiction de leur comportement dans l'écosystème aquatique et ce, particulièrement pour les facteurs de bioconcentration (BCF) et pour le coefficient de partage en carbone organique (Kp) (KENAGA & GORING, 1980 ; CHIOU *et al.*, 1977). La méthode classiquement employée pour mesurer l'affinité des molécules organiques pour les lipides et les matières organiques en suspension consiste à mesurer le coefficient de partage entre l'o-octanol et l'eau (coefficient $P = \text{Log } K_{ow}$). Ce coefficient correspond au logarithme du rapport de la concentration du résidu dans l'octanol sur sa concentration dans l'eau à l'équilibre (CHIOU, 1985 ; MILLER *et al.*, 1985 ; GOSSET *et al.*, 1983). L'octanol possède un pouvoir de solubilisation des composés organochlorés proche de celui des lipides biologiques. Ainsi, les molécules particulièrement stables à faible solubilité aqueuse et à haute valeur de P, telles que les PCB et les pesticides organochlorés, ont tendance à quitter le compartiment aqueux pour se partager entre la matière organique des particules (film d'interface eau-air, colloïdes, matières en suspension et sédiments) et la biomasse. Les valeurs des coefficients de partage octanol-eau (P) supérieures à 6 (la plupart des congénères de PCB et les pesticides organochlorés) correspondent généralement à des solubilités aqueuses inférieures à 50 µg/L (tableau 8).

Des écarts importants de solubilité existent toutefois entre congénères ; en règle générale, les congénères les plus chlorés possèdent la solubilité aqueuse la plus faible. Les valeurs de P reportées dans la littérature montrent des différences de magnitude d'ordre 2 (KARICKHOFF *et al.*, 1979) qui peuvent être imputées aux techniques de mesure du K_{ow} . Les volumes d'eau utilisés ainsi que la propension des molécules organochlorées à s'adsorber sur le verre sont deux sources

potentielles d'erreur intervenant dans la détermination des concentrations dans l'octanol (BROOKE *et al.*, 1986; SCHOOR, 1975).

1.3.2.1.2 Influence de la température sur la solubilité.

La solubilité aqueuse des PCB croît avec la température. A titre d'exemple, la solubilité des congénères 77, 101, 136, 202, 206 et 209 augmente d'un facteur 10 quand la température passe de 4°C à 32°C (DICKUT *et al.*, 1986) et un écart de 10°C double la solubilité aqueuse du pp' DDT, du TétracB (70) et de l'HexaCB (153) (EDGREN *et al.*, 1979). Le partage des PCB entre les phases solide, aqueuse et l'air est modifié par la température et la présence de solides en suspension (tableau 9).

TABLEAU 9 : Distribution à l'équilibre d'un mélange équimolaire des 209 congénères de PCB.

Température	Distribution air-eau		Distribution air-eau-solides		
	% molaires		% molaires		
0°C	12,1	87,9	7,3	52,1	40,6
25°C	53,2	46,8	38,1	32,7	29,2
40°C	76,0	24,0	62,1	128,8	19,1

in : (BURKHARD *et al.*, 1985b)

Ainsi, les fluctuations de température changent significativement la distribution des congénères de PCB dans chacune des phases. De ce fait, les variations saisonnières de la température et des profils de température conditionnent également la spéciation des PCB et pesticides organochlorés.

1.3.2.2 Spéciation des PCB.

1.3.2.2.1 Influence des matières en suspension.

Là où la solubilité d'un soluté dans l'eau pure peut être considérée comme une constante physique certaine, la solubilité apparente et l'état physique du soluté dans une eau contenant des impuretés ou des cosolutés est modifiée par interactions avec le solvant. De telles modifications affectent le comportement des micropolluants organiques dans les eaux naturelles. La plupart des composés organiques étant hydrophobes, ils tendront à quitter la phase soluble pour la phase solide (matières en suspension, colloïdes, sédiments, lipides).

Puisque la présence des organochlorés (pesticides organochlorés et PCB) est contrôlée par les interactions aux interfaces air-eau-solides, de celles-ci dépendront la capacité et la vitesse d'autoépuration du milieu. Ainsi, le temps de résidence des micropolluants dans l'eau est régulé par l'abondance des particules en suspension et leur vitesse de sédimentation à travers la colonne d'eau (LARSSON, 1984). Notons que les xénobiotiques rapidement transportés sous la forme dissoute sont généralement plus toxiques pour les organismes aquatiques que sous forme particulaire.

De façon à prévoir la distribution et l'évolution de la pollution organochlorée dans l'eau, les auteurs ont présenté des modèles mathématiques essentiellement basés sur les caractéristiques physico-chimiques des toxiques et les phénomènes d'interactions solides-eau (THOMANN, 1981; CHIOU et al., 1977). L'intégration d'un grand nombre de paramètres permet une adéquation assez proche de la réalité mais l'impact des phénomènes de bioconcentration, de métabolisation et d'excrétion résultant des activités de la biomasse aquatique est généralement sous-estimé suite à la méconnaissance du turn-over des toxiques organochlorés dans les organismes aquatiques. La plupart des modèles actuellement disponibles sont applicables aux systèmes

lacustres ou benthiques mais à notre connaissance il n'en existe pas pour les eaux courantes.

Les paramètres pris en compte pour la modélisation sont d'une part les caractéristiques physico-chimiques propres aux PCB (tension de vapeur, point d'ébullition, poids moléculaire, solubilité aqueuse, encombrement stérique, etc...) et d'autre part celles du milieu (nature, taille et teneur en carbone organique des solides en suspension, vitesse de sédimentation, pH de l'eau, température, vitesse des courants, profondeur, etc...).

L'adsorption des organochlorés sur les matières en suspension, les colloïdes et les sédiments est généralement décrite à l'aide d'un coefficient de partage (K_p) comme un processus d'équilibre linéaire : $K_p = C_{\text{part.}} / C_{\text{aq.}}$ où $C_{\text{part.}}$ et $C_{\text{aq.}}$ représentent respectivement les fractions particulaires et dissoutes du xénobiotique. Ce coefficient de partage K_p est également corrélé à la fraction de carbone organique F_{oc} contenu dans la phase solide par l'équation :

$$K_{oc} = \frac{K_p}{F_{oc}}$$

Le coefficient de partage en carbone organique (K_{oc}) est affecté par la nature, la taille et le contenu en carbone organique des particules en suspension (MACKAY & POWERS, 1987; CHIOU et al., 1986).

Ces corrélations décrivent le partage des organochlorés entre la matière organique, les matières en suspension et les sédiments. Le polluant est généralement présent à des concentrations si faibles que les sites d'adsorption des matières en suspension ne sont pas tous saturés. Ainsi, tant que la concentration du polluant est inférieure à 30% de sa solubilité maximale, le K_p reste constant (KARICKHOFF et al., 1979). Si la pollution augmente, il peut artificiellement diminuer par simple augmentation de la concentration des solides en suspension.

L'étude de la désorption des PCB des sols et des sédiments montre également que le K_p peut varier de plusieurs ordres de magnitude dans la mesure où on considère un mélange commercial de PCB ou un seul congénère de ce mélange.

Les expériences *in vitro* suggèrent que le K_p et le K_{oc} sont inversement proportionnels au rapport solide/solution. Ces observations, apparemment contradictoires avec les données *in situ*, sont imputables à divers effets : équilibre non atteint, isotherme d'adsorption non linéaire, vitesse de dépuración trop lente, interactions particules-particules et séparation imparfaite entre matières particulaires et dissoutes. A ce sujet, GSCHWEND & WU (1985) ainsi que VOICE & WEBER (1983) suggèrent que la spéciation des constituants hydrophobes dans l'eau doit inclure non seulement les fractions solides et dissoutes mais également la fraction colloïdale.

1.3.2.2.2 Influence des particules colloïdales.

1.3.2.2.2.1 Abondance des particules colloïdales.

Que la matière organique dissoute soit sous forme colloïdale (macromolécules d'acides humiques ou fulviques) ou liée à des substrats minéraux, elle constitue le ligand majeur des molécules hydrophobes. Ainsi, le K_p est inversement proportionnel à la concentration en carbone organique dissous. A faible concentration en carbone organique dissous (0,1 à 5 mg/L), il est équivalent au coefficient de partage octanol-eau (BAKER *et al.*, 1985 ; LANDRUM *et al.*, 1984).

L'analyse des fractions filtrées de l'eau révèle qu'une fraction importante des PCB reste adsorbée sur les éléments dont la taille est inférieure à 0,6 μm . A titre d'exemple, 25 à 40% des congénères 18, 52, 40, 101, 153, 194 ainsi que les a- et b-HCH, le pp'DDE et le pp'DDT sont associés à la fraction colloïdale des eaux du Niagara (OLIVER & NICOL, 1984). Le pourcentage moyen annuel des PCB particulaires dans les eaux du lac Michigan est de

53%, il est de 17% au printemps, 40% en automne et varie aussi bien spatialement que temporairement (SWACKHAMER & ARMSTRONG, 1987). L'équilibre PCB particulaire/PCB dissous est généralement atteint en moins de 24 heures (HASSETT & MILICIC, 1985).

1.3.2.2.2 Nature des particules colloïdales.

Les substances humiques et fulviques dont les poids moléculaires sont respectivement compris entre 750-2000 et 2000-20000 Daltons, sont les constituants majeurs de la matière organique dissoute des eaux naturelles (CHIOU et al., 1986). Ces composés complexes d'origine terrestre, souvent non toxiques, sont bien connus pour affecter la biodisponibilité des molécules dont le Kow est supérieur à 10^5 . Ainsi la présence d'humus naturel dans l'eau réduit de 18% la bioaccumulation du lindane et du 2-4'-5 trichlorobiphényle chez le saumon atlantique (*Salmo salar* L.) (CARLBERG et al., 1986). En terme de carbone organique dissous, la nature des acides humiques et fulviques est un paramètre important qui conditionne également l'adsorption des molécules hydrophobes. Aussi, Chiou et al. (1986) constatent que les humus d'automne réduisent de 30% la bioaccumulation du 2-4'-5 TCB. Les valeurs du coefficient de partage en carbone organique dissous, obtenues à l'aide d'acides humiques d'origine terrestre, sont supérieures d'un facteur 4 à celles des acides fulviques du sol et d'un facteur 4 à 6 à celles des acides humiques et fulviques d'origine aquatique.

Le coefficient de partage en carbone organique dissous des eaux naturelles est approximativement inférieur d'un facteur 10 à celui déterminé *in vitro* à l'aide d'acides humiques synthétiques à teneurs en carbone organique dissous identique. Notons également que les groupes fonctionnels hydrophobes des molécules humiques sont plus efficaces quand ils sont en présence d'eau. L'efficacité d'adsorption dépend donc plus de la polarité et de la configuration moléculaire des macromolécules colloïdales que de leur taille et de leur teneur en carbone organique. Ainsi, bien que les interactions pesticides/acides humiques soient plus

énergétiques que celles pesticides/eau ou pesticides/pesticides, elles peuvent néanmoins être modifiées par une simple variation du pH (VOICE & WEBER, 1983).

L'adsorption des PCB et celle des pesticides est non seulement proportionnelle à la surface spécifique des particules colloïdales (DUINKER, 1986) et à leur teneur en carbone organique (NAU-RITTER & WURSTER, 1983), mais également à la solubilité de chaque congénère (DUINKER et al., 1985). Comparativement aux PCB fortement chlorés, les PCB légers et les pesticides seront moins adsorbés, ce qui favorisera leur volatilisation (OLIVER & CHARLTON, 1984).

1.3.2.2.2.3 Mécanismes de l'adsorption.

Bien que la présence de macromolécules organiques colloïdales telles que les humus aquatiques contribue à accroître la solubilité apparente des PCB et des pesticides organochlorés, les mécanismes mis en jeu ne sont pas bien connus. Les liaisons polluants-molécules humiques seraient dues à des liaisons covalentes, liaisons hydrogène et de Van Der Waals. Les fluctuations saisonnières des compositions et concentrations en acides humiques modifient les teneurs en carbone organique dissous et modulent ainsi la biodisponibilité des PCB et des pesticides pour les organismes aquatiques.

1.3.3 Bioconcentration et biomagnification des PCB.

L'accumulation par les organismes aquatiques des PCB et des pesticides organochlorés présents dans l'eau fait appel à la notion de bioconcentration. La bioconcentration des molécules hydrophobes est mesurée à l'aide du facteur de bioaccumulation (BCF). Le BCF d'un résidu est le rapport de sa concentration dans l'organisme sur sa concentration dans l'eau à l'équilibre. Pour les molécules hydrophobes, il est corrélé au coefficient de partage octanol-eau par des relations généralement linéaires.

TABLEAU 10 : Exemple de contamination d'une chaîne trophique marine par les PCB.

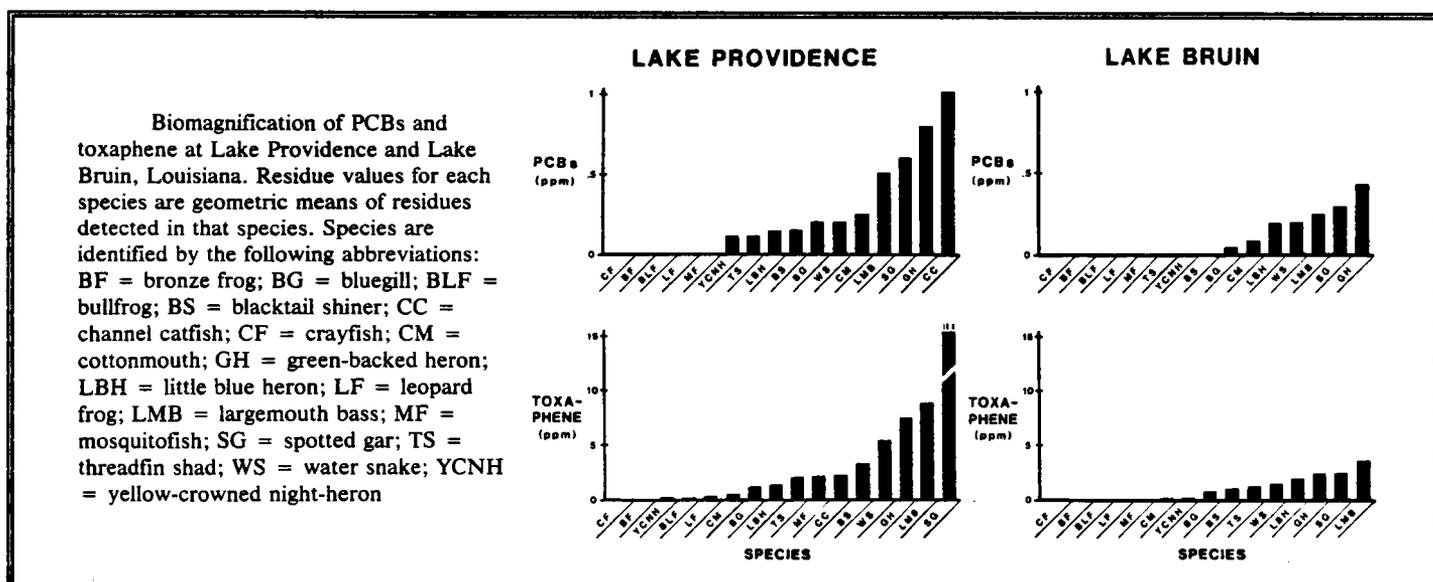
Contamination des organismes de la Baie des Anglais (estuaire du St Laurent Quebec) par les PCB.

ESPECES		CONCENTRATION EN PCB (ng/g de poids frais)	
MOLLUSQUES	<i>Mytilus edulis</i>	46 ng/g	- animal entier
	<i>Buccinum undulatum</i> L.	648 ng/g	- animal entier
		2 ng/g	- chair
		925 ng/g	- viscères
POISSONS	<i>Clupea harengus harengus</i> L.	68 ng/g	- animal entier
	<i>Anguilla rostrata</i>	1180 ng/g	- animal entier

In : DELVAL et al., 1986.

TABLEAU 11 : Exemple de contamination d'une chaîne trophique lacustre par les PCB.

Illustration de la biomagnification des PCB et du toxaphène chez différentes espèces des lacs Providence et Bruin (Louisiane).



In : NIETHAMMER et al., 1984.

L'intégration de paramètres physiques (facteurs stériques, taille moléculaire, nature et force des liaisons toxique-solides en suspension et toxique-sédiments) et de paramètres biochimiques (vitesse d'accumulation et de dépuration, teneur en lipides) permet une prédiction assez fiable des concentrations à l'équilibre dans les organismes aquatiques. Le transfert des organochlorés rémanents dans les chaînes trophiques aquatiques montre classiquement une concentration des polluants à mesure que l'on remonte vers le sommet de la pyramide écologique (biomagnification). Conjointement, les risques toxicologiques augmentent. Les tableaux 10 et 11 illustrent ce phénomène dans des chaînes alimentaires d'écosystèmes lacustres et marins.

La concentration des PCB et des pesticides au travers des chaînes trophiques s'effectue de deux manières distinctes : directement par adsorption suivie d'absorption par les organismes vivants (la bioaccumulation) et/ou par le biais des relations de prédation (la biomagnification). L'importance relative des voies de contamination passive (adsorption et absorption directe des résidus) et active (biomagnification) varie selon les auteurs.

La stabilité chimique et la lipophilie des PCB et des pesticides organochlorés constituent deux critères nécessaires et suffisants à leur bioaccumulation. Outre les caractéristiques propres aux PCB (stéréochimie, solubilité), les paramètres du milieu (température, teneur en oxygène dissous), conditionnent la biodisponibilité. La bioénergétique des organismes aquatiques module également la bioaccumulation des xénobiotiques.

1.3.3.1 Liposolubilité et bioaccumulation des PCB.

L'affinité des PCB et des pesticides organochlorés pour les lipides, mesurée à l'aide du coefficient de partage octanol-eau (§. 2.4.2), constitue un des paramètres essentiels de la bioaccumulation. Les lipides, qui regroupent l'ensemble des molécules extractibles par l'hexane, sont dans la plupart des cas

mesurés par pesée après évaporation du solvant. Ces techniques ne permettent pas l'étude quantitative de la nature des lipides.

Le pool lipidique des organismes aquatiques est essentiellement gouverné par la physiologie de l'espèce ; il varie selon la taille, l'âge, le sexe et la période de reproduction de l'individu. La concentration en PCB dans un organisme ou un organe est généralement proportionnelle à sa concentration en lipides (AQUATIC BIOLOGY GROUP, 1984). Les animaux âgés possèdent plus de réserves lipidiques que les jeunes. Ainsi, MONOD & KECK (1982) constatent que les lottes du lac Léman les plus âgées sont également les plus contaminées.

1.3.3.1.1 Fluctuations saisonnières des teneurs en lipides.

Les réserves lipidiques subissent des variations en particulier lors des périodes de jeûne et de maturation sexuelle. L'étude de la contamination de la truite fario (*Salmo trutta fario* L.) montre que la mobilisation des réserves lipidiques augmente la concentration sanguine en PCB, modifie leur distribution dans l'organisme et accroît leur toxicité (TERAN & SIERRA, 1987).

1.3.3.1.2 Influence du jeûne.

Lors du jeûne, les PCB solubilisés dans les graisses sont remis en circulation sanguine puis redistribués dans les organes riches en lipides (foie, reins, cerveau). Ce processus peut provoquer une intoxication et entraîner des modifications comportementales chez les oiseaux piscivores (HEINZ et al., 1984) et les mammifères marins (TANABE et al., 1983).

1.3.3.1.3 Influence du sexe.

Le pool lipidique subit une restructuration importante au cours de la maturation sexuelle. En raison de leur solubilité, les

PCB faiblement chlorés sont préférentiellement redistribués dans les réserves lipidiques des gamètes et éliminés au moment de la ponte. L'élimination dans les gamètes des congénères dont le nombre de chlore est supérieur à 5 est restreinte. Cette voie d'épuration est importante chez les poissons. Les femelles, mobilisant plus de réserves pour la synthèse des ovules que les mâles pour celle de la laitance, éliminent quantitativement plus de PCB. Chez les lottes mâles, l'influence de l'âge est généralement plus marquée que chez les femelles (MONOD & KECK, 1982).

Chez les mammifères marins, on constate un important dimorphisme sexuel en ce qui concerne les concentrations en PCB et pesticides organochlorés, les mâles présentant toujours des teneurs en PCB plus importantes que les femelles (MASSE et al., 1986; ADDISON et al., 1984). Les composés organochlorés étant excrétés par voie transplacentaire et dans le lait maternel, l'intoxication des femelles diminue donc au détriment des jeunes (TANABE et al., 1983; FREEMAN & SANGALANG, 1977).

1.3.3.2 Accumulation différentielle des PCB dans les tissus.

L'étude de la distribution des congénères dans des organismes aquatiques de différents niveaux trophiques montre que les congénères dont le nombre d'atomes de chlore est supérieur à 5 sont généralement responsables de la contamination aussi bien des mammifères que des poissons et des invertébrés ; les PCB plus légers étant rapidement métabolisés dans l'environnement (KUEHL et al., 1983). Beaucoup d'auteurs ont mis en évidence une accumulation différentielle des PCB.

1.3.3.2.1 Mécanismes d'accumulation.

Certains isomères à haut taux de chlore sont cependant présents à des concentrations inférieures à celles de leurs homologues. Ainsi, OPPERHUIZEN et al. (1985), suggèrent

l'existence d'une adsorption différentielle des PCB. Chez les poissons, elle résulterait de configurations stériques et de tailles moléculaires limites au-delà desquelles le passage transmembranaire ne serait plus un simple phénomène de diffusion. L'absorption des PCB de taille inférieure à 9,5 angströms ne nécessiterait pas d'énergie alors que celle des congénères de plus grande taille (hexa, hepta, octo, nona et déca-CB) serait un phénomène actif.

La bioaccumulation résulterait d'une diffusion passive des PCB au travers des membranes des cellules branchiales, l'interface mucus-eau ne constituant pas une barrière. Le passage transmembranaire différentiel qui est gêné par certaines configurations stériques (en particulier les substitutions en position 2 et 6) et dépend de la nature des lipides membranaires, expliquerait les différences de vitesses d'accumulation des congénères. L'influence du degré de chloration n'est toutefois pas remis en cause puisque les molécules à faible taux de chlore sont de taille restreinte et qu'elles possèdent un coefficient d'effet stérique réduit.

L'accumulation différentielle peut également résulter d'une vitesse d'adsorption et/ou d'élimination différente des congénères (ROSSEL *et al.*, 1987). Ainsi, OLIVER & NIIMI (1985) constatent que la demi-vie des PCB chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*) croît avec le degré de chloration. L'étude de la dépuración met en évidence une élimination lente des congénères fortement chlorés, la vitesse d'épuration des congénères faiblement chlorés (2, 3 et 4 chlores) est trois fois plus rapide.

1.3.3.2.2 Distribution tissulaire des PCB.

L'étude des concentrations de différents tissus du même individu montre que les PCB se concentrent moins dans certains organes que d'autres. MAC & SEELYE (1981) indiquent que les teneurs en lipides des organes conditionnent l'accumulation. Cette tendance doit toutefois être nuancée puisqu'il semblerait

qu'indépendamment de leur teneur en lipides, les tissus aient la capacité d'accumuler préférentiellement certains congénères (BOON & DUINKER, 1985). Cette accumulation résulterait d'une affinité des PCB pour une classe particulière de lipides. Ainsi, chez le dauphin (*Delphinapterus leucas*), il existe une rétention spécifique de congénères dans certains organes. A titre d'exemple, les congénères 165 et 179 sont mineurs dans les extraits de lard et plus importants dans les reins que dans le foie et les poumons, 75% du congénère 153 est stocké dans le lard et le congénère 129 est plus abondant dans le foie que les poumons. Les différences quantitatives et qualitatives des congénères ne sont pas seulement liées aux teneurs lipidiques des organes mais également à la nature spécifique des lipides. MONOD (1983) citant SCHNEIDER souligne que les glycérides retiennent plus les PCB que les phospho- et les sphingolipides.

1.3.3.3 Expression des concentrations en PCB.

Les résultats, exprimés en concentrations par rapport au poids frais, montrent des variations interspécifiques importantes. Certains auteurs ont constaté que les résultats exprimés par rapport aux teneurs en lipides minimisaient les divergences interspécifiques et ce, quel que soit le niveau trophique considéré. Ainsi, la comparaison des teneurs en PCB dans le tissu adipeux d'organismes d'espèce différente et issus du même biotope est plus significative qu'une comparaison réalisée sur la base d'autres tissus.

La constitution de réserves lipidiques étant plus importante chez les organismes des maillons supérieurs, leurs facteurs de bioconcentration seront donc théoriquement les plus élevés (BOON & DUINKER, 1985 ; MAC & SEELYE, 1981). Cependant, si les teneurs sont exprimées par rapport aux lipides, la comparaison des concentrations de consommateurs secondaires (anguilles), de phytophages (aselles, lymnées, planorbes) et de prédateurs (larves et adultes de nêpes, notonectes, dytiques et naucoridés) ne montre pas de différences significatives. En revanche, les différences

entre consommateurs secondaires et carnivores (perches) sont significatives, la biomagnification étant prépondérante chez les organismes occupant une place élevée dans la chaîne alimentaire (SÖDERGREN, 1973).

1.3.3.4 Influence de la température sur la bioaccumulation.

Outre les fluctuations de la spéciation liées aux modifications des paramètres de l'eau, l'accumulation des PCB et des pesticides est également modifiée par les réactions physiologiques des organismes. Une variation de la teneur en oxygène dissous, consécutive à une modification de la température de l'eau, accélère la fréquence et l'amplitude de la filtration chez les poissons. Les quantités d'eau filtrée et de nourriture ingérée ainsi que les voies métaboliques des organismes aquatiques sont modulées par la température de l'eau. Chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*), la demi-vie de l'HCB augmente d'un facteur 3 quand la température passe de 4 à 18°C (NORHEIM & ROALD, 1985 ; NIIMI & PALAZZO, 1985). Quand la température s'élève, les poissons ventilent davantage et accumulent plus de toxiques. En retour, les vitesses de dépuración sont également activées (MAC & SEELYE, 1981).

En résumé, la stabilité chimique des molécules hydrophobes, leur faible biotransformation par les organismes aquatiques ainsi que leur caractère hydrophobe favorisent leur bioaccumulation dans le pool lipidique de la biomasse aquatique. En retour, la teneur en lipides d'un organisme ou d'un organe influence son niveau de contamination. Le degré de chloration et la stéréochimie des PCB modulent les vitesses de bioaccumulation et de dépuración. Le comportement et l'habitat des organismes aquatiques influencent également le niveau de contamination.

1.3.3.5 Influence de l'habitat.

La bioaccumulation des molécules organochlorées est influencée par le comportement des organismes aquatiques. Chez les invertébrés aquatiques, TATEN (1986) note que l'habitat et le mode de vie sont des caractéristiques écologiques plus importantes que le niveau trophique en ce qui concerne la bioconcentration des PCB. Les invertébrés fouisseurs (crabes, crevettes, larves d'insectes), en contact direct avec des sédiments contaminés, accumulent plus de PCB que les invertébrés vivant en dehors du lit superficiel des sédiments (DELVAL et al., 1986; FISHER, 1985; NIIMO et al., 1971). Que ce soit en zone intertidale (CLARK et al., 1986), en milieu marin (DUINKER et al., 1983) ou en milieu lacustre (GOOCH & HAMDY, 1983), les auteurs constatent une corrélation entre les concentrations en PCB des sédiments et celles des crustacés fouisseurs. RUBINSTEIN et al. (1984) montrent qu'un poisson prédateur (*Leiostomus xanthurus*) exposé à des sédiments contaminés et nourris de néreïs également contaminés accumule deux fois plus rapidement les PCB qu'en étant exposé aux mêmes sédiments et nourris par des néreïs exemptes de contamination. En 20 jours, la quantité de PCB apportée par biomagnification représente 53% de la contamination totale en PCB.

Une remise en suspension du lit superficiel des sédiments, qu'elle soit due à l'activité biologique de la biomasse ou aux activités humaines (dragage, curage du lit d'une rivière), est également susceptible, par modification de la spéciation des molécules hydrophobes, d'influencer la bioconcentration (RICE & WHITE, 1987; ELDER & MATTRAW, 1984; SÖDERGREN, 1984). Les organismes filtreurs tels que les moules sont généralement moins contaminés que les fouisseurs (buccins) chez lesquels l'exposition est renforcée par le contact cutané avec les sédiments (DELVAL et al., 1986).

L'accumulation des molécules organochlorées par le phyto- et le zooplancton est un phénomène de partage passif, résultant d'un équilibre entre le pool lipidique et le milieu ambiant. La bioconcentration représente la seule voie de contamination chez

les autotrophes. Chez les invertébrés aquatiques filtreurs (moules, buccins, planorbes etc...) et/ou fouisseurs (crabes, crevettes, polychètes marins, larves d'insectes etc...) mais également chez les oiseaux filtreurs et les poissons dont les branchies filtrent de grandes quantités d'eau, l'accumulation résulte d'un partage suivi d'un équilibre entre les phases tégumentaires des organismes et le milieu. Les parts respectives de la bioaccumulation et de la biomagnification sont difficiles à évaluer chez les organismes benthiques et les poissons. Selon les auteurs, les proportions incriminées à l'une ou l'autre des deux voies divergent mais tous s'accordent à reconnaître que la source majeure de contamination des poissons carnivores est due à la biomagnification.

1.3.3.6 Effets démoécologiques différés.

De nombreux travaux décrivent la toxicité chronique des PCB et des pesticides organochlorés vis-à-vis de la plupart des organismes aquatiques. L'ANNEXE 1 en résume les principaux effets. Ce chapitre sera volontairement limité aux aspects biocoenotiques de la toxicité des PCB.

Une première catégorie d'effets biocoenotiques se traduisent par un ensemble de perturbations affectant la population d'une espèce. Les conséquences de ces effets sont immédiates (toxicité aiguë) ou différées (toxicité chronique). Ainsi, quels que soient les effectifs d'une population, à dose de polluant identique, le potentiel toxique vis-à-vis de l'espèce sera le même. Il existe une autre catégorie d'actions liées aux relations de prédation. En effet, même si une espèce est insensible à un polluant donné, ses effectifs peuvent régresser par simple disparition de l'(ou des) espèce(s) animale(s) ou végétale(s) lui servant de nourriture. De ce fait, la présence de PCB et de pesticides organochlorés dans l'eau modifie le taux de croissance de certaines espèces et conduit à des perturbations biocoenotiques.

GOOCH & HAMDY (1983) ont constaté que la présence de PCB dans l'eau réduisait la diversité spécifique des espèces phytoplanctoniques. Ces effets entraînent une réduction de la productivité primaire des écosystèmes limniques et marins (O'CONNORS *et al.*, 1978) et il n'existerait pas de concentrations seuils sans effet pour l'environnement. L'accumulation des PCB est rapide, elle affecte la photosynthèse, diminue le contenu en chlorophylle-a du phytoplancton ce qui, à long terme, réduit les effectifs (NAU-RITTER & WURSTER, 1983).

Bien que les bactéries soient elles aussi sensibles aux faibles concentrations de PCB, elles peuvent néanmoins les utiliser comme source de carbone (BEDARD *et al.*, 1986).

La comparaison de clones de diatomées indique que les clones issus des milieux contaminés développent une résistance aux PCB (COSPER *et al.*, 1984).

Compte tenu de la diversité systématique présentée par les embranchements peuplant les milieux aquatiques, selon le groupe taxonomique considéré, on observe de grandes variations de sensibilité aux composés organochlorés. A l'intérieur d'une même classe, la CL 50 peut varier de plus d'un facteur 10 (FISHER, 1985; SANDERS *et al.*, 1985). Les résultats obtenus sur la base d'expériences réalisées *in vitro* doivent cependant être relativisés en raison de l'usage de concentrations excessivement élevées dans l'eau comparativement à celles rencontrées *in situ*.

En ce qui concerne les arthropodes aquatiques, les PCB possèdent généralement une forte toxicité. L'exposition chronique des crustacés (gammare, crevettes et daphnies) et des insectes (moustiques et chaoborus) aux PCB affecte le développement larvaire et s'accompagne d'une inhibition des métamorphoses (ABERNETHY *et al.*, 1986; FISHER, 1985; SANDERS *et al.*, 1985; SANDERS & CHANDLER, 1972). Ainsi, les PCB, comme les pesticides organochlorés, affectent le potentiel biotique des espèces aquatiques, la toxicité apparaissant pour des concentrations de l'ordre du ppb.

Chez les poissons, les organochlorés perturbent le développement embryonnaire et la croissance des alevins, particulièrement chez les salmonidés. MONOD (1983) suppose ces symptômes responsables de la réduction des populations d'ombre chevalier (*Salvelinus alpinus*) du lac Léman.

Les observations *in vitro* sont généralement effectuées sur des produits isolés. Or, *in situ*, des phénomènes de synergie organochlorés-organochlorés ou organochlorés-métaux lourds peuvent se produire et modifier la toxicité d'un composé. Les interactions peuvent être additives, synergiques ou antagonistes. Les interactions observées *in vitro* chez la truite arc-en-ciel révèlent une synergie DDT-lindane (EPA, in SAUVEGRAIN, 1981). *In situ*, chez le phoque gris, la présence de cadmium exalte le déséquilibre de la balance des hormones sexuelles induit par l'Aroclor 1254.

1.3.4 Élimination des PCB.

L'élimination des PCB sous-entend évidemment leur dégradation (physique ou biologique) mais également leur stockage sous une forme inaccessible à la biomasse.

1.3. 4.1 Élimination physique.

La volatilisation des molécules hydrophobes à partir du film d'interface eau-air est favorisée par la turbulence de l'eau qui accroît la surface d'échanges. La volatilisation des PCB est sélective. Elle est importante pour les congénères peu chlorés dont la tension de vapeur est élevée et faible pour leurs homologues fortement chlorés.

Les PCB sont sensibles aux rayons U.V. La décomposition consiste en une perte successive d'atomes de chlore (KOSHIOKA et al., 1987). Si, dans des conditions bien particulières (PCB en

solution hexanique), la photodécomposition du décachlorobiphényle en nona-, octo- et hepta- chlorobiphényle est totale à 252 nm, elle n'est plus que de 10% quand les PCB sont en solution acétonique ou benzénique. Aussi, dans les conditions naturelles, il est probable que la déchloration des congénères fortement chlorés soit restreinte.

La plupart des auteurs suggèrent que la dépuration des PCB est accélérée par leur bioadsorption sur les particules en suspension suivie d'une sédimentation à travers la colonne d'eau. Un tel processus sous-entend qu'à long terme, le lit superficiel des sédiments sera recouvert de particules moins contaminées et qu'en conséquence, les micropolluants piégés dans les couches profondes deviendront inaccessibles au benthos (LARSSON, 1984). Soulignons toutefois la précarité de cette situation : une remise en suspension des sédiments, qu'elle soit naturelle (crue) ou artificielle (curage) reste de nature à induire une recrudescence de la pollution (SÖDERGREN, 1984).

1.3.4.2 Elimination biologique.

La seconde voie d'élimination des molécules hydrophobes fait intervenir la biomasse. En effet, la plupart des organismes aquatiques catabolisent les PCB. La déchloration successive des congénères aboutit à la formation de composés dont la solubilité augmente suite à l'ajout de radicaux hydroxyls par les systèmes d'oxydation microsomiaux. Chez les vertébrés (poissons et mammifères marins), le transport intracellulaire et plasmatique, favorisé par l'accroissement de la solubilité, amplifie l'élimination rénale. Les PCB sont également excrétés dans la bile et par les fèces (voir ANNEXE 1).

A moyen terme, le catabolisme des PCB par les organismes aquatiques des maillons supérieurs des chaînes trophiques ne leur permet sans doute pas de diminuer significativement leur contamination. Si une fraction non négligeable des congénères peu chlorés est rapidement éliminée, la 1/2 vie des PCB dans les

écosystèmes aquatiques, variable selon les congénères reste toutefois de l'ordre de la décennie.

La dégradation des PCB par les populations bactériennes a été mésestimée jusqu'à ces dernières années. L'étude de la distribution des PCB dans les sédiments montre que la concentration de certains congénères fortement chlorés est inversement proportionnelle à l'âge des sédiments (BROWN *et al.*, 1987). En retour, à concentration totale identique, la concentration des congénères faiblement chlorés croît avec l'âge du sédiment. Aussi, l'évolution de la distribution des congénères résulte de l'activité de souches bactériennes anaérobies. Le catabolisme des PCB par des souches isolées de l'Hudson passe par des étapes successives de déchloration et le potentiel de réduction des PCB est favorisé par la présence simultanée de chlore en position ortho, méta et para où en méta et para (BROWN *et al.*, 1987). Ces biotransformations aboutissent à la naissance de PCB faiblement chlorés, donc plus aisément biodégradables par les bactéries aérobies.

En résumé, seuls les PCB faiblement chlorés sont aisément éliminés par les organismes aquatiques. En revanche, la bonne stabilité des congénères fortement chlorés leur confère une meilleure résistance aux biotransformations et par conséquent une rémanence plus longue.

2 - MISE EN OEUVRE
DE LA METHODE D'UTILISATION
DES MOUSSES AQUATIQUES
POUR L'ETUDE DE LA
POLLUTION ORGANOCHLOREE
DES EAUX SUPERFICIELLES

2. MISE EN OEUVRE DE LA METHODE D'UTILISATION
DES MOUSSES AQUATIQUES POUR L'ETUDE DE LA
POLLUTION ORGANOCHLOREE DES EAUX
SUPERFICIELLES.

2.1. RECOLTE ET CONDITIONNEMENT DES MOUSSES.

2.1.1 Prélèvement des mousses.

On peut en principe prélever les bryophytes aquatiques à tout moment de l'année, sauf en période de crue où le niveau des eaux peut les rendre inaccessibles. La période la plus favorable est en début d'étiage soit, pour les cours d'eaux à régime pluvial, aux alentours de juin et juillet. En fin d'étiage, on s'expose au risque de ne disposer que de mousses :

- 1) à la limite de l'émersion (voire totalement émergées) pendant une période inconnue
- 2) totalement immergées mais recouvertes d'un feutrage algal dont le développement favorisé par l'élévation de la température de l'eau, l'ensoleillement et les concentrations accrues en éléments eutrophisants réduit les échanges eau-mousses.

Des durées d'immersion de quelques semaines sont toutefois largement suffisantes pour permettre une réponse des bryophytes à la pollution organochlorée et métallique de leur biotope.

La plupart des sites de prélèvement, situés à proximité des berges ou sur les pierres du fond, sont accessibles à l'aide de cuissardes. Pour les grands cours d'eaux, la prospection des arches des ponts nécessite l'utilisation d'un canot pneumatique et à l'aval de certains barrages, un rateau à long manche peut être utile car la hauteur des murs de soutènement et la violence des courants interdisent les méthodes habituelles de prélèvement.

En principe, la prospection se fait à main nue, mais dans le cas d'eaux très polluées (aval de stations d'épuration, aval de rejets industriels), l'utilisation d'un gant de prélèvement est indispensable. Les meilleurs prélèvements respectent les 6 règles suivantes:

I : Prélever le plus profondément possible pour éviter l'échantillonnage de mousses éventuellement immergées en période d'étiage. Une étude préalable des données hydrologiques est utile (débits, hauteur d'eau...).

II : Ne pas arracher le point d'ancrage des mousses ce qui limite les contaminations dues au support et permet la repousse, donc un suivi dans le temps.

III : Ne prélever que des touffes au feuillage dense car les rameaux de bryophytes les plus anciens sont souvent dépourvus de feuilles.

IV : Laver méticuleusement les bryophytes. *In situ*, elles sont recouvertes d'une fine pellicule de matières minérales et organiques et abritent souvent des invertébrés (gammarets etc...) et des cailloutis dont il faut évidemment se débarrasser. Le nettoyage *in situ* consiste alors à séparer les échantillons en petits fragments et à les agiter vigoureusement dans l'eau jusqu'à ce que celle-ci ne soit plus colorée. L'utilisation d'une passoire ménagère permet un nettoyage efficace sans perte de matériel au fil du courant.

Si le nettoyage *in situ* est insuffisant, il faudra renouveler l'opération au laboratoire où les conditions sont moins favorables puisqu'on n'y dispose pas des mêmes facilités (eau courante à profusion) et qu'une fois séchées, les mousses sont plus difficiles à nettoyer.

V : Échantillonner à partir de transects longitudinaux et transversaux afin de tenir compte de l'hétérogénéité des masses d'eau et des peuplements de bryophytes.

VI : Compte tenu d'une diversité spécifique réduite, l'essentiel des cours d'eau étant peuplé par une dizaine de taxons, l'idéal serait de disposer d'une même espèce implantée sur tout le bassin étudié. En réalité, il est fréquent de rencontrer des espèces cohabitant sur les mêmes sites, ce qui, pour l'obtention d'un profil le plus homogène possible, nécessite un tri à posteriori et des dosages sur la ou les espèces les plus fréquentes du cours d'eau.

Toutes les données relatives au prélèvement sont alors consignées sur une fiche standard d'échantillonnage.

2.1.2. Conditionnement des échantillons.

Une fois prélevé et nettoyé, l'échantillon est comprimé entre les doigts pour en extraire le maximum d'eau, puis placé dans un sachet en papier sur lequel figurent les renseignements relatifs au site de prélèvement. On évite l'entassement des échantillons en les plaçant dans des paniers grillagés déposés dans un endroit chaud et sec. Dès le retour au laboratoire, les mousses sont mises à l'étuve à 60 °C pendant 24 heures. En raison de la volatilité de certains pesticides et PCB, on évitera des étuves dont les usages précédents auraient pu entraîner une quelconque contamination. Une fois sèches, les mousses peuvent être conservées jusqu'au moment de l'analyse sans précaution particulière si ce n'est de les préserver de la poussière, de l'humidité et de la lumière (élimination des risques de phototransformation).

2.1.3 Préparation des échantillons pour l'analyse des PCB .

2.1.3.1 Réhumidification des échantillons.

Les mousses (environ une dizaine de grammes) sont placées dans des cristallisoirs de 250 ml remplis d'eau déminéralisée jusqu'à ce qu'elles reprennent leur aspect normal (quelques minutes suffisent). Les brins de mousse sont ensuite dissociés manuellement. Dans le cas d'un nettoyage *in situ* suffisant, l'eau du cristallisoir devient légèrement trouble. Si cette eau est rapidement salie (après 5 à 10 secondes de nettoyage), les mousses sont retirées et l'opération est renouvelée jusqu'à l'obtention d'une eau de rinçage limpide.

2.1.3.2 Nettoyage à l'eau déminéralisée sous pression.

Cette étape est indispensable pour les échantillons particulièrement incrustés et nettoyés de façon insatisfaisante à l'étape précédente. On emploie alors un dispositif de filtration sous pression (type Nucléopore, Millipore, Sartorius) constitué d'un réservoir d'une contenance de 2, 5 ou 10 litres et muni de deux soupapes, l'une par où est acheminé l'air comprimé (pression 2 bars), la seconde, servant à l'évacuation de l'eau sous pression en un jet fin.

Les mousses, déposées sur une passoire en plastique, sont nettoyées en promenant pendant 30 à 45 secondes le jet d'eau déminéralisée sur l'échantillon. Une durée supérieure à 45 secondes entraîne souvent (surtout pour les échantillons de *Fontinalis sp.*) une déchirure des feuilles en petits fragments, lesquels passent alors au travers des mailles .

2.1.3.3 Préparation pour la pesée.

Les mousses sont ensuite placées dans des sachets en papier propres sur lesquels on aura pris soin de recopier leur

identification puis elles sont séchées à l'étuve à 60°C pendant 24 heures. Elles sont prêtes pour les dosages.

2.2 DOSAGE DES ORGANOCHLORES DANS LES MOUSSES ET DANS L'EAU.

2.2.1 Broyage et pesée des mousses.

A l'aide d'un mixeur dont le bol est en acier inoxydable, une quantité de mousses voisine de 6 à 8 g est broyée jusqu'à l'obtention d'un produit sec pulvérulent. La durée du broyage, variable selon la fragilité des espèces, est déterminée de manière à optimiser la surface de contact entre les mousses et les solvants organiques utilisés ultérieurement. De l'ordre de 45 secondes, elle permet d'obtenir une poudre de taille moyenne inférieure à 400 microns.

Deux fois environ 3 g de mousses sont pesés précisément dans deux Erlenmeyers en verre de 125 ml préalablement nettoyés avec un détergent exempt de phtalates et rincés plusieurs fois à l'eau déminéralisée, à l'acétone puis à l'hexane afin de limiter les interférences au cours de l'analyse. Chaque échantillon est alors soumis à la totalité du protocole analytique de façon à prendre en compte toutes les sources de variation liées à l'extraction et au dosage.

2.2.2 Extraction des organochlorés:

2.2.2.1 DANS LES MOUSSES:

Les 3 g de mousses broyées sont mis en présence d'un mélange de solvants (n hexane-acétone: 3:1, v/v) pendant 16 heures sur une table d'agitation (marque New Brunswick Scientific Co) réglée à 400 tr./mn. Après avoir récupéré le mélange organique à l'aide d'une pipette Pasteur, on procède à deux extractions supplémentaires avec un volume de solvant moindre (15 ml) et un

temps d'agitation de 15 minutes. Les 80 ml du mélange n hexane-acétone sont alors lentement évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif Büchi, jusqu'à un volume d'environ 2 ml, puis évaporés à sec à température ambiante. Etant donné la forte tension de vapeur du mélange n hexane-acétone, la température du bain-marie est fixée à 30°C de façon à minimiser les risques de volatilisation des PCB légers et des pesticides de faible poids moléculaire. Un témoin est effectué pour chaque série de 15 échantillons.

2.2.2.2 DANS L'EAU:

Les échantillons d'eau (1 500 ml) sont extraits dans une ampoule à décanter de 2 litres par 3 fois 30 ml d'hexane. Pour chaque extraction, l'agitation manuelle et le temps total de contact solvant-eau sont respectivement de 5 et 45 min. Les 90 ml d'hexane récupérés sont ensuite évaporés dans les mêmes conditions que celles mentionnées ci-dessus. Un témoin est réalisé pour chaque série de 15 échantillons.

2.2.3 Purification des extraits.

Les protocoles sont identiques pour les extraits de mousses et d'eau. Les résidus secs sont repris par 2 ml d'hexane puis transférés dans des tubes à centrifuger contenant 10 ml d'acide sulfurique à 95%. Après une agitation de 2 min au Vortex, il se crée une émulsion qui est alors cassée par 5 min de centrifugation à 3 000 g. Les surnageants, recueillis à l'aide d'une pipette Pasteur, sont prêts pour l'analyse chromatographique.

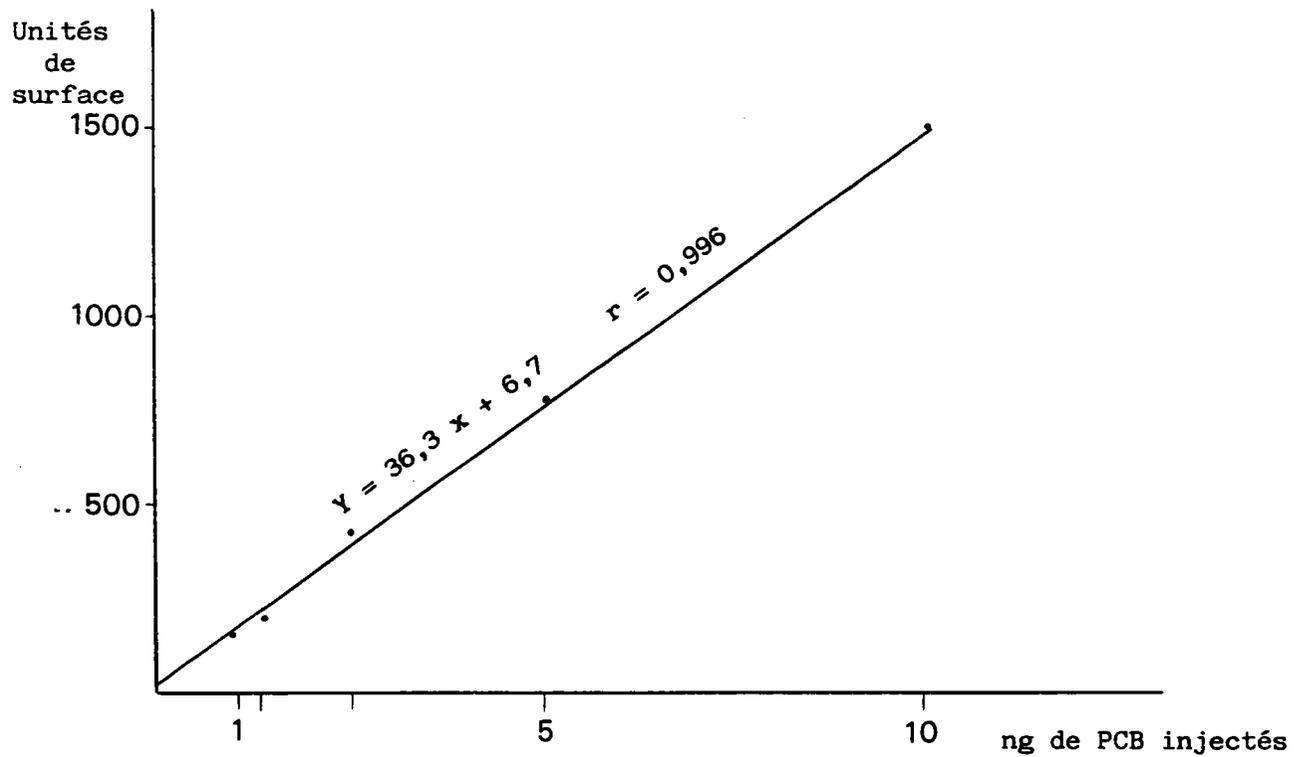
2.2.4 Chromatographie des extraits.

Un volume de surnageant de 1 microlitre est injecté à l'aide d'une seringue Hamilton dans un chromatographe Perkin-Elmer 8300 équipé d'un détecteur à capture d'électrons (ECD) dont la source radioactive est le nickel 63 (Ni 63 = 50 mCi.). Pour s'assurer que l'intégration a bien lieu dans la gamme linéaire du

TABLEAU 12: Etude de la gamme de linéarité du détecteur à capture d'électrons utilisé avec un split ratio de 1/54.

Quantités injectées (ng de PCB /ul)	Aire totale des pics (unités de surface)
1	186
1,25	229
2,50	403
5	767
10	1504
12,5	1615

Droite d'étalonnage du détecteur.



N.B.: La droite de corrélation a été calculée après avoir éliminé les couples valeurs extrêmes (12,5-2468 ; 15-5721).

détecteur, nous réalisons une droite d'étalonnage à l'aide de standards dilués. Les résultats reportés au tableau 12 indiquent que l'injection d'une quantité de PCB supérieure à 12 ng/µl sature le détecteur lorsque le split-ratio est de 1/54. En conséquence, la réponse du détecteur ne sera fiable que si les extraits biologiques très pollués sont ajustés par dilutions adéquates à une concentration en PCB inférieure à 10 ng/µl injecté. Les conditions d'analyse chromatographique sont indiquées au tableau 13.

Les pics sont identifiés par leurs temps de rétention relatifs. L'aire des pics, calculée par un intégrateur de marque PERKIN-ELMER, est contrôlée par plusieurs paramètres :

I La sensibilité de ligne de base est la valeur modulant les variations du bruit de fond du détecteur.

II La sensibilité de surface est l'aire minimale fixée où une déviation positive de la ligne de base peut être interprétée comme un pic.

III La sensibilité de "skim" est un critère utilisé par le système pour prendre en compte un petit pic coéluant sur la trainée d'un grand pic.

IV Le traitement de la ligne de base est choisi par l'opérateur. L'intégration des pics peut se faire de vallée à vallée ou à l'aide d'une ligne de base imposée mathématiquement.

En raison par exemple de la présence de dérivés soufrés interférant avec le nickel du détecteur, il est possible que la ligne de base dérive. Cette dérive fait que l'ordinateur intégrera différemment le même pic selon qu'il provienne d'un échantillon contaminé ou exempt d'impuretés soufrées. Un choix approprié des critères évoqués ci-dessus permet des réajustements et par conséquent l'intégration correcte de pics issus d'échantillons de diverses provenances.

TABLEAU 13: Conditions opératoires de la chromatographie en phase gazeuse lors des dosages de micropolluants organochlorés dans les mousses aquatiques.

PARAMETRE	VALEURS UTILISEES
Température de l'injecteur	280°C
Température du détecteur	380°C
Colonne :	
type	capillaire
matériau	silice fondue
marque	S.P.I.R.A.L. B.P. 1408, 21051 Dijon Cedex
remplissage	film SE 52, 0,2 µm d'épaisseur
longueur	50 m
diamètre interne	0,22 mm
Température du four	programmation
	<p>The diagram illustrates the temperature programming for the oven. It starts at 185°C and remains constant for 1 minute. Then, it ramps up at 2,0°C per minute. It reaches 220°C and remains constant for 5 minutes. From there, it ramps up at 2,2°C per minute. Finally, it reaches 265°C and remains constant for 11 minutes.</p>
Gaz vecteur	azote pur
Débit du gaz vecteur	0,49 ml/mn
Split ratio	1/54

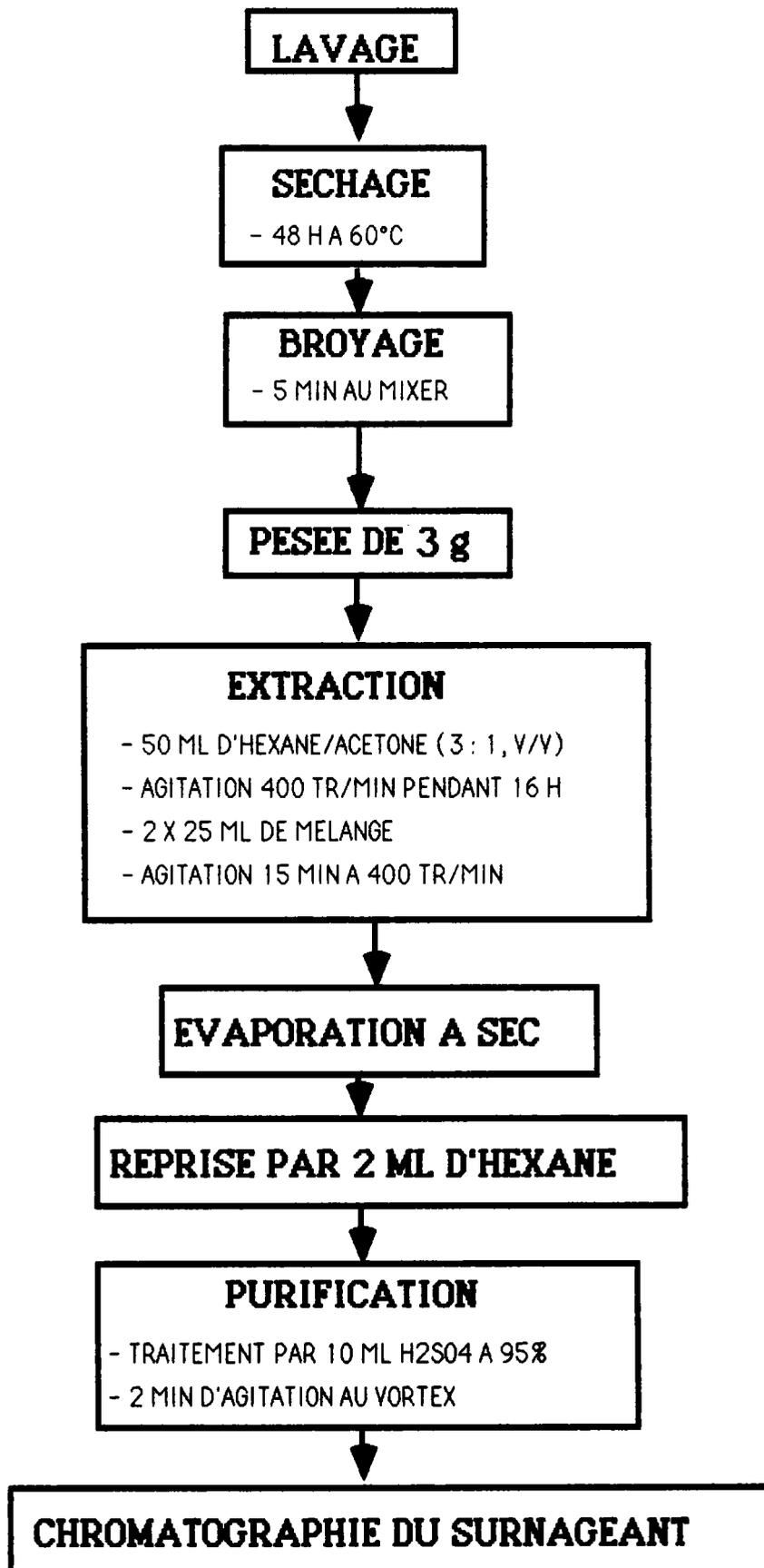
Compte tenu des difficultés à disposer d'un étalon interne n'interférant avec aucun pic de pesticide ni de PCB, nous avons été contraints d'adopter une méthode de quantification par étalonnage externe. Pour les pesticides, elle s'effectue par rapport à une solution standard d'un mélange de pesticides injectée deux fois par jour de manière à tenir compte de la dérive du chromatographe. De même, la quantification des PCB est réalisée par étalonnage externe par rapport à une solution standard de PCB injectée quotidiennement. Le tableau 14 résume l'ensemble du protocole d'extraction.

2.2.4.1 Choix des standards de PCB.

Le choix des étalons varie selon les auteurs. Si le problème ne se pose pas pour les molécules de pesticides (chacune correspondant à un seul pic), il n'en est pas de même avec les PCB. En effet, le profil chromatographique diffère d'un mélange commercial à l'autre puisque les proportions de chaque congénère varient selon la nature et la marque des produits. La plupart de nos extraits hexaniques sont quantifiés par rapport à un mélange d'Aroclor (Aroclor 1242 + 1254 + 1260 ; 1:1:1). Ce mélange présente plusieurs avantages. D'une part, il est couramment employé dans la littérature, ce qui permet une comparaison de nos résultats avec ceux obtenus pour d'autres bioindicateurs, d'autre part, il offre une large gamme de PCB nécessaire à l'intégration de la plupart des congénères présents dans les mousses en cas de pollution diffuse. Lorsque la pollution est caractérisée par un autre type de mélange, on utilise les standards appropriés, en l'occurrence l'Aroclor 1260 et 1242.

Si l'analyse des solutions standards permet la séparation de 63 pics d'Aroclor 1254, 43 d'Aroclor 1242, 48 d'Aroclor 1260 et 78 d'un mélange d'Aroclor 1242, 1254 et 1260 (1:1:1), celle des échantillons de mousses révèle la présence d'un nombre de pics de PCB variant de 20 à 60. En fait, les PCB retrouvés dans les mousses aquatiques dépendent de la nature des pollutions et la

Tableau 14 : Protocole utilisé pour l'analyse des micropolluants organochlorés (PCB et pesticides organochlorés) dans les mousses aquatiques



présence de certains isomères est liée à leur biodisponibilité et aux processus de transformations physico-chimiques et métaboliques se déroulant dans l'environnement. En outre, certains congénères peuvent également contaminer les mousses à des concentrations trop faibles pour être détectés.

Les solutions standards de PCB et de pesticides sont fournies par Applied Sciences.

2.2.4.2 Problèmes posés par la quantification.

La méthode la plus courante consiste à exprimer les concentrations en PCB sous forme d'Aroclor en se basant sur l'identification des plus grands pics caractéristiques de ces mélanges à savoir les tétra-, penta- et hexachlorobiphényles, ces derniers étant aussi les plus fréquemment rencontrés dans l'environnement. Cette technique est fiable si les proportions des différents congénères entrant dans la composition d'un Aroclor sont constantes et si l'empreinte chromatographique des PCB détectés dans un extrait est directement comparable à celle d'un Aroclor. Si STEICHEN et al., (1982) ont montré la constance de composition des lots d'Aroclor, il est souvent difficile de déterminer avec précision par rapport à quel Aroclor (1242, 1254, 1260, ...) il convient d'exprimer les résultats.

L'évolution de la chromatographie au cours des dernières années a permis la séparation et la quantification des 209 congénères de PCB (MULLIN et al., 1984). Puisque la toxicité et le comportement des PCB dans l'environnement (environ une centaine de congénères) dépendent respectivement de leur taux de chloration, de leur stéréochimie et de leur biodisponibilité, il est clair que l'étude qualitative de la contamination des bryophytes est complémentaire de l'approche quantitative. En conséquence, la quantification de chaque congénère serait la solution de dosage idéale mais elle se heurte à deux inconvénients majeurs (SCHWARTZ et al., 1987). Outre la nécessité de disposer d'un intégrateur suffisamment performant pour calibrer une centaine de pics, il

faut également s'assurer que chaque pic correspond bien à la représentation graphique d'un seul congénère et pour cela disposer alors de deux colonnes capillaires de polarité différente.

Dans nos études, les résultats exprimés en PCB totaux correspondent à la somme des concentrations de tous les pics de PCB présents dans les échantillons. Sur une base de 78 pics de PCB identifiables, 11 au moins résultent de la coélution de 2, voire 3 congénères. L'utilisation d'une seconde colonne de polarité différente (SE 30) permet la séparation des pics coélus mais compte tenu du peu d'information additionnelle et d'un temps d'analyse doublé, nous avons passé outre ce problème et calculé les concentrations de ces pics en les assimilant à la somme des 2 ou 3 congénères coélus.

Grâce à des standards dont la concentration de chaque congénère serait connue, (actuellement les 209 congénères isolés sont commercialisés), il serait donc possible de quantifier individuellement leurs homologues présents dans les extraits biologiques. Dans la pratique, les analyses sont souvent simplifiées par des approximations dont dépend la fiabilité des résultats. Afin de résoudre ces problèmes, plusieurs équipes ont développé des méthodes statistiques d'identification des mélanges de PCB à partir de la quantification de composés individuels. Ainsi selon les performances du matériel utilisé, les auteurs calculent les concentrations en PCB sur la base de :

* quelques isomères caractéristiques de solutions commerciales

- Chlophen A 30, A 50, A 60 ou mélange (1:1:1).

Pour la quantification, RAINIO et al., (1985) utilisent 12 pics d'isomères d'un mélange (1:1:1) de Chlophen A 30, A 50 et A 60. Les PCB totaux sont quantifiés par comparaison de l'aire de ces 12 pics à celle des pics correspondants dans les échantillons.

- Aroclor 1242, 1254, 1260 ou mélange (1:1:1).

TARRADELLAS & DE ALENCASTRO (1985) quantifient à l'aide de 33 congénères (de concentrations connues) représentant 65,3% d'un mélange (1:1:1) d'Aroclor 1242, 1254 et 1260. Les résultats, pondérés de 34,7%, sont exprimés en PCB totaux.

Cette même équipe a mis au point une méthode basée sur un indice de similitude permettant de déterminer l'origine des PCB retrouvés dans des eaux résiduaires (DE ALENCASTRO & TRARRADELLAS, 1985), les résultats sont alors exprimés par rapport aux divers Aroclor. Notons toutefois que cette méthode ne permet pas de tester le niveau de signification des ressemblances observées entre les échantillons et les standards .

POULICEK et al., (1988) ont développé une méthode basée sur la quantification de 14 pics de congénères caractéristiques d'un mélange d'Aroclor 1242, 1254 et 1260 (1:1:1). Les données brutes constituées par le rapport des surfaces des 14 pics de PCB de l'extrait biologique à la surface totale des pics du même chromatogramme sont pondérées par le rapport similaire obtenu à partir des standards. L'interprétation des données est réalisée à l'aide d'un traitement statistique (test de corrélation de KENDALL) et les résultats, exprimés par un niveau de signification des ressemblances aux solutions d'Aroclor, sont visualisés par des cladogrammes selon les algorithmes de KULCZINSKI et de GOWER.

* tous les pics de congénères résolus.

- JENSEN & MOWRER (1985) quantifient 78 pics d'un mélange (1:1:1) de Chlophen A 30, A 50 et A 60. Tous les pics identifiés comme PCB dans les échantillons biologiques sont pris en considération, les résultats exprimés en PCB totaux correspondent donc à la somme des concentrations de tous les pics de PCB.

TABEAU 15 : Pourcentages en poids des principaux congénères de PCB dans les Aroclor 1242, 1254 et 1260.

Congénères	Structure	Aroclor 1242	Aroclor 1254	Aroclor 1260
4	22'	1.37	0.00	0.00
7	24	0.65	0.00	0.00
6	23'	1.29	0.00	0.00
8°	24'	11.45	0.19	0.13
19	22'6	1.03	0.11	0.00
18 - 17	22'5 - 22'4	13.65	0.97	0.15
24	236	0.47	0.00	0.00
16* - 32	22'3 - 24'6	5.77	0.38	0.07
26	23'5	1.19	0.08	0.00
25	23'4	0.81	0.00	0.14
31 - 28	24'5 - 244'	11.74	1.22	0.12
33°	2'34	7.32	0.65	0.09
22	234'	1.79	0.13	0.01
45	22'36	1.09	0.22	0.03
46	22'36'	0.45	0.06	0.00
52	22'55'	4.54	3.34	0.43
49	22'45'	2.67	0.86	0.06
47* - 48	22'44' - 22'45	1.75	0.00	0.00
44	22'35'	4.28	2.24	0.07
37 - 42	344' - 22'34'	2.88	0.52	0.04
41 - 64	22'34 - 234'6	4.62	1.50	0.00
40	22'33'	0.78	0.26	0.01
100	22'44'6	0.19	0.10	0.00
74	244'5	1.92	1.71	0.03
70	23'4'5	3.68	5.52	0.08
66	23'44'	4.22	6.10	3.48
60* - 56	2344' - 233'4'	2.30	1.82	0.31
101	22'455'	1.27	8.42	4.04
99	22'44'5	0.67	4.56	0.04
83	22'33'4	0.08	0.45	0.02
97	22'3'45	0.53	3.06	0.13
87°	22'345'	0.43	3.32	0.34
85	22'344'	0.34	2.08	0.02
136	22'33'66'	0.00	0.59	3.16
110	233'4'6	1.18	10.32	1.63
82	22'33'4	0.31	1.73	4.53
151°	22'355'6	0.08	1.14	2.52
144°	22'245'6	0.00	0.00	8.73
118* - 108 - - 149 -	23'44'5 - 233'45 22'34'5'6	0.68	11.50	0.00
153	22'33'55'	0.41	3.14	1.32
146	22'34'55'	0.05	4.75	10.05
141 - 179	22'3455' - 22'33'566'	0.00	0.69	4.53
137	22'344'5	0.00	0.37	0.02
138	22'344'5'	0.08	9.11	8.33
129* - X	22'33'45	0.00	0.78	0.63
178	22'33'55'6	0.00	0.80	1.65
175	22'33'45'6	0.00	0.56	13.81
187* - 159	22'34'55'6 - 233'455'	0.00	0.21	2.56
128	22'33'44'	0.00	1.66	0.38
185	22'3455'6	0.00	0.20	3.03
174	22'33'456'	0.00	0.18	2.55
177	22'33'4'56	0.00	1.01	1.61
172	22'33'455'	0.00	0.05	0.51
180	22'344'55'	0.00	0.54	6.50
170	22'33'44'5	0.00	0.83	4.77
196	22'33'44'5'6	0.00	0.00	1.72
201	22'33'4'55'6	0.00	0.00	3.13
195	22'33'44'56	0.00	0.00	2.09
194	22'33'44'55'	0.00	0.00	0.87
		100	100	100

• Plus d'un congénère par pic. Le congénère pris en compte est celui dont la concentration est la plus importante.

* Tous les congénères sont pris en compte, le congénère noté d'une étoile est celui dont la concentration est la plus importante.

D'après CAPEL et al., 1985.

- La sélection de quelques dizaines de pics d'un chromatogramme standard obtenu avec une colonne capillaire permet, par extrapolation, de calculer la concentration totale en PCB. Cependant dans la mesure où le nombre de congénères sélectionnés est restreint, cette méthode peut engendrer des erreurs car elle sous-estime les phénomènes d'adsorption différentielle et les biotransformations que les isomères issus des mélanges commerciaux subissent dans l'environnement.

Disposant d'un matériel chromatographique performant, nous résolvons 78 pics de congénères de PCB. Tous les pics, de 1 à 78, dont les temps de rétention ne s'écartent pas plus de 0,01 min de ceux des solutions standards sont retenus pour la quantification des extraits hexaniques.

2.2.4.3 Méthode de calcul des concentrations en PCB.

Le calcul des concentrations en PCB et pesticides dans les mousses s'effectue au moyen de facteurs de conversion f_{si} qui constituent le lien entre la surface de chaque pic i du chromatogramme, de concentration connue, et la surface du pic correspondant sur le chromatogramme de l'échantillon. Le facteur est établi pour chacun des pics intégrés, un pic représentant un ou plusieurs congénères de PCB coélus (tableau 15). En utilisant le chromatogramme du standard, on a :

$$f_{si} = \frac{C_{si}}{A_{si}}$$

C_{si} = Concentration en ng/U
(U=unités de surface)
dans le standard du
(ou des) congénères
présents dans le pic i

A_{si} = Surface du pic i .

La surface A_i du pic correspondant sur le chromatogramme de l'échantillon, multipliée par le facteur f_{si} représente la concentration C_i en ng du congénère i par microlitre d'hexane concentré injecté.

$$C_i = A_i \times f_{si}.$$

La quantité totale de PCB, Q en ng dans l'extrait, est donc calculée en multipliant la somme des concentrations C_i par le volume V (en microlitres) d'hexane avec lequel on a repris le résidu sec.

$$Q = V \sum_{i=1}^{i=78} C_i.$$

La concentration en ng/g de matière sèche (ppb) dans l'échantillon est alors obtenue par division de la quantité totale (Q) par le poids P (en grammes) de bryophytes prélevé pour l'extraction.

$$C = \frac{Q}{P}$$

Pour déterminer la proportion de chaque congénère i de PCB dans la solution standard, nous avons utilisé les pourcentages en poids que CAPEL et al. (1985) ont établi par GC et GC/MS avec des solutions d'AROCLOR 1242, 1254 et 1260 fournies par Applied Sciences (Tableau 15). Le facteur de conversion, f_i , employé pour la quantification correspond à une moyenne établie sur la base de 32 injections de nos solutions standards.

L'injection quotidienne des standards permet de vérifier la validité du facteur de conversion et d'opérer si nécessaire à un réajustement. Pour limiter les dégradations photochimiques des pesticides et des PCB à faible taux de chloration, les standards mis à l'obscurité sont renouvelés hebdomadairement à partir d'une solution mère conservée au congélateur à -18°C . Les PCB ayant tendance à s'adsorber sur le verre (THOME & VANDEALE, 1987), les standards et les extraits hexaniques sont agités 30 secondes au Vortex avant chaque injection.

En ce qui concerne l'étude *in situ* de l'accumulation des PCB par deux espèces de bryophytes (§ 3.2), nous avons procédé à une quantification globale. Les sites d'implantation des mousses étant situés à proximité immédiate de la source de pollution, les

chromatogrammes des échantillons et du standard présentaient une empreinte analogue. En raison de ces similitudes, nous avons donc quantifié sans tenir compte des proportions particulières à chaque congénère.

2.2.5 EXPRESSION DES RESULTATS.

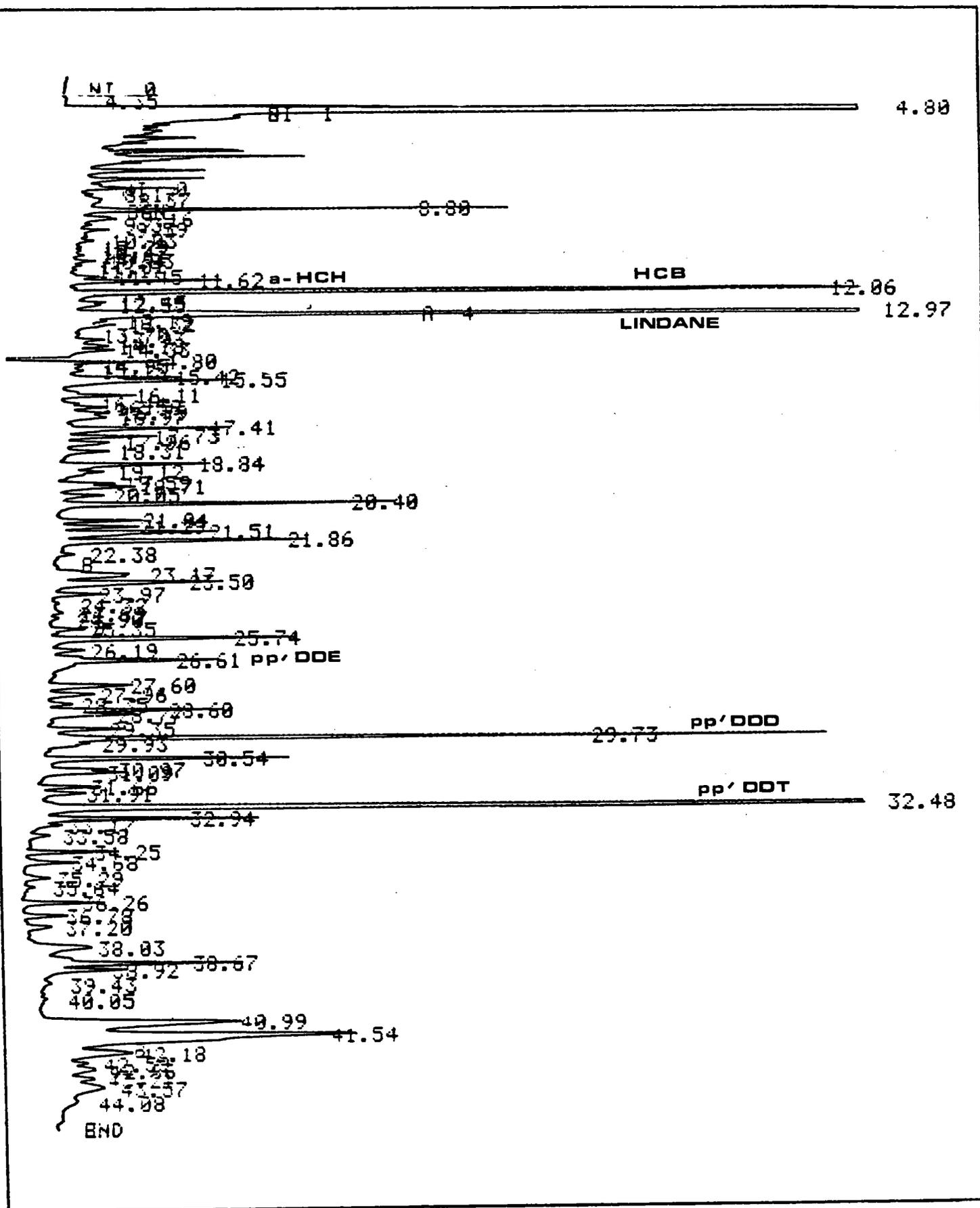
2.2.5.1 Problèmes analytiques liés à la présence des pesticides.

Outre les PCB, les extraits hexaniques de bryophytes aquatiques révèlent la présence de pesticides organochlorés. Ces deux familles de composés bien que très proches par leur structure et leur devenir dans l'environnement n'en ont pas moins des domaines d'utilisation différents. Hormis les PCB, les mousses de la plupart des cours d'eau contrôlés sont contaminées par l'HCH (hexachloro-cyclohexane), l'HCB (hexachloro-cyclobenzène), le DDT (dichloro-diphenyl-trichloréthane) et ses métabolites.

Malgré une rémanence inférieure à celle des PCB et des molécules de la famille du DDT, la présence de l'HCB et de l'isomère gamma de l'HCH (lindane) dans le milieu aquatique n'est pas surprenante puisque ceux-ci sont encore largement employés à l'heure actuelle : l'HCB comme fongicide et le lindane comme insecticide. Le groupe du DDT comprend non seulement le DDT (pp' et op' DDT) mais aussi ses métabolites : le DDE (pp' et op' DDE) et le DDD (pp' et op' DDD). Seul ce dernier et le DDT sont insecticides, le DDE qui est un métabolite du DDT et du DDD est quant à lui nettement plus rémanent (SAUVEGRAIN, 1981).

En France, bien que l'usage agricole du DDT, de la dieldrine, de l'aldrine, de l'heptachlore et du chlordane soit interdit depuis 1972 (arrêtés du 2 octobre 1972 et du 1 février 1972), leur production n'est pas pour autant stoppée puisqu'elle

FIGURE 2: Séparation par chromatographie sur une colonne capillaire de 50 m des pesticides organochlorés et des PCB.



est exportée dans les pays où la législation est moins contraignante : Amérique Latine, Afrique (RAMADE, 1987).

La majorité des publications concernant les recherches de PCB préconisent l'emploi de colonnes capillaires d'une longueur de 25 m. Selon les circonstances, il arrive que la quantification des PCB soit gênée par la présence des pesticides, ces derniers coéluant avec certains congénères de PCB. Pour remédier à ce problème, les auteurs convertissent alors chimiquement les pesticides de façon à décaler leur temps de rétention de celui des PCB (FARRENKOTHEN, 1985; JENSEN & MOWRER, 1985; TUINSTRA & ROOS, 1985). Cette technique, qui fait appel à des oxydants forts, nécessite plusieurs étapes dont la température est strictement régulée. Outre l'éventuelle perte de PCB (manutention supplémentaire, chauffage et lavage de l'échantillon à l'eau) et un temps d'analyse allongé, une information importante est perdue puisque les réactions d'oxydation détruisent les pesticides et que les résidus de dégradation sont la plupart du temps éliminés au cours du nettoyage en phase aqueuse.

Pour aboutir au dosage concomitant des PCB et des pesticides organochlorés (a, b et g HCH, HCB, pp' et op'DDT, pp' et op'DDD et pp'DDE), nous avons opté pour le choix d'une colonne capillaire à haut pouvoir de résolution. D'une longueur de 50 m et d'une épaisseur de phase de 0,25 micron, la colonne utilisée permet, grâce à une programmation de température appropriée, la séparation des PCB et des pesticides. Cependant en comparaison avec une colonne plus courte, le temps d'analyse est rallongé ; dans notre cas, il est de 58 mn. La figure 2 illustre la séparation des PCB et des pesticides sur une colonne de 50 mètres.

2.2.5.2 Choix des solvants et rendement d'extraction.

Les solvants utilisés varient selon les techniques d'extraction et dépendent de la nature des polluants à doser : une recherche globale de pesticides, d'un groupe de produits ou d'une molécule spécifique avec éventuellement ses métabolites. En fait, il n'existe pas de "solvant universel" pour l'extraction des PCB

TABLEAU 16 : Rendement d'extraction de PCB et de pesticides avec divers solvants organiques et mélanges de solvants. Les résultats sont exprimés en pourcentages.

solvants organiques utilisés pour l' extraction		ether de pétrole	CH Cl ₃		hexane		mélange hexane - acétone (9:1,v/v) (3:1,v/v)					
Contamination des mousses par les :												
<i>Pesticides</i> (ppm)		0,1	1	0,1	1	0,1	1	0,1	1	0,1	1	
<i>PCB</i> (ppm)		0,5	5	0,5	5	0,5	1	0,5	5	0,5	5	
R É C U P É R A T I O N	D E S	a HCH	69	73	58	64	82	79	88	92	93	96
		b HCH	77	66	58	61	86	84	86	84	90	88
		Lindane	42	49	58	42	47	50	89	91	98	96
	P E S T I C I D E S	HCB	78	80	67	71	69	68	93	92	99	93
		pp' DDE	65	68	72	77	66	74	90	82	91	93
		op' DDD	58	59	48	63	59	62	82	90	96	90
		pp' DDD	83	90	78	49	62	64	97	92	88	100
	P C B	op' DDT	48	53	61	74	52	58	68	58	97	90
		pp' DDT	84	82	73	81	88	91	88	92	99	97
		Aroclor	88	87	77	69	76	78	90	91	97	93
% moyen de récupération des pesticides et des PCB.		69	71	65	59	68	71	87	86	95	93	

et des pesticides et il est nécessaire de se rapporter à la littérature pour chaque cas particulier.

En raison de leur caractère lipophile, les PCB et les pesticides sont extraits par des solvants organiques. Pour optimiser l'extraction dans des mousses contaminées par des quantités connues de PCB et de pesticides, nous avons testé plusieurs solvants et mélanges de solvants : éther de pétrole, chloroforme, hexane et mélange hexane-acétone (9:1, v/v) et (3:1, v/v).

L'efficacité des solvants est comparée dans deux lots de trois fractions de 3 g de mousses pesés précisément auxquels, hormis le témoin, sont ajoutés les micropolluants organochlorés suivants:

Le premier lot est contaminé par 0,1 ppm d'un mélange de pesticides (500 μ l d'une solution de 0,6 μ g/ml) et 0,5 ppm d'Aroclor 1254 (500 μ l d'une solution de 50 μ g/ml).

Le second lot est contaminé par 1 ppm d'un mélange de pesticides (500 μ l d'une solution de 6 μ g/ml) et 5 ppm d'Aroclor 1254 (500 μ l d'une solution de 50 μ g/ml).

Le protocole d'extraction et de quantification est identique à celui décrit précédemment. Les résultats exprimés en % de récupération sont reportés au tableau 16.

L'hexane et l'éther de pétrole donnent le même rendement mais nous avons abandonné l'emploi de ce dernier suite à l'apparition de pics parasites d'hydrocarbures après concentration des extraits. L'ajout d'un solvant déshydratant dans l'hexane, à savoir l'acétone, assure un meilleur rendement d'extraction probablement parce qu'il facilite la désagrégation des barrières hydrophyles membranaires. Une proportion d'un volume d'acétone pour trois volumes d'hexane permet d'obtenir un % moyen de récupération des micropolluants de 94,2% (écart-type : 2,4 %).

2.2.5.3 Choix de la méthode et rendement d'extraction.

L'extraction des PCB et des pesticides à partir des échantillons biologiques peut être réalisée par diverses techniques: lyophilisation suivie d'une digestion acide et/ou minéralisation puis extraction par des solvants organiques. L'extraction "batch-solvant" (extraction soxhlet) est une des méthodes les plus employées. Elle se déroule en continu ou par agitations successives et les rendements d'extraction varient de 80% à 98%.

Une fois acquis les résultats du paragraphe précédent, nous avons procédé à la comparaison de 4 techniques d'extraction à l'aide d'échantillons de bryophytes issus de biotopes particulièrement pollué par des pesticides (a, b et g HCH, HCB, DDT et dérivés) et des PCB.

I L'extraction par contact direct solvant-mousses.

Nous avons réalisé 2 extractions par contact direct solvant-mousses : l'une, avec un mélange d'hexane-acétone (3:1,v/v) et l'autre à l'aide d'hexane seul. Le protocole est décrit au paragraphe 2.2.2

II L'extraction précédée d'une digestion acide.

Trois fois 2 g de mousses sont placés dans des béchers contenant chacun 60 ml d'un mélange d'acides (2 vol. d'acide perchlorique à 70% dans 3 vol. d'acide acétique à 100%). Les béchers sont recouverts par un verre de montre puis mis au bain-marie pendant 12 heures. La température du bain-marie est de 70°C. Après retour à la température ambiante, le volume est doublé à l'aide d'eau distillée préalablement lavée à l'hexane. La solution obtenue est transvasée dans une ampoule à décanter puis extraite, après 2 mn d'agitation manuelle, par 3 fois 20 ml d'hexane. Les extraits hexaniques sont ensuite traités de la même manière qu'antérieurement.

TABLEAU 17 : Comparaison des rendements d'extraction de PCB et de pesticides par 4 techniques différentes.
Les résultats sont exprimés en ppm.

Concentrations en organochlorés (ppm)	TECHNIQUES D'EXTRACTION			
	Batch-solvants		Digestions acides	
	Hexane Acétone	hexane seul	nitrique - perchlorique	acétique - perchlorique
a HCH	0,10	0,08	-	-
HCB	1,87	1,15	-	1,40
b HCH	0,09	0,08	-	-
Lindane	3,37	1,49	0,28	interférences
pp'DDE	1,03	0,68	-	0,71
op'DDT	3,55	1,88	-	1,64
pp'DDT	8,83	5,02	-	4,79
PCB	7,12	5,69	2,12	5,16

Le signe - signifie destruction et/ou perte au cours de l'analyse.

III L'extraction précédée d'une minéralisation.

La méthode de minéralisation est adaptée de MOUVET (1983). Trois lots de mousses broyées sont pesés au milligramme près et placés dans 3 erlenmeyers à col rodé de 250 ml contenant chacun 60 ml d'un mélange d'acides (1 vol. d'acide nitrique 18 N pour 2 vol. d'acide perchlorique à 20%). Les erlenmeyers, bouchés, sont ensuite laissés à l'étuve à 60°C pendant 18 heures. Dès le retour à la température ambiante, le volume de chaque échantillon est triplé à l'aide de 180 ml d'eau déminéralisée et distillée. Le contenu de chaque erlenmeyer est alors versé dans une ampoule à décanter puis extrait par 3 fois 20 ml d'hexane. L'extrait recueilli est ensuite traité de la même manière qu'au paragraphe 2.2.3. Les concentrations en micropolluants organochlorés (ng/g) dans les bryophytes sont reportées au tableau 17.

La comparaison des deux lots (A et B) extraits par le mélange hexane-acétone est illustrée par le tableau 18. Elle confirme les résultats du paragraphe 2.2.5.2 et indique que les rendements d'extraction sont comparables aussi bien en ce qui concerne les fortes concentrations en micropolluants que les faibles.

En ce qui concerne l'HCB et le pp'DDE, l'extraction précédée d'une digestion acide avec le mélange acétique-perchlorique donne un meilleur rendement que l'extraction batch-solvant à l'hexane. Si l'apparition d'un produit coéluant avec le lindane laisse suspecter la présence de ce dernier, il n'en est pas de même pour les isomères a et b, ceux-ci étant totalement éliminés. Le rendement moyen d'extraction du DDT (op' et pp'DDT) et des PCB est comparable (à 91%) à celui obtenu par l'extraction batch-solvant à l'hexane.

La minéralisation à l'aide du mélange d'acide nitrique et perchlorique élimine les composés de la famille du DDT (op' et pp'DDT; op' et pp' DDD; pp'DDE) ainsi que l'HCB et l'a et b HCH. La proportion de PCB extraits par cette méthode représente 37% des quantités mesurables après une extraction batch-solvants à

TABLEAU 18: Rendement (%) d'extraction avec le mélange hexane-acétone (3:1, v/v) de 2 lots (A et B) de mousses :

LOT A1: mousses contaminées par 0,1 ppm de pesticides et 0,5 ppm de PCB.
 LOT A2: mousses contaminées par 1 ppm de pesticides et 5 ppm de PCB.

LOT B: mousses autochtones issues d'un biotope contaminés par les PCB et les pesticides organochlorés.

	a-HCH	HCB	b-HCH	g-HCH	pp'DDE	op'DDT	pp'DDT	PCB
A1	82	69	86	47	66	52	88	76
A2	79	68	84	50	74	58	91	78
B	80	62	89	44	66	53	90	80

Les concentrations ont été comparées à celles du paragraphe 2.2.5.2.

l'hexane, cette perte étant essentiellement due à l'élimination des PCB légèrement chlorés (dichlorés, trichlorés et tétrachlorés).

2.2.5.4 Problèmes analytiques liés à l'étape de purification.

La purification sert à séparer les pesticides et les PCB des résidus organiques parasites (lipides, porphyrines, chlorophylles, etc...) également extraits par les solvants organiques et dont la présence gêne la détection.

Si l'extraction est incomplète, l'extrait hexanique est limpide et facile à purifier mais le rendement d'extraction reste faible. Par contre, avec une extraction correcte, le taux de récupération des PCB et pesticides sera convenable mais l'extrait aura besoin d'une purification poussée au cours de laquelle on peut perdre le bénéfice de l'extraction. Une distillation douce ainsi qu'une saponification donnent, particulièrement pour les congénères fortement chlorés, un rendement d'extraction faible. La digestion acide est une méthode énergique mais elle nécessite une étape de purification supplémentaire à savoir l'élimination du soufre (STANLEY & LEFAVOUR, 1965). Les extractions batch-solvants, soxhlet et basiques donnent des extraits clairs, un bon rendement et présentent l'avantage d'une manutention restreinte.

La purification des extraits peut être envisagée avec succès sous différents aspects (chromatographie sur couche mince, traitements chimiques, partages entre solvants). Actuellement, la méthode la plus répandue consiste à réaliser une chromatographie de partage sur gel adsorbant (gels de silice ou d'alumine, "Florisil", cartouches "Sep-pack"). Le Florisil qui est à base de silice peut être utilisé soit à l'état activé à haute température (650°C) soit à l'état désactivé avec des pourcentages en eau variables : 8% (FRISQUE, 1981), 4% (MONOD, 1983).

Les composés indésirables (lipides, chlorophylles, etc..) restent adsorbés sur le gel et par éluutions successives à l'aide

de solvants de polarité croissante, on recueille plusieurs éluats contenant les groupes de produits à identifier.

La phase de purification constitue l'étape la plus délicate lorsque la solution à analyser comprend un mélange de pesticides et de PCB, la répétabilité des résultats étant alors soumise à la conservation du Florisil.

Une autre méthode de nettoyage, basée sur l'ajout aux extraits hexaniques de quelques millilitres d'oxydants forts (acide sulfurique concentré ou l'oléum), permet, par une agitation suivie d'une centrifugation, un nettoyage performant, un taux de récupération des pesticides et des PCB satisfaisant ainsi qu'un gain de temps appréciable. L'acide sulfurique permet l'élimination des graisses extraites par les solvants organiques. Cette méthode de purification n'est cependant efficace qu'avec des échantillons biologiques renfermant de faibles quantités de lipides tels que les bryophytes. Bien que cette méthode présente l'avantage d'être rapide et peu onéreuse, elle ne peut être utilisée pour les dosages des pesticides arène-oxydés (l'endrine, l'endosulfan et l'heptachlor-époxyde). Ces derniers étant détruits par l'acide sulfurique, nous avons donc abandonné leur recherche dans les mousses aquatiques. Les PCB, le lindane et ses isomères, le DDT et ses dérivés ainsi que l'HCB et les phtalates ne sont pas affectés par ce traitement.

2.2.6 Evaluation de l'efficacité du nettoyage des mousses.

In situ, les mousses sont recouvertes d'un feutrage constitué de particules véhiculées par l'eau et de microorganismes épiphytes. Elles abritent également des invertébrés et retiennent entre leurs brins des cailloutis et des matériaux hétéroclites (particules de polystyrène, matières plastiques, crins, etc...) dont on doit se débarrasser avant les pesées de biomasse végétale.

Aussi, pour éliminer les erreurs de pesée et celles imputables à une contamination probable du feutrage, les mousses

TABLEAU 19 : Pourcentages en poids de résidus secs éliminés lors du nettoyage de 1 g de bryophytes sèches.

ORIGINE DES MOUSSES	ESPECES DE BRYOPHYTES	DATE DE PRELEVEMENT	Pourcentages de résidus secs éliminés
Furon	Pla.	6/11/85	47
Furon	Fon.	6/11/85	24
Romanche	Fon.	6/11/85	38
Romanche	Cin.	6/11/85	55
Drac	Fon.	16/3/84	35
Drac	Fon.	6/11/85	71
Drac	Cin.	6/11/85	54
Isère Veurey	Pla.	16/3/84	46
Isère Veurey	Pla.	16/4/84	64
Isère Veurey	Fon.	6/11/85	66
Isère Veurey	Pla.	6/11/85	72
Isère Châteauneuf	Pla.	6/11/85	43
Isère Châteauneuf	Fon.	6/8/86	64
Rhône Pougny			16
Rhône Pointcarré			22
Rhône Chasse			16
Rhône Charme			16
Rhône Tournon			30
Rhône Arles			12
Saone Auxonne			13

ont subi préalablement aux analyses, un lavage supplémentaire en laboratoire (§ 2.1.3) dont nous avons testé la reproductibilité.

2.2.6.1 Abondance du feutrage recouvrant les bryophytes.

Une vingtaine d'échantillons d'origine variée et soigneusement débarassés des débris macroscopiques ont été pesés avant et après le lavage. L'abondance du feutrage, définie par la différence de masse entre l'échantillon sec non lavé et lavé est exprimée en % de résidus par g de bryophytes non lavées (tableau 19).

Les résultats présentent une grande hétérogénéité. En effet, selon les stations, l'espèce, la saison et la date de prélèvement, les échantillons bruts sont constitués de 12 à 72% de résidus secs. Aussi, un % moyen de 40,2% (s=18%) justifie bien l'utilité du nettoyage au laboratoire.

2.2.6.2 Evaluation de la contamination du feutrage.

Deux séries d'analyses de 10 échantillons, l'une à la suite d'un lavage des mousses, l'autre sans nettoyage préalable ont servi à déterminer la contamination des résidus à l'aide des équations suivantes :

$$C_{nl} = a.C_l + b.C_r \quad \text{et} \quad a + b = 1 \quad (1)$$

$$C_r = \frac{C_{nl} - a.C_l}{b} \quad (2)$$

TABLEAU 20 : Influence du nettoyage en laboratoire sur les concentrations en micropolluants organochlorés dans les mousses aquatiques.

Pourcentages de micropolluants organochlorés adsorbés sur les résidus secs par gramme de bryophytes aquatiques non lavées.

Localisation	Romanche	Romanche	Drac G.	Drac G.	Drac G.	Isère V.	Isère V.	Isère V.	Isère V.	Isère C.	Moyennes et écart-types
Date de prélèv.	6/11/85	6/11/85	16/3/84	6/11/85	6/11/85	16/3/84	13/4/84	6/11/85	6/11/85	6/11/85	
Espèces	Fon a	Cin d	Fon a	Fon a	Pla r	Pla r	Pla r	Fon a	Pla r	Pla r	
% de résidus	38	55	35	71	53	46	64	66	72	43	m = 55 ; σ = 14
α -HCH	75	64	55	92	30	55	66	73	82	62	m = 70 ; σ = 12
β -HCH	69	32	9	65	66	57	69	74	76	67	m = 52 ; σ = 26
Lindane	65	72	79	74	73	74	50	62	82	67	m = 70 ; σ = 10
HCB	73	70	69	36	78	52	82	79	94	76	m = 75 ; σ = 10
pp' DDE	7	3	46	10	22	63	52	20	51	70	m = 34 ; σ = 25
pp' DDD	22	32	45	74	84	70	25	44	59	68	m = 52 ; σ = 22
pp' DDT	47	4	64	63	66	77	63	71	77	69	m = 60 ; σ = 21
pp' DDT	54	25	74	64	66	82	71	77	78	86	m = 68 ; σ = 18
PCB	52	42	66	90	56	61	74	64	66	29	m = 60 ; σ = 17

$$X = \frac{b \cdot C_r}{C_{nl}} \times 100 \quad (3)$$

- C_{nl} : Concentration ($\mu\text{g/g}$) dans les mousses non lavées.
 C_l : Concentration ($\mu\text{g/g}$) dans les mousses lavées.
 C_r : Concentration ($\mu\text{g/g}$) dans les résidus.
 b : masse (g) de résidus par g de mousses non lavées.
 X : contamination (%) imputable à la pollution des résidus par g. de mousses non lavées.

Les % indiqués au tableau 20 illustrent la contribution des résidus secs à la contamination d'un gramme d'échantillon non lavé. La pollution des résidus semble, sauf en ce qui concerne le pp'DDE, supérieure à celle de la biomasse végétale. Aussi, par g de bryophytes non lavées, la proportion moyenne de pollution imputable à la contamination des résidus est de 75% pour l'HCb, 70% pour l'a-HCH et le lindane et varie entre 60 et 69% pour le pp'DDD, l'op'DDT, le pp'DDT et les PCB. Elle est de 34% pour le DDE et de 52% pour le b-HCH et le pp'DDD. La surface spécifique des résidus et leur teneur en carbone organique accroissent probablement les sites potentiels d'adsorption des micropolluants hydrophobes. L'élimination des résidus supprime cette pollution parasite des bryophytes.

2.2.6.3 Répétabilité du lavage des mousses.

En raison de l'absence d'une technique automatisée de nettoyage, nous nous sommes interrogés quant à la répétabilité du lavage tel qu'il est pratiqué en laboratoire. Pour ce faire, 5 échantillons de *Platyhypnidium*, issus de cours d'eau dont la pollution organochlorée est variée tant sur les plans quantitatifs que qualitatifs (Isère, Drac, Durance, Saône et Rhône), ont été chacun partagés en deux lots (A et B). Chaque lot, de masse semblable a subi isolément un nettoyage identique puis a été quantifié selon le protocole décrit au paragraphe 2.2.

TABLEAU 21 : Influence du nettoyage en laboratoire sur les concentrations en micropolluants organochlorés dans les bryophytes aquatiques.

Rapport entre les concentrations en micropolluants organochlorés des mousses du lot A et celles du lot B.

STATIONS Espèces	Drac Grenoble Pla r	Isère Châteauneuf Pla r	Saône Auxonne Pla r	Durance Oraison Cin d	Rhône St Vallier Pla r	Moyennes et écart-types
% de résidus	71	43	13	66	12	
α-HCH	1,10	0,85	1,22	0,90	1,00	m = 1,01 ; σ = 0,15
β-HCH	1,12	0,71	1,07	0,98	4,00	m = 1,58 ; σ = 1,36
Lindane	0,88	0,97	1,10	1,29	1,50	m = 1,15 ; σ = 0,25
HCB	0,98	0,90	1,23	1,86	0,86	m = 1,17 ; σ = 0,41
pp' DDE	1,03	0,94	0,71	-	0,88	m = 0,89 ; σ = 0,13
pp' DDD	1,05	0,93	1,20	-	-	m = 1,05 ; σ = 0,14
op' DDT	0,93	1,14	1,09	-	-	m = 1,05 ; σ = 0,11
pp' DDT	1,21	1,12	*	-	-	m = 1,16 ; σ = 0,06
PCB	1,14	1,01	0,97	-	0,93	m = 1,01 ; σ = 0,09

- non déterminé.

Le tableau 21 illustre la reproductibilité du nettoyage en laboratoire. Les données correspondent au rapport des concentrations du lot A comparées à celles du lot B. Les résultats bruts sont indiqués au tableau 22.

En ce qui concerne les concentrations en α -HCH, pp'DDD, op'DDT et PCB, le lavage semble reproductible puisque les déviations sont comparables à celles du chromatographe (de l'ordre de 5%). Cependant, pour le β -HCH, le lindane, l'HCB, le pp'DDE et le pp'DDT, les résultats ne sont reproductibles qu'à 85%. Aussi, pour ces pesticides, l'interprétation de concentrations du même ordre de grandeur devra être prudente.

TABEAU 22 : Influence du nettoyage en laboratoire sur les concentrations en micropolluants organochlorés.

Comparaison des teneurs en micropolluants (ng/g) dans deux lots (A et B) de mousses ayant subi un séparément un lavage identique en laboratoire.

Pesticides	Drac G.	Drac G.	Isère C	Isère C	Saône	Saône	Durance	Durance	Rhône	Rhône
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
α -HCH	53	48	29	34	11	9	74	82	6	6
β -HCH	112	100	15	21	16	15	333	339	4	1
Lindane	81	92	76	78	53	48	130	101	21	14
HCB	990	1 002	239	264	16	13	13	7	12	14
pp'DDE	3 448	3 405	95	101	10	14	n.d.	n.d.	7	8
pp'DDD	404	387	73	78	48	40	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
op'DDT	10 370	11 113	248	217	37	34	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
pp'DDT	35 828	29 704	550	489	n.d.	4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PCB	28 041	24 522	4 237	4 197	994	1 022	n.d.	n.d.	1 779	1 896

n.d. : non déterminé.

3 - RESULTATS

ETUDE DE LA POLLUTION ORGANOCHLOREE DE QUELQUES COURS D'EAU

3 - RESULTATS.

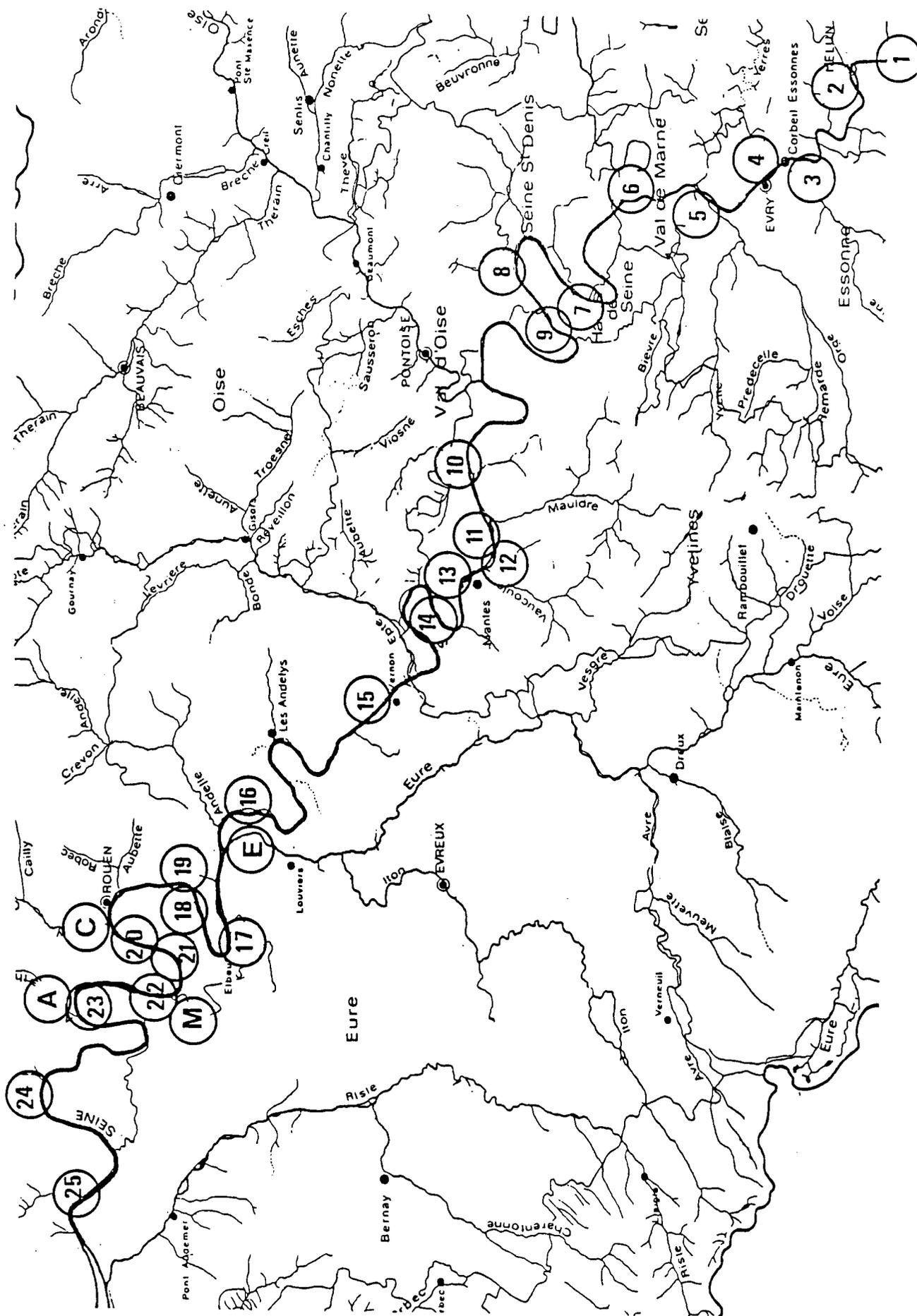
Les concentrations en PCB et pesticides organochlorés (a-HCH, b-HCH, lindane, pp'DDE, op'DDD, op'DDT et pp'DDT) ont été mesurées dans des bryophytes issues de bassins hydrologiques de typologie différente (la Seine, l'Isère et quelques cours d'eau du bassin Rhin-Meuse). Parallèlement, nous avons procédé en certaines occasions à l'implantation de mousses allochtones dont les teneurs en micropolluants ont été comparées à celles des mousses autochtones.

Dans une première partie sur l'étude de la pollution organochlorée de quelques rivières, nous avons testé la méthode des mousses aquatiques sur des cours d'eau faiblement (bassin Rhin-Meuse) et fortement pollués (Seine et Isère). Les données obtenues à l'aide de mousses autochtones et allochtones ont donné lieu à la définition d'une grille de qualité pour chacune des molécules d'organochlorés.

La seconde partie, réservée à l'accumulation in situ des PCB par deux espèces de bryophytes, a permis l'étude des facteurs de bioconcentration.

Enfin, dans la troisième partie, l'obtention de facteurs de bioconcentration à partir de l'intoxication in vitro de deux espèces de mousses donne lieu à une comparaison avec les valeurs déterminées *in situ*. Nous abordons également les cinétiques d'accumulation et de relargage des PCB.

Figure 3. Localisation des points de prélèvement de mousses aquatiques dans la Seine et ses affluents en juin-juillet 1985.



3.1 ETUDE DE LA POLLUTION ORGANOCHLOREE DE QUELQUES RIVIERES.

3.1.1 LA SEINE.

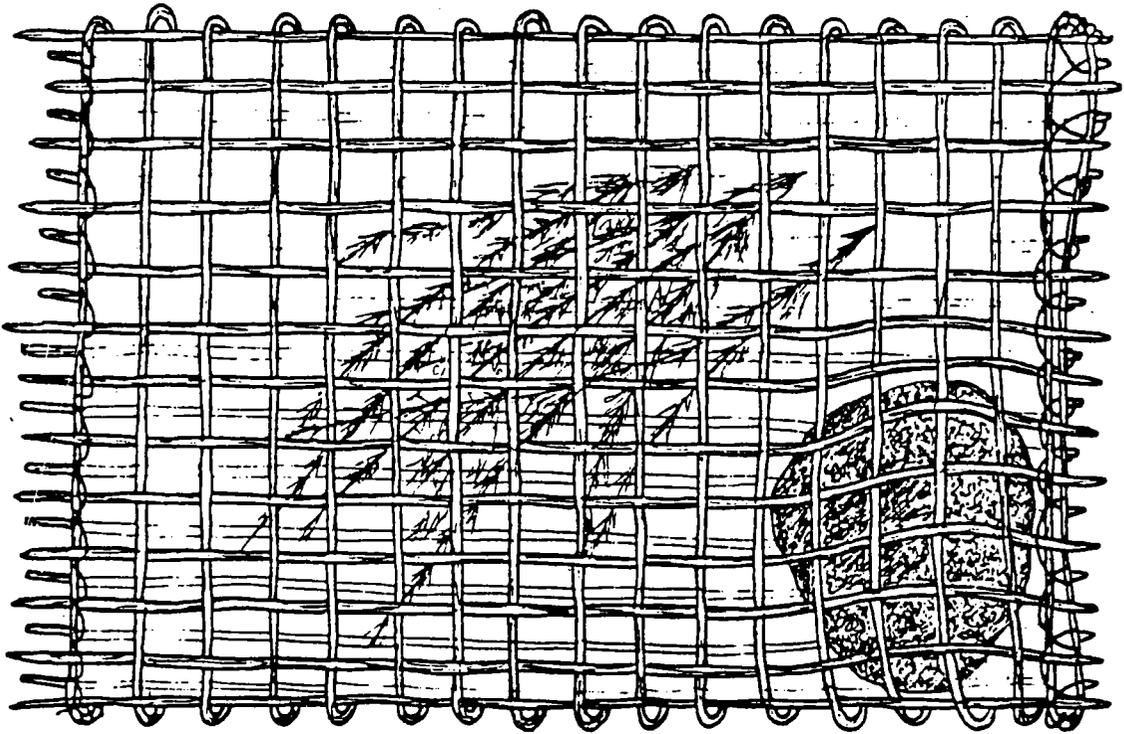
L'inventaire du degré de pollution des eaux superficielles réalisé en 1981 (MINISTERE DE L'ENVIRONNEMENT ET DU CADRE DE VIE, 1983) ayant fait apparaître une contamination des poissons de la Seine par les PCB, l'Agence de Bassin Seine-Normandie a demandé la réalisation, sur un secteur de 400 Km (entre l'amont de Melun et Port-Jérôme), d'un inventaire de pollution à l'aide de la méthode des mousses aquatiques. Des prospections préliminaires ayant mis en évidence la pauvreté du peuplement bryophytique de la Seine, nous avons recouru à des transferts de mousses allochtones. La technique de transfert, déjà appliquée à la recherche de pollution métallique multiforme par plusieurs équipes (KELLY et al., 1987 ; MOUVET, 1983), a été testée pour la détermination conjointe de pollution métallique (cadmium, plomb et zinc) et organochlorée (PCB). La détection d'une pollution multiforme a nécessité le recours à des protocoles analytiques adaptés d'une part à la recherche des métaux lourds (MOUVET, 1985) et d'autre part à celle des molécules organochlorées (Chapitre 2.). L'interprétation des résultats concernant les métaux lourds ne sera pas abordée dans ce travail.

3.1.1.1 Matériel et méthodes.

3.1.1.1.1 Sites d'étude.

Le choix des sites d'études a été motivé par le souci de mettre en évidence certains apports suspectés ou connus de PCB et de métaux lourds tout en procédant à un découpage relativement régulier du cours d'eau. La localisation des 29 stations prospectées est signalée sur la figure 3. Les affluents examinés (Eure, Cailly, Rivière de Moulineau et Austreberthe) ont été explorés à leur confluence avec la Seine.

Figure 4. Sachet grillagé utilisé pour les transferts de mousses aquatiques.



3.1.1.1.2 Motifs du recours au transfert.

Bien que les mousses soient présentes dans les affluents, les prospections préliminaires laissaient craindre leur absence entre Poses (16) et Port-Jérôme (25). Nous avons donc décidé de recourir systématiquement à des transferts de mousses allochtones tout en prélevant chaque fois que cela serait possible des mousses autochtones, en l'occurrence à La Cave (1), Vives-Eaux (2), Coudray (3), Evry (4), Ablon (5), Suresnes (7), Méricourt (14), Poses (16) et dans les affluents.

L'utilisation de mousses allochtones peu polluées par les métaux lourds et les organochlorés constitue une condition *sine qua non* à leur implantation dans la Seine. Ainsi, les mousses destinées au transfert ont été prélevées dans un secteur non contaminé de la Meuse (Pagny-sur-Meuse). L'espèce utilisée, *Cinclidotus danubicus*, est couramment rencontrée dans des cours d'eau aux caractéristiques physico-chimiques comparables à celles de la Seine (EMPAIN, in : MOUVET, 1986), les risques de divergence entre la réponse des mousses allochtones et celle des autochtones sont donc réduits.

3.1.1.1.3 Principe des transferts.

La technique consiste à immerger pendant environ deux semaines des mousses allochtones placées dans des sachets fabriqués avec du grillage en plastique. La taille des mailles du grillage a été choisie de telle façon que le contact entre les mousses et l'eau soit important et que les risques de colmatage engendrés par les particules grossières véhiculées dans l'eau soient minimisés ; dans nos expériences, elle est de 1cm x 1cm (Figure 4).

Les sachets de transfert sont lestés, immergés puis ancrés à la rive de façon à permettre les retraits ultérieurs. La biomasse introduite dans le sachet est nécessaire aux dosages des

Tableau 23 Conditions opératoires en GC/MS.

PARAMETRES	VALEURS UTILISEES
<p><u>Chromatographie</u></p> <p>Température de l'injecteur Colonne :</p> <p>capillaire remplissage longueur diamètre interne</p> <p>Température du four</p> <p>Gaz vecteur</p>	<p>290 °C</p> <p>en silice fondue film SE 30 30 m. 0,34 mm.</p> <p>180 °C. 2 mn.</p> <p>8 °C/mn.</p> <p>280 °C. 15 mn.</p> <p>Hélium ultra pur</p>
<p><u>Spectrométrie de Masse</u></p> <p>Température de la source Pression de la source Température du séparateur Mode d'électronisation Energie d'électronisation Fourchette de balayage Vitesse de balayage</p>	<p>350 °C 0,8 torr 200 °C impact électronique 70 eV. 150 à 500 a.m.u. 80 a.m.u. sec⁻¹</p>

métaux et des PCB est voisine de 8 grammes de poids sec, soit environ 50 g de mousses hydratées. Des inspections pendant la période d'immersion permettent de vérifier le dispositif et de procéder si besoin est, à un nettoyage du grillage.

3.1.1.1.4 Calendrier des opérations.

L'étude a été réalisée entre le 17 juin et le 30 juillet 1985. Les transferts dans le secteur en aval de St Marcel ont été effectués les 17 et 18 juin. Des actes de malveillance ont empêché la récupération des implants à Grand-Quevilly (20) et Port-Jérôme (25) après 15 jours d'incubation. Une seconde implantation effectuée le 1^{er} juillet à Grand-Quevilly et le 28 juin à Port-Jérôme a cependant été menée à terme après respectivement 13 et 28 jours d'exposition. Notons que les transferts de ces deux stations n'ont pas intégré les mêmes masses d'eau que ceux situés en aval. Pour l'interprétation des concentrations dans les implants de Oissel Quinoléine (18) et de Oissel ICI (19), nous tiendrons compte du fait qu'ils ont été placés directement à l'arrivée du rejet dans la Seine.

Dans le secteur de la Seine en amont de St Marcel, les transferts ont été implantés entre le 19 et le 26 juin 1985. Les pertes furent importantes, aucun transfert n'ayant été récupéré aux 4 premières stations. Les problèmes de l'hétérogénéité des dates d'incubation et de retrait seront également pris en compte pour l'interprétation des résultats.

3.1.1.1.5 Analyse des échantillons par spectrométrie de masse.

Pour confirmer la présence des PCB dans les mousses, quelques extraits hexaniques ont été analysés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS). Les analyses ont été effectuées au Laboratoire de Spectrométrie de Masse de la Faculté de Pharmacie de Nancy à l'aide d'un spectromètre de masse

TABEAU 24 : Concentrations en PCB (ng/g) dans les mousses aquatiques de la Seine et de l'Eure en 1985 ($m \pm \sigma$, $n = 2$).

No	STATIONS	BRYOPHYTE	Esp	Début du transfert	Date de retrait	Durée	PCB	
							Moyenne	Ecart-type
	To Transfert	autochtone	Cin		18/6		290	16
1	La Cave	autochtone	Cin		18/7		495	11
2	Vives-Eaux	autochtone	Cin		3/7		530	6
		autochtone	Cin		18/7		470	2
3	Coudray	autochtone	Cin		19/6		230	-
		autochtone	Cin		18/7		505	11
4	Evry	autochtone	Fon		19/6		560	-
		autochtone	Cin		18/7		370	-
5	Ablon	autochtone	Cin		3/7		550	-
		transfert	Cin	19/6	3/7	14 j	540	-
		transfert	Cin	19/6	18/7	29 j	570	-
6	Port à l'Anglais	autochtone	Cin		20/6		575	-
		transfert	Cin	20/6	3/7	13 j	430	8
7	Suresnes	autochtone	Cin		20/6		1070	-
		autochtone	Cin		4/7		1825	22
8	Epinay	transfert	Cin	20/6	4/7	14 j	2235	13
		transfert	Cin	20/6	19/7	29 j	3050	-
9	Chatou	transfert	Cin	24/6	8/7	14 j	860	-
10	Les Mureaux	transfert	Cin	24/6	8/7	14 j	3060	-
11	Porcheville	transfert	Cin	26/6	10/7	14 j	710	1
12	Ile de Limay	transfert	Cin	26/6	10/7	14 j	930	4
		transfert	Cin	26/6	24/7	28 j	435	22
13	Mantes	transfert	Cin	11/7	24/7	13 j	750	7
14	Méricourt	autochtone	Cin		26/6		955	1
		autochtone	Cin		11/7		890	-
		transfert	Cin	26/6	11/7	15 j	585	40
		transfert	Cin	26/6	30/7	34 j	835	6
15	St Marcel	transfert	Cin	27/6	24/7	27 j	775	3
16	Poses	autochtone	Cin		17/6		1890	-
		autochtone	Cin		16/7		1925	5
		transfert	Cin	17/6	16/7	29 j	1500	58
17	Elbeuf	transfert	Cin	17/6	1/7	14 j	705	23
		transfert	Cin	17/6	15/7	28 j	2085	165
18	Oissel Quino.	transfert	Cin	17/6	1/7	14 j	550	3
		transfert	Cin	17/6	15/7	28 j	2195	10
19	Oissel ICI	transfert	Cin	17/6	1/7	14 j	4360	42
		transfert	Cin	17/6	15/7	28 j	86555	199
20	Grand-Quevilly	transfert	Cin	1/7	15/7	14 j	1820	4
		transfert	Cin	1/7	26/7	25 j	2565	4
21	Grand-Couronne	transfert	Cin	18/6	1/7	13 j	705	6
		transfert	Cin	18/6	15/7	27 j	1025	10
22	La Bouille	transfert	Cin	17/6	15/7	28 j	980	290
23	Duclair	transfert	Cin	17/6	15/7	28 j	1020	7
24	Caudebec	transfert	Cin	18/6	15/7	27 j	1205	10
25	Port-Jérôme	transfert	Cin	28/6	15/7	17 j	1790	6
		transfert	Cin	28/6	26/7	30 j	1120	129
E	Eure	autochtone	Cin		16/7		1615	3

Code espèces : Cin = *Cinclidotus danubicus*, Fon = *Fontinalis antipyretica*.

quadrupôle NERMAG R 10-10-C à haute résolution. Les conditions analytiques de la GC/MS sont résumées au tableau 23.

En raison d'une sensibilité du détecteur du spectromètre de masse inférieure à celle du détecteur à capture d'électrons, les extraits hexaniques ont dû être concentrés et seules les mousses contaminées par plus de 1,5 ppm de PCB ont pu être analysées. Quatre extraits hexaniques ont été testés :

- **Cinclidotus danubicus* de Oissel ICI après 28 jours de transfert
- **Cinclidotus danubicus* autochtone de Poses prélevée le 16/7
- **Cinclidotus danubicus* de Port-Jérôme après 17 jours de transfert
- **Fontinalis antipyretica* autochtone de la rivière de Moulineau prélevée le 15/7.

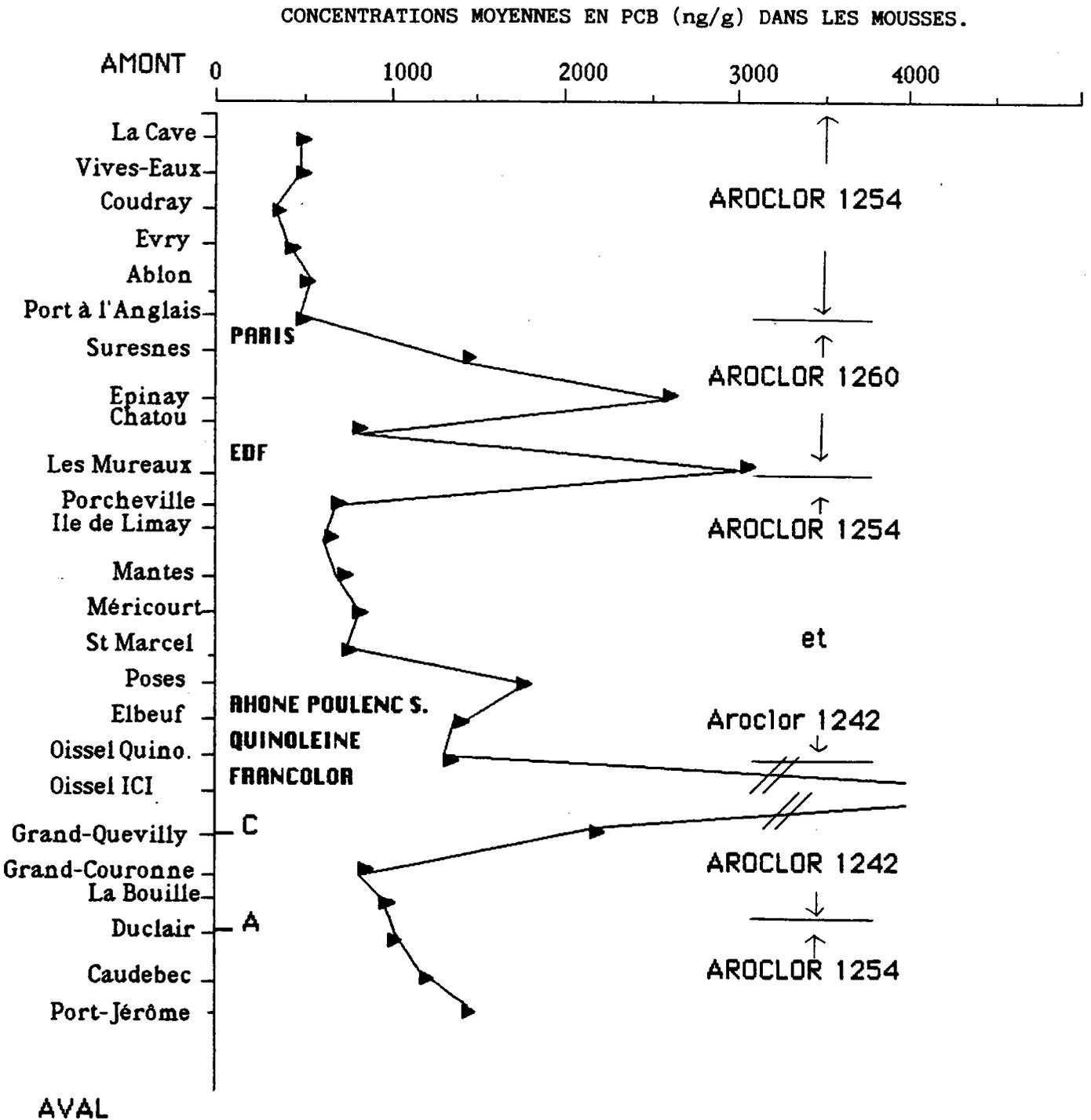
3.1.1.2 Résultats.

L'ensemble des résultats est présenté sous forme de tableaux regroupant tous les échantillons. Le tableau 24 illustre les concentrations en PCB relevées dans les bryophytes. Elles sont exprimées en ng/g avec les moyennes (moy) et les écarts-types (s) de deux dosages indépendants. Dans cette expérience, par manque de standards de la plupart des congénères, les concentrations en PCB ont été déterminées par comparaison de la surface globale de tous les pics des échantillons à celle des congénères des standards, ce qui explique sans doute la faiblesse des écarts-types. Si les teneurs en PCB sont calculées en additionnant les concentrations de tous les congénères, la variabilité des résultats augmente sensiblement. Lorsque la biomasse est insuffisante, un seul dosage est réalisé.

3.1.1.2.1 Profil global de la pollution de la Seine.

La figure 5 permet une appréciation rapide du profil de pollution de la Seine par les PCB.

FIGURE 5 : Evolution d'amont en aval de la pollution des bryophytes de la Seine par les PCB.



La plupart des valeurs observées en amont de Paris reflètent une situation que l'on pourrait qualifier de peu perturbée. Une pollution certaine est mise en évidence à Epinay (8) et surtout aux Mureaux (10), où les concentrations en PCB augmentent d'un facteur 10 en 14 jours et sont 3,5 fois plus élevées qu'à Chatou (9). L'existence de rejets entre Port à l'Anglais (6) et Epinay semble probable ; les apports mis en évidence en aval de Chatou sont encore plus conséquents.

De Porcheville (11) à St Marcel (15), on observe des valeurs témoignant de l'absence de rejets supplémentaires importants. En aval de St Marcel, la pollution augmente et engendre des teneurs élevées, particulièrement à Oissel ICI (19) où les concentrations du rejet sont exceptionnelles. L'incidence de ce dernier est toutefois limitée dans l'espace puisque les concentrations en PCB dans les bryophytes transférées en aval de ce rejet (Grand-Quevilly) sont inférieures d'un facteur 34 à celles de Oissel ICI et comparables aux valeurs mesurées en amont du rejet (Oissel Quinoléine, Elbeuf) ou en aval de Paris (Epinay).

Comparativement aux mousses autochtones du secteur en amont de St Marcel, les teneurs des mousses transférées de Caudebec-en-Caux (24) et Port-Jérôme (25) sont suffisamment élevées pour qu'on puisse parler d'une contamination par les PCB de tout le secteur compris entre Poses et Port-Jérôme.

L'analyse des mousses autochtones prélevées pendant la même période dans 4 affluents de la Seine fait état d'une pollution certaine aussi bien du Cailly (1 220 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) que de la Rivière de Molineaux (1 895 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), de l'Austreberthe (1 150 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) ou de l'Eure (1 615 $\mu\text{g}/\text{Kg}$). Probablement en raison de phénomènes de dilution, la pollution des affluents ne semble pas influencer les concentrations enregistrées à La Bouille, Grand-Quevilly, Duclair et Elbeuf.

3.1.1.2.2 Comparaison entre mousses autochtones et transférées.

Quatre sites, Ablon, Port à l'Anglais, Méricourt et Poses permettent une comparaison entre mousses autochtones et transférées. Un accord excellent (2% de divergence) est obtenu à Ablon, où la pollution est restreinte. Par contre, à Poses et Méricourt où les concentrations sont plus élevées, les divergences sont alors de l'ordre de 30%. En 15 jours, les bryophytes transférées intègrent en moyenne 80% des concentrations rencontrées chez les autochtones. Toutefois, le nombre limité de couples de valeurs : "mousses transférées 15 jours-mousses autochtones" ne permet pas de conclure définitivement à une durée d'incubation suffisante pour atteindre une parfaite analogie entre mousses transférées et autochtones. Pendant la période étudiée, le recours aux transferts donne néanmoins un bon reflet de la pollution par les PCB.

3.1.1.2.3 Aspect qualitatif de la pollution.

Outre l'aspect quantitatif des résultats tels qu'ils sont exprimés au tableau 24, il est possible de distinguer trois types de rejets de PCB. En amont de Paris, de La Cave à Port à l'Anglais, la contamination est constituée de 75% à 85% de PCB moyennement lourds type Aroclor 1254 (les figures 6 à 10 illustrent cette diversité). Par contre, les bryophytes en aval de Paris sont essentiellement contaminées par des PCB lourds de type Aroclor 1260 : 70% à Suresnes, 75% à Chatou et 90% aux Mureaux. Les PCB lourds sont généralement caractéristiques de la pollution organochlorée des effluents domestiques. En effet, puisque les congénères fortement chlorés sont faiblement métabolisés par les micro-organismes des boues activées (BAXTER & SUNDERLAND, 1984), les effluents des stations d'épuration contribuent ainsi aux variations qualitatives et quantitatives de la pollution organochlorée des cours d'eau par les PCB (DE ALENCASTRO, 1983 ; MONOD, 1984). Quant aux PCB plus légers (type Aroclor 1221, 1242 et partiellement l'Aroclor 1254), ils sont respectivement éliminés

Figure 6 : Chromatogramme des mousses aquatiques autochtones
 prélevées le 18 07 1985 au Barrage de COUDRAY.
 sp.: *Cinclidotus danubicus*.

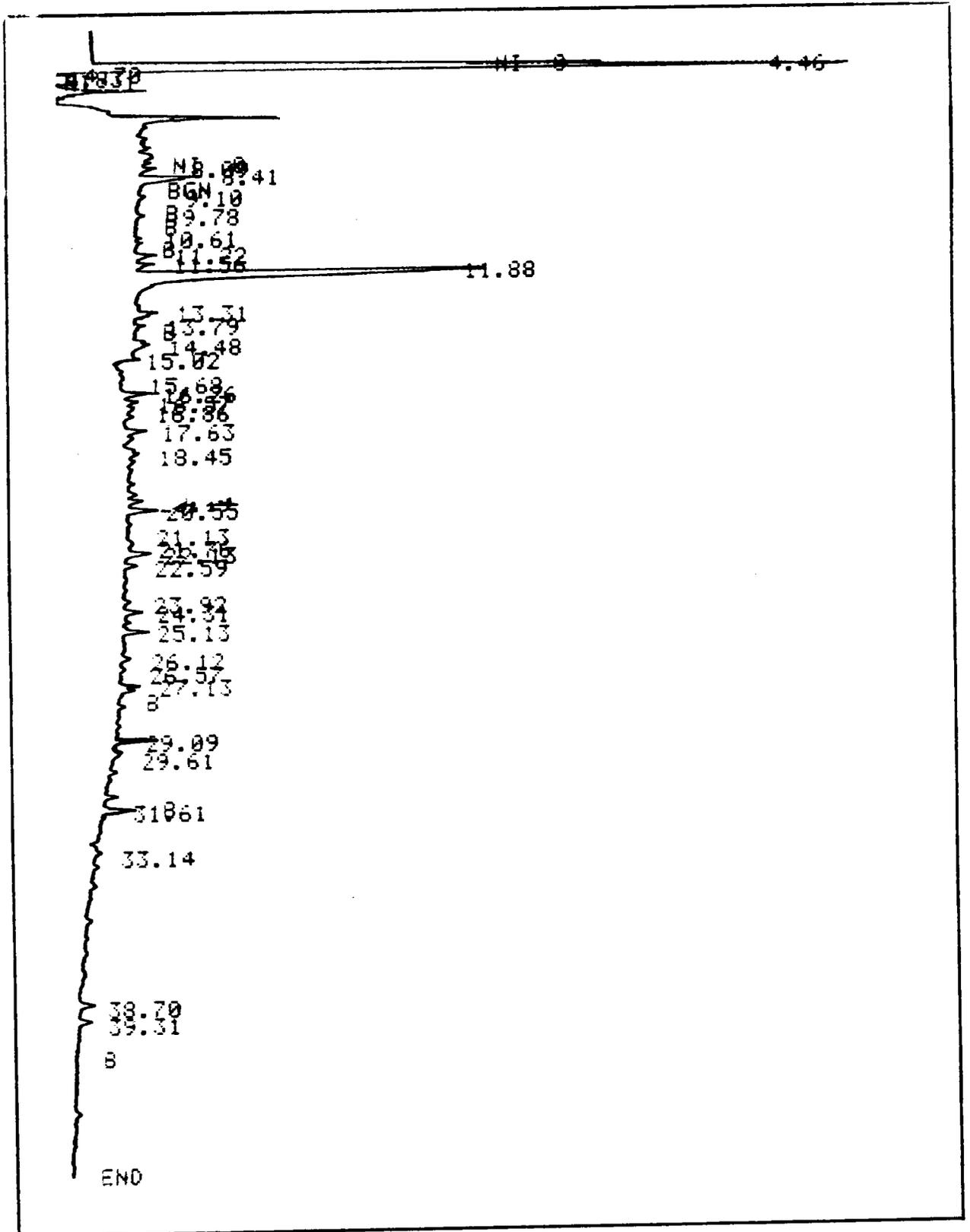


Figure 7 : Chromatogramme des mousses aquatiques après 15 jours de transfert au PONT d'EPINAY.

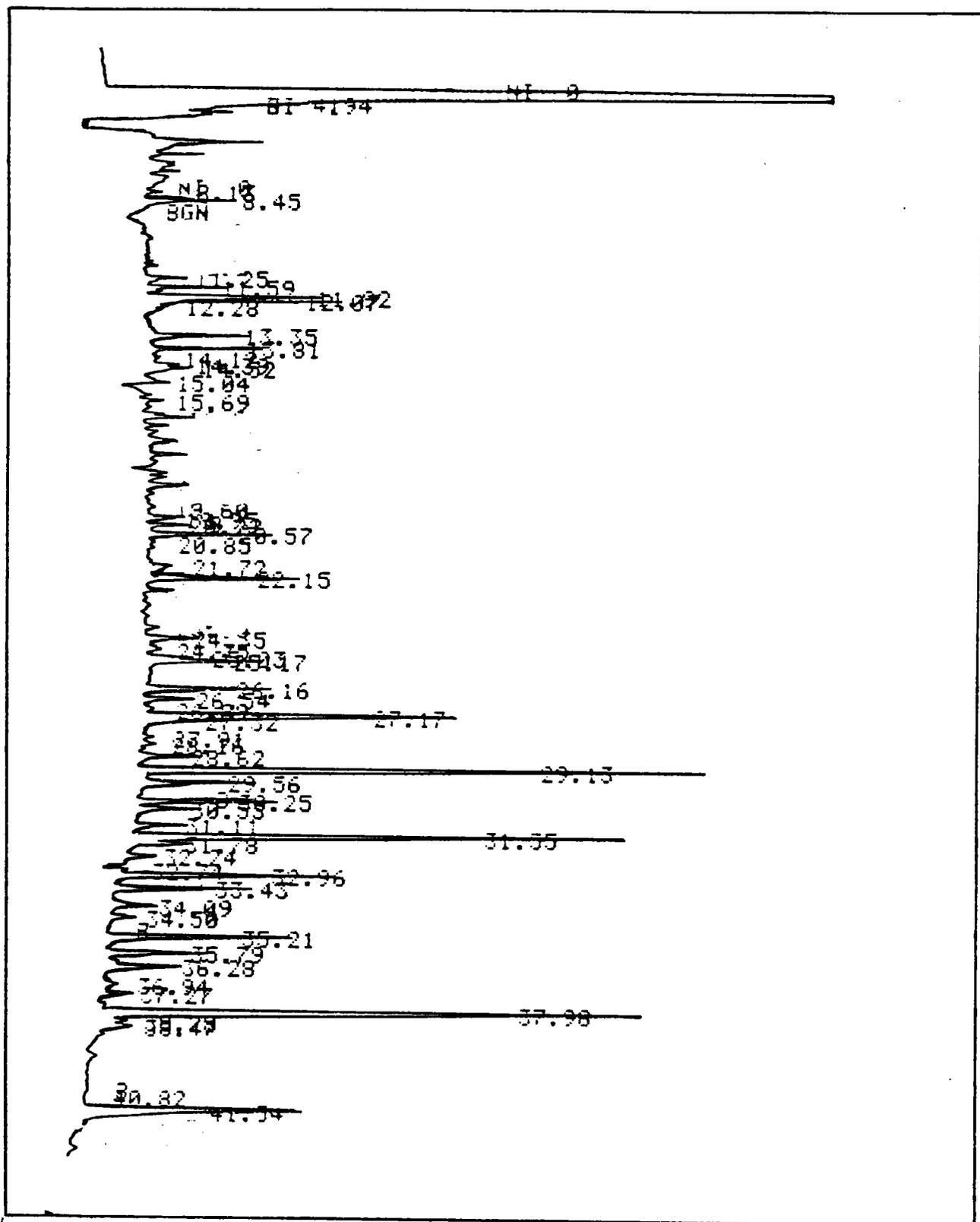


Figure 8 : Chromatogramme des mousses aquatiques après 14 jours de transfert à l'écluse de MUREAUX.

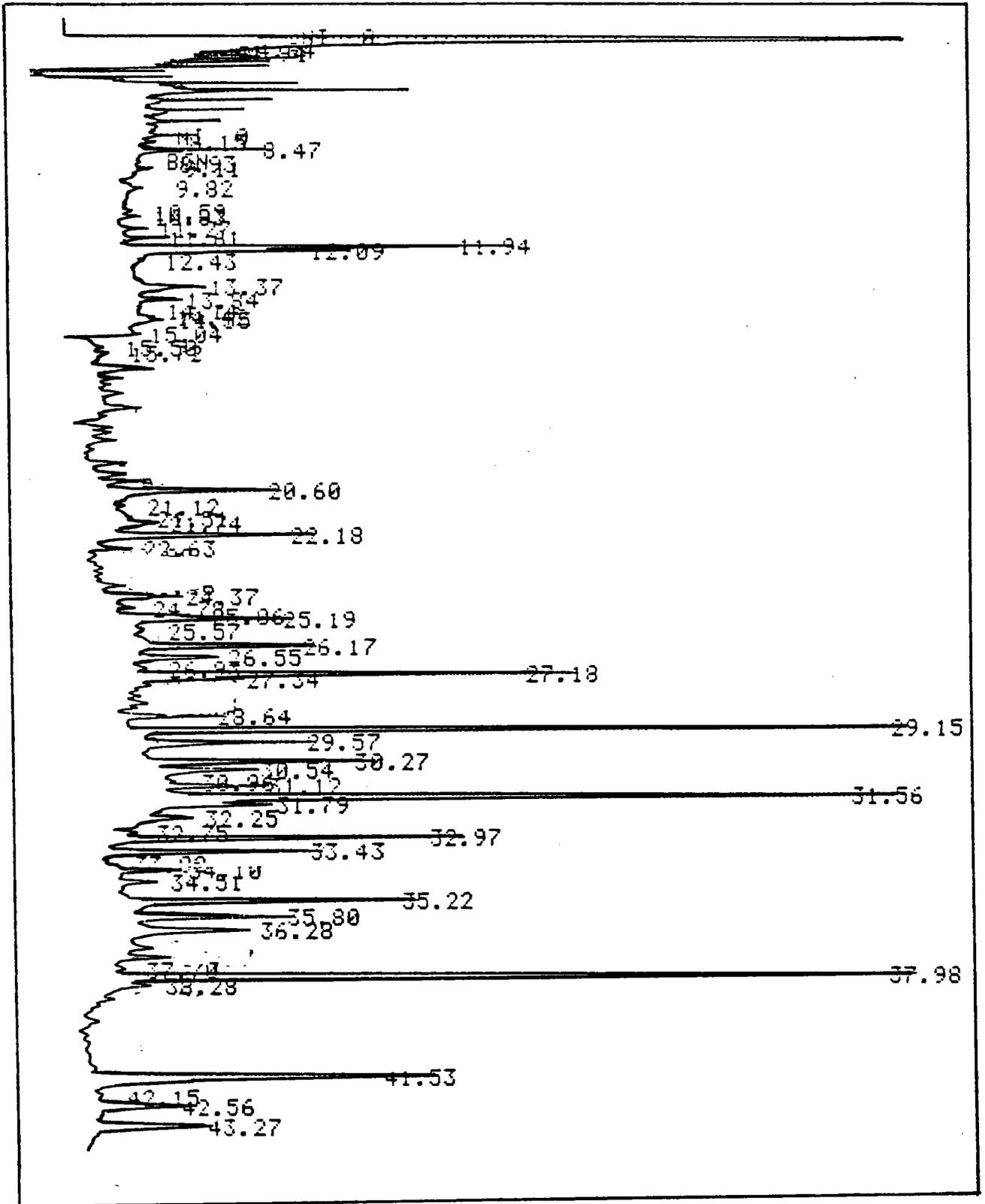


Figure 9 : Chromatogramme des mousses aquatiques après 28 jours de transfert à la POINTE de l'ILE DE LIMAY.

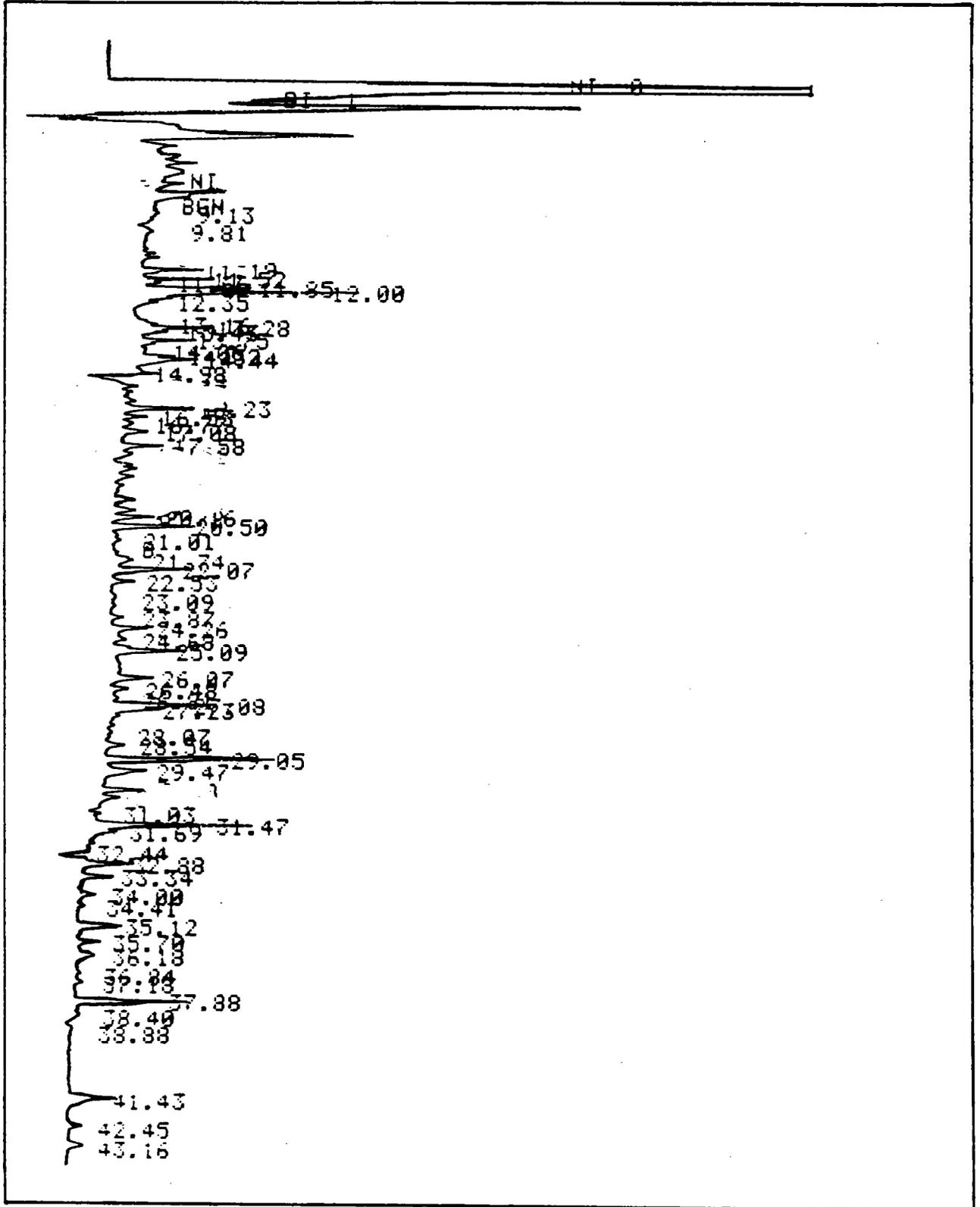


Figure 10 : Chromatogramme des mousses aquatiques autochtones
 prélevées le 26 06 1985 au Barrage de MERICOURT.
 sp.: *Cinclidotus danubicus*.

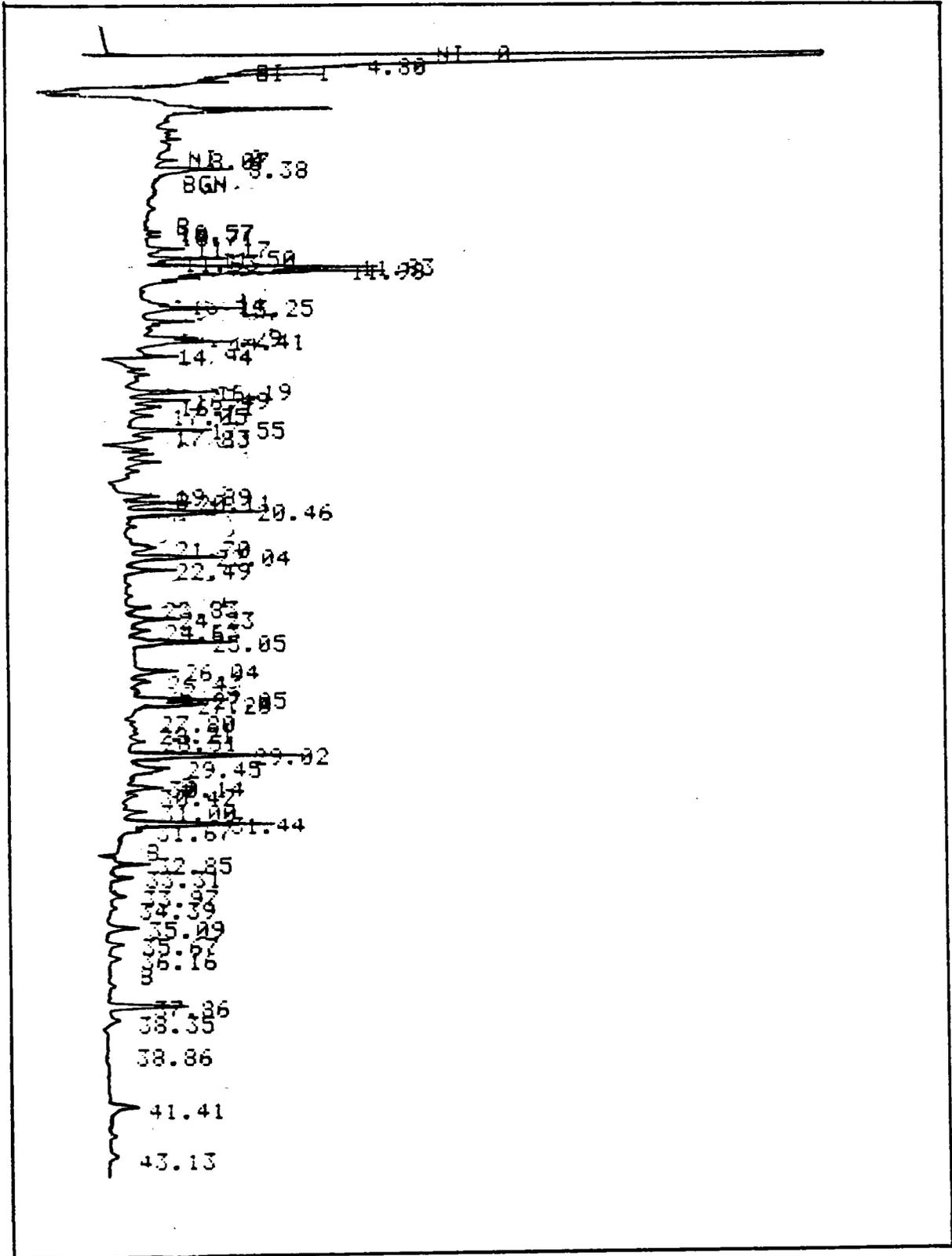
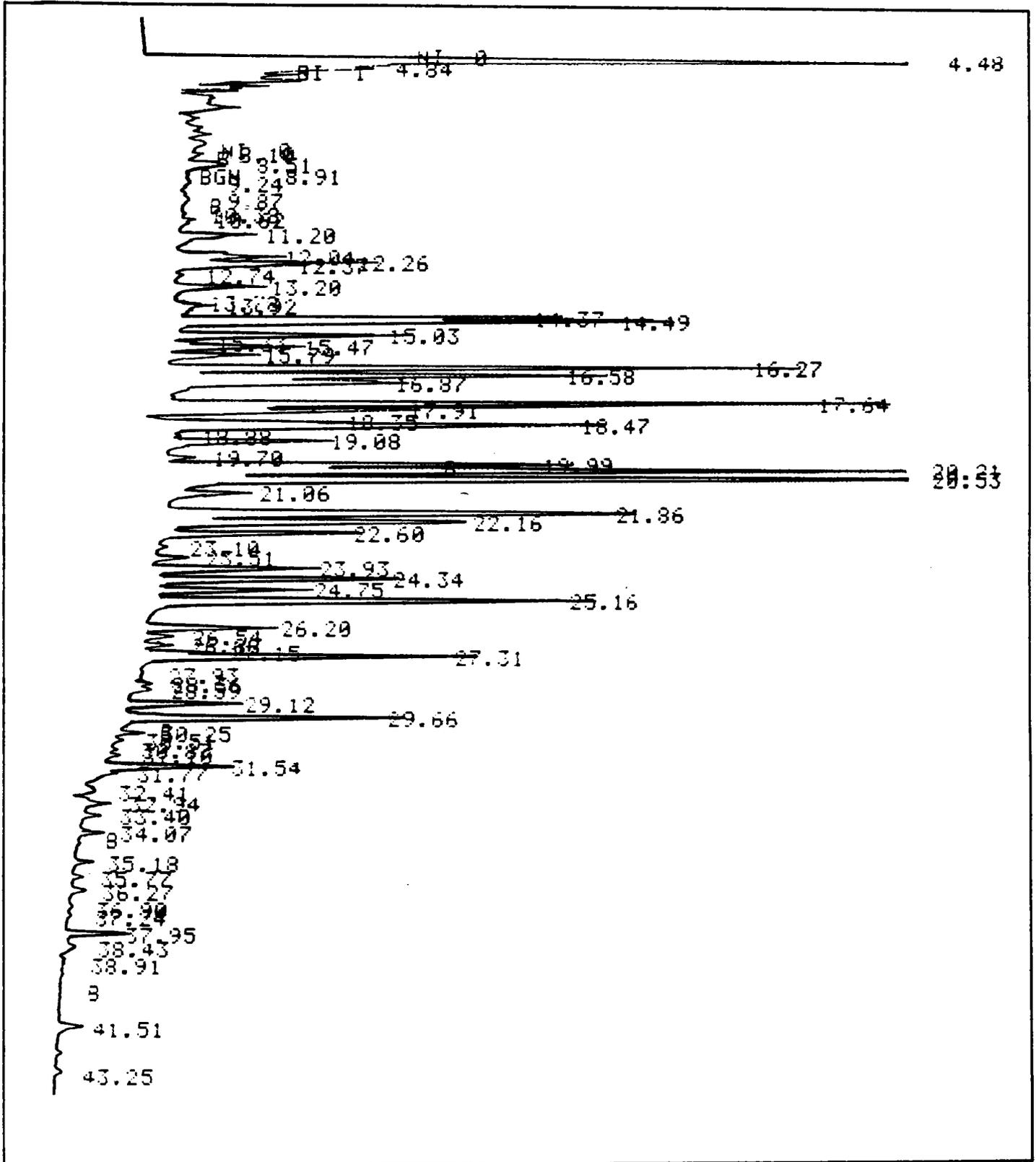


Figure 11 : Chromatogramme des mousses aquatiques après 14 jours de transfert à OISSEL I.C.I.



par les boues activées dans des proportions de 81%, 26% et 15% en 48 heures (HUTZINGER et al., 1974).

De Porcheville à St Marcel, la contamination est constituée à 80% par de l'Aroclor 1254. Dès Poses, ce rapport diminue au profit d'un mélange moins chloré (Aroclor 1242). De Poses à Oissel Quinoléine, la proportion d'Aroclor 1242 est de 40% mais elle atteint 91% à Oissel ICI (figure 11). Par contre, à Grand-Quevilly, Grand-Couronne et la Bouille, l'Aroclor 1242 ne représente plus que 54% de la pollution, le reste des PCB étant de l'Aroclor 1254. De Duclair à Port-Jérôme, l'Aroclor 1254 est à nouveau le constituant majeur de la pollution par les PCB.

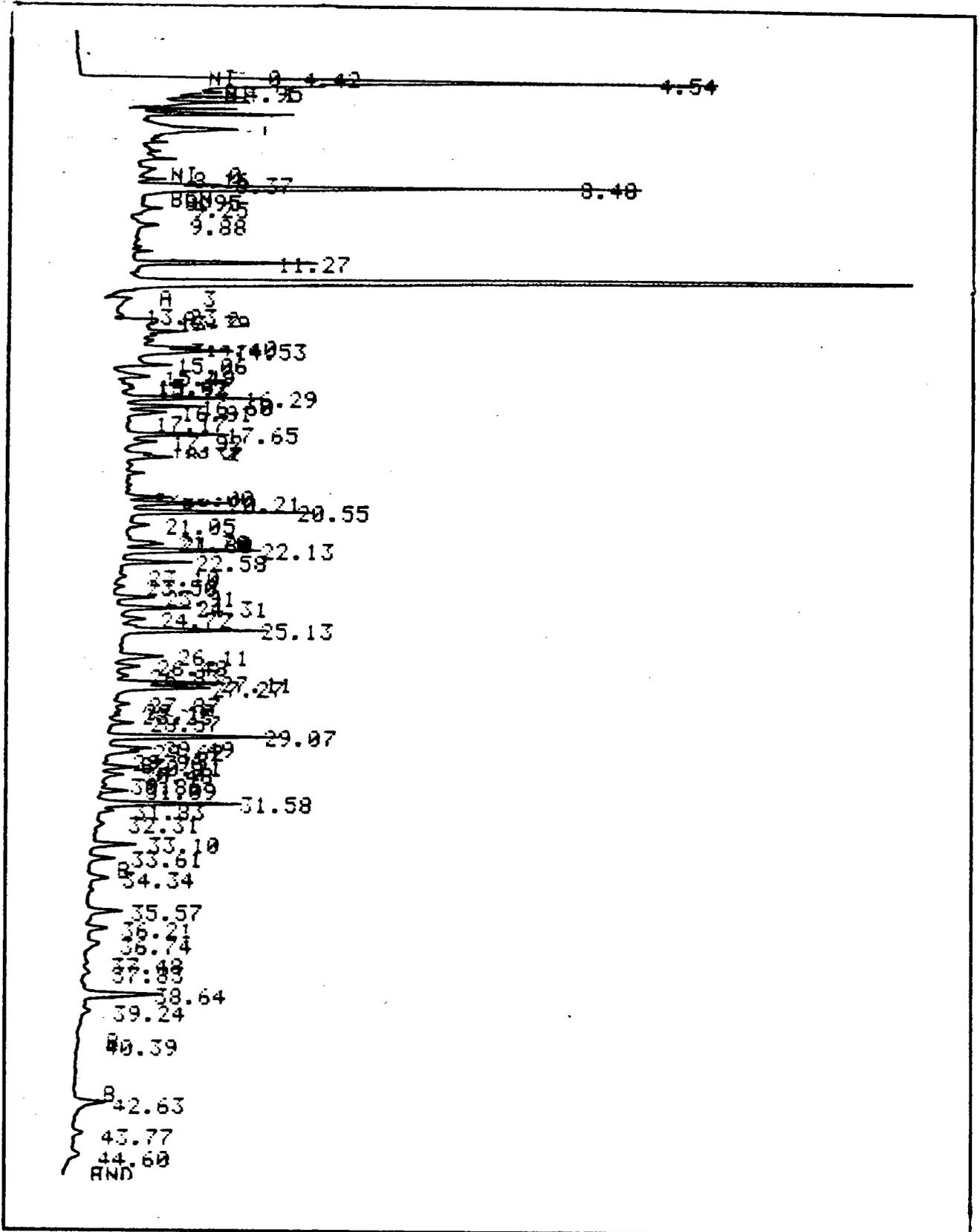
La présence de PCB légers en amont de Oissel ICI (figure 12) peut avoir deux origines : soit un "effet marée" provoquant une remontée des rejets de Oissel ICI, soit l'émission de ce type de PCB dès l'aval de St Marcel. L'"effet marée" permettrait également d'expliquer les concentrations en aval de Poses, où 4 fois par jour, les courants engendrés par les marées provoquent d'importantes remises en suspension des sédiments superficiels. En assimilant les solides et colloïdes en suspension du milieu estuarien (DUURSMA et al., 1986) à un important réservoir de PCB susceptible de se comporter comme un échangeur solide-liquide, la différence de profil constatée entre l'amont et l'aval de Poses serait donc une des conséquences de l'"effet marée".

La présence de PCB légers dans les extraits de Oissel ICI et Poses est confirmée par la spectrométrie de masse. Les spectres de masse des extraits de mousses de Port-Jérôme et de la rivière de Moulineau révèlent la prépondérance de congénères hexachlorés typiques d'une pollution par des PCB moyennement lourds (Aroclor 1254). Les spectres sont donnés à l'ANNEXE 3.

3.1.1.2.4 Comparaison avec d'autres études.

Les résultats obtenus dans les mousses en 1985 sont comparés aux teneurs mesurées en 1981 dans les poissons (MINISTERE

Figure 12 : Chromatogramme des mousses aquatiques après 28 jours de transfert à ELBEUF.



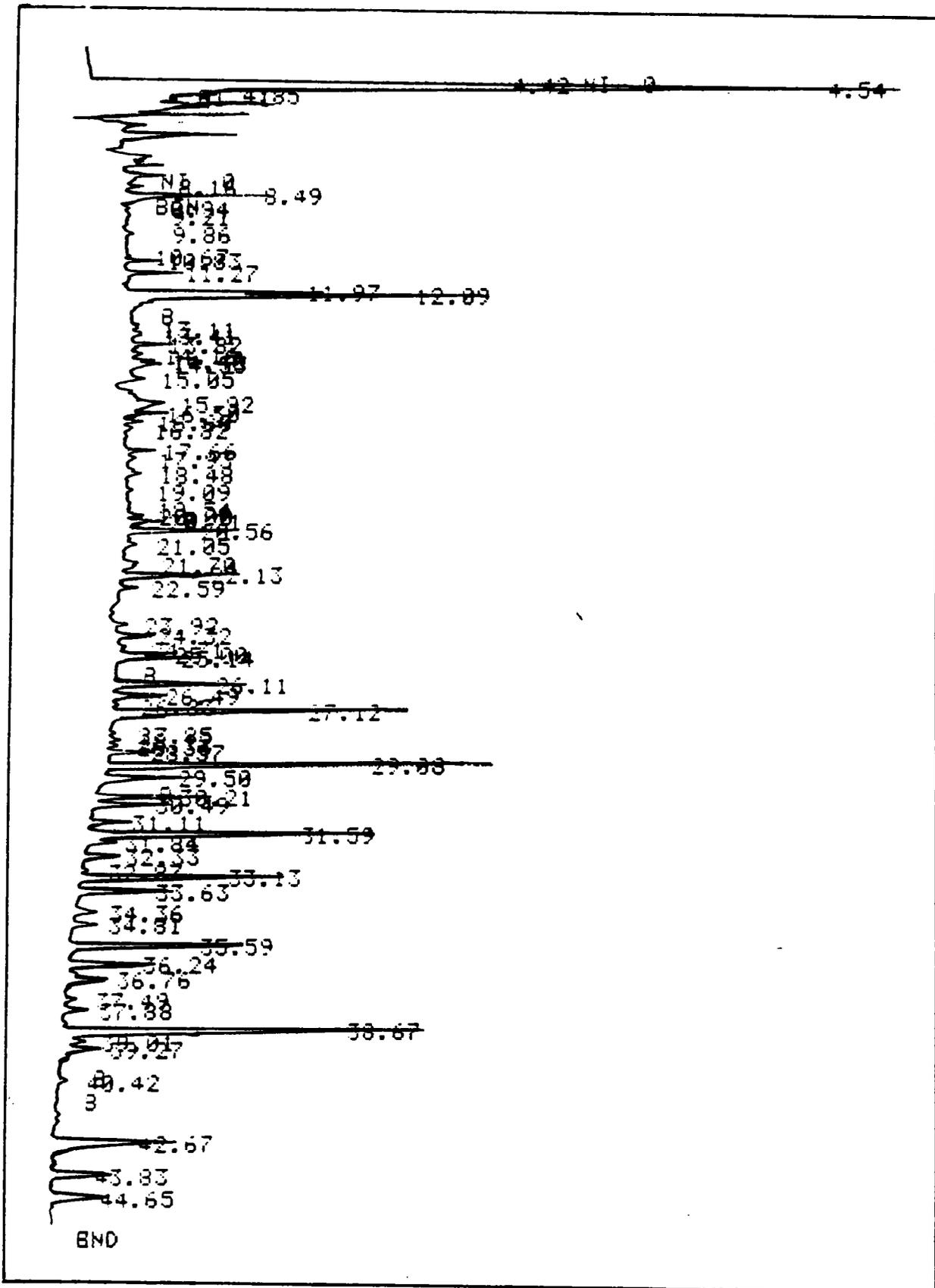
DE L'ENVIRONNEMENT ET DU CADRE DE VIE, 1983). Il est clair que ces comparaisons, compte tenu des décalages temporels (1981-1985) et spatiaux (sites d'étude différents), n'ont qu'une valeur purement qualitative, et ce d'autant que les supports analytiques sont différents. Le profil longitudinal établi en 1981 à partir des poissons met en évidence une augmentation de la pollution d'un facteur 4 entre Poses et Ponthierry. Cette tendance est retrouvée en 1985 dans les mousses chez lesquelles, entre Poses et La Cave, la pollution augmente d'un facteur 3. Les deux méthodes donnent une image comparable de la dégradation des eaux de la Seine avec toutefois une différence notable : le pic de pollution obtenu dans les poissons à Bonnières-sur-Seine (1 800 $\mu\text{g}/\text{Kg}$; 100 fois la valeur à Ponthierry) ne se retrouve pas dans les mousses de St Marcel (775 $\mu\text{g}/\text{Kg}$; 1,6 fois la concentration à La Cave). Cette divergence entre poissons et mousses pourrait résulter de trois phénomènes, à savoir une pollution chronique non détectée par les mousses, un échantillonnage de poissons ayant émigré d'un secteur plus pollué ou alors une modification de la pollution de ce secteur entre 1981 et 1985 .

La confrontation site par site entre poissons et mousses va à l'encontre des deux premières hypothèses. En effet, les rapports concentrations mousses/concentrations poissons à La Cave, -Choisy-Le-Roy, -Ablon, -Epinay et -Poses/Ponthierry sont tous voisins de 2. Comparativement aux poissons de Bonnières, il est difficile d'imaginer que les mousses de St Marcel aient accumulé les PCB non plus 2 fois mieux mais 24 fois moins bien et que les poissons de ce site se soient plus déplacés que leurs congénères pêchés sur les autres stations.

Il est donc vraisemblable que la divergence entre poissons et mousses dans le secteur de Bonnières soit imputable à des réductions et/ou suppressions de rejets avec pour conséquence une amélioration de la qualité de l'eau.

Par rapport aux poissons où 10% à 15% des PCB sont des congénères légers de type Aroclor 1242, ceux-ci atteignent 25 à 40% chez les mousses. Les teneurs détectées dans les poissons ne

Figure 13 : Chromatogramme des mousses aquatiques autochtones
prélevées le 02 07 1985 au CAILLY.
sp.: *Fontinalis antipyretica*.



reflètent pas nécessairement la distribution des PCB dans le compartiment aquatique puisqu'elles résultent d'une part de la bioaccumulation par passage transtégumentaire et d'autre part de la biomagnification.

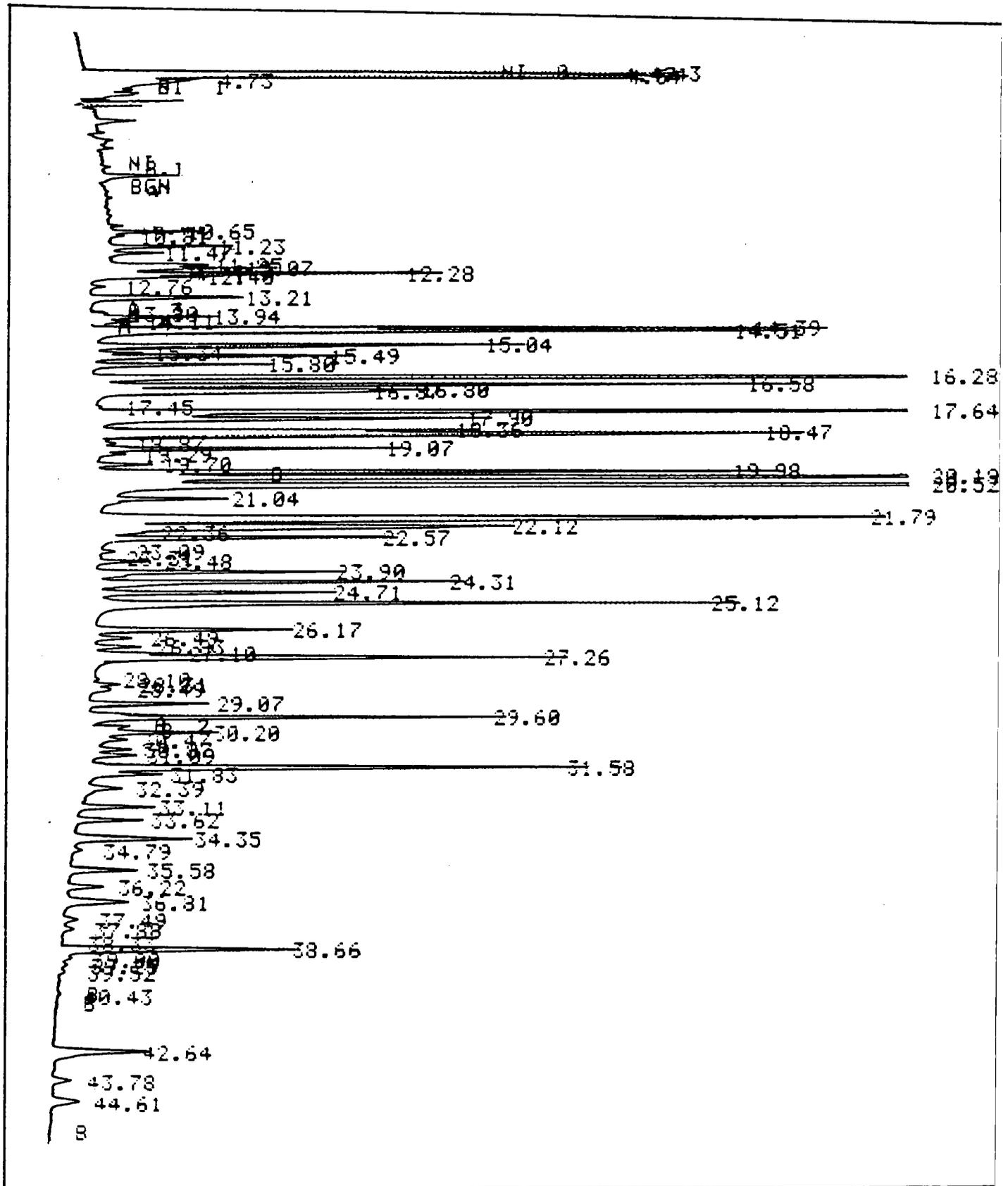
La prépondérance des teneurs en PCB lourds souvent constatée chez les poissons est la conséquence de plusieurs phénomènes. Leur contamination est due en bonne partie à l'ingestion de proies (ayant elles-mêmes métabolisé les PCB les plus facilement biodégradables) essentiellement contaminées par des congénères à fort taux de chloration. L'élimination métabolique des PCB faiblement chlorés par les poissons contribue à accroître leurs teneurs en congénères plus chlorés. Bien que les données relatives au catabolisme des PCB par les mousses aquatiques fassent actuellement défaut, on peut raisonnablement estimer qu'en raison de leur morphologie et physiologie relativement simples, elles reflètent certainement mieux que les poissons l'importance relative des différents congénères présents dans les compartiments dissous et particulaires de l'écosystème aquatique.

En raison de leur solubilité, dans l'eau, les PCB légers sont plutôt représentatifs de la phase soluble tandis que leurs homologues à plus fort taux de chlore sont essentiellement présents sous forme particulaire ou colloïdale. Ainsi, se pose le problème de la représentativité des bioindicateurs vis-à-vis de la répartition des PCB entre les compartiments dissous et particulaires. Chez les mousses, une importante surface spécifique ainsi qu'une absence relative de biomagnification sont des paramètres qui interviennent sans doute dans les divergences entre les résultats obtenus sur les poissons et ceux obtenus sur les mousses.

3.1.1.3 Conclusions.

L'utilisation des mousses aquatiques sur un tronçon de 400 Km d'un cours d'eau a permis de mettre en évidence une pollution

Figure 14 : Chromatogramme des mousses aquatiques après 28 jours de transfert à OISSEL I.C.I.

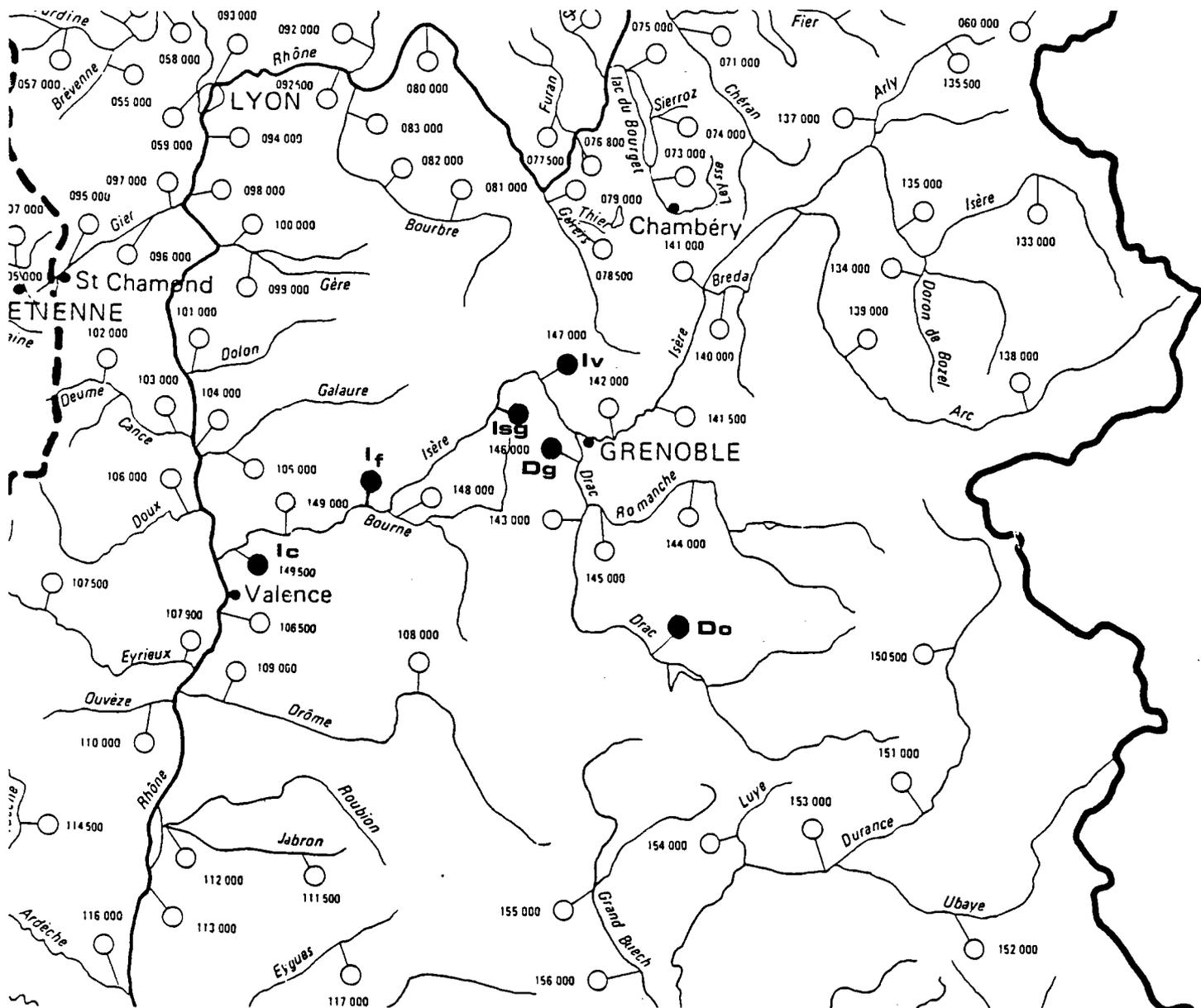


organochlorée de la Seine en 1985. Les concentrations en PCB varient de 0,4 à 86,5 µg de PCB par g de mousses sèches (ppm). Le rapport entre la contamination la plus faible et la plus élevée est de 216.

Le recours à la technique des transferts montre qu'après 15 ou 27 jours d'incubation, les concentrations en PCB dans les bryophytes allochtones ont significativement augmenté. La réponse des mousses allochtones est globalement analogue à celle des autochtones puisqu'en 15 jours les bryophytes transplantées ont en moyenne intégré 80% des concentrations rencontrées chez les autochtones. Elles résistent bien à une importante pollution de PCB.

L'importance relative des congénères peut également être évaluée par la méthode des bryophytes aquatiques. La contamination des mousses par les PCB peut être décrite en termes qualitatifs selon l'importance relative des congénères légers et lourds. Les figures 13 et 14 montrent que selon la nature des rejets auxquels elles sont exposées, les mousses aquatiques accumulent aussi bien les PCB lourds que les légers.

FIGURE 15 : Localisation des sites prospectés sur l'Isère et le Drac



3.1.2 L'ISERE.

Diverses études ayant fait apparaître une pollution organochlorée multiple de l'Isère (Agence de Bassin Rhône-Méditerranée-Corse, 1985), nous avons testé la méthode d'évaluation par les mousses aquatiques sur cette rivière.

3.1.2.1 Objectifs de l'étude.

En ce qui concerne la bioaccumulation des pesticides organochlorés par les bryophytes aquatiques, nous disposons en fait de quelques données. Si le lindane (FRISQUE, 1981) et ses isomères (MOUVET et al., 1985) avaient été détectés sur des échantillons de mousses issus de la Durance et de la Meuse, en revanche, les composés tels que le DDT et ses métabolites n'avaient pas encore été prospectés chez ces végétaux.

L'étude des concentrations en micropolluants organochlorés dans des mousses autochtones et implantées avait pour objectifs primordiaux de répondre aux 3 questions suivantes :

-Quelle est l'origine de la pollution organochlorée de l'Isère ?

-A quelle distance d'une source de pollution, l'impact d'effluents industriels et/ou domestiques sur la qualité des eaux superficielles est-il encore perceptible par des dosages dans les mousses aquatiques ?

-Les mousses répondent-elles rapidement et résistent-elles à une pollution organochlorée multiforme (a, b et g HCH, HCB, PCB, DDT et dérivés) ?

TABLEAU 25 Localisation et dates de retrait des bryophytes de l'Isère et du Drac.

STATIONS	MOUSSES	ESPECES	DATES DE RETRAIT	DUREE D'INTOX.
<u>Le Furon</u> : témoin transfert	Autochtones	Platy.	09 / 3	
<u>Drac</u> secteur amont : D*	Autochtones	Drepa.	09 / 3	20 jours
	Transférées	Platy.	29 / 3	
<u>Isère</u> secteur amont : I*	Autochtones	Platy.	09 / 3	
	Autochtones	Cincl.	09 / 3	
<u>Isère</u> amont Grenoble : IA	Autochtones	Cincl.	10 / 3	06 jours 14 jours 20 jours
	Transférées	Platy.	16 / 3	
	Transférées	Platy.	23 / 3	
	Transférées	Platy.	29 / 3	
	Autochtones	Fonti.	13 / 4	
<u>Drac</u> à Grenoble : DG	Transférées	Platy.	16 / 3	07 jours 14 jours
	Transférées	Platy.	23 / 3	
<u>Isère</u> à Veurey : IV	Autochtones	Fonti.	10 / 3	06 jours 14 jours 20 jours 35 jours
	Autochtones	Platy.	10 / 3	
	Autochtones	Cincl.	10 / 3	
	Autochtones	Fonti.	16 / 3	
	Autochtones	Platy.	16 / 3	
	Transférées	Platy.	16 / 3	
	Autochtones	Fonti.	23 / 3	
	Transférées	Platy.	23 / 3	
	Autochtones	Platy.	29 / 3	
	Transférées	Platy.	29 / 3	
	Autochtones	Fonti.	13 / 4	
	Autochtones	Platy.	13 / 4	
	Transférées	Platy.	13 / 4	
<u>Isère</u> à St Gervais : IsG	Autochtones	Fonti.	10 / 3	20 jours 35 jours
	Transférées	Platy.	29 / 3	
	Autochtones	Fonti.	13 / 4	
	Transférées	Platy.	13 / 4	
<u>Isère</u> : Les Fauries : IF	Autochtones	Cincl.	05 / 4	
<u>Isère</u> à Châteauneuf : IC	Autochtones	Fonti.	10 / 3	21 jours
	Autochtones	Cincl.	10 / 3	
	Autochtones	Fonti.	29 / 3	
	Autochtones	Cincl.	29 / 3	
	Transférées	Platy.	30 / 3	
	Autochtones	Fonti.	30 / 3	
	Autochtones	Cincl.	30 / 3	
	Autochtones	Cincl.	04 / 4	
	Autochtones	Fonti.	13 / 4	
Autochtones	Cincl.	13 / 4		

Plati. : *Platyhypnidium riparoides*Fonti. : *Fontinalis antipyretica*Cincl. : *Cinclidotus danubicus*Drepa. : *Drepanocladus sp.*

3.1.2.2 Matériel et méthodes.

3.1.2.2.1 Sites d'étude.

En raison des objectifs de cette étude, le choix des sites s'est porté sur les 6 stations visualisées sur la figure 15. Le Drac, affluent de l'Isère, a également été prospecté dans son secteur amont et à sa confluence avec l'Isère. Les dosages ont été effectués sur des mousses allochtones et autochtones.

3.1.2.2.2 Motifs du recours aux transferts.

Un des objectifs de l'étude consistant à déterminer la durée nécessaire aux mousses aquatiques pour répondre à une pollution organochlorée multiple, nous avons recouru à la technique des transferts (voir le paragraphe 2.1.1.1.3). L'utilisation des transferts présente également l'avantage de permettre l'approche de la cinétique d'accumulation des organochlorés par les mousses.

Les brins de l'espèce destinée au transfert (*Platyhypnidium riparioides*) proviennent du secteur amont d'un affluent de la rive gauche de l'Isère (Le Furon). Leur niveau de contamination a été analysé avant le transfert.

3.1.2.2.3 Calendrier de l'étude.

L'étude a été réalisée entre le 9 mars et le 16 avril 1984. L'implantation des transferts a eu lieu les 9 et 10 mars et les prélèvements des mousses allochtones et autochtones se sont échelonnés sur cinq semaines. Les retraits ont été planifiés de sorte que les bryophytes allochtones aient subi des périodes moyennes d'incubation de 1 semaine (retrait du 16/3), 2 semaines (retrait du 23/3), 3 semaines (retrait du 29/3) et 5 semaines (retrait du 13/4). L'échantillonnage des mousses allochtones s'est

TABLEAU 27 : Evolution d'amont en aval de la pollution organochlorée de l'Isère.

Concentrations moyennes en micropolluants organochlorés (ng/g) dans les mousses échantillonnées sur différents sites de l'Isère.
($m \pm \sigma$; ng/g).

STATIONS	Temoin	Io	Do	Ia	Iv	Isg	If	Ic
PCB (σ)	480	520 173	525	925 129	2690 1504	3200 1757	1220	1710 412
HCB (σ)	20	35 11	30	85 65	165 84	205 95	95	140 65
α HCH (σ)	20	15 4	20	20 18	30 10	35 9	10	25 9
β HCH (σ)	20	n.d.	n.d.	n.d.	15 10	30 27	10	30 28
Lindane (σ)	280	155 60	180	360 374	1205 568	945 437	340	745 397
pp'DDE (σ)	20	20 10	15	15 12	200 104	140 39	55	120 33
op'DDD (σ)	30	20 1	25	25	70 45	80 32	100	110 45
pp'DDD (σ)	10	n.d.	n.d.	n.d.	30 13	45 6	140	85 69
op'DDT (σ)	15	15	10	30 35	585 205	810 280	100	340 116
pp'DDT (σ)	90	40	15	45 44	1740 490	2745 1346	340	1160 449
Σ DTT (σ)	165	65 47	65	105 110	2620 685	3820 1627	735	1815 638

n.d. : non déterminé ; σ = écart-type.

déroulé aux mêmes dates. Le tableau 25 illustre le calendrier des retraits.

3.1.2.3 Résultats.

Les résultats bruts sont illustrés sous la forme d'un tableau regroupant les teneurs en micropolluants organochlorés (ng/g) de tous les échantillons prospectés (tableau 26, ANNEXE 2).

3.1.2.3.1 Profil global de la pollution de l'Isère.

Les difficultés à dresser un profil de pollution de l'Isère, suite à l'absence d'échantillonnage aux mêmes dates d'une même espèce prélevée sur toutes les stations, nous ont conduits à exploiter les résultats en adoptant une démarche synthétique. Pour chaque site, nous avons calculé les concentrations moyennes (moy) ainsi que les écarts-types (s) obtenus dans les mousses autochtones toute espèce et temps de retrait confondus. Ces concentrations, reportées dans le tableau 27 ont permis d'établir des profils de pollution pour chacun des micropolluants étudiés (Figures 16 et 17).

Les concentrations détectées dans les mousses autochtones montrent que l'Isère est fortement contaminée par les PCB, le lindane et les dérivés du DDT sur un secteur compris entre l'aval de Grenoble et Châteauneuf.

Pour la plupart des éléments analysés, il se dégage sur le plan quantitatif 2 groupes bien distincts de stations :

- * Io et Ia (amont de Grenoble) aux teneurs assez voisines et
- * Iv, Isg et Ic aux teneurs également voisines mais toujours supérieures aux précédentes.

Evolution d'amont en aval des concentrations en micropolluants organochlorés dans les mousses autochtones.

FIGURE 16 : Evolution des teneurs en lindane, PCB, pp'DDT et somme DDT (pp'DDE+pp'DDD+op'DDD+pp'DDT+op'DDT).

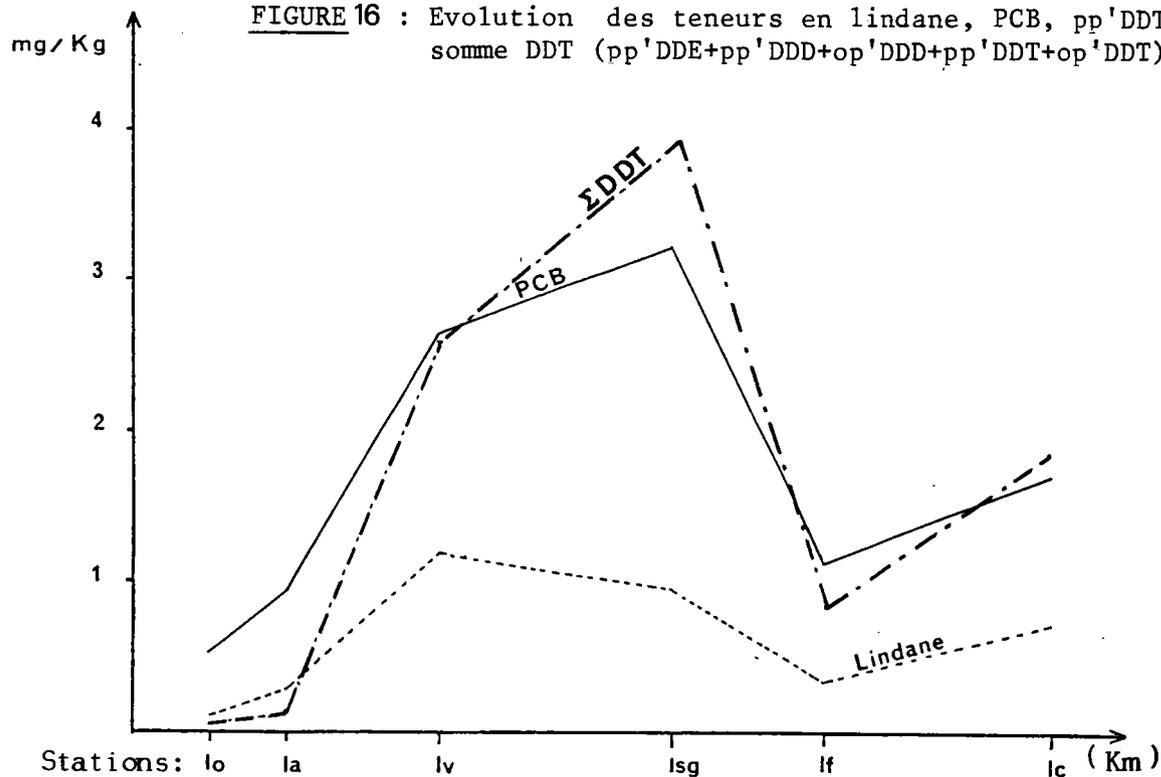
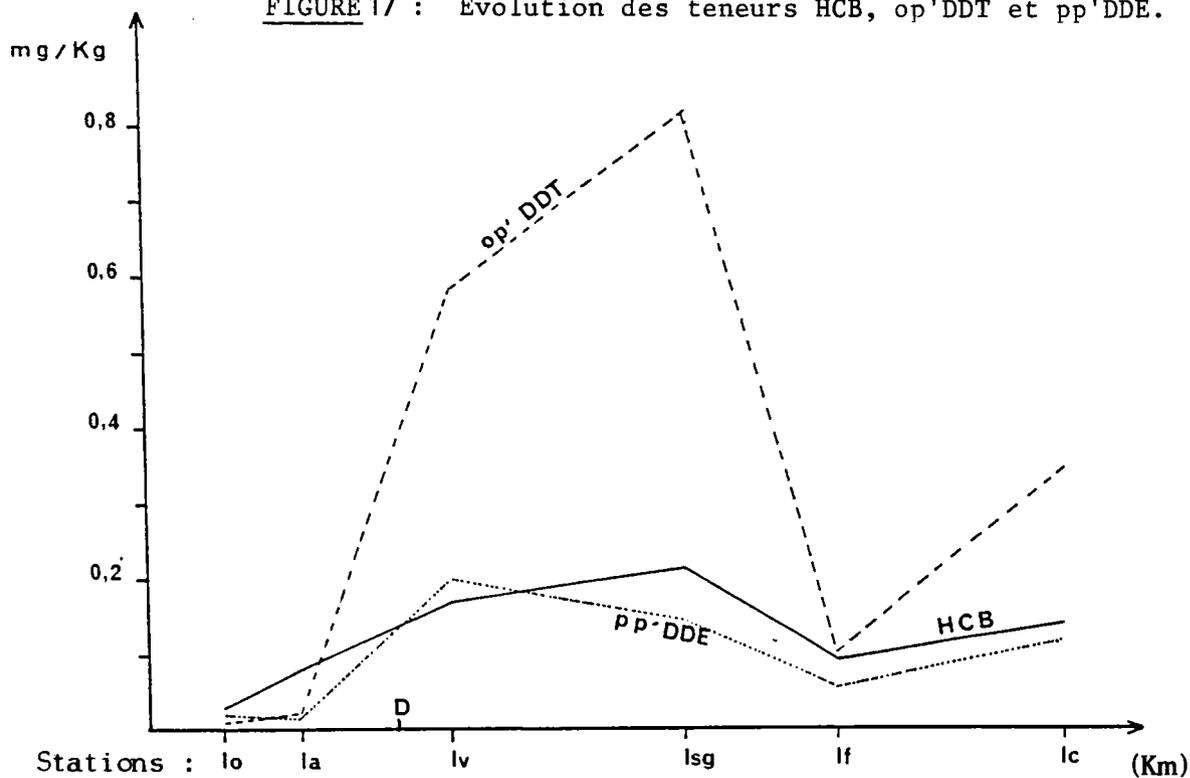


FIGURE 17 : Evolution des teneurs HCB, op'DDT et pp'DDE.



Le facteur d'augmentation entre les deux groupes est variable suivant les éléments. Inférieur à 10 pour l'a-HCH (1,7), l'HCB (2,8), les PCB (3,5), le lindane (3,7) l'op'DDD (3,8) et le pp'DDE (8,8), il est nettement plus important pour le b HCH (25,0), l'op'DDT (25,7), le pp'DDT (44,0) et le pp'DDD (53,3). La pollution des bryophytes est particulièrement importante sur le secteur compris entre Veurey et St Gervais, elle diminue en Basse Isère.

Si l'impact des apports du Drac sur la pollution des mousses de Veurey ne fait aucun doute (voir chapitre suivant), l'existence d'apports supplémentaires en PCB, HCB, pp'DDE, op' et pp'DDT entre Veurey et St Gervais d'une part et Les Fauries et Châteauneuf d'autre part, semble probable.

- L'hexachlorobenzène (HCB) est déjà présent dans les secteurs amont de l'Isère et du Drac (30 ppb à Io et 35 ppb à Do) et les concentrations augmentent d'amont en aval (Ia:85 ppb, Ic:140 ppb). Comparativement à Ia, la concentration en HCB des bryophytes double à Veurey (165 ppb) et persiste très à l'aval (205 ppb à St Gervais et 140 ppb à Châteauneuf).

- Parmi les isomères de l'hexachlorocyclohexane (HCH) identifiés dans les mousses, seules les concentrations en Lindane augmentent considérablement dès l'aval de Grenoble. En faibles concentrations en amont de Grenoble aussi bien dans le Drac que dans l'Isère, les teneurs à Veurey sont majorées d'un facteur multiplicatif de 3,5, ce qui fait suspecter des apports importants par le Drac. Notons que l'Isère avant sa confluence avec le Drac est déjà contaminée par le lindane, les concentrations dans les mousses doublant pratiquement entre Io (155 ppb) et Ia (360 ppb).

- Les isomères a et b du lindane sont détectés mais les teneurs sont proches des limites de détection de la technique ce qui rend leur interprétation hasardeuse. On remarque cependant une tendance à l'accroissement en Basse-Isère.

- Les PCB sont omniprésents. Comparativement aux secteurs amont de l'Isère (Io:520 ppb) et du Drac (Do:525 ppb) déjà contaminés, la pollution des bryophytes quintuple à Veurey (2 690 ppb), atteint un maximum à St Gervais (3 200 ppb) et diminue en Basse-Isère (respectivement 1200 ppb et 1710 aux Fauries et Châteauneuf).

- Parmi les composés de la famille du DDT, la pollution est essentiellement due au pp'DDT et dans une moindre mesure à l'op'DDT. L'op'DDT étant une impureté de fabrication du pp'DDT, il n'est donc pas surprenant de le retrouver dans les bryophytes. Le pp'DDE ainsi que les pp' et op'DDD sont des métabolites du DDT; leur présence dans les mousses témoigne donc de l'activité biologique de l'écosystème Isère et probablement du potentiel métabolique des bryophytes.

Par rapport à l'amont de Grenoble (Ia) où les teneurs en op' et pp'DDT sont de 30 et 45 ppb, à Veurey, la contamination est respectivement multipliée par 19,5 et 38,6. Les teneurs en op' et pp'DDT sont maximales à St Gervais (810 et 2745 ppb). A Châteauneuf, les concentrations ont chuté de moitié, on observe la même tendance avec les PCB et l'HCB.

A l'aval de Grenoble, tous les échantillons de bryophytes sont contaminés par les métabolites du DDT (pp'DDE, op' et pp'DDD).

- Le pp'DDE déjà présent en amont de Grenoble (I':20 ppb, Ia et D':15 ppb) augmente d'un facteur 10 dès Veurey. Malgré, une légère diminution aux Fauries, un niveau élevé de contamination s'observe jusqu'à Châteauneuf.

- Les teneurs en op'DDD augmentent progressivement d'amont en aval (Ia:25 ppb, Iv:70 ppb, Isg:80 ppb) pour atteindre leur maximum à Châteauneuf (110 ppb). Le pp'DDD, seulement détecté à partir de Veurey (30 ppb), présente des teneurs et un profil semblables à ceux de l'op'DDD. Son taux le plus élevé est cependant aux Fauries (140 ppb).

En conclusion , les concentrations en micropolluants des mousses confirment que l'Isère en amont de Grenoble (I' et Ia) n'est pas exempte de pollution puisque aussi bien les PCB et l'HCB que les pesticides (a-, b-HCH et lindane, pp'DDE, op'DDD, pp' et op'DDT) y sont détectés.

Si les teneurs dans les mousses autochtones restent faibles en amont de Grenoble, elles augmentent considérablement dès la confluence avec le Drac. En ce qui concerne les PCB, l'HCB, l'a- et le b-HCH, le pp' et l'op'DDT, les concentrations sont à leurs maxima à St Gervais ; pour le lindane et le pp'DDE, elles le sont à Veurey. Par rapport à l'amont de Grenoble (Ia), les concentrations en PCB, Somme DDT, lindane et HCB des bryophytes autochtones de St Gervais sont respectivement majorées de 3,4 ; 36,4 ; 2,6 et 2,4.

Par rapport aux teneurs observées dans le bassin Rhin-Meuse (paragraphes 3.1.3), les concentrations en DDT (op' et pp' DDT) et lindane relevées dans les bryophytes des secteurs aval de l'Isère et du Drac sont si élevées qu'elles excluent vraisemblablement une origine agricole de la pollution. La pollution est indiscutablement liée aux activités industrielles de cette région (usine PECHINEY de Pont de Clay).

3.1.2.3.2 Comparaison entre mousses allochtones et autochtones.

A Veurey, la comparaison des teneurs entre les bryophytes allochtones et autochtones de même espèce et prélevées à la même date permet de déterminer la durée nécessaire aux transplantées pour accumuler des concentrations similaires à celles des indigènes. Les valeurs du tableau 28 représentent le rapport (en %) entre les concentrations des mousses allochtones et celles des autochtones. Les concentrations ont été calculées sur la base d'une seule analyse par échantillon de mousse.

TABLEAU 28 : Comparaison à Veurey entre mousses allochtones et autochtones.

Rapports (en %) des concentrations en micropolluants dans les *Platyhypnidium* allochtones/*Platyhypnidium* autochtones.

PESTICIDES	DUREE D'INCUBATION DES BRYOPHYTES DE VEUREY		
	6 jours	20 jours	35 jours
PCB	105	95	64
HCB	100	100	125
a HCH	200	100	125
b HCH	---	71	100
Lindane	98	75	184
pp' DDE	72	103	76
op' DDD	---	110	---
pp' DDD	57	100	---
op' DDT	103	47	68
pp' DDT	98	52	107
S DDT	101	56	97
% de résidus secs	46%	n.d.	64%

--- : valeurs éliminées (> à 250%).

n.d. : non déterminé.

Les pourcentages moyens de convergence entre les mousses allochtones et autochtones, en ce qui concerne le lindane, l'HCB, les PCB, le pp' DDE, l'op' DDT, le pp' DDT et la S DDT fluctuent entre 52% et 184% ; le pourcentage moyen étant de 91% (s= 30%). Les concentrations en a-HCH, b-HCH, op' DDD et pp' DDD sont proches des limites de détection de la technique, ce qui explique sans doute la grande variabilité des résultats. Soulignons également que les analyses ont été faites sur des échantillons de mousses non lavées, ce qui a son influence sur les teneurs en micropolluants. Néanmoins, une durée d'incubation de 6 jours semble suffisante pour atteindre une bonne analogie dans les résultats obtenus entre mousses transférées et autochtones dans les conditions observées à Veurey à cette époque.

3.1.2.3.3 Evolution de la pollution des mousses allochtones.

Les figures 18 et 19 illustrent l'évolution de la contamination des *Plathyhypnidium* transférées à Veurey.

Les facteurs d'enrichissement, définis par le quotient des concentrations en micropolluants au temps d'incubation Tx sur les concentrations initiales au moment du transfert sont indiqués au tableau 29.

Les bryophytes transférées ont accumulé les micropolluants jusqu'à des niveaux comparables à ceux des autochtones. Une importante pollution par les PCB, l'HCB, le b-HCH, le lindane et l'ensemble des dérivés du DDT est mise en évidence dans le Drac à sa confluence avec l'Isère (Dg) . Après 6 jours de transfert, les facteurs d'enrichissement des mousses de cette station sont supérieurs à ceux des transplants de Veurey. Aussi, malgré les phénomènes de dilution, il semble donc que le Drac, très contaminé, constitue la source de pollution de loin la plus importante de la Haute-Isère. On notera également que les apports du Drac ne sont pas seuls en cause en ce qui concerne la contamination des mousses transférées à Veurey. En effet, les teneurs dans l'Isère amont (Ia) témoignent d'une contamination

TABLEAU 29 : Facteurs d'enrichissement des bryophytes aquatiques transférées dans l'Isère et le Drac.

Durée de transfert	Sites	PCB	HCB	α HCH	β HCH	Lindane	pp'DDE	op'DDD	pp'DDD	op'DDT	pp'DDT
6 jours (16 mars)	Ia	0,9	1,8	0,6	0,8	1	1	1	n.d.	2,7	0,5
	Dg	4,6	6,4	1	1,9	3,1	13,9	5,7	18,2	62,1	32
	Iv	2	3,8	0,8	0,5	0,7	2,7	1,6	2,2	13,9	6,3
14 jours (23 mars)	Ia	1,8	2,4	0,9	0,7	1	3,2	1,6	n.d.	5,7	1,2
	Dg	3,6	8,4	0,6	0,8	3,2	9,3	3,4	7,8	49,1	21,9
	Iv	2,1	3,8	0,7	0,8	1,5	4,1	1,7	3,2	13,7	6,7
20 jours (29 mars)	Do *	1,4	3,9	0,8	n.d.	1,8	0,7	0,6	1,6	2,5	0,6
	Ia *	2,1	0,9	5,1	0,5	1,4	1,7	1,7	0,8	4,1	1,1
	Iv *	4,1	8,5	1,2	1,2	3,1	7,6	3,7	4,4	18,5	12,6
	Isg *	4,7	8,3	1	0,4	3,5	8,3	3,5	4,2	19,1	14,2
	Ic *	3,3	7,5	1,3	0,5	2,5	5,6	2,9	10,8	15,1	14,9
35 jours (13 avril)	Iv *	8,1	21,5	1,6	1,1	6,5	7,9	5,1	9,4	47,9	29,1
	Isg *	4	8,9	0,9	1,3	1,8	6,2	1,6	5,4	20,5	12,1

n.d. : non déterminé.

Evolution temporelle des concentrations en micropolluants
dans les bryophytes transplantées à Veurey.

FIGURE 18 : Evolution des facteurs d'enrichissement des mousses en b-HCH, lindane, pp'DDE, op'DDD et pp'DDD.

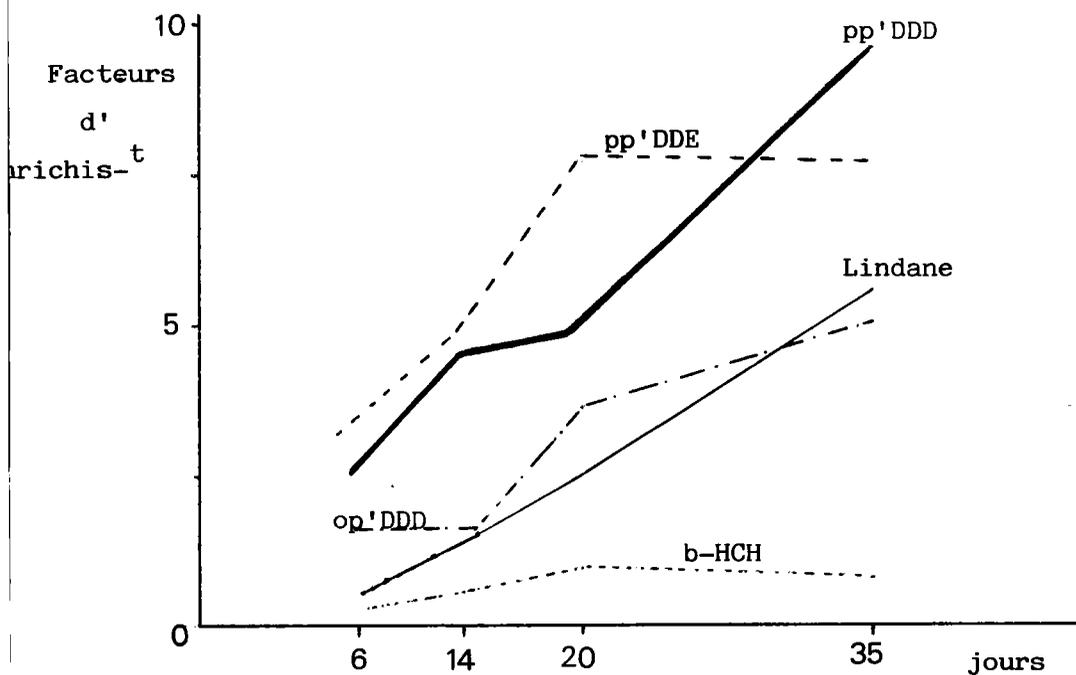
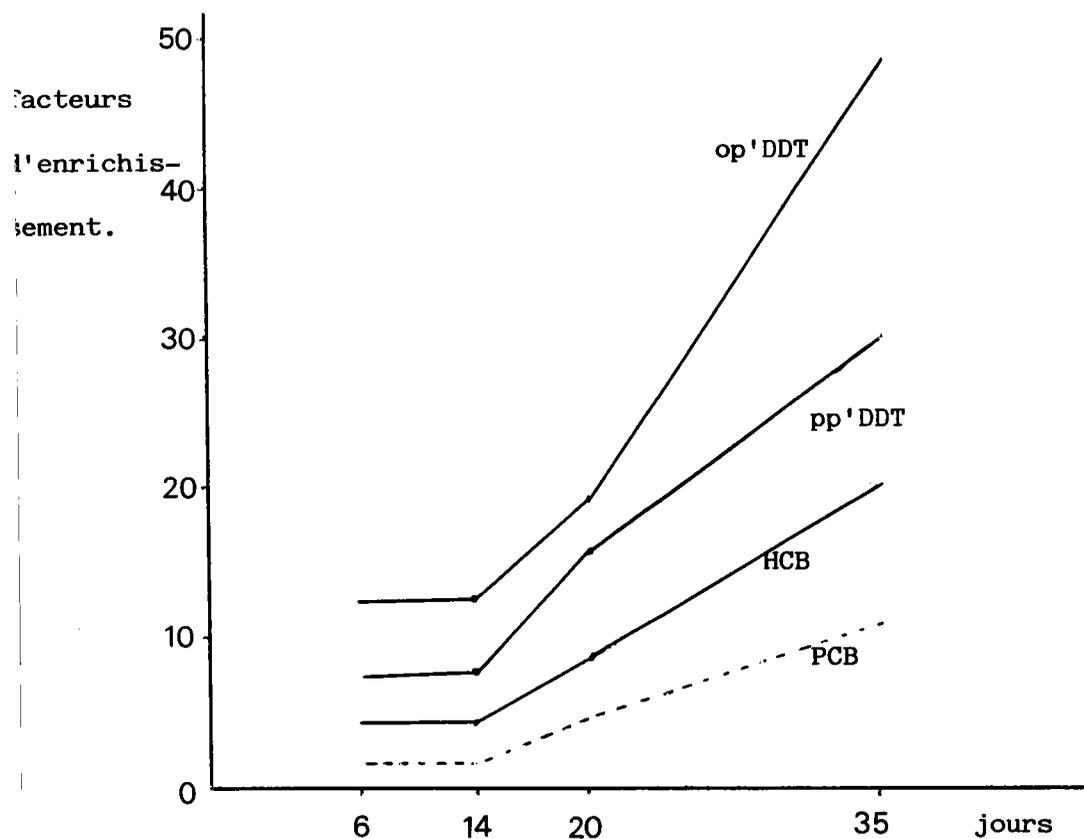


FIGURE 19 : Evolution des facteurs d'enrichissement des mousses en PCB, HCB, op'DDT et pp'DDT.



Evolution d'amont en aval des concentrations en micro-polluants organochlorés dans les mousses allochtones après 20 jours de transfert.

Figure 20: Evolution des concentrations en HCB, DDE, DDD.

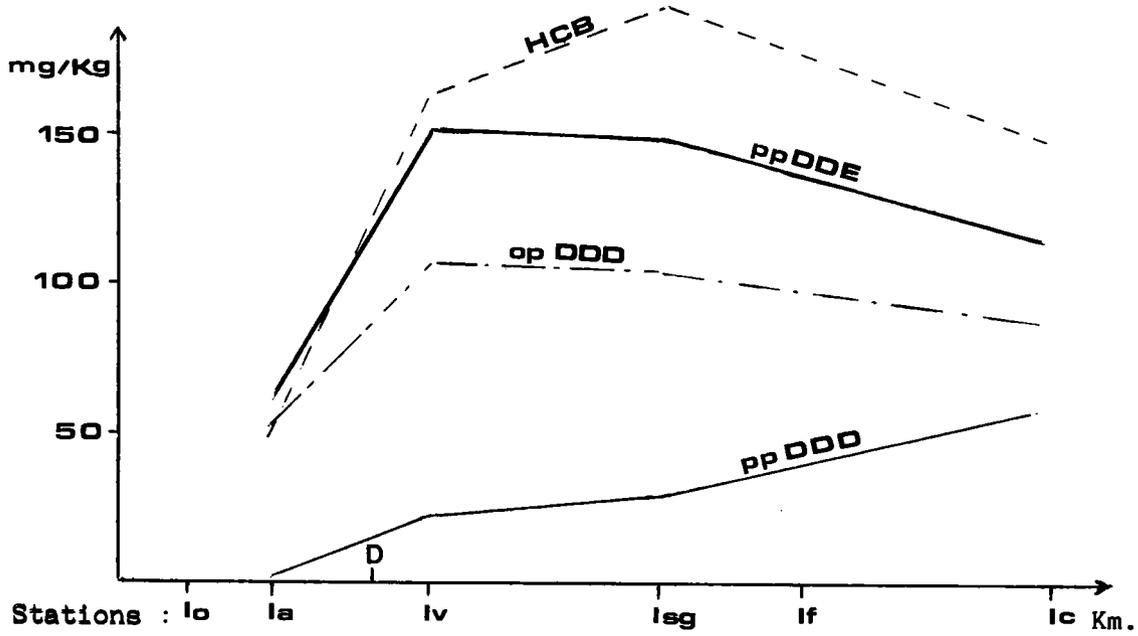
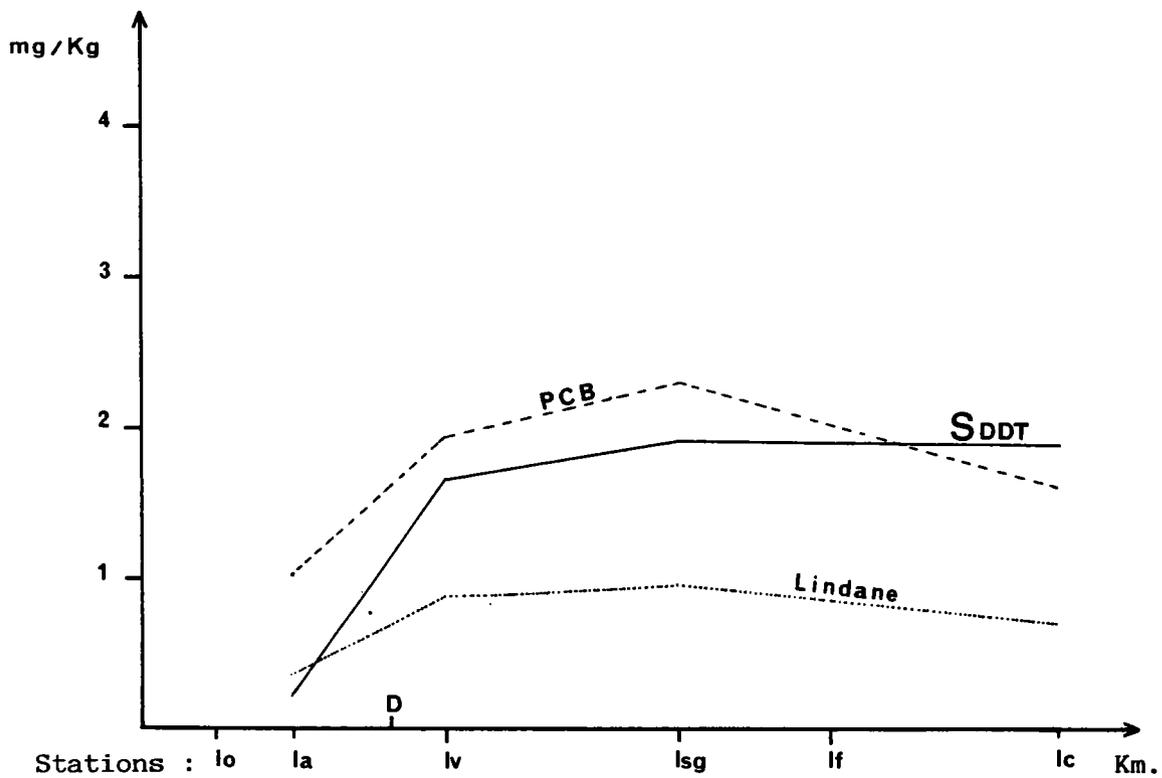


Figure 21: Evolution des concentrations en PCB, lindane et somme DDT.



préalable par les PCB, l'HCB, le lindane et les composés de la famille du DDT (Tableau 29). On observe la même tendance avec les bryophytes autochtones (paragraphe précédent).

Les concentrations en micropolluants dans les mousses varient rapidement et leur amplitude est élevée. En 6 jours, les concentrations en PCB, HCB, pp'DDE, pp'DDD, op'DDT et pp'DDT des mousses transférées dans le Drac sont respectivement multipliées par 4,6 ; 6,4 ; 13,9 ; 18,2 ; 62,0 et 32,0 alors qu'entre le 16 et le 23 mars, les teneurs en DDT et ses métabolites ont chuté d'environ de moitié. Cette chute n'étant pas observable sur les transferts de Veurey, on peut suspecter d'importantes fluctuations des concentrations en micropolluants dans les effluents industriels déversés dans le Drac.

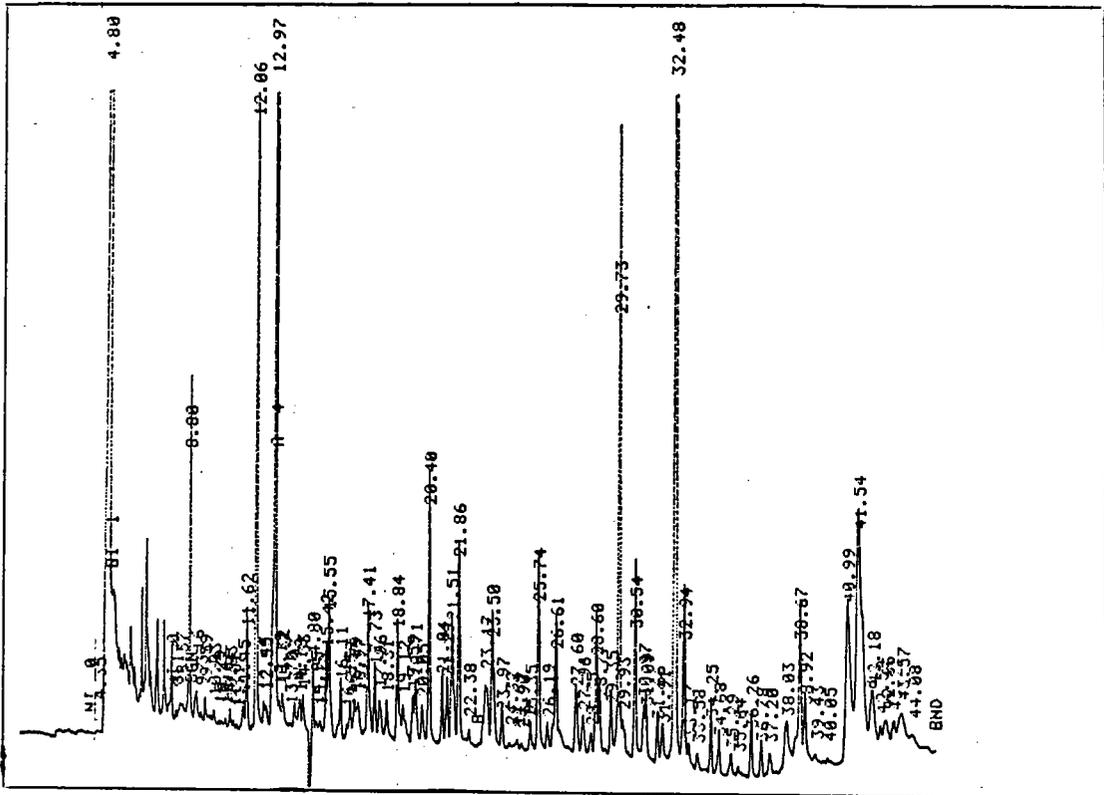
La contamination de *Platyhypnidium* après 20 jours de transfert (Figures 20 et 21) indique que la pollution du Drac a une influence notoire sur celle de L'Isère. Les similitudes entre ces figures et celles réalisées à l'aide des bryophytes autochtones (Figures 16 et 17) confirment qu'en ce qui concerne les PCB, le lindane, le pp'DDE et l'op'DDT, la pollution est à son maximum à St Gervais. Bien que les apports du Drac contribuent pour une part prépondérante à la pollution des eaux de l'Isère et que la biodisponibilité des organochlorés pour les mousses fluctue probablement sur le tronçon étudié, il existe sans doute d'autres rejets localisés sur le secteur compris entre Veurey et St Gervais.

3.1.2.3.4 Aspect qualitatif de la pollution par les PCB.

Quelle que soit la date d'échantillonnage, 85% à 95% de la contamination des bryophytes du Drac est constituée par des PCB moyennement lourds de type Aroclor 1254 (Figure 22). Les PCB lourds analogues à l'Aroclor 1260 ne représentent que 10% à 20% de la contamination.

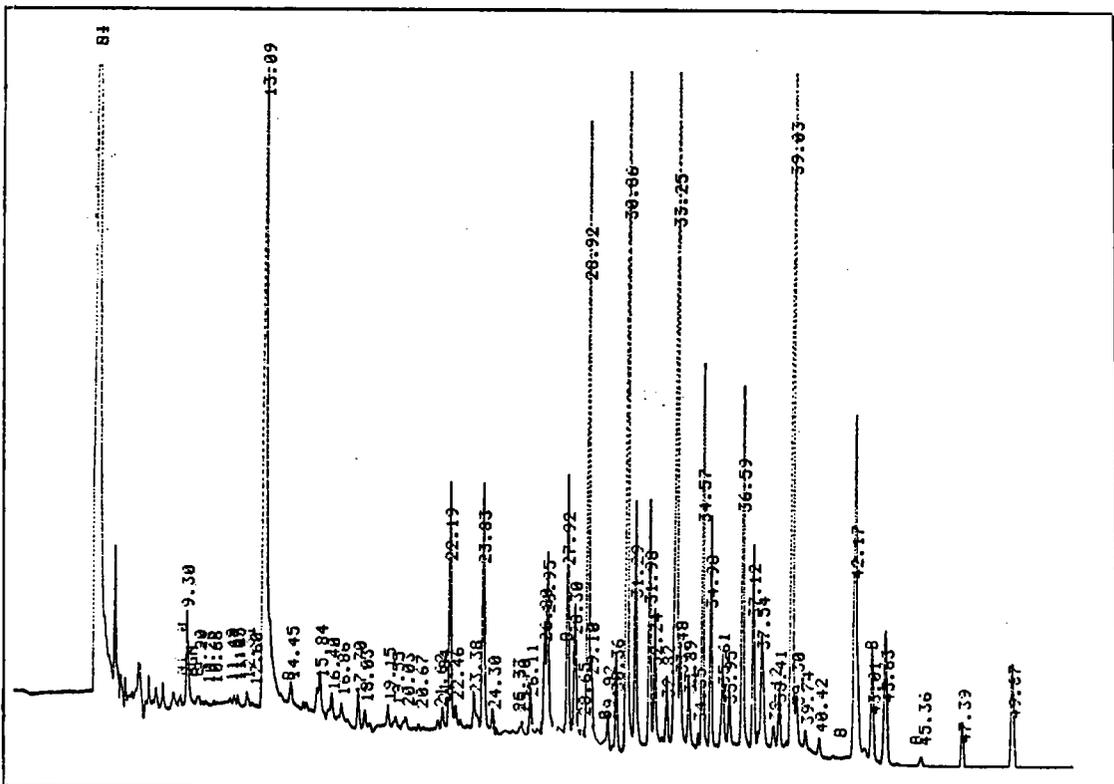
FIGURE 22: Aspect qualitatif de la pollution des bryophytes aquatiques de l'Isère.

Exemple 1: Pollution par un mélange de PCB de type Aroclor 1254 + Aroclor 1260.



Chromatogramme des bryophytes de Veurey prélevées le 29/3/1984.

Exemple 2 : Pollution par des PCB lourds de type Aroclor 1260.



Chromatogramme des bryophytes de Veurey prélevées le 13/04/84.

Pendant l'expérience, les chromatogrammes des mousses de l'Isère en aval de Grenoble sont comparables à ceux du Drac (80% d'Aroclor 1254). Cependant, le 13 avril, nous avons remarqué une hausse des teneurs en PCB lourds (60% d'Aroclor 1260) dans les mousses du secteur compris entre Veurey et St Gervais. Les proportions d'Aroclor 1260 (environ 15%) des prélèvements antérieurs (29 mars) étant constantes sur toutes les stations, on peut émettre l'hypothèse d'un rejet de PCB lourds d'impact géographique restreint puisque les mousses de Châteauneuf ne sont pas (encore?) atteintes par la vague de pollution. L'absence de prospection du Drac à partir du 23 mars ne permet pas d'évaluer son éventuelle participation à ce phénomène.

3.1.2.3.5 Evolution de la pollution de l'Isère et de certains de ses affluents entre 1984 et 1987.

La campagne de 1984 (voir ci-dessus) a mis en évidence la pollution des bryophytes de l'Isère par divers organochlorés. Les prélèvements effectués en 1985, 1986 et 1987 ont permis de surveiller la pollution de 4 stations : le Furon (témoin de transfert), le Drac à Grenoble (Dg), l'Isère à Veurey (Iv) et à Châteauneuf (Ic).

En raison d'un échantillonnage limité, toutes les données des campagnes 85, 86 et 87 ont été regroupées pour calculer les concentrations moyennes par sites (espèces et dates de prélèvement proches confondues). Une démarche similaire a été adoptée avec les données fournies par la campagne 1984. Les valeurs brutes sont données au tableau 30 (ANNEXE 2). Les facteurs de variation (tableau 31) représentent le quotient des concentrations moyennes en micropolluants dans les mousses récoltées en 1985, 1986 ou 1987 sur celles de 1984; les teneurs de 1984 étant ainsi considérées comme "référence".

En raison des incertitudes inhérentes au calcul de moyennes et d'un échantillonnage variable selon les sites et les années, nous garderons une certaine prudence pour l'interprétation des

TABLEAU 31 : Facteurs de variation de la contamination des bryophytes de l'Isère, du Drac et du Furon entre 1984 et 1987.

STATIONS	<u>FURON</u>	<u>DRAC</u>	<u>ISERE</u>			
			Veurey	Tullin	Châteauneuf	
	1985	1985	1985	1987	1985	1986
PCB	0,75	11,10	1,88	0,33	2,40	0,74
HCB	2,00	6,06	2,75	0,09	2,85	0,46
a-HCH	0,25	3,33	1,66	0,66	1,44	0,60
b-HCH	<1,00	3,66	2,00	<1,00	0,80	0,25
pp'DDE	0,25	12,56	2,03	0,70	1,16	0,16
pp'DDD	1,00	6,69	5,67	2,00	1,66	0,50
op'DDT	0,66	10,51	2,73	2,93	1,18	0,02
pp'DDT	<1,00	13,15	3,57	1,20	1,21	0,13

Les facteurs de variation correspondent au rapport des concentrations moyennes en micropolluants dans les échantillons récoltés en 1985, 86 et 87 / concentrations mesurées en 1984.

résultats. Aussi, les facteurs de variation égaux à $1 \pm 0,5$ ont été empiriquement assimilés à l'unité.

Bien que toutes les stations n'aient pas été prospectées aux mêmes saisons (1984 : mars-avril, 1985, 1986 et 1987 : novembre), ce qui suppose des fluctuations de débits et de biodisponibilité, on peut néanmoins dégager deux tendances des résultats.

* Si la contamination de l'Isère par les PCB, l'HCB, l'a- et le b-HCH est élevée en 1984 et 1985, il semble qu'à partir de 1986 on assiste à une dépollution lente et progressive. En revanche, la pollution par le DDT et ses métabolites persiste.

* La pollution induite par les effluents industriels est chronique. Si on se réfère à l'étude de la bioaccumulation des PCB *in situ* (§ 4.), le facteur moyen de bioaccumulation des mousses est de l'ordre de 1000. Aussi, l'eau pourrait donc atteindre sporadiquement des concentrations en micropolluants toxiques pour la vie aquatique. En novembre 1985, les teneurs moyennes en PCB mesurées dans les bryophytes sont de l'ordre de dizaines de ppm (21,7 mg/Kg), ce qui équivaldrait à une concentration en PCB dans l'eau de 21 $\mu\text{g/L}$.

Le même facteur appliqué aux composés de la famille du DDT (molécules hydrophobes dont le Kow est du même ordre de grandeur que celui des PCB) donnerait une concentration en S DDT dans l'eau de 44 $\mu\text{g/L}$. Rappelons que la concentration recommandée de DDT en dessous de laquelle les risques de toxicité pour la vie aquatique sont faibles est de 2 ng/L (6 ng/L pour le DDE) (BREMONOR & PERRON, 1979).

3.1.2.4 Conclusions.

L'application de la méthode des mousses aquatiques a permis une localisation précise des sources de pollution de l'Isère.

Bien qu'une pollution diffuse existe en amont de Grenoble, le Drac constitue incontestablement la source la plus importante de pollution de l'Isère. Outre les apports du Drac dont la répercussion semble être ressentie jusqu'à Châteauneuf, d'autres rejets localisés en amont de Grenoble et dans le secteur compris entre Veurey et St Gervais d'une part et Les Fauries et Châteauneuf d'autre part, contribuent à la pollution organochlorée de l'Isère.

Les bryophytes accumulent aussi bien les pesticides organochlorés que les PCB et elles répondent rapidement aux modifications qualitatives et quantitatives de la pollution organochlorée d'un cours d'eau.

3.1.3 LE RHIN ET LA MOSELLE.

3.1.3.1 Choix des sites d'étude.

Le choix des sites d'étude a été motivé en partie par les origines potentielles des substances sélectionnées. Compte tenu de la diversité géographique et typologique, nous avons également cherché à aborder le plus grand nombre possible de situations différentes de façon à cerner l'impact éventuel des pratiques agricoles, des agglomérations et de certaines activités industrielles.

La localisation des points de prélèvement répond à plusieurs critères :

Le premier vise à confronter les résultats obtenus par la méthode des mousses aquatiques à ceux obtenus en 1981 par celle des poissons. Nous avons étudié entre les 10 et 27 juillet 1985, 9 sites ayant présenté des problèmes en 1981 :

- La Moselle à Epinal, le Rupt de Mad à Arnaville, la Meurthe à Thiaville, la Mortagne à Moyen et en aval de Rambervillers, l'Ill à Osthouse, la Meuse à Bazoilles, en aval de St Mihiel et à Ham.

Le second consiste à estimer l'impact éventuel des industries du bois (papeteries ou ateliers de traitement). Onze points de prélèvement ont été étudiés entre les 15 et 16 juillet 1985 :

- La Vologne à Jarmenil et Retournemer, la Mortagne à Autrey, la Moselle à Fresse, Saulx, Eloyes et Arches, la Meurthe à Fraize, à Gratin, en amont et aval de Thiaville.

Le troisième est de cerner l'impact des grandes agglomérations. Neuf sites ont été retenus :

- Le Rhin en amont et en aval de Strasbourg, l'Ill en amont et en aval de Mulhouse, la Moselle en amont et en aval de Metz, la

FIGURE 23 : Localisation des points de prélèvement des bryophytes aquatiques dans le bassin Rhin-Meuse en 1985.



Meuse en amont et en aval de Charleville-Maizières, la Lauch en aval de Guebwiller (juillet 1985).

Le quatrième a pour but de détecter une contamination éventuelle à proximité de prises d'eau potable :

- La Chiers à Montmédy, la Moselle à Toul, la Sormonne à Belval, le Vair à Remouville, la Sarre à Keskastel.

Enfin, le cinquième objectif vise à estimer une hypothétique influence des traitements agricoles. La nature éminemment discontinue des apports a justifié une prospection répétée. Trois campagnes ont été planifiées sur le Rupt de Mad à Thiaucourt, Onville et Arnaville (6 mai, 24 juillet et 23 octobre), la Méholle en amont et en aval de Void Vacon (7 mai, 11 juillet et 21 octobre) et le ruisseau de Récourt à Rambluzin (6 mai, 11 juillet et 21 octobre). Deux campagnes de prélèvement ont été réalisées sur une autre série de sites en milieu rural : la Moder à Rohrwiller (24 juillet et 22 octobre), la Nied Allemande à Guiglange, le Walbach en amont d'Ammerschwihr (8 mai et 25 juillet), le Woigot à Briey (10 juillet et 21 octobre), la Crusne à Longuyon (6 mai et 1er juillet), l'Othain à St Jean-les-Longuyon et enfin la Saonelle à Frébécourt (11 juillet et 21 octobre). Tous les sites sont localisés sur la figure 23.

Conjointement à l'échantillonnage des bryophytes, nous avons procédé à des prélèvements d'eau. L'eau est versée dans des flacons en verre de 2 litres préalablement rincés à l'acétone puis à l'hexane. Pour limiter d'éventuelles dégradations biologiques ainsi que l'adsorption des composés hydrophobes sur le verre, les flacons de prélèvement contiennent 20 ml d'hexane. Le nettoyage des mousses ainsi que les techniques de dosage sont similaires à celles décrites au chapitre 2.

TABLEAU 32 : Concentrations en micropolluants organochlorés (ng/g) dans les mousses aquatiques prélevées dans les secteurs où avaient été observées des anomalies dans les poissons en 1981 ($m \pm \sigma$; $n = 2$; ng/g)

CONCENTRATIONS (ng/g)	HCB	α HCH	β HCH	Lindane	PCB	pp'DDE	Σ DDD	Σ DDT	Poissons
MOSELLE Epinal	20 \pm 4	4 \pm 0	<1	77 \pm 11	320 \pm 4	<5	<10	15	PCB+HCB
RUPT DE MAD Arnaville	11 \pm 1	14 \pm 1	4 \pm 0	143 \pm 4	683 \pm 3	<5	<10	<5	PCB
MEURTHE Thierville	11 \pm 3	5 \pm 3	2 \pm -	80 \pm 30	187 \pm 1	<5	<10	<5	PCB+DDE
MORTAGNE Moyen	5 \pm 1	2 \pm 1	2 \pm -	61 \pm 9	123 \pm 6	<5	<10	<5	***
Rambervillers	6 \pm 2	3 \pm 1	2 \pm 1	126 \pm 31	108 \pm 3	<5	<10	<5	-
ILL Osthouse	22 \pm 4	13 \pm 1	9 \pm 1	149 \pm 8	1061 \pm 1	13 \pm 6	<10	37 \pm 2	PCB
MEUSE Bazoilles/Meuse	4 \pm 1	9 \pm 1	5 \pm 0	57 \pm 3	50 \pm 2	<5	10	7 \pm -	PCB+DDE
av. St Mihiel	5 \pm 1	4 \pm 1	<1	36 \pm 5	42 \pm 1	<5	<10	<5	β -HCH
Ham/Meuse	12 \pm -	3 \pm 1	<1	69 \pm 3	242 \pm 1	8 \pm 1	<10	<5	PCB

***: α -HCH, β -HCH, Lindane, PCB et DDE.

IMPORTANCE DES ANOMALIES DANS LES POISSONS.

(facteurs d'augmentation par rapport aux échantillons les moins contaminés du bassin).

MOSELLEPCB x 8 , HCH x 150

RUPT DE MADPCB x 9 , DDE x 25

MEURTHE PCB x 16 , DDE x 58

ILL.....PCB x 12

MORTAGNE.....PCB x 11 , DDE x 59 , α -HCH x 20, Lindane x 45

MEUSE Ham..... PCB x 9

MEUSE Goncourt..... PCB x 9 , DDE x 40

MEUSE St Mihiel..... β -HCH x 190

TABLEAU 33 : Concentrations en micropolluants organochlorés (ng/L) dans l'eau prélevée dans les secteurs où avaient été observées des anomalies dans les poissons en 1981.

CONCENTRATIONS (ng/L)	HCB	α HCH	β HCH	Lindane	PCB	pp'DDE	Σ DDD	Σ DDT	Poissons
MOSELLE Epinal	6	2	6	46	80	18	17	15	PCB
RUPT DE MAD Arnaville	<1	3	<2	2	<20	<5	<10	<5	PCB
MEURTHE Thiaville	5	3	<2	2	<20	<5	<10	5	PCB+DDE
MORTAGNE Moyen	<1	10	<2	99	<20	<5	<10	<5	***
Rambervillers	1	<1	<2	75	<20	10	<10	13	-
ILL Osthouse	5	5	<2	21	<20	<5	<10	<5	PCB
MEUSE Bazoilles/Meuse	1	3	<2	31	<20	<5	11	<5	PCB+DDE
av. St Mihiel	<1	3	<2	8	<20	17	<10	<5	β -HCH
Ham/Meuse	<1	3	<2	24	83	6	<10	<5	PCB

*** : α -HCH, β -HCH, Lindane, PCB, ...

3.1.3.2 Résultats et discussions.

Les tableaux 32 à 43 présentent l'ensemble des résultats exprimés en ng/g de bryophytes secs avec les moyennes (x) et les écarts-types (s) de deux dosages indépendants. Lorsque la biomasse était insuffisante, un seul dosage a été effectué.

3.1.3.2.1 Comparaisons avec la contamination des poissons.

Les tableaux 32 et 33 illustrent la contamination des bryophytes et celle de l'eau dans les stations où avaient été constatées des anomalies dans les poissons en 1981.

Les dosages dans les mousses confirment des anomalies d'importance diverse :

- La Moselle à Epinal : PCB et HCB
- l'Ill à Osthouse : PCB
- la Meuse à Ham : PCB
- Le Rupt de Mad à Arnaville : PCB
(une campagne sur trois)

Certaines anomalies ne sont pas retrouvées : la Meurthe à Thiaville, la Mortagne à Moyen, la Meuse à Bazoille et à St Mihiel. Enfin, les mousses font apparaître des éléments nouveaux par rapport aux poissons :

- DDT et DDE : Ill à Osthouse
- Lindane : Rupt de Mad à Arnaville
Mortagne à Rambervilliers
Ill à Osthouse

Il est intéressant de noter qu'en 1984, un premier contrôle réalisé à l'aide des bryophytes (tableau 34, ANNEXE 2) indique les mêmes tendances sur la Moselle à Epinal et le Rupt de Mad à Arnaville. Puisque des valeurs "anormales" y sont observées par deux méthodes d'approches différentes (poissons-mousses) et deux fois par la même méthode (mousses 1984 et 1985), ces deux secteurs sont probablement l'objet d'une contamination chronique. La

TABEAU 35 : Concentrations en micropolluants organochlorés (ng/L) dans l'eau prélevée à proximité d'industries du bois.

CONCENTRATIONS (ng/L)	HCB	α HCH	β HCH	Lindane	PCB	pp'DDE	EDDD	EDDT
VOLOGNE								
Retournemer	3	12	<2	72	<20	12	<10	<5
Jarmenil	<1	22	<2	23	<20	6	<10	<5
MORTAGNE								
Autrey	3	<1	<2	67	60	31	<10	<5
MEURTHE								
Fraize	4	<1	<2	17	<20	<5	<10	<5
Gratin	2	5	<2	52	50	13	14	<5
at. Thiaville	3	<1	<2	91	70	19	13	6
av. Thiaville	5	<1	3	130	<20	<5	<10	<5
MOSELLE								
Fresse	4	<1	<2	72	<20	<5	<10	<5
Saulx	<1	11	<2	23	<20	<5	<10	<5
Eloyes	<1	<1	<2	39	<20	<5	<10	<5
Arches	<1	<1	<2	70	<20	<5	<10	<5

TABEAU 36 : Concentrations en micropolluants organochlorés dans les mousses aquatiques prélevées dans des cours d'eau situés à proximité d'industries du bois ($m \pm \sigma$; $n = 2$; ng/g).

CONCENTRATIONS (ng/g)	HCB	α HCH	β HCH	Lindane	PCB	pp'DDE	EDDD	EDDT
VOLOGNE								
Retournemer	3 ± 1	4 ± 0	<2	76 ± 1	161 ± 1	<5	<10	<5
MORTAGNE								
Autrey	4 ± 0	3 ± 1	2 ± 0	75 ± 3	58 ± 3	<5	<10	<5
MEURTHE								
Fraize	4 ± 1	2 ± 1	$2 \pm -$	65 ± 2	341 ± 9	<5	<10	<5
Gratin	$6 \pm -$	$4 \pm -$	3 ± 0	111 ± 0	$167 \pm -$	$8 \pm -$	<10	<5
at. Thiaville	6 ± 0	5 ± 1	<2	101 ± 3	289 ± 1	<5	<10	<5
av. Thiaville	11 ± 3	5 ± 3	$2 \pm -$	80 ± 30	187 ± 1	<5	<10	<5
MOSELLE								
Fresse	9 ± 1	6 ± 0	3 ± 1	147 ± 2	433 ± 10	<5	<10	8 ± 1
Saulx	5 ± 1	3 ± 1	$3 \pm -$	36 ± 2	319 ± 5	<5	<10	<5
Eloyes	13 ± 1	3 ± 1	<2	60 ± 1	191 ± 3	10 ± 1	<10	<5
Arches	5 ± 1	4 ± 1	<2	94 ± 11	165 ± 1	5 ± 2	<10	<5

pollution quantitativement importante et qualitativement diversifiée de L'Ill à Osthouse se doit également d'être citée.

Les dosages sur eau (tableau 33) apportent peu de renseignements hormis la confirmation de problèmes sur la Moselle à Epinal et la Meuse à Ham.

3.1.3.2.2 Echantillons prélevés à proximité d'industries du bois.

(TABLEAUX 35 et 36).

Cette série d'échantillons présente peu de variations parmi les 10 sites inventoriés et ne donne lieu à aucune valeur particulièrement élevée, si ce n'est le lindane sur la Moselle à Fresse. Ainsi, l'a HCH, b HCH, HCB et S DDT ne varient guère de plus d'un facteur 2 entre les différents sites. On note toutefois des concentrations en PCB qui reflètent une pollution certaine de la Meurthe à Fraize et en amont de Thiaville ainsi que la Moselle à Fresse et Saulx. Ces deux rivières présentent parfois des valeurs importantes en lindane ; c'est le cas à Gratin et en amont de Thiaville sur la Meurthe, Fresse et Arches sur la Moselle. Du DDE est détecté sur la Moselle à Eloyes et à Arches.

Toutefois, par comparaison avec un site comme Retournemer situé en tête de bassin, l'impression générale est celle de l'absence d'impact marqué de ces industries quant aux polluants étudiés. Cette constatation s'applique dans une large mesure aux dosages sur eau (tableau 35) qui ne révèlent comme évolution régulière que l'augmentation du lindane de l'amont vers l'aval de la Meurthe. La présence du DDE et des DDD à Gratin et à l'amont de Thiaville pourrait faire penser à des apports substantiels ; les valeurs étant toutefois à peine supérieures aux limites de détection, la plus grande prudence s'impose pour leur interprétation.

TABEAU 37 : Concentrations en micropolluants organochlorés (ng/L) dans l'eau prélevée en amont et en aval de grandes agglomérations.

CONCENTRATIONS (ng/L)	HCB	α HCH	β HCH	Lindane	PCB	pp'DDE	EDDD	EDDT
RHIN								
at. Strasbourg	<1	<1	<2	2	<20	<5	<10	<5
av. Strasbourg	6	2	<2	9	<20	<5	<10	<5
Ill								
at. Mulhouse	<1	10	<2	7	<20	<5	<10	<5
av. Mulhouse	<1	<1	4	12	<20	18	<10	<5
MEUSE								
at. Charleville	<1	3	<2	22	<20	<5	<10	<5
av. Charleville	<1	<1	<2	11	<20	<5	<10	<5
LAUCH								
av. Guebwiller	14	<1	9	55	<20	21	13	146

TABEAU 38 : Concentrations en micropolluants organochlorés dans des mousses aquatiques prélevées amont et en aval de grandes agglomérations ($m \pm \sigma$; $n=2$; ng/g).

CONCENTRATION (ng/g)	HCB	α HCH	β HCH	Lindane	PCB	pp'DDE	EDDD	EDDT
RHIN								
at. Strasbourg	15	7	3	107	307	12	<10	<5
av. Strasbourg	19 \pm 2	22 \pm 6	11 \pm 4	117 \pm 5	441 \pm 2	20 \pm 2	<10	<5
Ill								
at. Mulhouse	12 \pm 1	21 \pm 0	17 \pm 1	102 \pm 1	449 \pm 11	<5	<10	<5
av. Mulhouse	15	9	7	262	632	9		
MOSELLE								
at. Metz	14	10	7	110	969	<5	<10	<5
av. Metz	12 \pm 6	15 \pm 3	<2	141 \pm 12	1894 \pm 224	<5	<10	<5
MEUSE								
at. Charleville	3 \pm 1	3 \pm 1	2	29 \pm 1	*159 \pm 6	<5	<10	<5
av. Charleville	8 \pm 0	2 \pm 1	<2	28 \pm 1	*179 \pm 10	<5	<10	<5
LAUCH								
av. Guebwiller	13 \pm 2	22 \pm 1	5 \pm 1	223 \pm 1	976 \pm 4	<5	<10	<5

* : Moyennes de plusieurs espèces.

3.1.3.2.3 Echantillons prélevés en amont et en aval de grandes agglomérations (TABLEAUX 37 et 38).

Plusieurs cas d'influence significative due aux agglomérations étudiées sont mis en évidence ; les PCB dans la Moselle en aval de Metz, le lindane dans l'Ill en aval de Mulhouse, les a- et b-HCH dans le Rhin en aval de Strasbourg et l'a-HCH, le lindane et les PCB dans la Lauch en aval de Guebwiller (tableau 38). Les concentrations mesurées en aval de Charleville-Maizières et de Strasbourg ne sont presque jamais supérieures de plus d'un facteur 2 à celles des stations amont. Le triplement de l'HCB en aval de Charleville doit être interprété avec prudence, ses valeurs amont et aval étant proches des limites de détection. Notons cependant que la Meuse apparaît globalement moins polluée que les autres cours d'eau qui subissent visiblement des apports non négligeables de lindane et de PCB.

Le cas le plus net est celui des PCB dans la Moselle en aval de Metz. En effet, partant d'une valeur déjà très élevée à l'amont, on atteint des concentrations voisines de 2 000 ng/g à l'aval, c'est-à-dire 10 fois plus que dans la Meuse par exemple. Comme de surcroît, l'étude de 1984 (§:3.2.1) avait déjà mis en évidence la contamination de la Moselle dans la région messine, le doute n'est plus permis quant à la pollution de ce secteur par les PCB. La contamination de la Lauch en aval de Guebwiller est quantitativement importante et qualitativement diversifiée.

Le recours aux dosages sur l'eau (tableau 37) n'apporte que deux données interprétables dans le sens d'une influence urbaine : le lindane en aval de Strasbourg et le DDE en aval de Mulhouse. Ces tendances se retrouvent partiellement dans les mousses avec l'apparition du DDE en aval de Mulhouse, à un niveau toutefois très faible (2 fois la limite de détection).

TABLEAU 39 : Concentrations en micropolluants organochlorés (ng/L) dans les échantillons d'eau prélevés à proximité de prises d'eau potable existantes ou projetées.

CONCENTRATIONS (ng/L)	HCB	α HCH	β HCH	Lindane	PCB	pp'DDE	EDDD	EDDT
CHIERS Montmédy	<1	<1	<2	19	<20	<5	<10	<5
MOSELLE Toul	<1	10	<2	27	<20	<5	12	<5
SORMONNE Belval	<1	1	<2	18	<20	<5	<10	<5
VAIR Remouville	2	3	<2	30	<20	<5	11	<5
SARRE Keskastel	1	3	<2	22	<20	<5	<10	<5

TABLEAU 40: Concentrations en micropolluants organochlorés (ng/g) dans les mousses aquatiques prélevées à proximité de prises d'eau potable existantes ou projetées ($m \pm \sigma$; n = 2; ng/g)

CONCENTRATIONS (ng/g)	HCB	α HCH	β HCH	Lindane	PCB	pp'DDE	EDDD	EDDT
CHIERS Montmédy	11 \pm 1	6 \pm 1	6 *	48 \pm 2	104 \pm 4	23 *	19 *	9 *
MOSELLE Toul	5 \pm 2	3 \pm 2	<1	51 \pm 3	405 \pm 1	<5	<10	<5
SORMONNE Belval	7 \pm 2	5 \pm 1	<1	57 \pm 19	150 \pm 2	7 \pm 2	<10	<5
VAIR Remouville	6 \pm 2	5 \pm 1	<1	38 \pm 12	158	<5	14 \pm 2	<5
SARRE Keskastel	11 \pm 1	17 \pm 1	5 \pm 1	171 \pm 3	299 \pm 4	<5	<10	<5

* : Les dosages effectués dans une seconde espèce de mousse n'ont donné que des valeurs inférieures

3.1.3.2.4 Echantillons prélevés à proximité de prises d'eau potable (TABLEAUX 39 et 40).

Les variations les plus significatives concernent les PCB et le lindane dans les bryophytes (tableau 40). Ainsi, les teneurs en PCB des mousses de la Moselle à Toul et de la Sarre à Keskastel sont nettement supérieures à celles des échantillons non contaminés du secteur amont de la Meuse. Il en est de même à Keskastel pour le lindane qui atteint un niveau très élevé comparativement aux autres teneurs du bassin Rhin-Meuse. Les résultats obtenus sur la Chiers à Montmédy pour le b-HCH et le DDT étant très divergents selon l'espèce de mousse étudiée, nous resterons prudents quant à l'interprétation des résultats.

En ce qui concerne les échantillons d'eau (tableau 39), la majorité des valeurs sont inférieures aux limites de détection. Seul le lindane est décelé partout mais il reste inférieur à 30 ng/L. Le DDD n'est détecté qu'à l'état de traces (Moselle à Toul et Vair à Remouville) tout comme l'a-HCH qui atteint cependant une valeur significative à Toul (10 ng/L). La concordance avec les échantillons de mousse est particulièrement mauvaise.

3.1.3.2.5 Echantillons prélevés à proximité de secteurs agricoles.

3.1.3.2.5.1 Bassin de la Meuse (TABLEAUX 41 et 42).

Que ce soit au niveau spatial (comparaison des points amont et aval) ou temporel (comparaison des résultats de mai, juillet et octobre), les variations observées dans les mousses (tableau 41) sont faibles hormis celles du lindane, omniprésent, et rencontré parfois à des niveaux élevés. Le lindane et ses isomères ne montrent aucune évolution significative entre les secteurs amont et aval d'activités agricoles ; les fluctuations saisonnières sont elles aussi assez négligeables.

TABLEAU 41: Concentrations en micropolluants organochlorés dans les mousses aquatiques prélevées à diverses reprises dans des secteurs en amont ou en aval d'activités agricoles (bassin de la Meuse ; $m \pm \sigma$; $n = 2$; ng/g)

CONCENTRATIONS (ng/g)	HCB	α HCH	β HCH	Lindane	PCB	pp'DDE	Σ DDD	Σ DDT
SAONELLE								
Frébécourt 11/7	5 \pm 1	4 \pm 1	<2	67 \pm 5	<20	<5	<10	5
Frebrécourt 21/10	4 \pm 1	5 \pm 2	<2	64 \pm 11	<20	<5	<10	5
MEHOLLE								
Void Vacon 7/5	7 \pm 1	6 \pm 2	<2	45 \pm 27	<20	<5	<10	<5
Void Vacon 11/7	13 \pm 1	5 \pm 2	5	42 \pm 27	<20	12 \pm 2	41 \pm 10	<5
Void Vacon 21/10	10	8	<2	64	203	<5	<10	<5
Void Vacon 7/5	10 \pm 3	3	<2	65	<20	6	<10	<5
Void Vacon 11/7	9 \pm 1	3 \pm 0	<2	48 \pm 1	<20	<5	<10	<5
Void Vacon 21/10	9 \pm 1	16 \pm 0	<2	65 \pm 1	<20	<5	<10	<5
RU. DE RECOURT								
Rambluzin 6/5	8 \pm 0	4 \pm 0	<2	83 \pm 0	<20	<5	<10	<5
Rambluzin 11/7	8 \pm 2	7 \pm 1	2	76 \pm 8	<20	<5	<10	<5
Rambluzin 21/10	16	28	<2	38	<20	<5	<10	<5
RU. DE RUPT								
Le Tonnerre 6/5	12 \pm 1	5 \pm 1	<2	103 \pm 6	<20	8 \pm 1	18 \pm 3	39 \pm 5
Le Tonnerre 11/7	15 \pm 1	7 \pm 2	<2	86 \pm 5	128 \pm 8	17 \pm 9	<10	<5
Troyon 6/5	7	2	<2	94	20	6	<10	16
Troyon 11/7	6 \pm 0	11 \pm 3	6	66 \pm 4	119 \pm 5	16	12 \pm 0	23 \pm 3
CRUSNES								
Longuyon 6/5	6 \pm 0	3 \pm 1	<2	23 \pm 0	<20	8 \pm 1	10 \pm 1	21 \pm 0
Longuyon 10/7	10 \pm 1	3	<2	37 \pm 2	<20	<5	<10	<5
OTHAIN								
St Jean-Les- 6/5	10 \pm 0	2 \pm 2	<2	132 \pm 25	<20	8	33	<5
- Longuyon 10/7	3	8	<2	51	<20	<5	<10	<5

TABLEAU 42 : Concentrations en micropolluants organochlorés (ng/L) dans les échantillons d'eau prélevés à diverses reprises dans des secteurs en amont ou en aval d'activités agricoles (bassin de la Meuse)

CONCENTRATIONS (ng/L)	HCB	α HCH	β HCH	Lindane	PCB	pp'DDE	Σ DDD	Σ DDT
SACNELLE								
Frébécourt 11/7	<1	3	<2	27	<20	11	16	<5
Frebrécourt 21/10	<1	<1	<2	26	<20	<5	<10	<5
MEHOLLE								
Void Vacon 7/5	12	<1	<2	26	<20	<5	<10	<5
Void Vacon 11/7	<1	<1	<2	10	<20	<5	<10	<5
Void Vacon 21/10	<1	<1	<2	25	266	<5	<10	<5
Void Vacon 7/5	6	1	<2	22	<20	<5	<10	<5
Void Vacon 11/7	<1	<1	<2	<1	<20	<5	<10	<5
Void Vacon 21/10	<1	<1	<2	<1	66	<5	<10	<5
RU. DE RECOURT								
Rambluzin 6/5	4	4	<2	15	<20	26	18	<5
Rambluzin 11/7	<1	<1	<2	9	<20	<5	<10	<5
Rambluzin 21/10	<1	<1	<2	<1	<20	<5	<10	<5
RU. DE RUPT								
Le Tonnerre 6/5	3	<1	<2	41	20	<5	<10	<5
Le Tonnerre 11/7	<1	<1	<2	<1	20	<5	<10	<5
Troyon 6/5	4	2	<2	24	<20	<5	<10	<5
Troyon 11/7	<1	2	<2	10	<20	<5	<10	<5
CRUSNES								
Longuyon 6/5	9	1	<2	27	<20	18	33	<5
Longuyon 10/7	<1	<1	<2	21	<20	<5	<10	<5
OTHAIN								
St Jean-Les- 6/5	14	8	<2	132	<20	8	33	<5
- Longuyon 10/7	<1	4	<2	27	<20	<5	<10	<5

Les PCB sont absents de la plupart des sites prospectés et leur présence sporadique (Méholle amont, ruisseau de Rupt) semble indiquer une origine limitée tant dans l'espace que dans le temps.

En ce qui concerne le DDT et ses dérivés, leur évolution est semblable aux deux substances précédentes. On peut cependant noter que ces composés sont plus souvent détectés ici que dans l'ensemble des mousses prospectées au cours de cette étude. La fréquence d'apparition n'est toutefois que de 8 échantillons sur 19 et les valeurs ne dépassent pas 4 fois la limite de détection.

Dans les échantillons d'eau (tableau 42), seulement 23% des valeurs sont supérieures aux limites de détection. Le lindane est le composé le plus fréquemment rencontré (60% des échantillons) et il présente de fortes variations aussi bien entre sites qu'entre campagnes. Enfin, on retrouve parfois les mêmes anomalies que dans les mousses, comme par exemple les PCB sur la Méholle amont en octobre et le lindane à l'amont du ruisseau de Rupt ou dans l'Othain en mai. Des divergences peuvent également être relevées : ruisseau de Récourt en mai : DDE et DDD élevés dans l'eau, pas dans les mousses; Othain en mai : a-HCH élevé dans l'eau, pas dans les mousses.

3.1.3.5.2 Bassins de la Moselle et du Rhin (TABLEAUX 43 et 44)

La seule évolution bien marquée est de nature saisonnière et limitée aux PCB dans les mousses du Rupt de Mad et du Walbach amont (tableau 43), avec un pic très net (facteur 20-30) pendant la série du 24 juillet. Cette évolution saisonnière ne trouve pas d'explication dans l'état actuel de nos connaissances.

Les fluctuations du lindane entre sites amont et aval sont quantitativement très limitées (facteur 4) et du même ordre de grandeur que les variations saisonnières pour un même site. Il ne semble donc pas possible, au vu de ces résultats, de mettre en évidence des apports importants ponctuels et localisés de lindane suite aux activités agricoles dans les bassins étudiés. On semble

TABEAU 43: Concentrations en micropolluants organochlorés (ng/g) dans les échantillons de mousses aquatiques prélevés à diverses reprises dans des secteurs en amont ou en aval d'activités agricoles (bassins de la Moselle et du Rhin ; $m \pm \sigma$; $n = 2$; ng/g).

CONCENTRATIONS (ng/g)	HCB	α HCH	β HCH	Lindane	PCB	pp'DDE	ΣDDD	ΣDDT
RUPT DE MAD								
Thiaucourt 6/5	8 ± 0	4 ± 1	<2	147 ± 1	<20	9 ± 1	11	<5
Thiaucourt 24/7	13 ± 2	25 ± 7	12 ± 6	129 ± 1	463 ± 17	<5	<10	<5
Thiaucourt 23/10	6 ± 1	8 ± 2	3 ± 0	44 ± 1	<20	<5	<10	<5
Onville								
Onville 6/5	5 ± 1	4 ± 1	<2	85 ± 4	<20	<5	<10	<5
Onville 24/7	8 ± 1	11 ± 3	5 ± 1	142 ± 57	197 ± 1	<5	<10	<5
Onville 23/10	5 ± 1	5 ± 1	<2	29 ± 2	<20	<5	<10	<5
Arnaville								
Arnaville 6/5	8 ± 1	7 ± 4	<2	112 ± 1	<20	<5	<10	<5
Arnaville 24/7	11 ± 1	14 ± 1	4 ± 0	143 ± 4	683 ± 3	<5	<10	<5
Arnaville 23/10	5 ± 0	7 ± 0	<2	49 ± 1	<20	<5	<10	<5
MODER								
Rohrviller 24/7	19 ± 1	10 ± 4	8 ± 4	125 ± 3	475 ± 15	<5	<10	<5
Rohrviller 22/10	40 ± 3	6 ± 1	<2	36 ± 1	445 ± 15	<5	<10	<5
NIED ALLEMANDE								
Guinglange 25/7	25 ± 4	16 ± 1	6 ± 0	162 ± 19	879 ± 6	<5	<10	<5
Guinglange 23/10	12 ± 1	8 ± 1	2 ± 0	46 ± 1	249 ± 6	<5	<10	<5
WALBACH								
at Ammerschwir 8/5	9 ± 0	3 ± 1	<2	39 ± 0	<20	<5	<10	11
at Ammerschwir 25/7	16 ± 1	7 ± 1	<2	74 ± 0	309 ± 2	<5	<10	<5
av Ammerschwir 8/5	6 ± 2	3 ± 1	<2	43 ± 2	<20	13 ± 3	<10	11 ± 2
WOIGOT								
Briey 10/7	10 ± 1	8 ± 0	<2	36 ± 1	208	<5	<10	<5
Briey 21/10	1 ± 0	9 ± 1	<2	41 ± 2	232 ± 8	<5	<10	<5

TABLEAU 4.4: Résultats des dosages de micropolluants organochlorés (ng/L) dans les échantillons d'eau prélevés à diverses reprises dans des secteurs en amont ou en aval d'activités agricoles (bassins de la Moselle et du Rhin).

CONCENTRATIONS (ng/L)	HCB	α HCH	β HCH	Lindane	PCB	pp'DDE	Σ DDD	Σ DDT
RUPT DE MAD								
Thiaucourt 6/5	4	2	2	97	<20	19	<10	<5
Thiaucourt 24/7	<1	<1	<2	3	<20	<5	<10	<5
Thiaucourt 23/10	<1	<1	<2	85	66	<5	<10	<5
Onville								
Onville 6/5	9	2	<2	63	<20	<5	<10	<5
Onville 24/7	4	10	<2	6	<20	<5	<10	<5
Onville 23/10	<1	<1	<2	<1	<20	<5	<10	<5
Arnaville								
Arnaville 6/5	9	2	<2	78	<20	<5	<10	<5
Arnaville 24/7	<1	3	<2	2	<20	<5	<10	<5
Arnaville 23/10	<1	<1	<2	<1	<20	<5	<10	<5
MODER								
Rohrviller 24/7	4	<1	<2	12	<20	<5	<10	<5
Rohrviller 22/10	<1	<1	<2	<1	<20	<5	<10	<5
NIED ALLEMANDE								
Guinglange 25/7	<1	<1	<2	8	<20	<5	<10	<5
Guinglange 23/10	<1	<1	<2	26	<20	<5	<10	<5
WALBACH								
at Ammerschwir 8/5	5	5	<2	33	<20	8	<10	<5
at Ammerschwir 25/7	2	<1	<2	7	<20	<5	<10	<5
av Ammerschwir 8/5	5	13	<2	30	<20	10	<10	<5
WOIGOT								
Briey 10/7	<1	<1	<2	19	<20	<5	<10	<5
Briey 21/10	<1	<1	<2	26	<20	<5	<10	<5

plutôt confronté à une contamination diffuse à laquelle s'ajoutent des apports difficilement localisables et datables.

La même remarque s'applique d'ailleurs au DDT et à ses dérivés, détectés dans seulement 3 échantillons sur 19 (soit moins que dans le bassin de la Meuse) et aussi bien dans les secteurs amont (Rupt de Mad à Thiaucourt) que aval (Walbach).

En ce qui concerne l'a-HCH, le b-HCH et l'HCB, les différences observées entre sites ou en fonction des dates de prélèvements ne se prêtent à aucune interprétation qui puisse être étayée.

Le tableau 44, qui rassemble les données sur l'eau, illustre le peu d'informations apportées par ce type de dosage, sauf à consentir un contrôle extrêmement fréquent, voire continu. En effet, seules 35 valeurs sur 152 dépassent les limites de détection. Il est cependant intéressant de noter à nouveau la quasi-omniprésence du lindane, avec des valeurs plus élevées dans le Rupt de Mad qu'ailleurs, mais également des fluctuations saisonnières très importantes (Rupt de Mad mai-juillet).

3.1.3.3 Conclusions.

Cette étude avait pour but en utilisant la capacité de bioaccumulation des mousses aquatiques, d'établir un bilan de la pollution par certains pesticides organochlorés dont la présence est suspectée.

Pour être correcte, l'interprétation des teneurs en micropolluants organochlorés dans les mousses nécessite de savoir par rapport à quelles valeurs de référence les données doivent être comparées. Aussi, la réalisation de ce type d'inventaire avec des mousses aquatiques d'autres bassins hydrologiques ; vallée de l'Isère en 1984, 1985 et 1986, vallée du Rhône en 1985, 1986 et 1987, réseau hydrologique du Grand-Duché du Luxembourg (MOUVET et al., 1988), quelques sites du bassin Rhin-Meuse en 1984 et 1987 et

enfin la Seine en 1985 ; nous a permis de recueillir plusieurs centaines de données dont une interprétation statistique conjuguée à la notion de distribution de fréquence nous ont conduits à proposer des grilles de qualité basées sur la contamination des bryophytes aquatiques (Chapitre suivant).

L'application de ces grilles a permis de mettre en exergue plusieurs situations préoccupantes dans le bassin Rhin-Meuse, en particulier, la pollution de certains secteurs de l'Ill et de la Moselle. Le niveau de contamination "très important" n'est jamais atteint pour 4 des 6 substances, il l'est pour le lindane (Othain à Saint Jean-Les-Longuyon, Mortagne à Rambervillers, Rupt de Mad à Onville, Sarre à Keskastel, Nied Allemande à Guinglange, Moselle à Fresse et à Pompey, Lauch à Guebwiller, Ill en aval de Mulhouse et à Osthause) et les PCB (Moselle à Metz).

3 - RESULTATS

PROPOSITIONS DE GRILLE DE QUALITE BASEES SUR LES TENEURS EN MICROPOLLUANTS DES MOUSSES

3.1.4 PROPOSITION D'UNE GRILLE DE QUALITE BASEE SUR LES TENEURS EN MICROPOLLUANTS DES MOUSSES.

3.1.4.1 Intérêts et problèmes de la recherche de valeurs de référence pour les micropolluants organochlorés.

Quelques problèmes se sont posés quant à la définition des concentrations de référence. En effet, les organochlorés étant des produits de synthèse, la notion de concentration dite "normale" n'aura pas la même signification que celle des métaux ou des phosphates en ce sens qu'une valeur en organochlorés inférieure à la limite de détection ne signifie pas une absence réelle de pollution. Cette valeur n'est pas négligeable puisqu'on ne peut statuer définitivement entre l'absence de toute trace de pollution et la présence de quantités infraliminaires à la détection.

Si l'interprétation des teneurs métalliques des mousses nécessite la définition d'une "concentration référence" intégrant le "bruit de fond" naturel en métaux, donc la typologie des cours d'eau, la démarche est différente pour des molécules exclusivement d'origine humaine telles que les organochlorés. La concentration normale en organochlorés dans les bryophytes devrait donc être théoriquement égale à zéro.

En fait, la recherche des valeurs de référence pour les bryophytes doit intégrer les notions de bioaccumulation et de toxicité pour les organismes aquatiques. Dans la littérature, les concentrations en pesticides et PCB sans effet à long terme sur la biomasse sont généralement évaluées grâce à des coefficients de sécurité obtenus sur la base de tests de toxicité à plus ou moins long terme vis-à-vis d'organismes sensibles.

En raison de l'absence actuelle de relation entre les concentrations dans les mousses correspondant à celles dans l'eau sans risque pour l'écosystème aquatique, nous avons interprété les

teneurs en micropolluants organochlorés dans les mousses sur la base de leur distribution de fréquence.

3.1.4.2 Proposition de valeurs de référence.

La proposition du standard de référence doit donc s'appuyer sur le plus grand nombre de données obtenues dans le maximum de milieux différents. Dans le cas des métaux, les valeurs de référence sont sélectionnées à partir des médianes des populations dont le coefficient de variation a été rendu proche de 60% (BONNEFOY & BOURG, 1984). La normalisation de la distribution des valeurs nécessite d'éliminer successivement les données exceptionnelles. En ce qui concerne les organochlorés, la fréquence des concentrations dans les mousses n'obéit pas à une loi de distribution normale même en éliminant les données inférieures aux limites de détection.

La prise en compte des valeurs infraliminaires à la détection est justifiée car elles sont potentiellement représentatives d'une situation "normale". Puisque les données ne se prêtent pas à une interprétation statistique classique, nous avons donc empiriquement déterminé les concentrations de référence.

Que ce soit pour les paramètres physico-chimiques classiques, ou pour les concentrations en polluants dans l'eau et les sédiments, l'habitude a été prise d'utiliser une grille de qualité à cinq niveaux. Méconnaissant, d'une part la relation concentration en organochlorés dans l'eau-concentration en organochlorés dans les mousses et ne disposant, d'autre part que de peu de données, nous avons choisi d'établir des grilles de qualité à trois niveaux. Dans l'attente de connaissances complémentaires, cette approche est tout à fait préliminaire et les grilles n'ont qu'une valeur purement indicatrice. Leur application devra être envisagée avec prudence en ce sens qu'une partie des données utilisées provient de biotopes particulièrement contaminés par les organochlorés, ce qui élargit probablement la

distribution de fréquence et déplace les bornes de classe vers des valeurs excessives.

3.1.4.2.1 Grille de qualité pour l'interprétation des teneurs en PCB dans les mousses aquatiques.

La figure 24 illustre la distribution de fréquence des concentrations en PCB relevées dans 516 échantillons de mousses d'origine variée. Les concentrations exceptionnelles qui ont été éliminées constituent 5,1 % des données initiales. Puisqu'une démarche statistique ne permet pas la définition de valeurs de référence, nous avons proposé une concentration en PCB proche des limites de détection comme seuil de la première classe de qualité. Notre technique analytique ayant évolué, les limites de détection ont progressivement diminué. Aussi, pour tenir compte des problèmes analytiques inhérents aux faibles concentrations, le seuil de la première classe correspond en fait à la limite de détection la plus élevée de notre étude (50 ng/g) soit 2,5 fois la limite la plus faible. L'idée de calculer les bornes de classe à partir d'une progression géométrique comme cela a été fait pour les sédiments (ROBBE et al., 1984) a été appliquée aux mousses aquatiques. Le choix du pas est important, il détermine la sensibilité de la grille. Un pas de 2 donne une bonne sensibilité mais le lissage des données est insuffisant. Par contre, une progression basée sur un pas de 3 (ou un multiple de 3) permet de mieux mettre en évidence les pollutions exceptionnelles. La contamination dite importante regroupe 54% des concentrations détectées dans les bryophytes.

FIGURE 24 : Distribution de fréquence des concentrations en PCB observées dans les mousses aquatiques de différents cours d'eau.

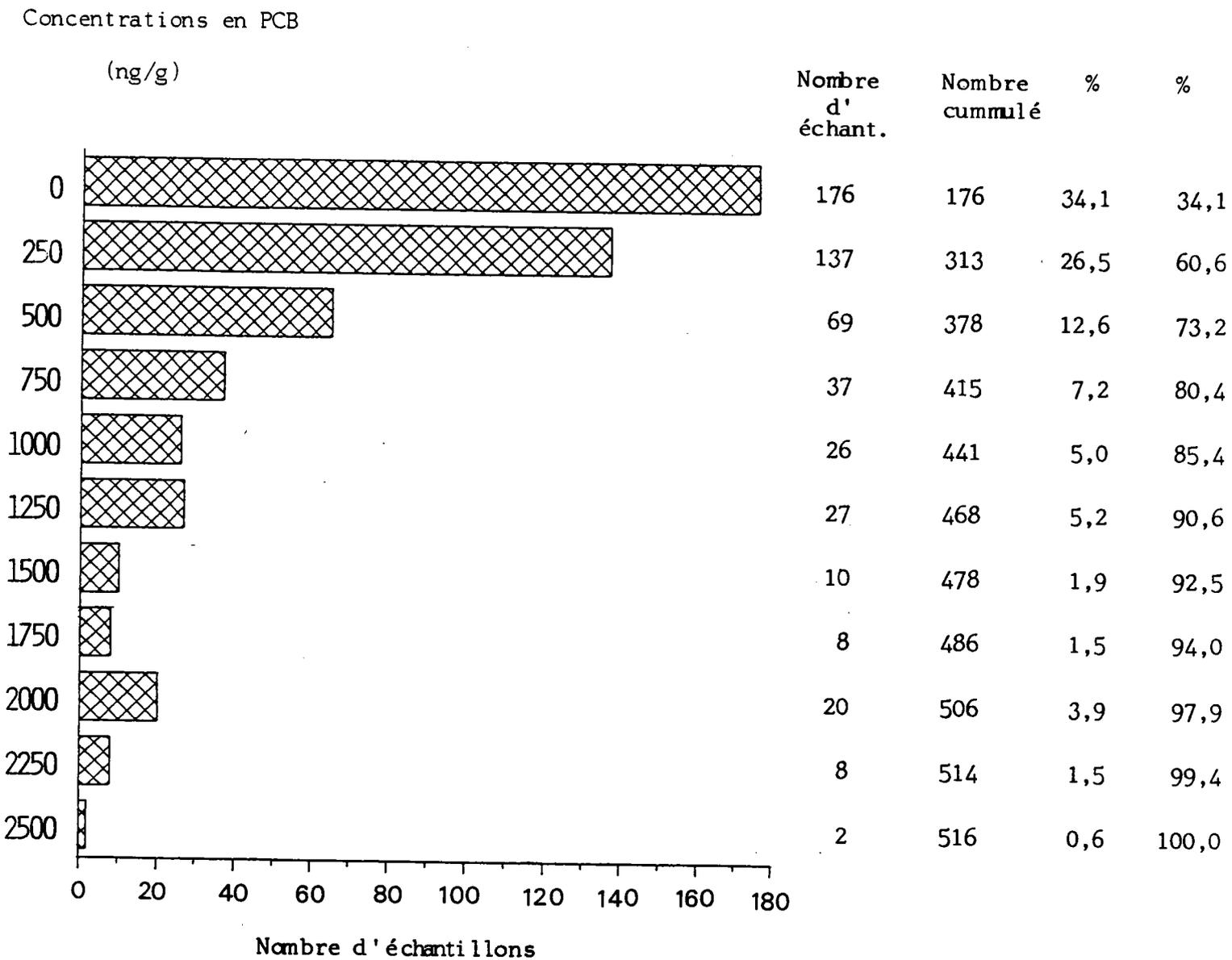


TABLEAU 45: Grille de qualité pour l'interprétation des concentrations en PCB (ng/g) dans les mousses.

CONCENTRATIONS (ng/g)	CONTAMINATION
$X < 50$	faible
$50 < X < 1500$	importante
$X > 1500$	très importante

3.1.4.2.2 Grille de qualité pour l'interprétation des teneurs en a-HCH ou en b-HCH dans les mousses.

Les figures 25 et 26 illustrent la distribution de fréquence des concentrations en a-HCH et b-HCH dans les bryophytes. La grille a été définie à l'aide d'une démarche similaire à celle proposée pour les PCB. Les limites de détection de ces micropolluants sont identiques et leurs concentrations respectives sont pour la plupart des cas du même ordre de grandeur. La grille sera donc applicable à ces deux isomères du lindane. La contamination "importante" regroupe respectivement 26% et 8% des concentrations en a- et b-HCH supérieures aux limites de détection (12% des valeurs extrêmes ont été éliminées) et la borne inférieure correspond à 2,5 fois les limites de détection.

TABLEAU 46: Proposition de grille de qualité pour l'interprétation des concentrations en a-HCH et b-HCH dans les mousses.

CONCENTRATION (ng/g)	CONTAMINATION
$X < 5$	faible
$5 < X < 15$	importante
$X > 15$	très importante

FIGURE 25 : Distribution de fréquence des concentrations en a-HCH observées dans les mousses aquatiques de différents cours d'eau.

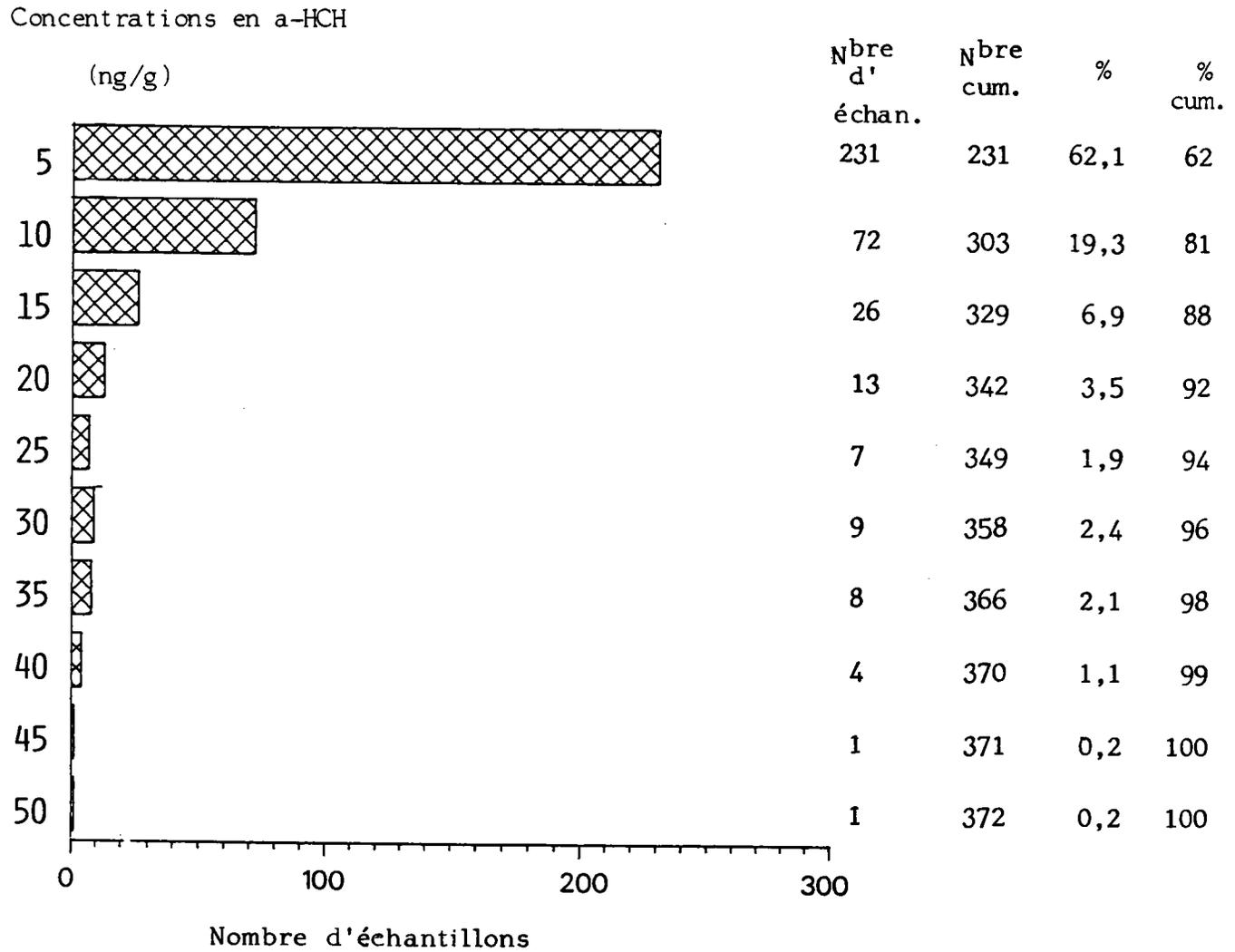


FIGURE 26 : Distribution de fréquence des concentrations en b-HCH observées dans les mousses aquatiques de différents cours d'eau.

Concentrations en b-HCH

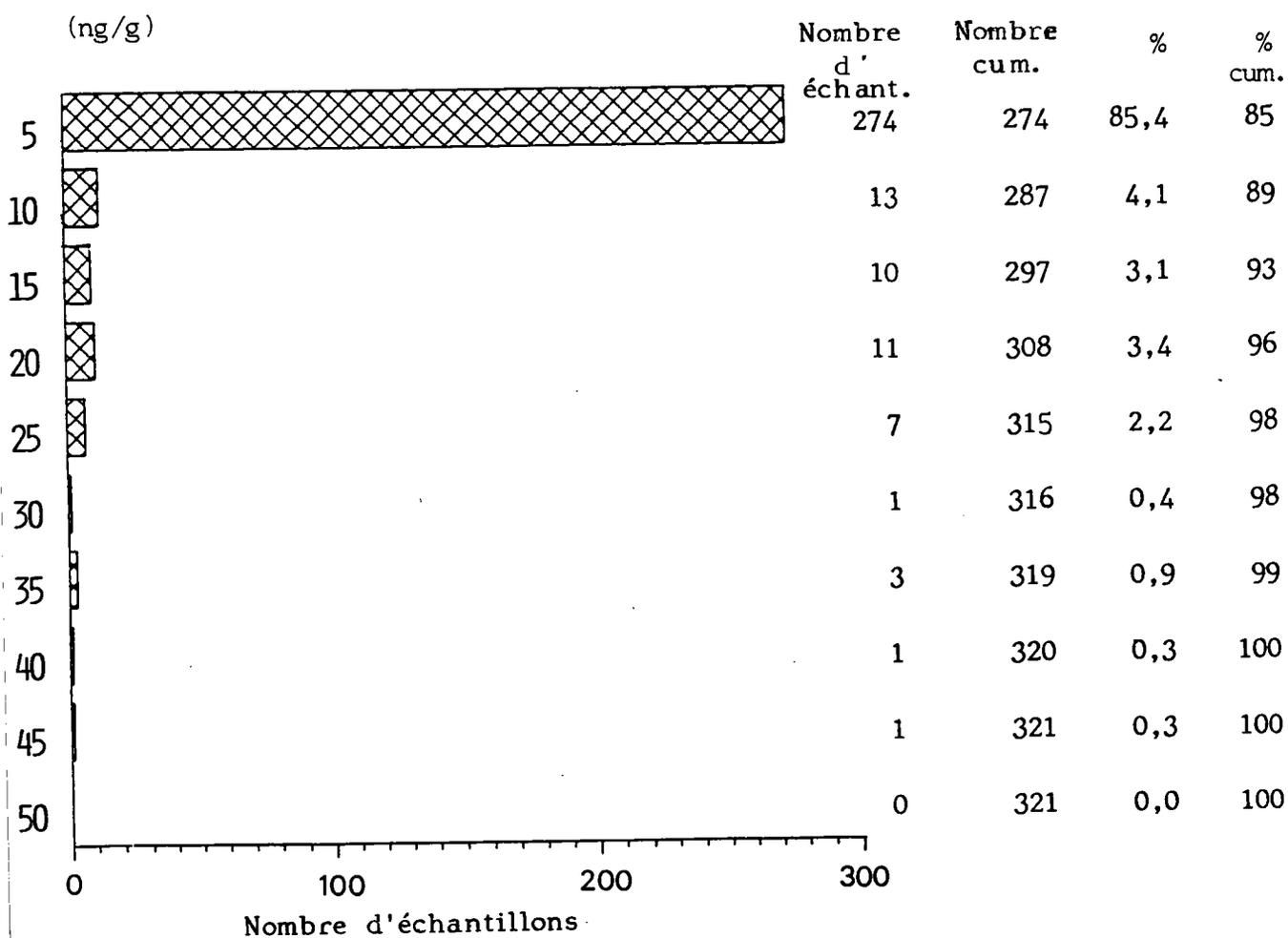
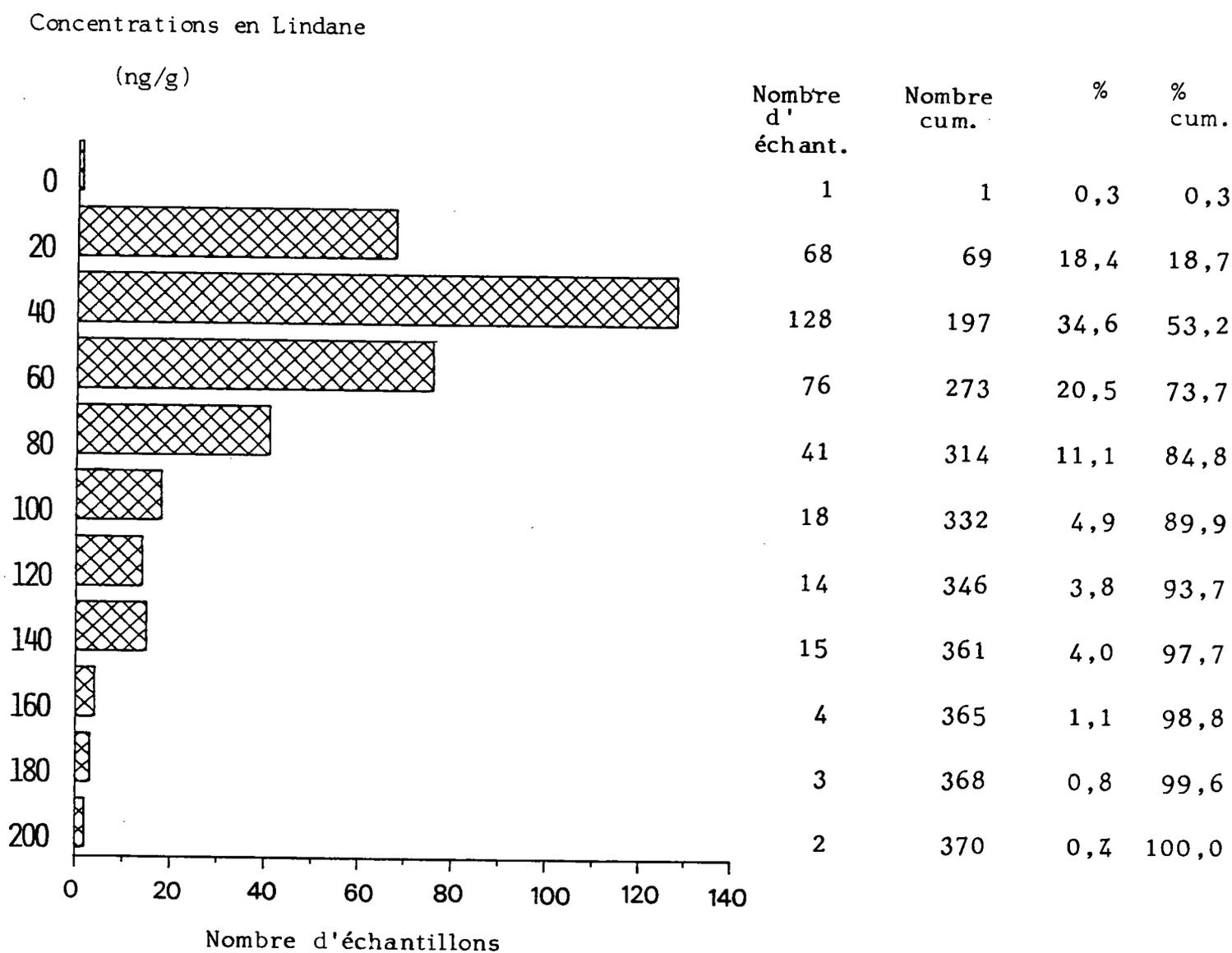


FIGURE 27 : Distribution de fréquence des concentrations en Lindane observées dans les mousses aquatiques de différents cours d'eau.



3.1.4.2.3 Grille de qualité pour l'interprétation des teneurs en lindane dans les mousses.

Nous disposons au total de 416 données (11% ont été éliminées) dont la distribution de fréquence est illustrée par la figure 27. La présence du lindane dans la plupart des échantillons prospectés explique sans doute la normalité de cette population dont l'élimination des valeurs exceptionnelles ne modifie pas la régularité de distribution. La médiane de la population est cependant trop élevée pour qu'on puisse, compte tenu de la présence anormale du lindane dans l'environnement, l'assimiler à une contamination faible. Aussi, de même qu'avec les PCB, la borne la plus faible correspond à 2,5 fois la limite de détection. Le niveau de contamination importante regroupe 98% des teneurs en lindane.

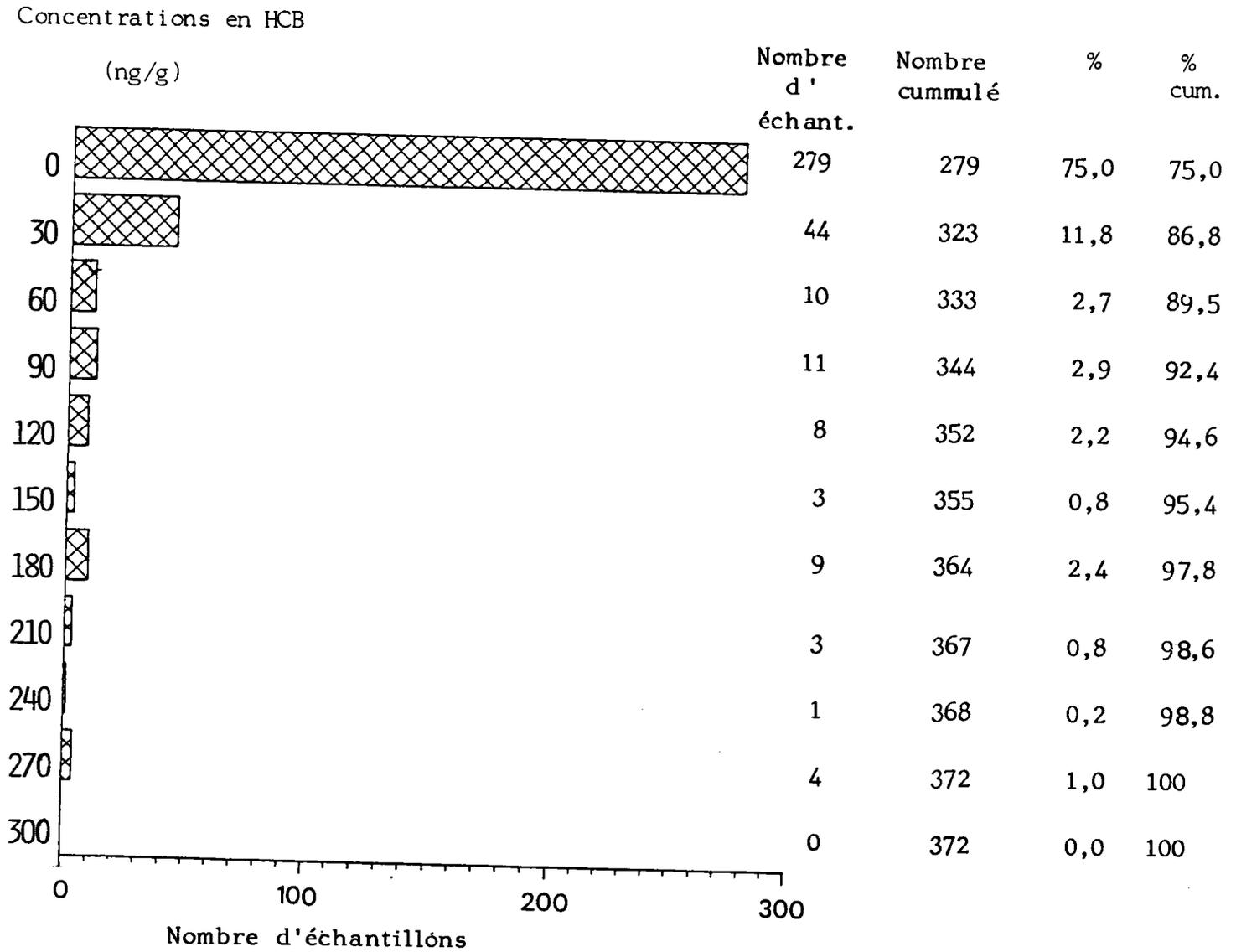
TABLEAU 47: Proposition de grille de qualité pour l'interprétation des concentrations en lindane dans les mousses.

CONCENTRATION (ng/g)	CONTAMINATION
$x < 5$	faible
$5 < x < 150$	importante
$x > 150$	très importante

3.1.4.2.4 Grille de qualité pour l'interprétation des teneurs en HCB dans les mousses.

L'HCB, généralement présent lorsque les teneurs en HCH sont élevées, nous laisse suspecter son utilisation comme précurseur de synthèse du lindane ; il pourrait également être un de ses métabolite. La figure 28 illustre sa distribution de fréquence dans les mousses aquatiques. Les teneurs en HCB de 382 échantillons (2,6% de valeurs extrêmes) ont permis de proposer une

FIGURE 28 : Distribution de fréquence des concentrations en HCB observées dans les mousses aquatiques de différents cours d'eau.



grille dont la borne inférieure est égale à 2,5 fois la limite de détection. Le niveau de contamination très importante rassemble 13% des situations.

TABLEAU 48: Proposition de grille de qualité pour l'interprétation des concentrations en HCB dans les mousses.

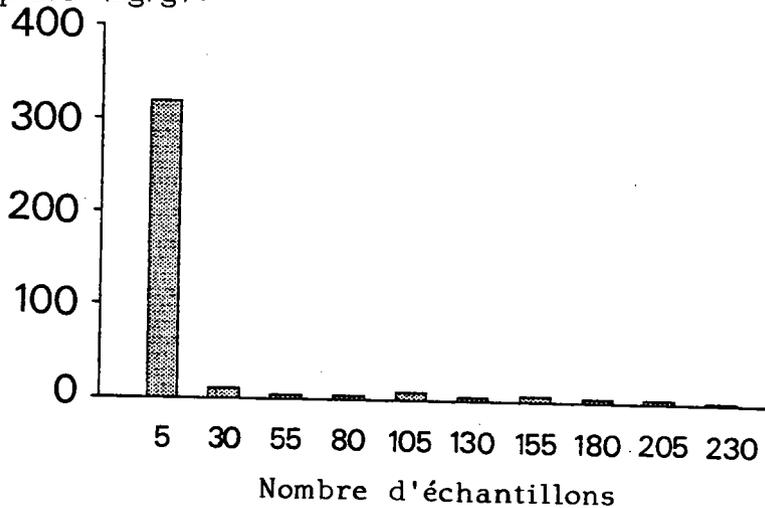
CONCENTRATION (ng/g)	CONTAMINATION
$X \ll 2$	faible
$2 < X < 60$	importante
$X > 60$	très importante

3.1.4.2.5 Grille de qualité pour l'interprétation des teneurs en somme DDT dans les mousses.

Pour l'ensemble des échantillons analysés, l'abondance des valeurs inférieures aux limites de détection témoigne d'une faible contamination des milieux aquatiques. Les concentrations élevées en DDT et ses dérivés sont en majorité détectées sur les cours d'eau riverains d'unités de production. L'apparition d'un composé de cette famille s'accompagne souvent d'un autre de ces membres. Aussi, la grille de qualité est proposée pour l'ensemble des composés de la famille du DDT. Les figures 29 à 33 illustrent la distribution de fréquence de la somme DDT dans les échantillons de mousses aquatiques. La borne de la limite inférieure (20 ppb) a été assimilée à 5 fois la limite de détection la plus faible des cinq composés.

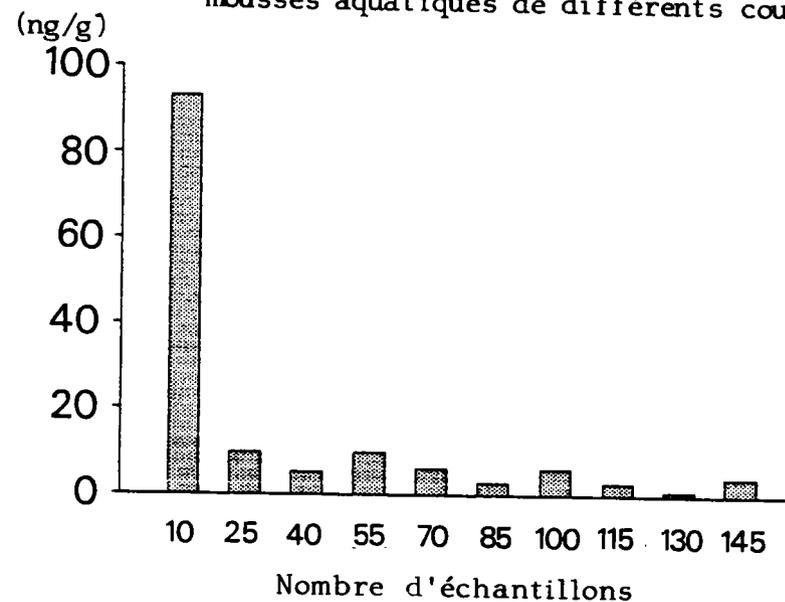
FIGURE 29 : Distribution de fréquence des concentrations en pp'DDD observées dans des mousses aquatiques de différents cours d'eau.

Concentrations en pp'DDD (ng/g).



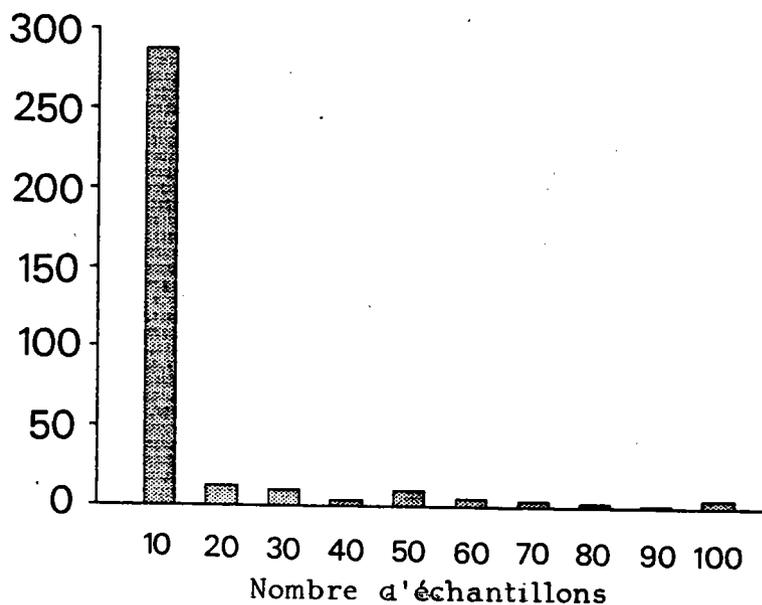
N ^{bre} éch.	N ^{bre} cum.	%	% cum.
286	286	84,3	84,3
12	298	3,5	87,8
9	307	2,7	90,5
8	315	2,5	93,0
9	324	2,7	95,7
4	328	1,2	97,9
3	331	0,8	98,7
2	333	0,6	99,3
1	334	0,2	98,6
5	339	1,4	100,0

FIGURE 30 : Distribution de fréquence des concentrations en op'DDD observées dans des mousses aquatiques de différents cours d'eau.



N ^{bre} éch.	N ^{bre} cum.	%	% cum.
98	98	64,9	64,9
10	108	6,6	70,9
5	113	3,3	74,2
10	123	6,6	80,8
6	129	4,0	84,8
8	137	5,3	90,1
6	143	4,0	94,1
3	146	2,0	96,1
1	147	0,6	96,7
4	151	2,9	100,0

FIGURE 31 : Distribution de fréquence des concentrations en pp'DDE observées dans les mousses aquatiques de différents cours d'eau.

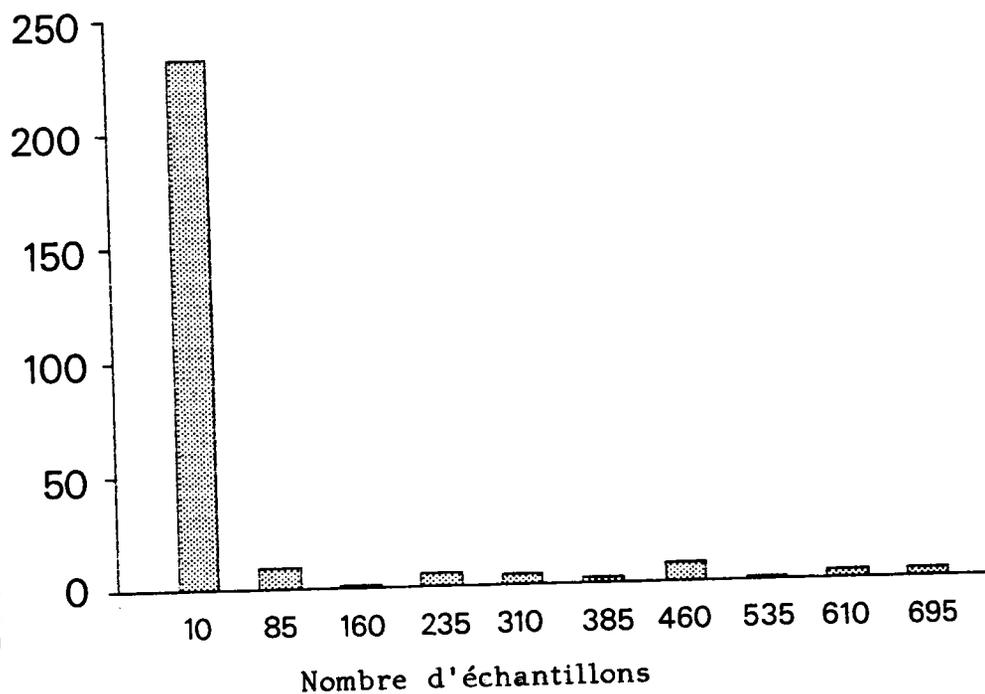


N ^{bre} éch.	N ^{bre} cum.	%	% cum.
318	318	86,2	86,2
12	330	3,2	89,4
5	335	1,4	90,8
4	339	1,0	91,8
6	345	1,7	93,5
6	351	1,7	95,2
8	359	2,2	97,4
4	363	1,1	98,5
4	367	1,1	99,6
2	369	0,4	100,0

FIGURE 32 : Distribution de fréquence des concentrations en op'DDT observées dans des mousses aquatiques de différents cours d'eau.

Concentrations en

op'DDT (ng/g)

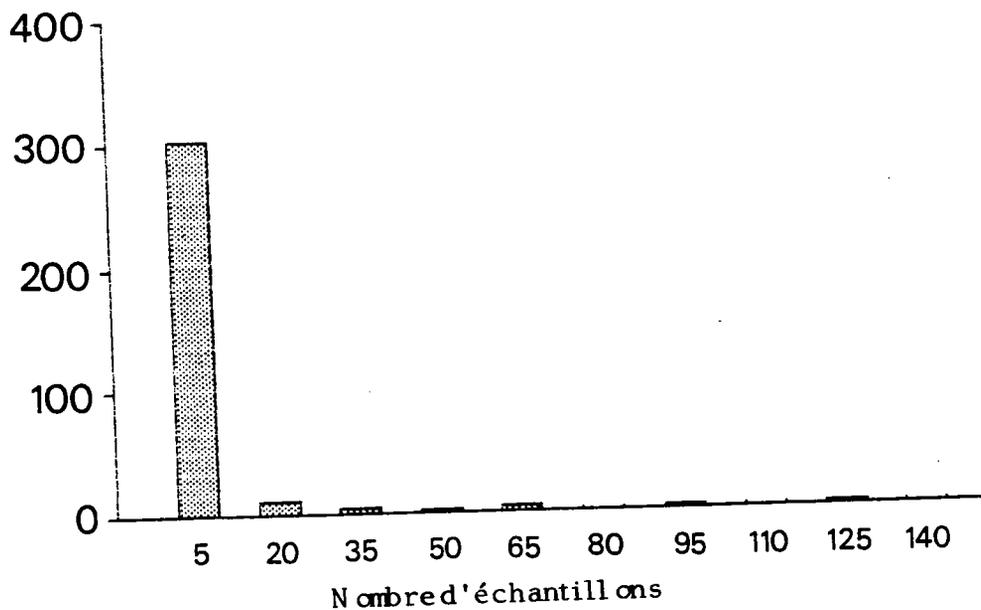


Nombre éch.	Nombre cum.	%	% cum.
232	232	85,6	85,6
9	241	3,3	88,9
1	242	0,4	89,3
6	248	2,2	91,5
5	253	1,9	93,4
2	255	0,7	94,1
8	263	3,0	97,1
1	264	0,4	97,5
3	267	1,1	98,6
4	271	1,4	100,0

FIGURE 33 : Distribution de fréquence des concentrations en pp'DDT observées dans des mousses aquatiques de différents cours d'eau.

Concentrations en

pp'DDT (ng/g).



Nombre éch.	Nombre cum.	%	% cum.
301	301	91,2	91,2
12	313	3,6	94,8
4	317	1,2	96,0
2	319	0,6	96,6
5	324	1,5	98,1
1	325	0,3	98,4
2	327	0,6	99,0
1	328	0,3	99,3
2	330	0,6	100,0
0	330	0,0	100,0

TABLEAU 49: Proposition de grille de qualité pour l'interprétation des concentrations en Σ DDT dans les mousses.

CONCENTRATION (ng/g)	CONTAMINATION
X < 20	faible
20 < X < 600	importante
X > 600	très importante

3.1.4.3 Conclusions.

L'application de ces grilles établies à partir de toutes les données recueillies sur différents bassins doit confirmer les présomptions acquises par d'autres méthodes. Environ un tiers des données ayant servi à leur définition proviennent de cours d'eau dont la pollution était élevée ; certains cours d'eau n'ont pas été étudiés et d'autres l'ont été à plusieurs reprises. Aussi, ces grilles n'ont qu'une valeur indicatrice de tendance en ce sens que des données supplémentaires modifieraient probablement les bornes du niveau de pollution dite "importante".

Enfin, soulignons que ces grilles relèvent d'une démarche empirique puisqu'elles ne font pas appel aux concentrations en organochlorés dans l'eau. L'étude des relations entre les teneurs en micropolluants organochlorés des mousses et celles de l'eau devrait permettre d'envisager le passage d'une grille empirique à une grille reflétant les concentrations probables dans l'eau. Si le peu de données actuellement en notre possession rend cette démarche hasardeuse, compte tenu d'un facteur de bioaccumulation des bryophytes vraisemblablement supérieur à 1000 (chapitres suivants), les concentrations en micropolluants dans l'eau correspondant aux bornes de nos grilles seront de l'ordre de quelques unités à quelques centaines de ng/L. L'étude des

concentrations des échantillons d'eau prélevés sur les cours d'eau du bassin Rhin-Meuse confirme d'ailleurs cette tendance.

3 - RESULTATS

ETUDES *IN SITU* DE L'ACCUMULATION DES PCB PAR DEUX ESPECES DE BRYOPHYTES AQUATIQUES :

- *Fontinalis antipyretica*
- *Platyhypnidium riparioides*

3.2 ETUDE IN SITU DE L'ACCUMULATION DES PCB PAR DEUX ESPECES DE BRYOPHYTES.

Les travaux précédents illustrent les facultés adaptatives des mousses aquatiques à des biotopes pollués. L'Agence de Bassin Rhin-Meuse ayant mis en évidence d'importants problèmes de pollution dans la Moselle en aval de Metz (MINISTERE DE L'ENVIRONNEMENT, 1981), des transferts de mousses aquatiques ont été utilisés pour d'une part, localiser le pollueur et d'autre part, cerner l'impact de cet établissement sur la qualité des eaux de la Moselle en aval du rejet industriel.

3.2.1 Présentation du site.

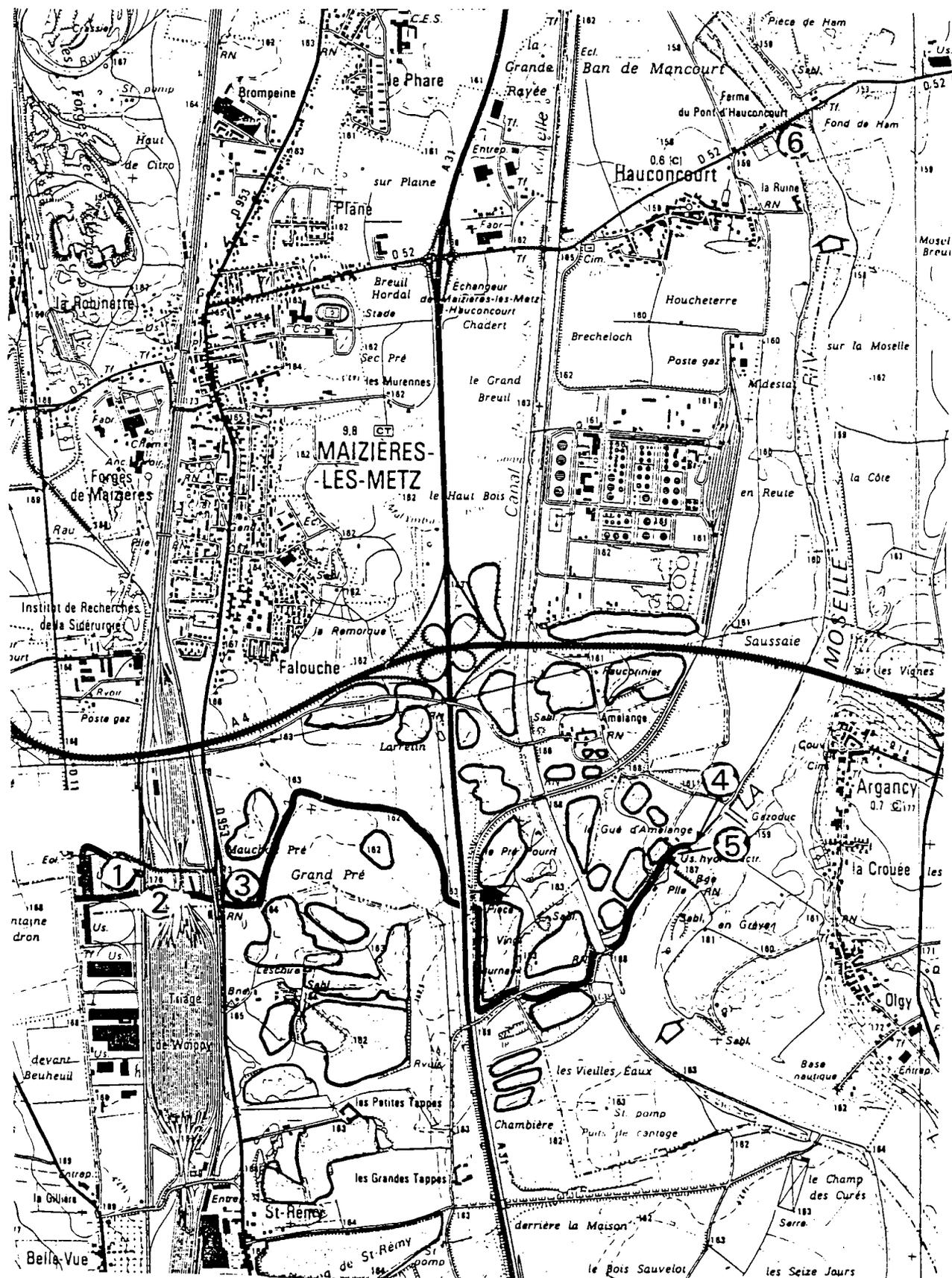
En 1985, une usine située aux environs de MAIZIERES-LES-METZ (57) produisait en moyenne 100 transformateurs à Pyralène par jour. Cette activité industrielle nécessitait annuellement la mise en oeuvre de 986 tonnes de Pyralène stocké dans des citernes d'une contenance totale de 50 000 litres.

Le réseau d'eau de ce site est constitué de deux branches principales. La première reçoit des eaux pluviales et sanitaires et rejoint un fossé situé à proximité des citernes de stockage du Pyralène. La seconde reçoit des eaux de refroidissement, des eaux pluviales et des eaux de vannes et se déverse dans le fossé de Prinsonrue (Figure 34). Le Pyralène rejeté dans l'environnement serait issu des cuves de stockage situées à l'extérieur de l'usine, de la zone de stockage des transformateurs finis ou du collecteur d'assainissement recevant l'air aspiré lors du remplissage sous vide des transformateurs.

FIGURE 34 : Site industriel de Maizières-Les-Metz. (usine de transformateurs).

Localisation des points de prélèvement (échelle 1/25 000).

7: Distance de 5 à 7 = 14,2 KM



3.2.2 Choix des sites de prélèvement.

Le choix des sites avait pour objectif primordial d'élucider les questions suivantes :

- *-Quelle est la principale origine des rejets ?
- *-Que devient le Pyralène lorsqu'il traverse plusieurs gravières en eau avant de rejoindre la Moselle ?
- *-Observe-t-on en Moselle des concentrations dans l'eau et dans les mousses plus élevées en aval de l'usine qu'en amont ?

Les 7 sites retenus sont localisés sur la figure 34.

- 1 Le fossé de Prinsonrue 300 m en aval de l'usine.
- 2 Le fossé de la D 153d à proximité des citernes.
- 3 Le fossé de Prinsonrue après la D 153, 750 m en aval de l'usine.
- 4 Le fossé de Prinsonrue à sa confluence avec la Moselle, 9 250 m en aval de l'usine après la traversée de plusieurs gravières.
- 5 La Moselle en amont immédiat du fossé de Prinsonrue (usine électrique d'Argancy).
- 6 La Moselle 3,2 Km en aval du fossé de Prinsonrue (pont de la D 52 à Hauconcourt).
- 7 La Moselle 14,2 Km en aval du fossé de Prinsonrue (Barrage d'Uckange).

3.2 3 Choix des espèces de mousses et calendrier de l'étude.

Deux espèces de mousses ont été utilisées : *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. et *Platyhypnidium riparioides* (Hedw.) Dix. Ces mousses, issues d'un biotope potentiellement exempt de pollution organochlorée, ont été au préalable analysées. Le transfert s'est déroulé dans des conditions analogues à celles décrites précédemment et des dosages ont également été réalisés sur des mousses autochtones d'Argancy (5) et Uckange (7), *Cinclidotus fontinaloides* (Hedw.) P. Beauv.

TABLEAU 50 : Moyennes (n=4, sauf quelques paramètres où n=3) des analyses physico-chimiques classiques réalisées sur les échantillons d'eau prélevés sur les 7 sites.

STATIONS	1	2	3	4	5	6	7
pH	7,8	7,6	7,6	7,7	7,5	7,6	7,4
Conductivité (µS/cm)	758	714	729	839	1280	1252	1097
Température (°C)	11,5	8,7	10,4	9,8	11	11	11,6
O ₂ dissous (mg/L)	6,7	3,6	5,6	8,7	8,3	9	8,3
Ca ²⁺ (mg/L)	117	116	118	145	190	189	173
Mg ²⁺ (mg/L)	13	18	8,6	10,4	16,5	16,5	16
Na ⁺ (mg/L)	56	32	51	44	104	101	83
K ⁺ (mg/L)	10	11	10,4	5,3	5,7	6,5	6
NH ₄ ⁺ (mg/L)	3,6	13,5	3,2	1,24	0,97	0,88	0,86
NO ₂ ⁻ (mg/L)	0,8	0,08	0,99	0,18	0,26	0,29	0,28
NO ₃ ⁻ (mg/L)	18,2	2,8	10	5,4	3,2	2,85	3,8
HCO ₃ ⁻ (mg/L)	205	283	262	256	162	168	194
Cl ⁻ (mg/L)	45	12	70	125	353	347	270
SO ₄ ²⁻ (mg/L)	148	94	122	82,5	95	97,5	99
PO ₄ ²⁻ (mg/L)	1,9	3,7	1,1	0,77	0,86	0,77	0,81
Mn total (µg/L)	67	123	80	443	97	87	93
Zn total (µg/L)	173	97	217	15	10	13	47
Cr total (µg/L)	5,6	3,6	6	4,7	5,7	3,9	6,8
Cu total (µg/L)	21	7,3	11	9,3	10,3	7,7	9
Pb total (µg/L)	6	4	4,8	5,2	2,5	1,8	8
Cd total (µg/L)	2,2	4,1	1,9	4,6	2,3	0,97	3,1
Fe total (µg/L)	357	257	324	683	260	143	403

La pose des transferts a eu lieu le 22 octobre 1984 et les retraits se sont déroulés après respectivement 4, 11, 18 et 24 jours d'incubation. Conjointement aux prélèvements d'eau et de mousses, le pH, la conductivité, la température, l'oxygène dissous et les teneurs en nitrates, nitrites, ammonium, sulfates, chlorures, hydrogéo-carbonates, Ca, Na, Mg, K, Mn, Zn, Cr, Cu, Pb, Cd et Fe ont été mesurés à chaque site (les 11 derniers paramètres n'ont pu être mesurés au 18^{ème} jours d'implantation).

Lors du dernier retrait, l'activité photosynthétique des mousses transférées a été mesurée par une méthode adaptée des travaux d'EMPAIN (EMPAIN, 1977). Elle consiste à transformer en nmoles de gaz carbonique consommé par les mousses, la variation de pH observée dans un récipient hermétique éclairé et rempli d'un milieu de culture dont on connaît le pH et la teneur en bicarbonates.

3.2.4 Résultats.

3.2.4.1 Paramètres physico-chimiques.

Le tableau 50 donne la moyenne des valeurs relevées lors des 4 campagnes de prélèvement.

Le point 2, caractérisé par des concentrations faibles en oxygène dissous mais très élevées en ammoniacque et phosphate, est typique d'un milieu pollué. Par comparaison avec le site 1, les faibles valeurs en nitrates et nitrites du point 2, sont liées à la mauvaise oxygénation du fossé.

Les teneurs en ammoniacque, nitrate, nitrite et phosphate des stations 1 et 3 sont éminemment supérieures aux concentrations observées en Moselle (5,6,7), elles traduisent la dégradation du ruisseau. Des valeurs normales ne sont retrouvées qu'après la traversée des gravières (station 4). Bien qu'aucune des teneurs ne soit alarmante, des concentrations élevées en métaux lourds sont

TABEAU 51 : Concentrations en PCB ($\mu\text{g/g}$) dans les mousses aquatiques transplantées sur les 7 stations ($m \pm \sigma$, $n=2$)

To transfert : Fontinalis : 0,245 et Platyhypnidium : 0,188 $\mu\text{g/g}$.

DUREE D' EXPOSITION	Espèces de mousses	station 1	station 2	station 3	station 4	ARGANCY station 5	HAUCONCOURT station 6	UCKANGE station 7
4 jours	Fontinalis	11,6 \pm 0,5	107,2 \pm 0,9	12,2 \pm —	0,6 \pm 0,0	1,2 \pm 0,5	1,1 \pm 0,5	1,0 \pm 0,1
	Platyhypnidium	30,2 \pm 0,6	124,2 \pm 1,4	16,6 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1	2,8 \pm 0,1	2,2 \pm 0,2
11 jours	Fontinalis	28,4 \pm 2,8	149,2 \pm 3,5	14,9 \pm 0,1	1,2 \pm 0,1	— —	1,1 \pm 0,0	0,8 \pm 0,0
	Platyhypnidium	30,6 \pm —	190,7 \pm 2,4	27,4 \pm 0,1	2,7 \pm —	1,2 \pm 0,1	1,7 \pm 0,2	1,3 \pm 0,3
18 jours	Fontinalis	10,8 \pm 0,7	199,9 \pm 4,9	7,3 \pm 0,3	1,1 \pm 0,2	0,5 \pm 0,1	0,8 \pm 0,3	0,8 \pm 0,1
	Platyhypnidium	18,8 \pm 0,3	254,0 \pm 1,7	10,6 \pm 0,5	1,2 \pm 0,3	0,8 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	1,2 \pm 0,1
24 jours	Fontinalis	9,9 \pm 0,2	112,7 \pm 26,5	9,4 \pm 2,6	1,4 \pm 0,4	0,9 \pm —	1,0 \pm 0,4	0,7 \pm 0,1
	Platyhypnidium	21,5 \pm 0,4	289,1 \pm 32,8	9,7 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1

Cinclidotus autochtones ARGANCY : 0,83 $\mu\text{g/g}$.

Cinclidotus autochtones UCKANGE : 2,08 $\mu\text{g/g}$.

TABEAU 52 : Concentrations en PCB dans l'eau ($\mu\text{g/L}$) prélevée sur les mêmes sites

($\mu\text{g/L}$) CAMPAGNE	STATION 1	STATION 2	STATION 3	STATION 4	ARGANCY	HAUCONCOURT	UCKANGE
4 jours	8,48	41,44	4,03	0,17	0,05	<0,05	0,12
11 jours	2,86	15,21	0,72	0,21	0,08	0,22	0,79
18 jours	3,01	16,71	6,42	0,21	0,48	0,75	0,86
24 jours	45,72	40,11	19,78	0,84	<0,05	0,07	0,45

détectées au point 1 et 3, particulièrement pour le Zinc. Le point 1 montre également une légère contamination par le Cu.

3.2.4.2 Contamination par les PCB des mousses transférées.

Les tableaux 51 et 52 illustrent les concentrations en PCB dans les bryophytes transférées et dans l'eau. Les résultats correspondent à la moyenne de deux analyses indépendantes du même échantillon.

Les dosages dans les mousses permettent une localisation précise de l'origine des rejets, il s'agit en effet du point 2 (citernes de stockage du Pylalène) et du point 1 (déversement des divers effluents de l'usine). Après une exposition de 4 jours, les concentrations observées dans les mousses du point 2 (107 $\mu\text{g/g}$ pour *Fontinalis* et 142 $\mu\text{g/g}$ pour *Platyhypnidium*) témoignent d'une pollution massive par les PCB, celle-ci est confirmée par les dosages dans l'eau (moyenne de 28,4 $\mu\text{g/L}$). Les teneurs observées aux points 1 et 3 sont inférieures à celles de la station 2. Elles restent anormales et les *Fontinalis* de ces sites ont multiplié leurs concentrations en PCB par 50 après seulement 4 jours de transfert. On assiste entre les points 3 et 4 à une diminution d'un facteur 11 des concentrations des *Fontinalis*, elles restent toutefois supérieures aux concentrations initiales.

Bien que la tendance révélée par les dosages d'eau dans la Moselle soit celle d'un enrichissement progressif d'amont (Argancy) en aval (Hauconcourt), les fluctuations temporelles des concentrations dans l'eau s'accompagnent toutefois d'un écart-type tel que les différences entre ces trois stations ne peuvent être considérées comme significatives. Les dosages dans les mousses transférées donnent un profil plus net. Les concentrations à Hauconcourt étant plus élevées que celles d'Argancy et d'Uckange, on peut conclure à un impact des apports du ruisseau de Prinsonrue sur la Moselle. Les dosages dans les mousses autochtones confirment la dégradation de la qualité des eaux de la Moselle en

TABLEAU 53 : Evaluation de l'activité photosynthétique des *Fontinalis* transplantées 24 jours sur divers sites.

SITES	1	2	3	5
Activité Photosynthétique 10 ⁻³ . pH/mn/mg	1,81	1,41	1,80	1,86
Concentration en PCB dans l'eau (µg/L)	15,0	28,4	7,7	0,16

FIGURE 35 : Evolution temporelle des concentrations en PCB dans les mousses aquatiques transférées au site 1 (mg/Kg ; $\bar{x} \pm s$; n=2)/

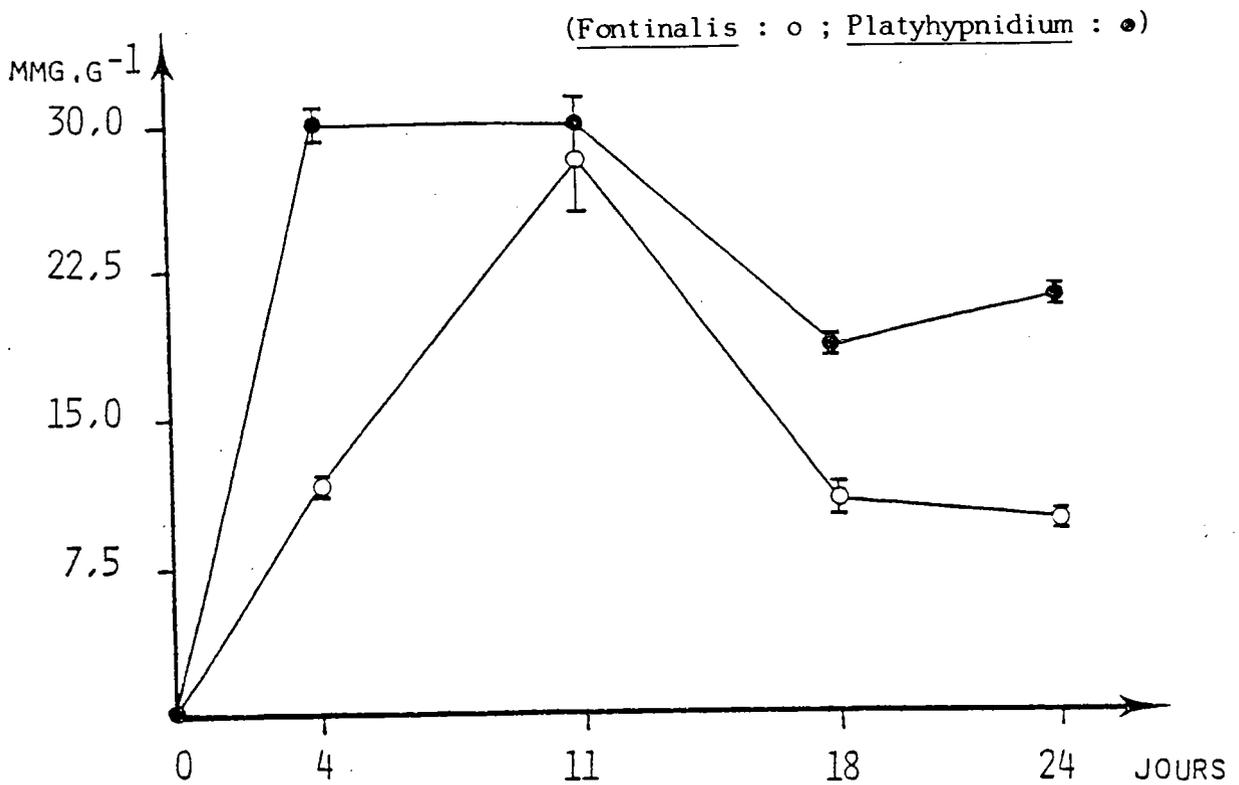


FIGURE 36 : Evolution temporelle des concentrations en PCB dans les mousses aquatiques transférées au site 2 (mg/Kg ; $\bar{x} \pm s$; n=2).

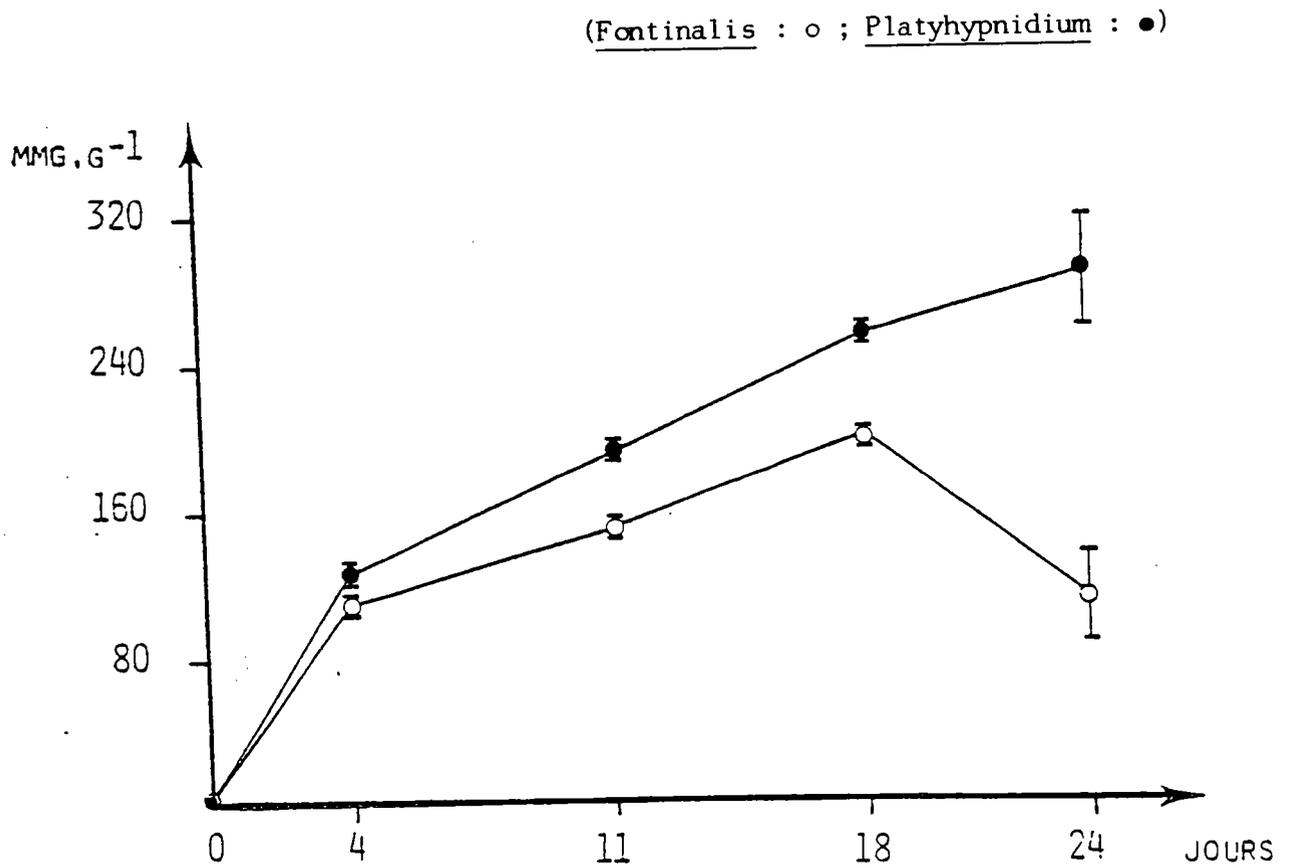


FIGURE 37 Evolution temporelle des concentrations en PCB dans les mousses aquatiques transférées au site 3 ($\mu\text{g}/\text{Kg}$; $\bar{x} \pm s$; $n=2$).

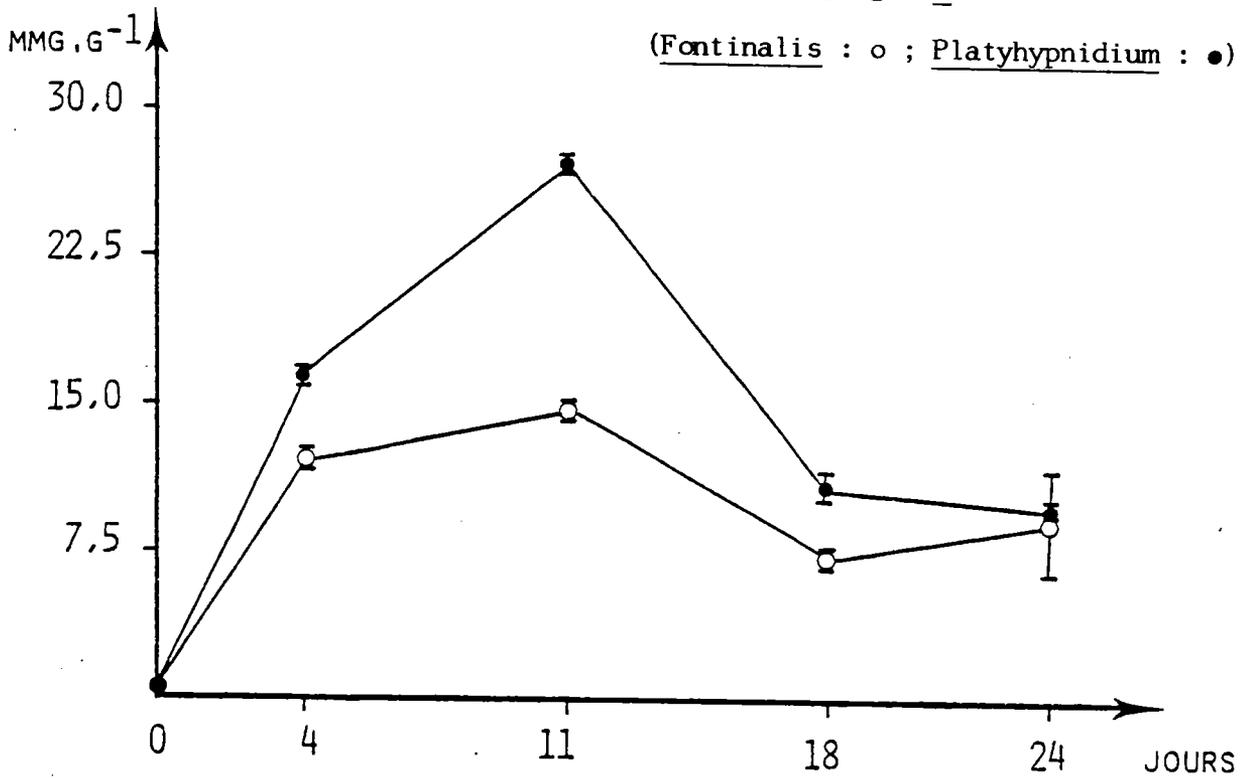


FIGURE 38 Evolution temporelle des concentrations en PCB dans les mousses transférées sur le site 4 (mg/Kg ; $\bar{x} \pm s$; $n=2$).

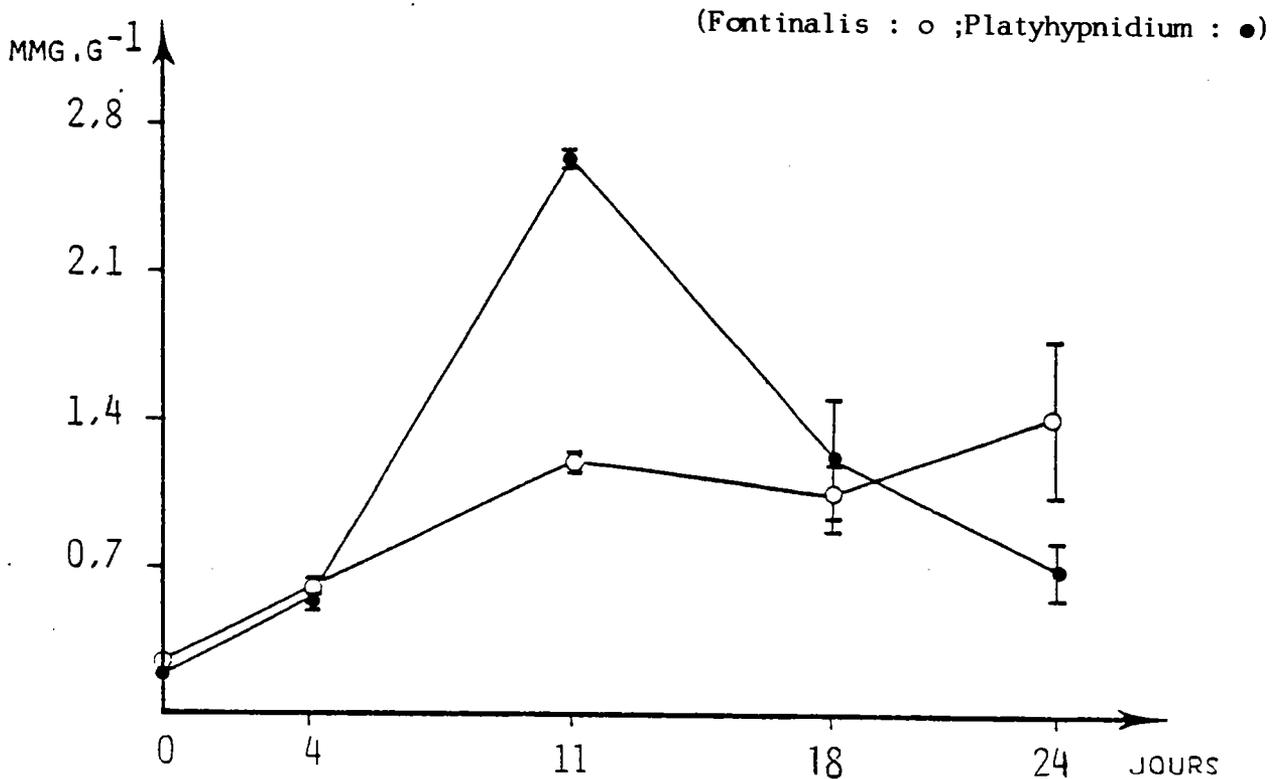


FIGURE 39 : Evolution temporelle des concentrations en PCB dans les mousses aquatiques transférées à Argancy (5) (mg/Kg; \bar{x} ; n=2).

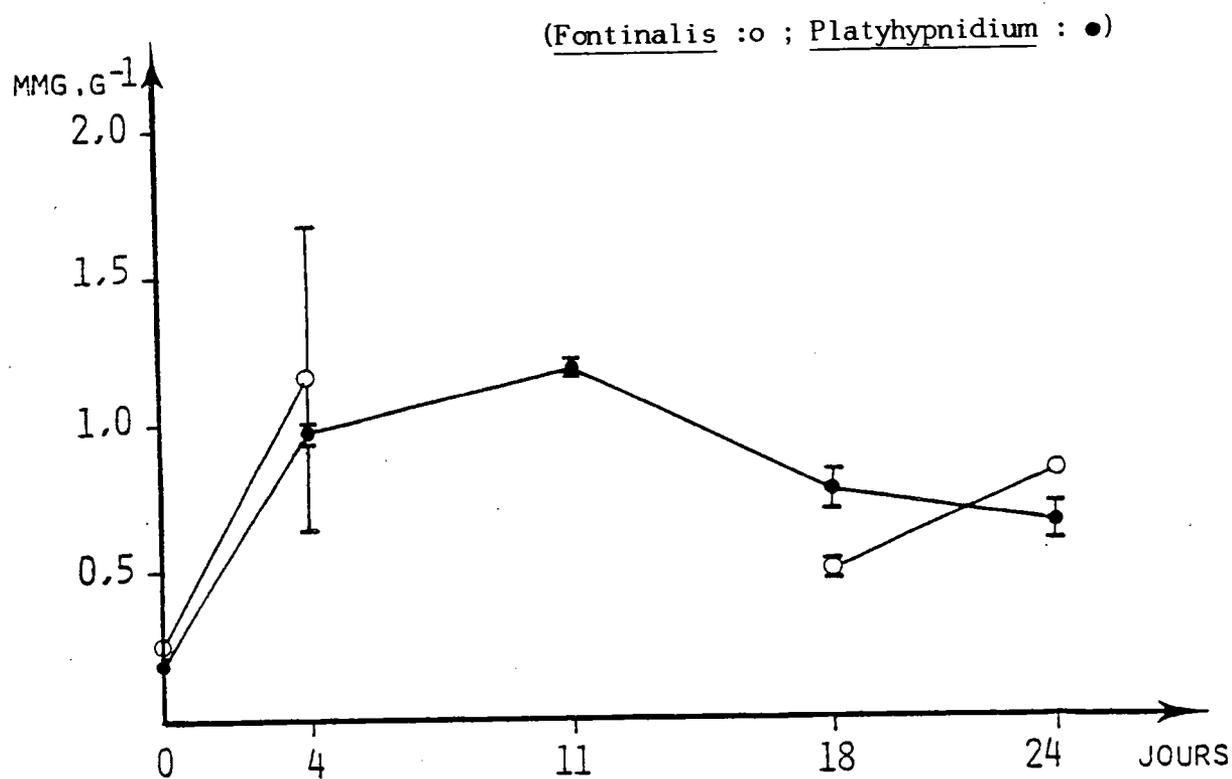


FIGURE 40 : Evolution temporelle des concentrations en PCB dans les mousses aquatiques transférées à Hauconcourt (6) (mg/Kg; \bar{x} ; n=2).

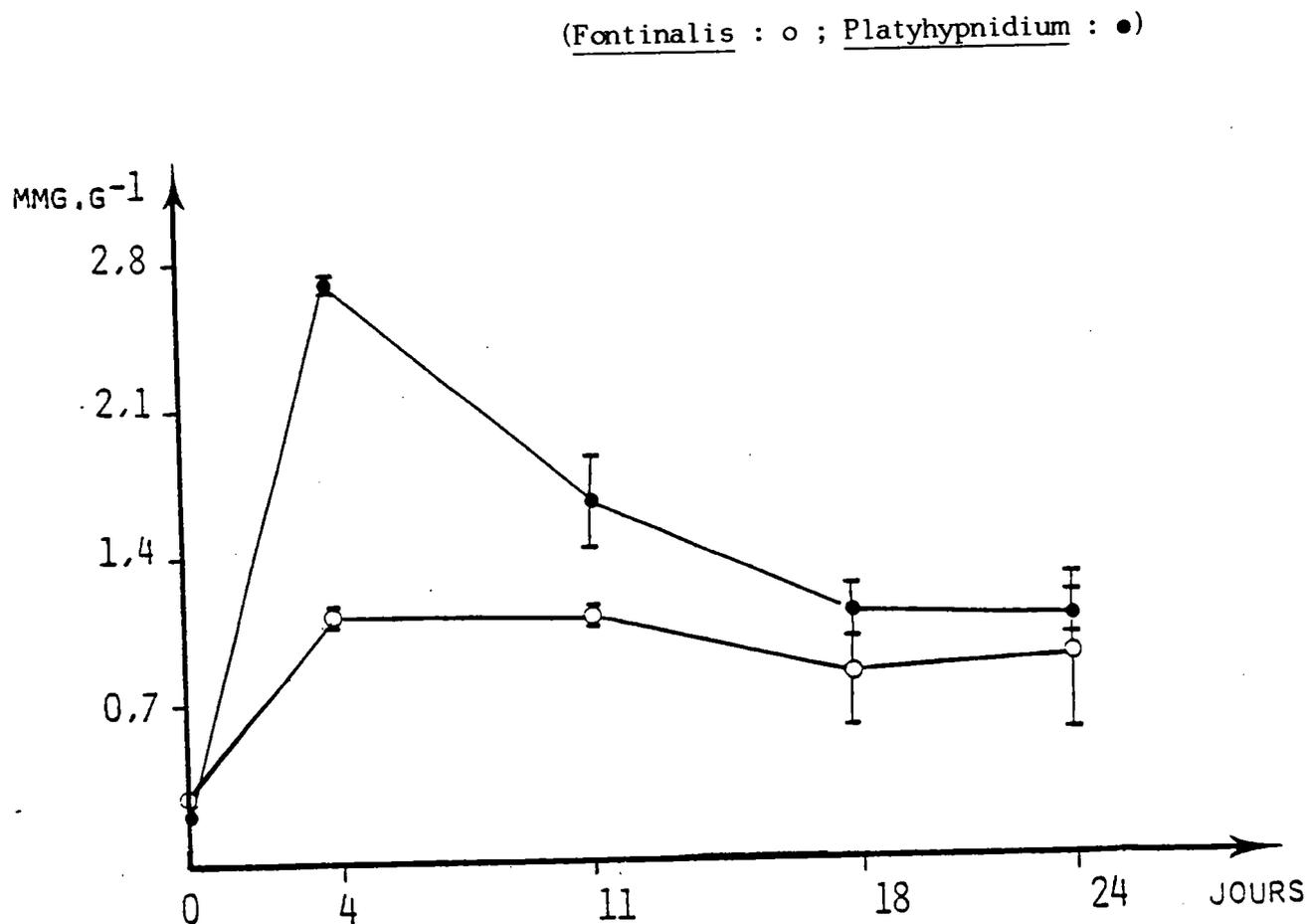
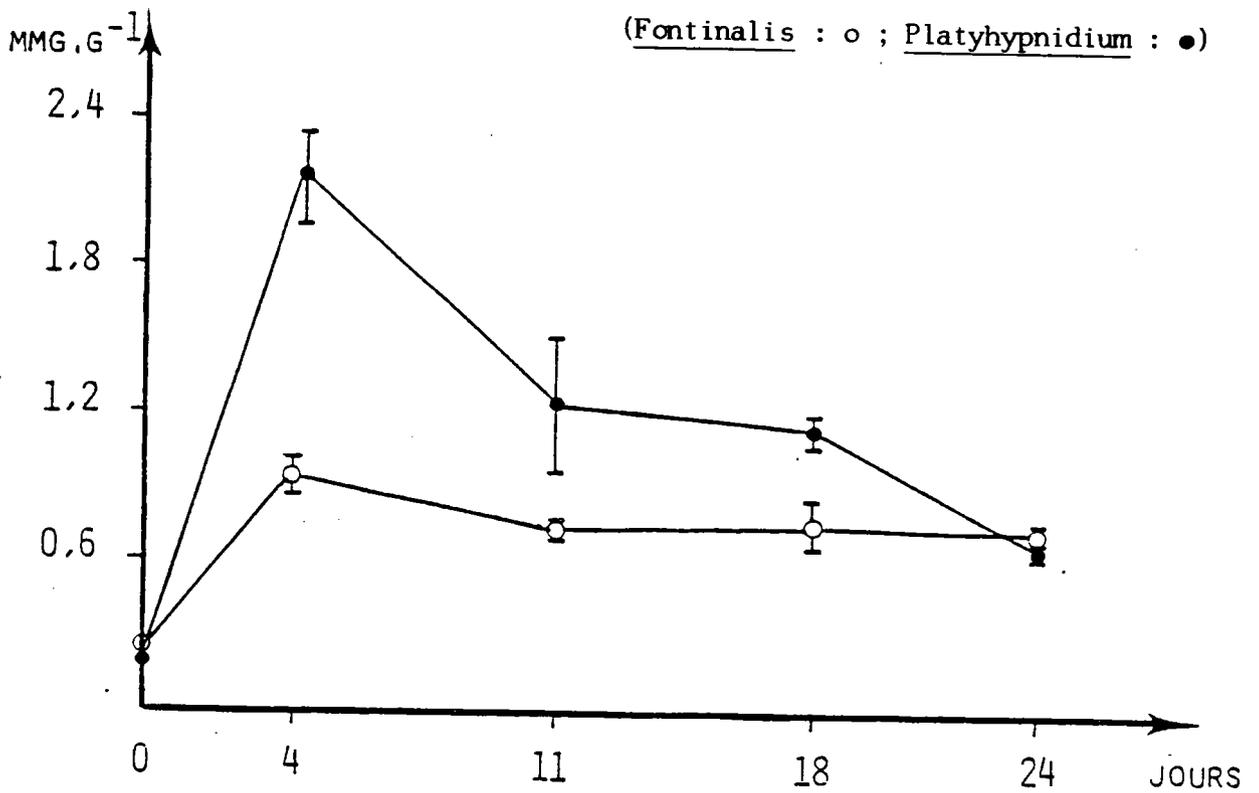


FIGURE 41 : Evolution temporelle des concentrations en PCB dans les mousses aquatiques transférées à Uckange (mg/Kg; $\bar{x} \pm s$; n=2).



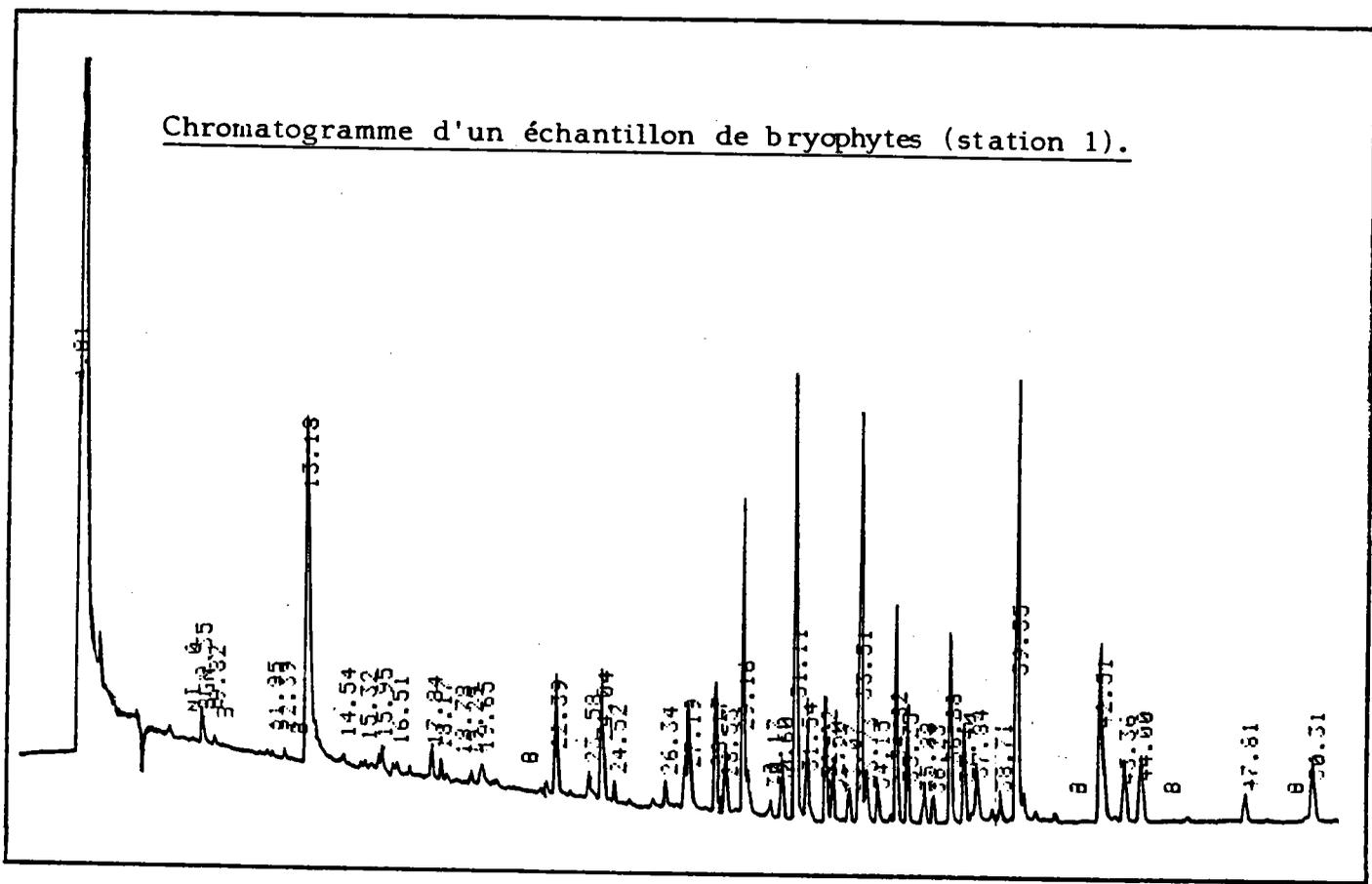
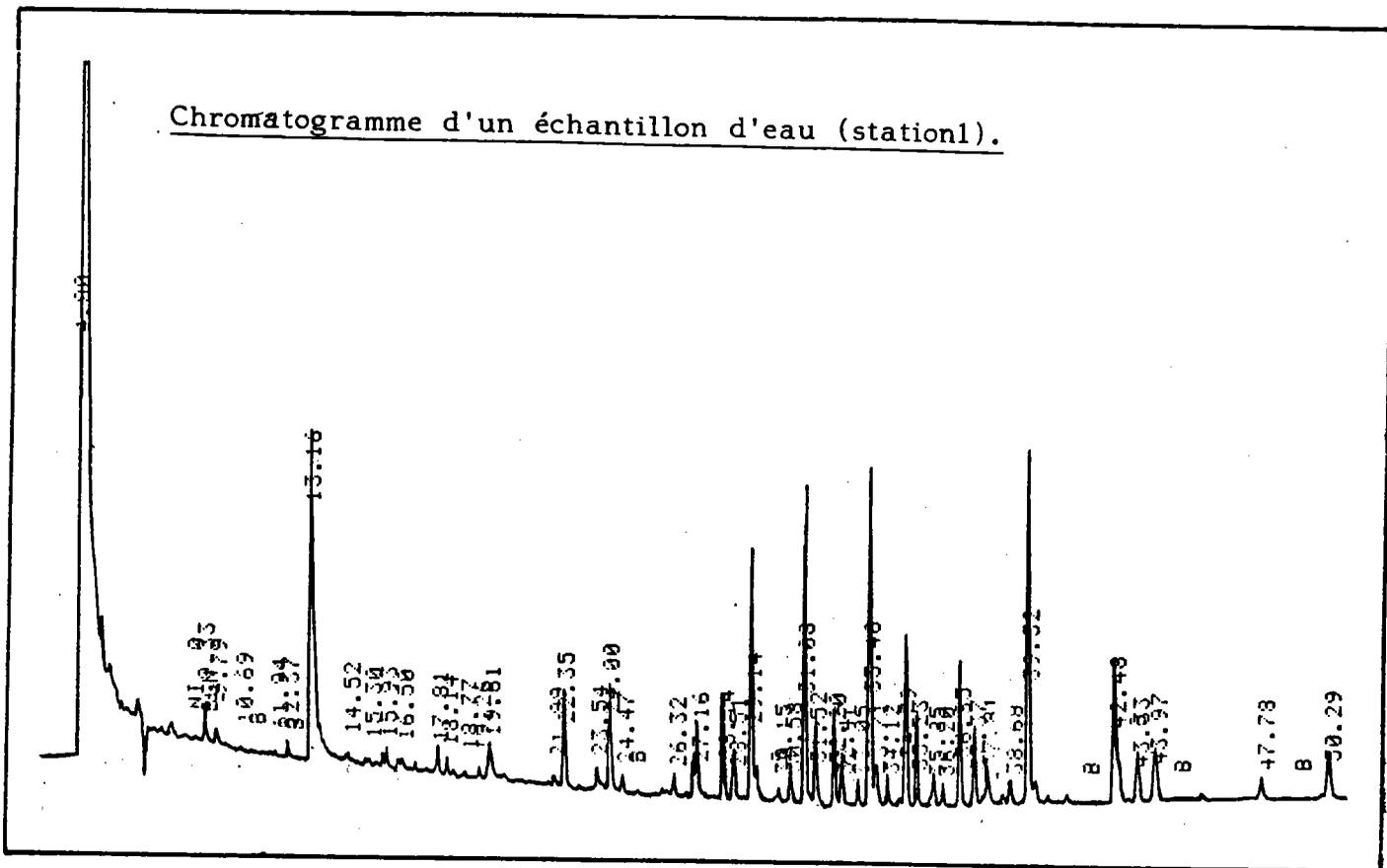
aval d'Argancy, les *Cinclidotus* d'Uckange contenant 2,5 fois plus de PCB que les mêmes mousses d'Argancy.

L'échelonnement des campagnes de prélèvements sur 4 semaines permet d'aborder le problème de la cinétique d'accumulation. Les concentrations dans l'eau s'étant révélées très variables, il ne s'agit évidemment pas d'une véritable cinétique d'accumulation, puisque, outre le paramètre "temps d'exposition", s'ajoute la variable concentration dans l'eau. Les figures 35 à 41 permettent toutefois de visualiser l'évolution temporelles des concentrations dans les mousses.

Dès le quatrième jour d'implantation, les concentrations atteignent 40% de la valeur maximale. Cette première phase d'accumulation rapide est suivie d'une seconde plus lente qui semble aboutir dans la plupart des sites à une valeur relativement stabilisée entre le 18ème et le 25ème jours. En absence d'un suivi très fin des concentrations dans l'eau, il n'est malheureusement pas possible d'interpréter plus en détail ces graphiques.

La comparaison du potentiel bioaccumulateur des deux espèces de mousses indique que dans 70% des cas, les concentrations en PCB de *Platyhypnidium* sont supérieures à celles de *Fontinalis*. Cependant, sur un même site, les rapports des concentrations en PCB dans les deux espèces restent dans 80% des cas inférieurs à 2, cette tendance a également été soulignée lors de l'étude de l'Isère. Les résultats laissent donc présager une équivalence assez satisfaisante entre les deux espèces. En effet, si les concentrations peuvent varier d'une espèce à l'autre, les profils de pollution obtenus pour les différents sites ainsi que l'évolution temporelle en un site donné sont comparables quelle que soit l'espèce de mousse.

FIGURE 42 : Aspect qualitatif de la pollution de l'eau et des mousses par les PCB.



3.2.4.3 Activité photosynthétique des mousses.

Le tableau 53 montre que les mousses aquatiques transférées 24 jours dans un milieu fortement contaminés par les PCB (sites 1 et 3) ont conservé une activité photosynthétique égale à celle des mousses témoins transférées à Argancy (5). Seules les bryophytes de la station la plus polluée (2), montrent une chute de 25% de leur activité photosynthétique. Les concentrations respectives en PCB dans l'eau des stations 2, 1, 3 et 5 (28,4 µg/L, 15 µg/L, 7,7 µg/L, 0,6 µg/L), illustrent la bonne résistance physiologique des bryophytes à ce type de pollution.

3.2.5 Discussion.

3.2.5.1 Aspect qualitatif de la pollution.

Les échantillons d'eau et de mousses ayant été prélevés simultanément, nous avons procédé aux comparaisons de leurs profils chromatographiques. Les chromatogrammes illustrés à la figure 42 montrent que la composition en congénères des mousses est similaire à celle de l'eau puisque comparativement à la concentration totale en PCB des échantillons, le % représenté par un congénère dans les bryophytes est identique à celui du même congénère dans l'eau. Notons cependant que les concentrations mesurées dans les mousses des stations les plus contaminées (1, 2 et 3) sont telles que préalablement à la chromatographie, nous avons dû procéder à une série de dilutions. Aussi, en raison d'une variabilité statistique accrue, des biotransformations mineures de congénères auront pu rester inaperçues.

3.2.5.2 Potentiel bioaccumulateur de mousses in situ.

Le tableau 54 compare, pour chacun des sites, les concentrations moyennes et les écarts-types obtenus à partir d'échantillons d'eau et de mousse. Les concentrations mesurées dans les mousses, de l'ordre du µg/g, sont environ 1 000 fois

TABLEAU 54 : Moyennes, écart-types et coefficients de variation des concentrations en PCB dans l'eau ($\mu\text{g/L}$) et les mousses transplantées ($\mu\text{g/g}$).

STATIONS	Echantillons d'eau			Echantillons de mousses		
	Moy.	$\pm s$	Coeff. (%)	Moy.	$\pm s$	Coeff. (%)
1	15,0	$\pm 20,6$	137	14,4	$\pm 9,5$	66
2	28,4	$\pm 14,4$	51	114,0	$\pm 24,0$	21
3	7,7	$\pm 8,4$	109	10,1	$\pm 4,2$	42
4	0,4	$\pm 0,3$	89	0,9	$\pm 0,3$	29
5	0,2	$\pm 0,2$	138	0,8	$\pm 0,3$	41
6	0,3	$\pm 0,3$	122	1,0	$\pm 0,3$	26
7	0,6	$\pm 0,3$	61	0,8	$\pm 0,1$	14

supérieures à celles détectées dans l'eau (de l'ordre du $\mu\text{g/L}$). On notera également que les coefficients de variation des concentrations dans les mousses sont plus faibles que ceux déterminés dans l'eau. Les bryophytes permettent donc d'intégrer les fluctuations temporelles des concentrations dans l'eau, ce qui illustre bien leur potentiel bioindicateur.

3.2.5.3 Comparaison avec d'autres bioindicateurs.

Bien que difficile à réaliser, la comparaison des résultats poissons 1981-mousses 1985 mérite d'être mentionnée. La comparaison des rapports concentration en poids frais à Uckange/concentration moyenne en poids frais des sites non contaminés en Rhin-Meuse indique pour les poissons un rapport de 60 (MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT ET DU CADRE DE VIE, 1983). Il est de 14 pour les *Cinclidotus* d'Uckange/*Cinclidotus* de Gamsheim (en 1985, les bryophytes de ce site sont les moins contaminées du bassin). Cette différence peut refléter une meilleure accumulation des PCB par les poissons ou une évolution de la qualité des eaux de la Moselle à Uckange entre 1981 et 1984. En référence à l'étude de la Seine où il semble que le potentiel bioaccumulateur des PCB par les poissons soit du même ordre de grandeur que celui des mousses, l'hypothèse d'une modification à la baisse entre 1981 et 1984 de la concentration moyenne en PCB de la Moselle peut être retenue. Faute de données supplémentaires, elle n'a pu être vérifiée.

En retenant pour l'usine une consommation annuelle en eau de 158 000 M³/an et d'une concentration moyenne en PCB dans l'eau des stations 1, 2 et 3 de 17 mg/m³, on peut grossièrement estimer les rejets de PCB à 2,6 Kg/an (7,1 g/j). Sur la base d'un débit moyen de la Moselle de l'ordre de 50 à 75 m³/s à Hauconcourt, les concentrations observées à Argancy et Hauconcourt conduisent à un flux ajouté de l'ordre de 3,2 Kg/an (8,6 g/j) ce qui est du même ordre de grandeur que l'estimation faite à partir de la consommation d'eau de l'usine. La moyenne des concentrations dans la Moselle donne un flux de PCB de l'ordre de 31,6 g/j (17,2 à

51,8 g/j) soit environ 11,5 Kg/an; les rejets de ce site industriel (3,2 Kg/an) ne constitueraient donc que 34% de la pollution de la Moselle à Hauconcourt et 17% de celle d'Uckange. On peut donc vraisemblablement supposer l'existence d'autres sources de pollution par les PCB entre Hauconcourt et Uckange.

Les concentrations observées dans l'eau aux points 1, 2 et 3 (supérieures à 1 microgramme par litre) peuvent être considérées non seulement comme anormales mais également comme toxiques pour la faune aquatique. Elles dépassent, de plus d'un facteur 1000, la norme canadienne en PCB (1 ng/L) au-delà de laquelle on considère que la vie aquatique est affectée (GERMAIN & LANGLOIS, 1988). Notons que les concentrations détectées en 1981 dans les poissons d'Uckange (1,8 ppm de poids frais, MINISTERE DE L'ENVIRONNEMENT ET DU CADRE DE VIE, 1983), sont proches des normes de consommation des U.S.A. et du Canada (2 mg/Kg de poids frais).

Dans l'optique d'un impact sur la Moselle, la réduction des concentrations avant la confluence est évidemment bénéfique si elle correspond à une diminution et non à une dilution des rejets. Le problème du devenir des PCB reste toutefois posé. En effet, le ruisseau traverse le champ captant Nord de la ville de Metz et on peut supposer que l'adsorption des PCB sur les sédiments intervient certainement pour une part importante dans cette réduction des concentrations. Ce phénomène étant potentiellement réversible, on peut vraisemblablement assimiler les sédiments à un réservoir de PCB. Aussi, l'hypothèse d'un entraînement partiel des PCB dans la nappe phréatique (comme cela a été démontré pour certains pesticides : ANONYME, 1981; WESTLAKE & GUNTHER, 1967) et dans les pompages qui y sont effectués en vue de la distribution d'eau potable est à envisager. Bien que l'éventuelle contamination résultant de cette percolation soit probablement faible, il conviendrait néanmoins de s'en assurer par des contrôles réguliers.

3.2.5.4 Comparaison avec les teneurs mesurées en 1987.

Pour suivre l'évolution temporelle de la contamination du ruisseau de Prinsonrue, nous avons implanté des mousses aquatiques aux mêmes sites, à la même saison (novembre) et pour une durée d'incubation égale (24 jours) à celle de l'étude précédente. Les résultats (en ng/g) exprimés au tableau 55 illustrent les concentrations mesurées dans les mousses ayant subi 24 jours de transfert.

TABLEAU 55 : Comparaison des concentrations en PCB totaux observées en 1984 et 1986 dans les bryophytes transplantées sur ce secteur.

SITES	CONCENTRATIONS EN PCB (ng/g)	
	1984	1987
<u>France-Transfo :</u>		
1	21 500	27 700
2	289 000	220 000
3	9 700	172 000
4	700	4 500
<u>Moselle :</u>		
Argancy 5	700	1 000
Hauconcourt 6	1 100	1 600
Uckange 7	700	2 100

La similitude des concentrations permet de conclure à une absence d'amélioration de la qualité des eaux du ruisseau de Prinsonrue entre 1984 et 1986. Bien qu'un effort ait été fait en 1986 pour protéger les citernes et réduire les fuites, une dégradation du point 3 est cependant mise en évidence. Comparativement aux concentrations maximales détectées dans les mousses d'autres cours d'eau particulièrement contaminés par les PCB, (la Seine à Oissel : 86 600 ng/g, l'Isère à Veurey : 6 100 ng/g), les concentrations des bryophytes de ce site (289 000 ng/g en 1984 et 220 000 ng/g en 1987) témoignent d'un état de dégradation du ruisseau de Prinsonrue que l'on peut qualifier d'exceptionnel.

3 - RESULTATS

ETUDES *IN VITRO* DE L'ACCUMULATION DES PCB PAR DEUX ESPECES DE BRYOPHYTES AQUATIQUES :

- *Fontinalis antipyretica*
- *Platyhypnidium riparioides*

3.3. ETUDE DE L'ACCUMULATION DES PCB IN VITRO PAR DEUX ESPECES DE BRYOPHYTES.

Nous venons de voir que les mousses aquatiques accumulent les composés organochlorés et parfois en concentrations très élevées. L'accumulation des PCB dépend donc des teneurs dans l'eau et de la durée d'exposition. Aussi, pour éclairer les résultats obtenus *in situ* et établir des relations mathématiques entre les concentrations en PCB dans l'eau et celles des mousses, nous avons étudié les cinétiques d'accumulation et de relargage de PCB dits de type lourds (Pyralène) dans des conditions expérimentales fixes. Les deux espèces de bryophytes retenues sont identiques à celles de l'expérience précédente (*Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. et *Platyhypnidium riparioides* (Hedw) Dix).

3.3.1 Travaux préliminaires à l'installation du pilote.

3.3.1.1 Etude de la résistance des mousses à l'acétone.

Le bon fonctionnement du pilote nécessite de préparer des solutions-mères de PCB dans l'acétone. En raison de la faible solubilité aqueuse du Pyralène ($\mu\text{g/L}$), nous utilisons des récipients-tampons dans lesquels ces solutions sont amenées par dilutions successives aux concentrations adéquates. Préalablement à l'expérience proprement dite, la résistance des bryophytes à de faibles concentrations d'acétone est donc testée.

La présence d'un solvant organique dans les bacs-tampons (servant de zone de mélange) doit répondre à 2 critères : l'un, la miscibilité à l'eau et le second, l'absence de toxicité pour les bryophytes. La toxicité de l'acétone pour 1 g de mousse (500 mg de *Platyhypnidium* et 500 mg de *Fontinalis*) est testée à l'aide de 5 erlenmeyers de 250 ml remplis par 200 ml d'un mélange acétone-eau dont les proportions respectives en acétone sont de 0%, 0,01%, 0,1%, 1% et 10%. Pour réduire les pertes d'acétone par évaporation tout en permettant un renouvellement modéré de l'air, les erlenmeyers, placés dans la salle d'intoxication, sont recouverts

par du papier aluminium. Les milieux sont renouvelés 2 fois par jour pendant 10 jours.

En fin d'expérience, seules les bryophytes placées dans le mélange acétone-eau à 10% présentent des altérations visibles ; tous les rameaux sont devenus bruns. Toutefois, le potentiel vital des deux espèces n'est pas altéré puisque deux mois plus tard, nous avons constaté le développement de nouveaux bourgeons à l'aisselle des feuilles, ce qui illustre bien les étonnantes facultés de résistance des bryophytes. L'examen en microscopie optique des mousses placées dans les autres flacons ne permet pas de mettre en évidence une altération des cellules foliaires. Pour disposer d'une marge de sécurité raisonnable, la moitié de la concentration minimale d'acétone testée soit 0,005% (50 ppm) est retenue. Cette concentration, suffisante pour permettre une dilution adéquate des solutions-mères, présente également l'avantage d'être économique.

3.3.1.2 Etude de la résistance de l'installation à l'acétone.

Les solutions-mères destinées à l'intoxication des mousses sont amenées dans les bacs grâce à des pompes péristaltiques équipées de tuyaux de type "solvaflex" de diamètre 0,11 cm. Pour tester leur résistance à 50 ppm d'acétone, 4 flacons en verre, remplis par 2 L des différents mélanges acétone-eau (0% témoin, 0,1%, 1% et 10%) sont reliés en circuit fermé par une pompe péristaltique à cassettes (ISMATEC IPS 16) dont le débit est de 10 ml/mn. Pour limiter l'évaporation de l'acétone, les flacons sont fermés à l'aide d'une feuille d'aluminium.

Le débit est quotidiennement vérifié pendant 11 jours. Le tableau 56 illustre l'évolution temporelle des débits au cours de cette expérience préliminaire.

TABLEAU 56 : Evolution temporelle des débits (ml/mn) au cours de l'étude préliminaire.

Durée (h)	% en acétone du mélange acétone-eau :			
	Temoin	0,1%	1%	10%
0	10,0	10,6	10,6	9,8
16	10,3	10,5	10,2	10,0
24	9,8	10,2	10,6	9,8
30	11,4	11,6	11,4	11,1
96	8,9	10,0	9,6	9,9
120	8,3	10,0	9,2	8,5
168	1,8	4,5	8,8	7,6
264	8,4	9,3	8,5	7,4

Quelles que soient les concentrations en acétone, les débits sont stables pendant environ 24 heures ; au-delà, il semblerait qu'on assiste à un phénomène d'usure progressif des tuyaux "solvaflex". Aussi, pour obtenir un flux constant d'arrivée de toxique, ces tuyaux sont remplacés quotidiennement.

3.3.2 Intoxication des bryophytes in vitro.

3.3.2.1 Le milieu expérimental.

La préparation des milieux ainsi que les expériences d'accumulation et de relargage se déroulent dans une salle climatisée dont la photopériode (16 heures de lumière, 8 heures d'obscurité) est contrôlée par une minuterie placée sur le circuit d'alimentation des néons. Pour reconstituer un spectre lumineux équilibré, le dispositif expérimental est éclairé par des néons "White Cool" et "Gros Lux" et l'intensité lumineuse dispensée au niveau des bacs est de 1 100 Lux.

Les bryophytes des deux espèces (*Fontinalis antipyretica* et *Platyhypnidium riparioides*), sont prélevées la veille de l'intoxication et acclimatées pendant 24 heures en salle

FIGURE 43 : Schéma d'une unité expérimentale utilisée pour étudier les cinétiques d'accumulation et de relargage des PCB.
(d'après MOUVET et al., 1985).

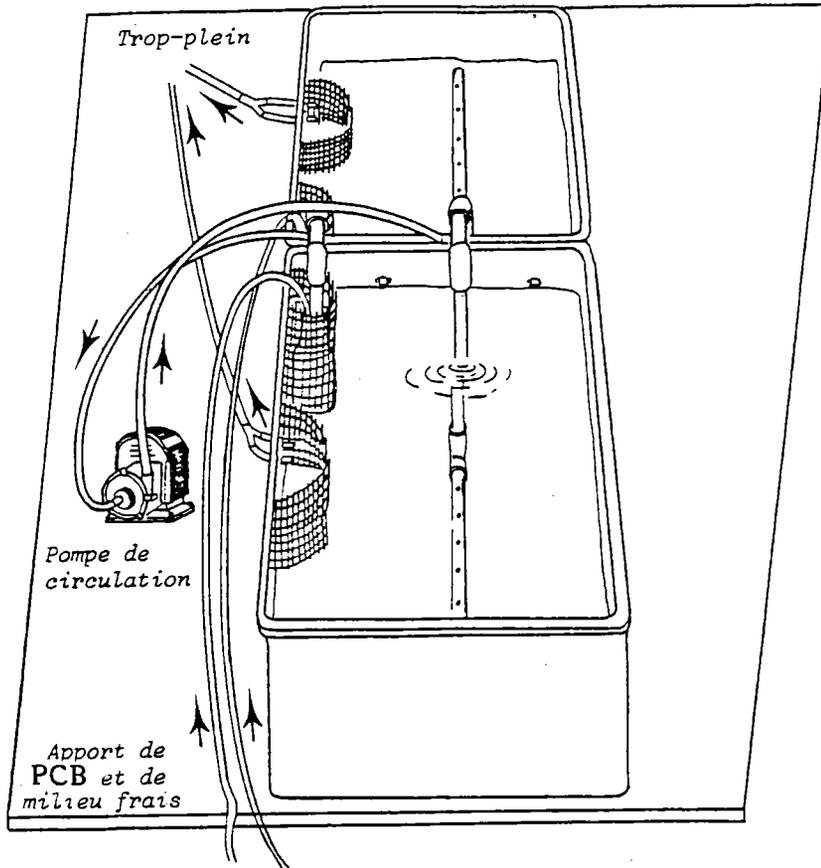
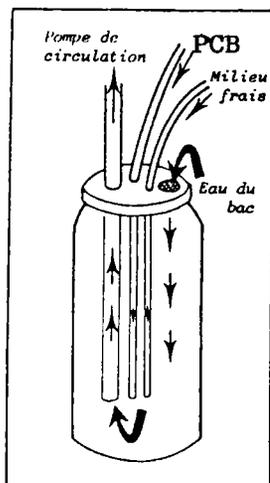


FIGURE 44 : Installation utilisée pour assurer rapidement le mélange des solutions toxiques et de milieu.



d'expérience. Elles sont préalablement débarrassées des débris grossiers, triées puis lavées.

Sur la base des résultats de l'étude précédente (facteur de bioaccumulation des PCB par les mousses de l'ordre de 1000), nous étudierons une gamme de concentration susceptible de regrouper la plupart des situations observables sur le terrain : 50 ng/L, 500 ng/L et 5 000 ng/L.

3.3.2.2 Dispositif expérimental.

Les figures 43 et 44 illustrent schématiquement le concept de l'expérience. L'alimentation en eau du pilote est faite par l'eau du réseau préalablement filtrée sur charbon actif. A la sortie du filtre, elle est amenée gravitairement par 4 tuyaux en plastique vers 4 paires de bacs en PVC. Pour chaque concentration étudiée, les bacs sont jumelés ; nous disposons en réalité d'un volume total de 36 L.

Une pompe centrifuge de type EHEIM 1026 assure l'homogénéisation des volumes d'eau contenus par bacs et paires de bacs. L'aspiration de l'eau vers le corps de pompe se fait par 2 tuyaux dont les extrémités plongent dans chaque bac (voir figure 45). Deux tuyaux qui plongent dans les bacs et se prolongent sur le fond par un segment percé de trous assurent le retour. La circulation de l'eau entre les bacs d'une même paire se fait par deux pontages qui permettent un rééquilibrage des niveaux d'eau. Deux orifices percés dans chaque bac à ras du niveau d'eau permettent l'évacuation du trop-plein. L'entraînement des mousses par l'évacuation du milieu excédentaire est évitée en recouvrant les deux orifices d'un morceau de gaze.

Des grillages en plastique de maille 5 x 5 mm placés perpendiculairement à la longueur du bac permettent une compartimentation. Bien que la détermination visuelle des espèces utilisées soit aisée, compte tenu de la brièveté qu'exige un échantillonnage, les mousses sont préalablement triées par espèce

puis placées au départ de l'intoxication dans un des compartiments.

3.3.2.3 Modalités de l'intoxication.

Pour imiter le plus fidèlement possible les conditions naturelles, les mousses sont intoxiquées par un milieu renouvelé en permanence. L'obtention de conditions telles qu'aucun effet des organismes tests sur le milieu ne puisse être détecté, nécessite de disposer d'un important volume de milieu. Aussi, par paire de bacs (2 x 18 L = 36 L), le débit d'approvisionnement en eau est de 0,5 L/min et le temps de renouvellement complet de l'eau d'une paire de bacs est de 72 min.

L'alimentation en PCB est réalisée par une pompe péristaltique multi-canaux à cassettes (ISMATEC IPS 16) équipée de 4 tuyaux de type "solvaflex". Une des extrémités des tuyaux plonge dans une bouteille de 10 L remplie de la solution concentrée de PCB et l'autre extrémité débouche dans un pilulier de 125 ml placé au fond d'un bac. Ce pilulier dont le couvercle est percé de 4 orifices sert de zone de mélange. Deux orifices permettent l'apport de milieu frais et de PCB tandis que le troisième est relié au tuyau d'aspiration d'eau de la pompe de circulation. Le quatrième assure l'apport de milieu à partir de l'ensemble du volume du bac et il est couvert de gaze plastifiée pour éviter l'aspiration des brins de mousse. Chaque goutte de solution de PCB est donc diluée dans 125 ml puis instantanément aspirée par la pompe de circulation qui amplifie alors la dilution et envoie le mélange dans les deux bacs.

L'efficacité du système a été préalablement testée à l'aide de solutions métalliques. Des dosages effectués à 3 endroits des bacs et à différents moments après addition dans le pilulier d'une solution métallique concentrée a permis d'obtenir les concentrations désirées avec toutefois une variabilité de 7% au sein d'un même bac et 10% entre les deux bacs (MOUVET, 1987). La même expérience, réalisée à l'aide de solutions de PCB donne des

résultats semblables, la variabilité entre les deux bacs étant toutefois légèrement supérieure (13%).

3.3.2.4 Ajustement des concentrations dans les bacs

La concentration en PCB dans les bacs dépend théoriquement de la relation entre les débits d'arrivée d'eau et de solutions toxiques. Le débit d'eau filtrée étant de 500 ml/min et celui de la solution toxique de 5 ml/min, les concentrations des flacons de réserve sont donc dilués 100 fois pour aboutir à des concentrations respectives en PCB dans les bacs de 50, 500 et 5000 ng/L. Ces solutions et les tuyaux "solvaflex" sont renouvelés quotidiennement.

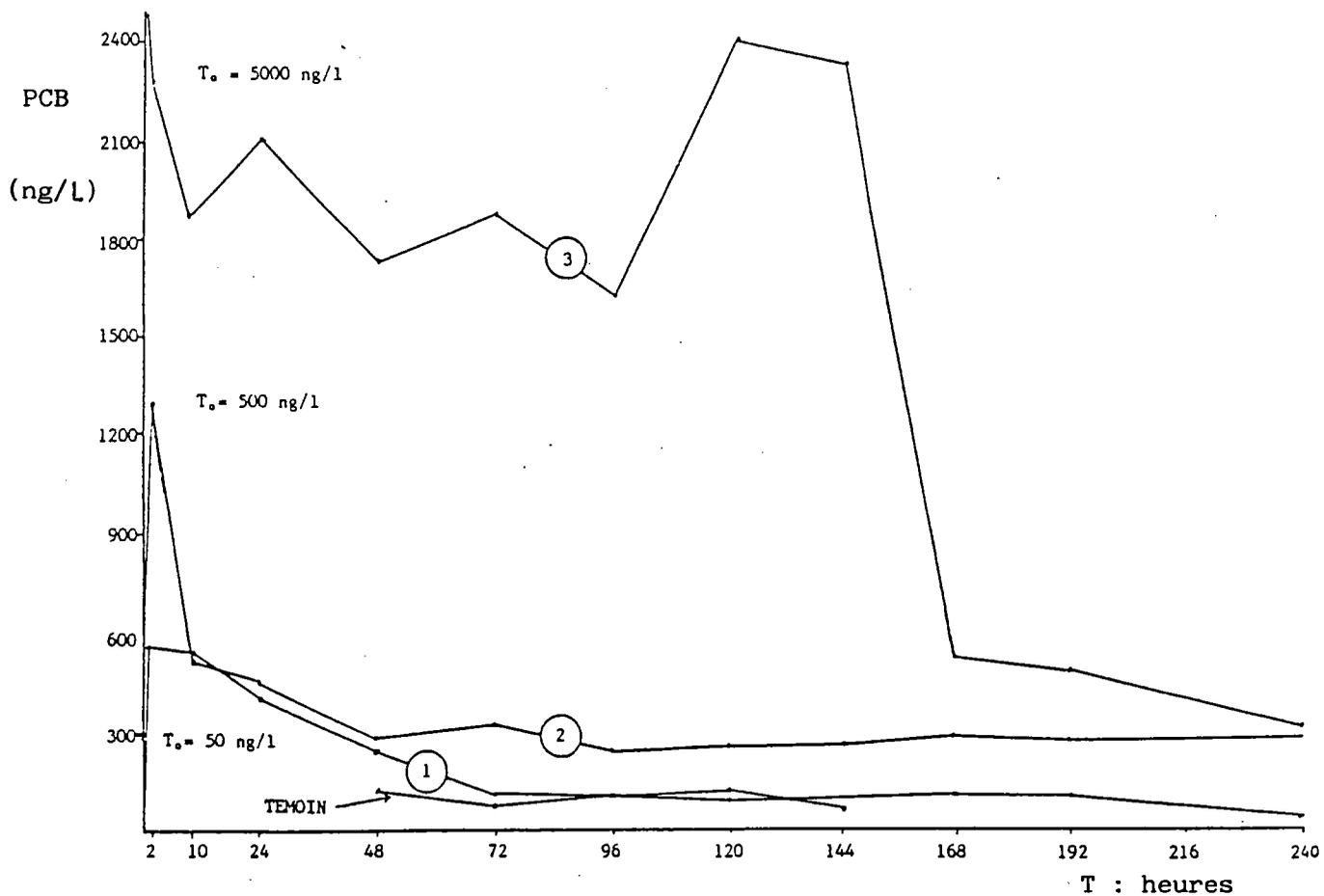
Avant l'introduction des mousses dans les bacs, le pilote a été testé pendant deux semaines au cours desquelles les concentrations en PCB dans l'eau des bacs ont été mesurées quotidiennement. Elles se sont stabilisées après 15 jours consécutifs de fonctionnement.

3.3.2.5 Prélèvement des mousses.

Par espèce, 90 g de mousses fraîches sont introduits dans chacun des 4 compartiments d'une paire de bacs. Nous disposons donc par paire de bacs d'environ 180 g de chaque espèce. Cette quantité est suffisante pour réaliser une dizaine de prélèvements de 15 g de mousses fraîches par espèce et par bac.

La biodisponibilité théorique des PCB pour les mousses a été explorée. Ainsi, pour un masse voisine de 360 g de bryophytes par paire de bacs, les mousses exposées à une concentration de 500 ng/L peuvent théoriquement accumuler 1 µg de PCB/g de matière fraîche en 24 heures soit: compte tenu de l'humidification des bryophytes, 5 fois plus, à savoir une concentration voisine de 5 ppm poids sec. A chaque échantillonnage, environ 7,5 g de mousses sont prélevés par espèce et par bac puis essorés et enfin séchés à

FIGURE 45 : Evolution des concentrations en PCB (ng/L) dans l'eau des enceintes expérimentales.



l'étuve à 60°C pendant 48 heures. L'extraction et le dosage des PCB dans l'eau et les mousses sont décrits au chapitre 2.

3.3.2.6 Calendrier de l'étude.

La constance des concentrations en PCB dans l'eau a été évaluée du 10/07/86 au 25/07/86. L'intoxication des mousses, commencée le 25 juillet s'est achevée 10 jours plus tard et le relargage a duré 17 jours (du 4 au 21 août). Les expériences réalisées *in situ* nous laissant suspecter une cinétique d'accumulation rapide, les prélèvements de bryophytes dans les bacs ont donc été planifiés après 8, 24, 72 et 240 heures d'intoxication. En ce qui concerne le relargage, les prélèvements ont été réalisés à la suite de 8, 24, 72, 240, 360, 408 heures (17 jours) de détoxication. Pendant l'intoxication et les 4 premiers jours de détoxication, nous avons réalisé un suivi quotidien des concentrations en PCB dans l'eau. Les débits ainsi que le pH et la température ont également été contrôlés.

3.3.3 Résultats.

3.3.3.1 Evolution des paramètres physico-chimiques.

Le tableau 57 (ANNEXE 2) illustre les moyennes et les écarts-types des débits d'arrivée d'eau, de la température et du pH pendant les 12 premiers jours de l'expérience.

Les débits moyens d'arrivée d'eau et de solutions toxiques permettent pour chaque paire de bacs de calculer des concentrations théoriques en PCB de 48 ng/L, 491 ng/L et 5 135 ng/L. Les pourcentages de divergence entre les concentrations désirées (50, 500 et 5 000 ng/L) et les concentrations théoriques n'étant jamais supérieurs à 3%, on peut donc conclure à une bonne maîtrise de l'hydraulique du pilote. Le pH ainsi que la température sont restés stables pendant l'expérience.

TABEAU 59 : Evolution temporelle des concentrations en PCB (ng/g) dans les bryophytes en cours d'intoxication ($m \pm \sigma$; $n = 2$).

CONCENT. PCB (ng/L)	Espèces de mousses	8 h	24 h	72	240 h
212	Fontinalis	1 065 ± 26	2 427 ± 192	3 726 ± 5	4 970 ± -
	Platyhypnidium	1 605 ± 185	2 403 ± 247	2 328 ± 10	2 489 ± 306
422	Fontinalis	1 608 ± 38	4 115 ± 148	8 466 ± 362	9 968 ± 1 168
	Platyhypnidium	1 934 ± 254	3 643 ± 322	7 129 ± -	10 841 ± 398
1810	Fontinalis	10 025 ± 383	30 339 ± 1 823	29 434 ± 793	59 717 ± 411
	Platyhypnidium	13 892 ± 287	33 521 ± 608	34 519 ± 1 779	69 516 ± 2 131
Témoïn	Fontinalis	521 ± 10	608 ± 63	488 ± 19	626 ± -
	Platyhypnidium	402 ± 2	431 ± 33	628 ± 108	340 ± -

TABEAU 60 : Paramètres utilisés pour l'interprétation des données à l'équilibre.

CONCENT. PCB (ng/L)	Espèces de mousses	CONCENTRATIONS A L'EQUILIBRE	FACTEURS DE BIOACCUMULATION	FACTEURS D'AUGMENTATION	50 % DE L'ACCUMULATION A L'EQUILIBRE
212	Fontinalis	4 970	23 443	9,8	30
	Platyhypnidium	2 849	13 621	6,2	10
422	Fontinalis	9 968	23 621	19,7	24
	Platyhypnidium	10 840	25 690	23,6	30
1810	Fontinalis	59 717	32 993	118,1	18
	Platyhypnidium	69 516	38 407	151,4	24

3.3.3.2 Evolution des concentrations en PCB dans l'eau.

La figure 45 illustre l'évolution temporelle des concentrations en PCB dans l'eau pendant l'intoxication (les données brutes sont indiquées au tableau 58, ANNEXE 2). Si préalablement à l'introduction des mousses, les concentrations en PCB dans l'eau sont constantes et proches des valeurs souhaitées (respectivement 72, 609 et 4 200 ng/L), la chute des teneurs en PCB de l'eau dès le deuxième jour d'intoxication illustre bien les difficultés d'obtenir des conditions expérimentales stables. Bien que le dispositif expérimental n'ait pas résolu tous les problèmes, la gamme des concentrations moyennes mesurées dans les bacs, respectivement 212 ng /L, 422 ng /L, 1810 ng/L (Témoin: 41 ng/L) est toutefois suffisamment large pour justifier une exploitation des résultats.

L'état actuel de nos connaissances ne nous permet pas d'apporter une explication rationnelle à ces fluctuations. Plusieurs hypothèses peuvent cependant être avancées. Outre d'éventuelles erreurs de logistique, des phénomènes d'adsorption et de désorption des PCB piégés sur les parois des bacs et dans les mousses peuvent expliquer les fluctuations observées. Une chute temporaire des débits d'approvisionnement en eau peut également être suspectée (les débits ne sont vérifiés qu'à heure fixe).

3.3.3.3 Etude de la cinétique d'accumulation des PCB.

La tableau 59 donne les moyennes (ng/L) et les écarts-types des concentrations en PCB mesurées dans les mousses. Les résultats correspondent à la moyenne de deux analyses indépendantes. L'interprétation des résultats qui va être faite nécessite la définition des 4 paramètres suivants :

* Le facteur de bioaccumulation est le rapport des concentrations en PCB (ng/Kg) dans les mousses à l'équilibre sur les concentrations moyennes en PCB (ng/L) dans l'eau.

FIGURE 46 : Evolution des concentrations en PCB dans les deux espèces de mousses placées dans de l'eau contaminée par 212 ng de PCB/L.

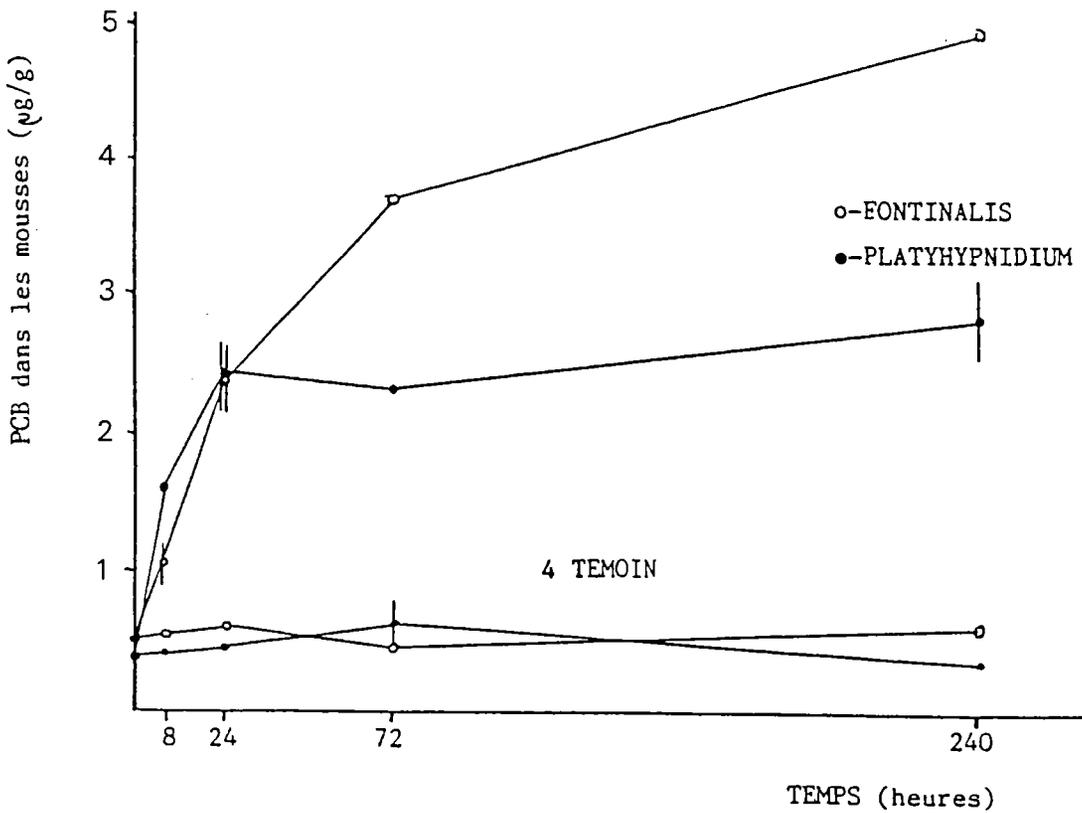


FIGURE 47 : Evolution des concentrations en PCB dans les deux espèces de mousses placées dans de l'eau contaminée par 422 ng de PCB/L.

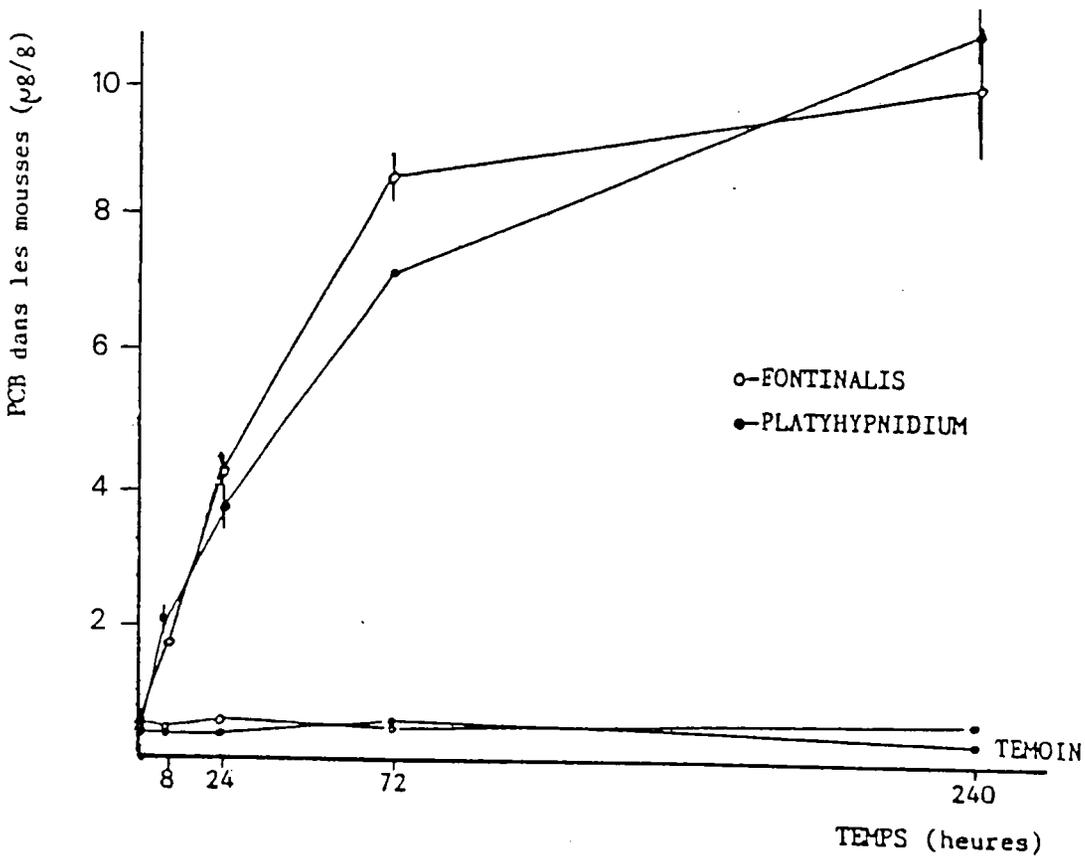
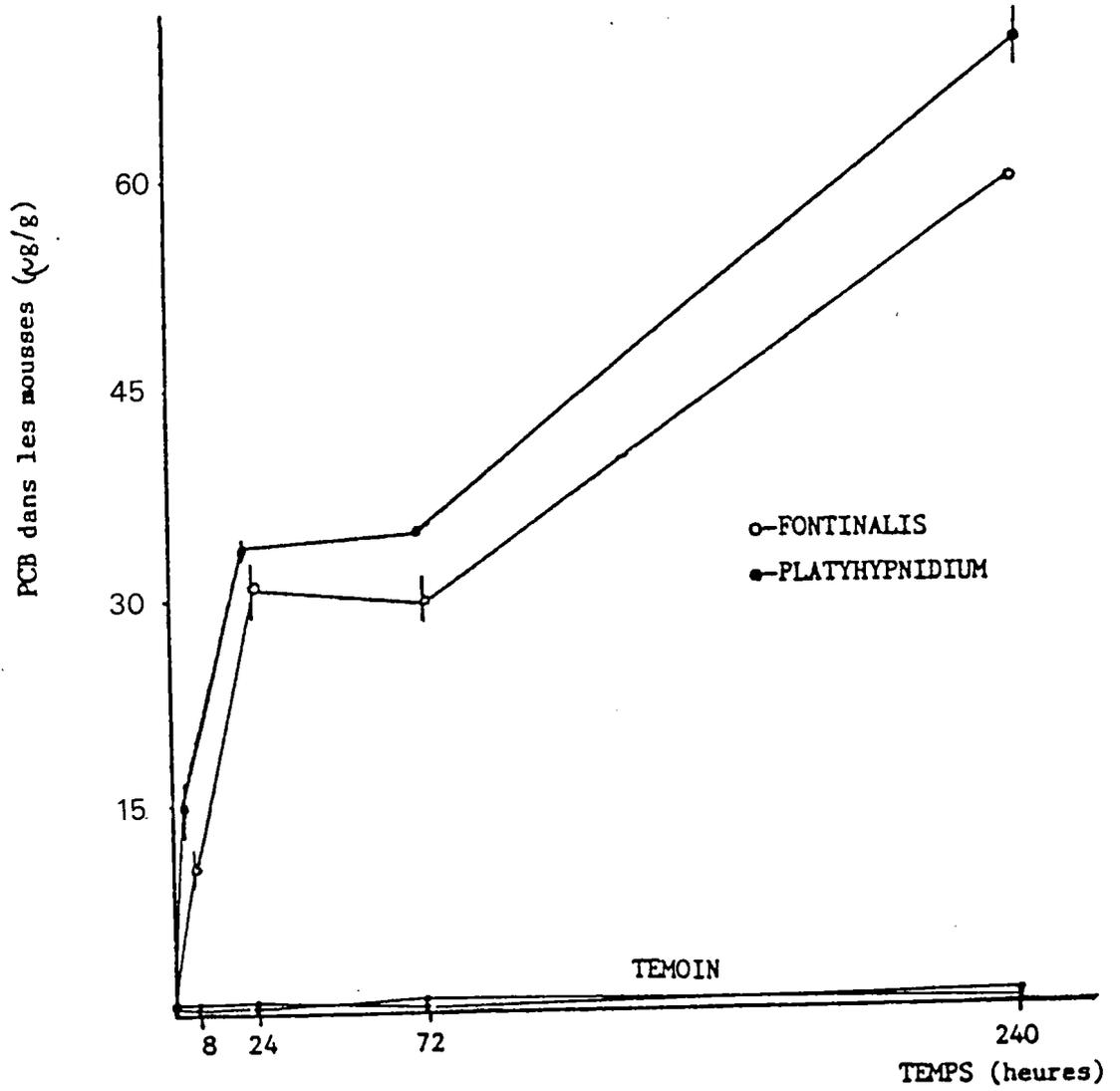


FIGURE 48 : Evolution des concentrations en PCB dans les deux espèces de mousses placées dans de l'eau contaminée par 1810 ng de PCB/L.



* La concentration à l'équilibre dans les mousses est la concentration en PCB (ng/Kg) mesurée à la fin de l'intoxication.

* Le facteur d'augmentation des concentrations est le rapport entre les concentrations à l'équilibre et les concentrations initiales en PCB dans les mousses (respectivement 0,506 et 0,450 ng/Kg pour *Fontinalis* et *Platyhypnidium*). Il reflète l'importance quantitative de l'accumulation.

* Les "50% d'accumulation à l'équilibre" est le délai mis par les mousses pour atteindre la moitié des concentrations à l'équilibre. Ce paramètre décrit la vitesse de l'accumulation.

Le tableau 60 illustre ces paramètres et les figures 46, 47 et 48 donnent l'évolution temporelle des concentrations en PCB dans les mousses.

Malgré une légère pollution de l'eau, probablement due à la contamination croissante de l'atmosphère du local, les concentrations en PCB dans les mousses témoins sont relativement stables pendant l'expérience. L'équilibre atteint n'est donc que fictif.

Avec une concentration en PCB dans l'eau de 212 ng/L, les facteurs d'augmentation dans les mousses sont significatifs (10 pour *Fontinalis* et 6 pour *Platyhypnidium*) et les 50% de l'accumulation à l'équilibre sont respectivement atteints en 30 et 10 heures.

En présence de 422 ng/L, l'accumulation est de 2 à 4 fois plus importante et son évolution temporelle est comparable à la précédente. Les vitesses d'accumulation sont du même ordre de grandeur dans les deux cas : 24 heures sont nécessaires à *Fontinalis* pour atteindre 50% de l'accumulation à l'équilibre et 30 heures pour *Platyhypnidium*.

La concentration la plus élevée en PCB dans l'eau (1810 ng/L) s'accompagne de la plus forte accumulation par les mousses et les facteurs d'augmentation sont de 118 pour *Fontinalis* et de 151 pour *Platyhypnidium*. La vitesse d'accumulation est également

comparable à celles des autres conditions expérimentales (les 50% à l'équilibre correspondent respectivement à 18 et 24 heures pour *Fontinalis* et *Platyhypnidium*).

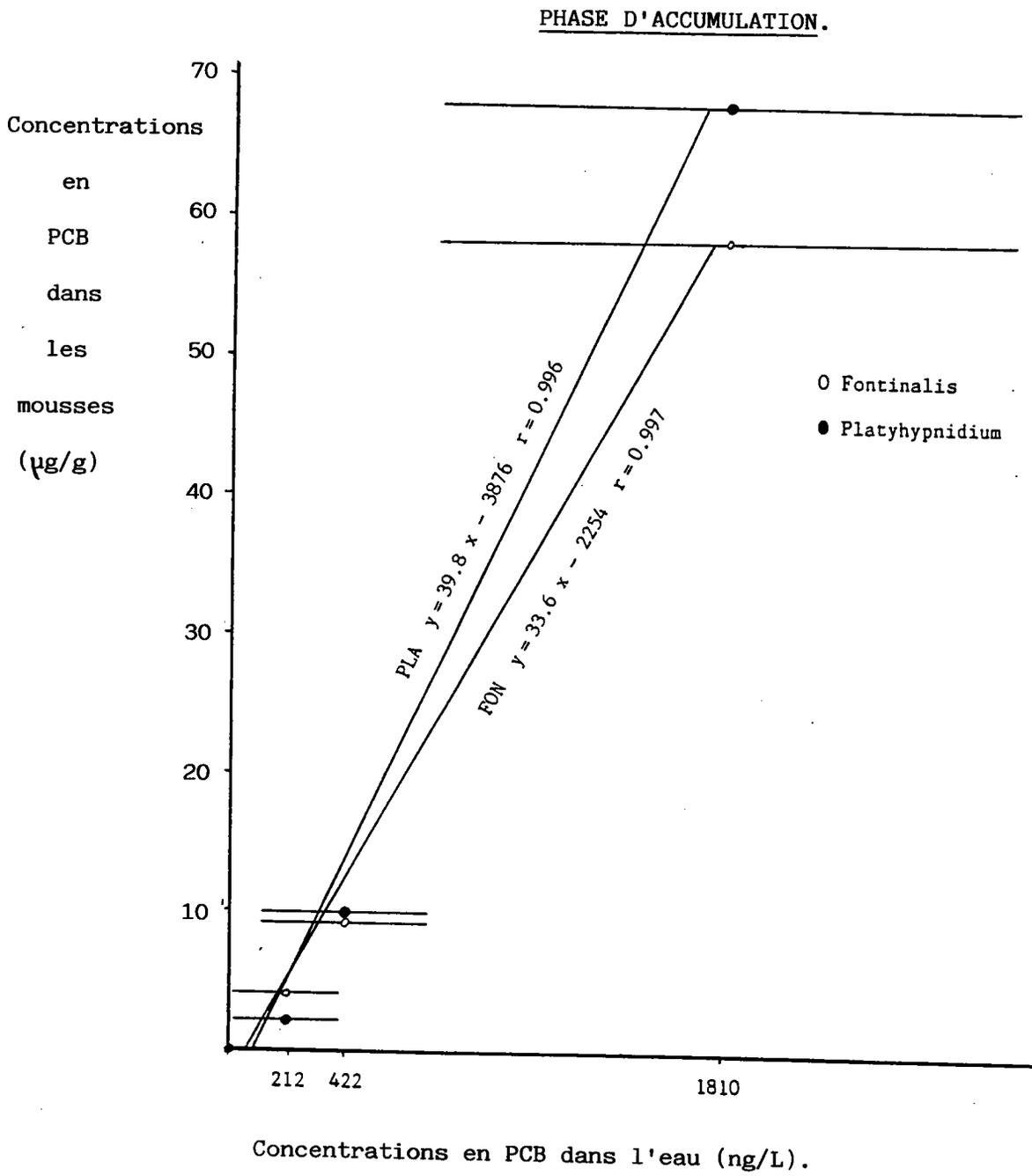
L'accumulation des PCB par les deux espèces de mousse est rapide : les 50% des concentrations à l'équilibre sont en moyenne atteints en 23 heures. Les mousses ont également accumulé en 8 heures plus du tiers des concentrations maximales.

La comparaison à l'équilibre des potentiels bioaccumulateurs des deux espèces ne montre pas de différences significatives après 10 jours d'intoxication. Quant aux facteurs d'augmentation de *Platyhypnidium*, ils sont dans 83% des cas supérieurs d'un facteur moyen de 1,2 à ceux de *Fontinalis*.

In situ, une concentration moyenne en PCB dans l'eau de 28 µg/L (chapitre précédent), a permis d'observer chez les mêmes espèces, des facteurs moyens de bioaccumulation de 7000. La comparaison avec les résultats de cette étude montre des différences considérables puisqu'une concentration moyenne dans l'eau environ 15 fois plus faible (1,81 microg/L) donne paradoxalement des facteurs de bioaccumulation 75 fois plus importants. Le potentiel bioaccumulateur des deux espèces étant du même ordre de grandeur, on peut donc supposer que les divergences constatées entre les données obtenues *in situ* et *in vitro* résultent des conditions expérimentales imposées. Parmi les différents paramètres susceptibles d'expliquer ces divergences, le plus probable est celui d'une plus grande biodisponibilité des PCB *in vitro*. La présence dans le milieu naturel de solides en suspension et de carbone organique permettant de complexer les molécules organochlorées réduit probablement la biodisponibilité des PCB pour les mousses.

Pour interpréter et discuter les résultats des cinétiques d'accumulation, nous avons étudié la relation entre les concentrations en PCB dans les mousses à l'équilibre et les concentrations moyennes dans l'eau. Ces relations, indiquées sur

FIGURE 49 : Corrélations entre les concentrations en PCB dans l'eau et les concentrations dans les mousses.



la figure 49, sont linéaires et les coefficients de corrélations sont significatifs et supérieurs à 0,996.

$$\underline{\text{Fontinalis}} \quad : y = 33,6 x - 2\,254 \quad ; \quad r = 0,997 \text{ et}$$

$$\underline{\text{Platyhypnidium}} \quad : y = 39,8 x - 3\,876 \quad ; \quad r = 0,996$$

Les différences entre espèces se marquent au niveau des pentes des droites de corrélation, *Platyhypnidium* étant plus sensible que *Fontinalis*. Cette linéarité montre qu'il est donc possible, à partir des concentrations en PCB dans les mousses d'estimer les concentrations moyennes en PCB de l'eau. Ces relations ne seront bien évidemment valables qu'avec le type d'eau utilisé pour cette expérience et dans la gamme des concentrations étudiées. Notons cependant que cette gamme couvre l'essentiel des situations susceptibles d'être rencontrées dans des biotopes naturels. Au-delà de certaines concentrations dans l'eau n'entraînant pas la mort des bryophytes, il est probable que les sites d'adsorption du matériel végétal soient saturés, ce qui a pour conséquence de modifier la linéarité des droites de corrélation.

3.3.3.4 Etude du relargage des PCB.

L'objectif de l'étude de relargage est de mesurer la vitesse à laquelle les mousses aquatiques éliminent les PCB qu'elles ont préalablement accumulés. Les mousses utilisées sont donc celles provenant de l'expérience d'accumulation. Le protocole expérimental est quasiment identique au précédent à la différence près que les apports en PCB sont supprimés. En raison d'une saturation des capacités analytiques du laboratoire, les dosages dans l'eau n'ont pu être prolongés au-delà de 4 jours (Tableau 58, ANNEXE 2).

Comme on peut s'y attendre, les concentrations les plus élevées dans l'eau s'observent dans le bac contenant les mousses les plus contaminées. Les concentrations dans l'eau des 3 autres bacs sont restées supérieures à celles des témoins (<30 ng/L), on

TABLEAU 61 : Evolution temporelle des concentrations en PCB (ng/g) dans les bryophytes en cours de dépuraton.

CONC. (ng/L)	Espèces de mousses	240 h	248 h	264 h	312 h	480 h	600 h	648 h
212	Fontinalis	4.970 ± _	2 621 ± 295	2 586 ± 100	2 927 ± 59	2 488 ± 68	2 263 ± 58	2 197 ± 194
	Platyhypnidium	2 849 ± 306	2 203 ± 146	2 666 ± 111	2 500 ± 275	2 445 ± 285	2 195 ± _	1 565 ± _
422	Fontinalis	9 968 ± 1 168	10 326 ± 479	10 695 ± 252	9 962 ± 585	7 789 ± 14	6 551 ± 699	4 800 ± 572
	Platyhypnidium	10 841 ± 398	7 618 ± 397	8 388 ± 935	8 943 ± 762	5 715 ± _	5 485 ± 1 063	4 700 ± 222
1810	Fontinalis	59 717 ± 411	51 136 ± 927	59 426 ± 1 203	50 209 ± 1 831	36 716 ± 1 372	34 952 ± 8 425	26 793 ± 1 054
	Platyhypnidium	69 516 ± 2 131	58 399 ± 1 766	55 242 ± 3 390	40 912 ± 1 813	32 441 ± 1 744	34 527 ± 1 972	31 681 ± 374
Témoïn	Fontinalis	626 ± _	424 ± 62	421 ± 123	457 ± 4	non mesuré	non mesuré	non mesuré
	Platyhypnidium	340 ± _	621 ± 217	286 ± 5	380 ± 59	590 ± _	non mesuré	non mesuré

ne peut donc pas parler de relargage dans une eau non contaminée. Toutefois, *in situ*, l'arrêt d'un rejet ne s'accompagne pas d'un retour immédiat à des concentrations normales. Les particules en suspension et les sédiments ont en effet un effet mémoire qui maintient la pollution pendant un certain temps. La diminution des concentrations dans l'eau au cours du temps est à corrélérer avec les renouvellements du milieu et avec la diminution du relargage par les mousses. L'interprétation des résultats s'appuiera sur les 3 paramètres suivants :

* La concentration à l'équilibre dans les mousses est la concentration observable lors du dernier temps de prélèvement soit après 17 jours de relargage.

* Le pourcentage de relargage est obtenu en soustrayant de 1, le rapport (en %) entre les concentrations en PCB à l'équilibre et les concentrations initiales en PCB dans les mousses au temps T_0 du relargage.

* Le facteur de contamination résiduelle est égal au rapport des concentrations à l'équilibre entre une condition expérimentale donnée et le témoin.

Les tableaux 61, 62 et 63 indiquent les concentrations mesurées dans les mousses, les pourcentages de relargage et les facteurs de contamination résiduelle.

Les figures 50, 51 et 52 illustrent l'évolution temporelle des concentrations en PCB dans les mousses en cours de déuration.

Les 2 espèces de mousses qui avaient été exposées à une concentration de 212 ng/L montrent, après 17 jours de déuration des % de relargage de l'ordre de 50%. Les concentrations n'évoluent plus significativement entre les 10^{èmes} et 17^{èmes} jours de déuration, ce qui traduit probablement un état proche de l'équilibre.

Avec les mousses issues du milieu contaminé par 422 ng/l, on observe également une réduction régulière des concentrations qui se stabilise vers le 10^{ème} jour de déuration. Les % de

TABLEAU 62 : Evolution temporelle des facteurs de contamination résiduelle au cours de la dépuración.

CONCEN PCB (ng/L)	Espèces de mousses	240 h	248 h	264 h	312 h	480 h	600 h	648 h	moyennes et écarts-types
212	Fontinalis	9,9	5,2	5,1	5,8	4,9	4,5	4,4	5,7 ± 1,9
	Platyhypnidium	6,2	4,8	5,8	5,4	5,3	4,8	3,4	5,1 ± 0,9
422	Fontinalis	19,7	20,5	21,2	19,8	15,5	13,1	9,5	17,0 ± 4,5
	Platyhypnidium	23,6	16,6	18,3	19,5	12,5	11,9	10,2	16,1 ± 4,8
1810	Fontinalis	118,5	101,2	117,9	99,6	72,8	69,3	53,2	90,4 ± 25,5
	Platyhypnidium	151,5	127,2	120,4	89,1	70,7	75,2	69,1	100,4 ± 32,6
Témoín	Fontinalis	1,2	0,8	0,8	0,9	n.d.	n.d.	n.d.	0,9 ± 0,2
	Platyhypnidium	0,7	1,4	0,6	0,8	1,3	n.d.	n.d.	1,0 ± 0,4

TABLEAU 63 : Paramètres à l'équilibre en fin de relargage.

Concent. PCB (ng/L)	Espèces de mousses	CONCENTRATION	% DE RELARGAGE	FACTEUR DE CONTAMINATION RESIDUELLE
212	Fontinalis	2 197	55,8	5,1
	Platyhypnidium	1 565	45,1	3,3
422	Fontinalis	4 800	51,8	11,1
	Platyhypnidium	4 700	56,6	10,0
1810	Fontinalis	26 793	55,1	61,7
	Platyhypnidium	31 681	54,4	67,7

FIGURE 50 Evolution temporelle des concentrations en PCB dans les mousses en cours de dépuraction.

Relargage des deux espèces préalablement intoxiquées dans une eau contaminée par 212 ng/L de PCB.

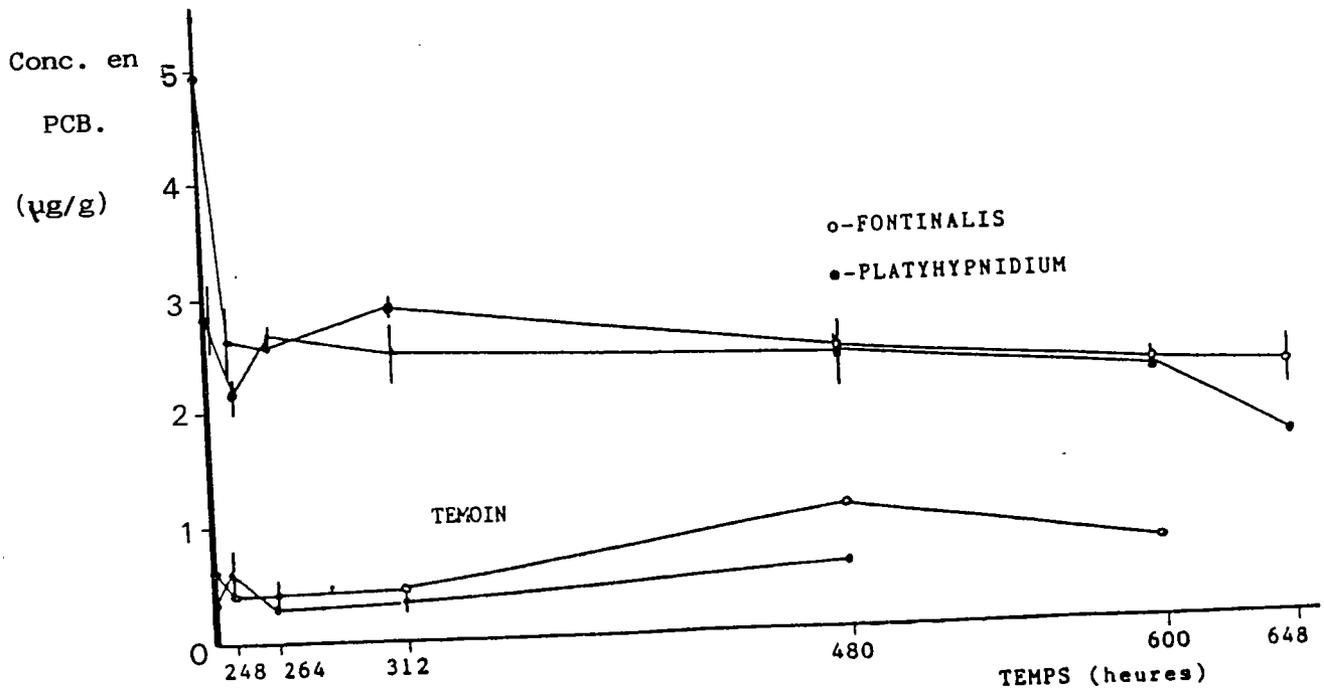


FIGURE 51 : Evolution temporelle des concentrations en PCB dans les mousses en cours de dépuraction.

Relargage des deux espèces préalablement intoxiquées dans une eau contaminée par 422 ng de PCB/L.

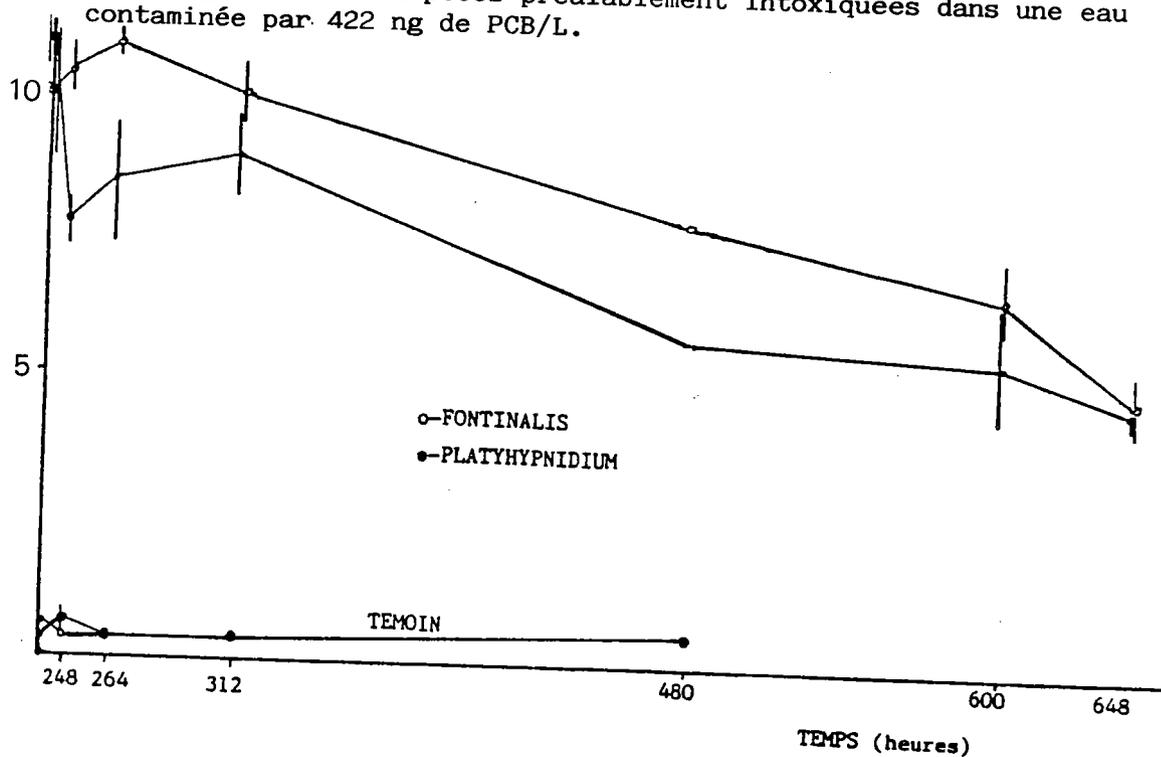
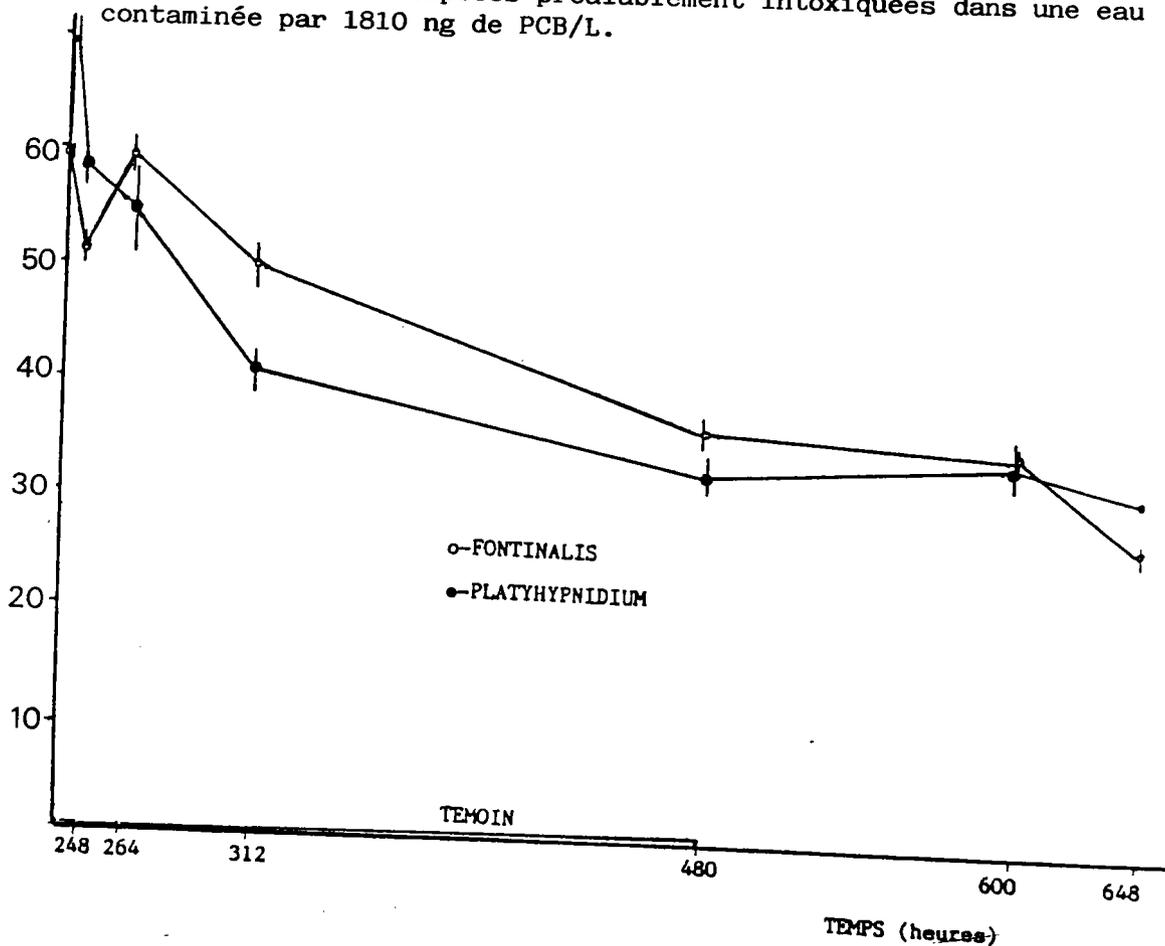


FIGURE 52 : Evolution temporelle des concentrations en PCB dans les mousses en cours de dépuraction.

Relargage des deux espèces préalablement intoxiquées dans une eau contaminée par 1810 ng de PCB/L.



relargage sont semblables à ceux des conditions expérimentales précédentes (54%).

Les mousses provenant des bacs contaminés par une concentration en PCB de 1810 ng/L présentent le même profil que les précédentes. Les quantités respectives de PCB éliminées après 17 jours de relargage sont de 55% et 54% pour *Fontinalis* et *Platyhypnidium*.

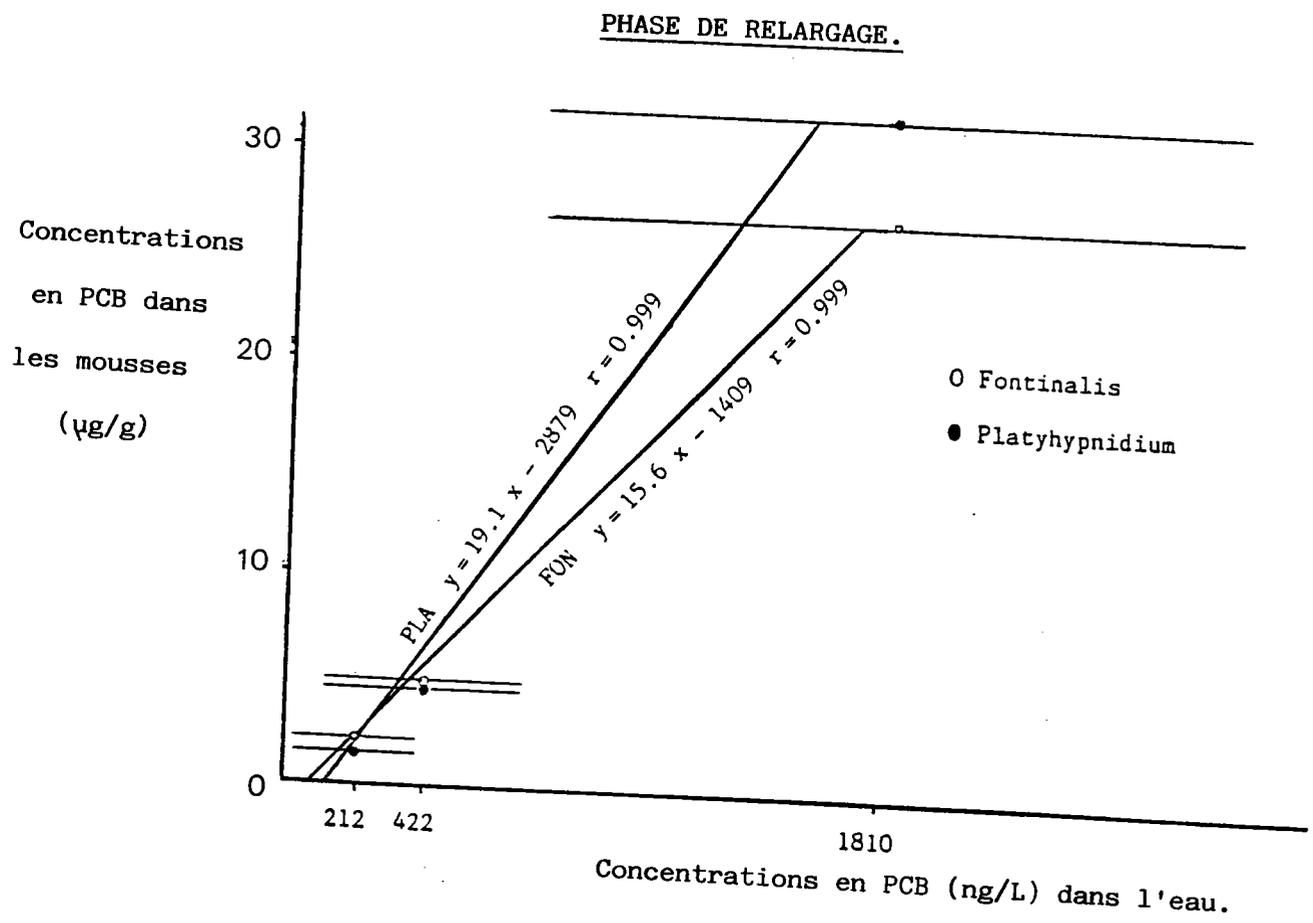
La comparaison des facteurs de contamination résiduelle en PCB ne montre pas de différences significatives (test de Student : 95%) entre les deux espèces de mousses. Les % moyens de relargage après 17 jours sont de 53% quelles que soient les espèces et les concentrations initiales en PCB. Les cinétiques de relargage des deux espèces sont également comparables.

Nous avons cependant remarqué qu'à partir du 15ème jour de dépuration, les cinétiques de relargage s'accéléraient. Ce phénomène concordait avec le développement d'une importante prolifération bactérienne, particulièrement avec les concentrations de 422 et de 1810 ng/L où un film de consistance visqueuse adhérait aux mousses ainsi qu'aux parois des bacs. Malgré plusieurs tentatives d'éliminations infructueuses, cette prolifération s'est poursuivie jusqu'à la fin de l'expérience, les mousses présentant alors quelques signes de dégradation (pigmentation brune). L'influence de ce phénomène sur les concentrations en PCB des mousses prélevées le 17ème jour n'a pas été estimée.

Les relations entre les concentrations moyennes à l'équilibre dans les mousses et les concentrations moyennes dans les milieux où avaient été réalisées les cinétiques d'accumulation sont illustrées à la figure 53.

Les droites de corrélation montrent donc qu'après 17 jours de relargage, les mousses gardent encore l'empreinte de leur pollution initiale. Les mousses les plus contaminées en début d'expérience le sont encore à la fin du relargage.

FIGURE 53 : Corrélations entre les concentrations en PCB dans les mousses en cours de dépuración et les concentrations en PCB dans l'eau.



Les relations sont linéaires pour les deux espèces avec des coefficients de corrélation supérieurs à 0,9997.

Fontinalis : $y = 15,6 x - 1\ 409$; $r = 0,9997$

Platyhypnidium : $y = 19,1 x - 2\ 879$; $r = 0,9997$

L'importance des facteurs de contamination résiduelle après 17 jours de relargage ainsi que la bonne linéarité entre les concentrations en PCB dans l'eau et dans les mousses sont de bons arguments pour justifier leur utilisation en tant que témoins *a posteriori* de pollutions accidentelles par les PCB. On peut en effet envisager des échantillonnages même plusieurs jours après la vague de pollution.

3.3.3.5 Bilan des concentrations en PCB dans les mousses.

Les concentrations dans l'eau pendant le relargage n'ayant été dosées que deux fois (les 2^{èmes} et 4^{èmes} jours de dépuración), nous avons dressé le bilan en PCB à l'aide des concentrations mesurées dans les mousses.

Les différences entre les teneurs en PCB des bryophytes au temps initial du relargage et les concentrations des mêmes mousses 10 jours plus tard permettent de calculer les quantités de PCB relarguées dans l'eau. En 10 jours, les mousses des 3 conditions expérimentales étudiées ont respectivement rejeté dans l'eau des bacs 185 μg , 487 μg et 2 585 μg .

Sur la base d'une masse initiale de 150 g de poids frais de mousses par espèce et par concentration étudiée et d'un échantillonnage moyen de 15 g de poids frais (4,5 g poids sec), nous avons, en tenant également compte du volume d'eau utilisé (7 200 L en 10 jours) calculé les concentrations théoriques en PCB dans l'eau de la phase de relargage.

Elles sont de 26 ng/l, 67 ng/l et 361 ng/L. Les divergences entre ces concentrations et les teneurs moyennes mesurées (86

ng/L, 153 ng/L et 252 ng/L) varient avec des facteurs multiplicatifs respectifs de 3,3 ; 2,3 et 0,7. Compte tenu des incertitudes inhérentes à l'installation expérimentale et aux dosages des PCB, on peut raisonnablement conclure à un accord correct entre les résultats et les concentrations théoriques.

3.3.4 Conclusions.

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

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

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

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

4 - SYNTHÈSE ET PERSPECTIVES

SYNTHESE ET PERSPECTIVES.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

surface des végétaux, à la nature et à l'abondance des polysaccharides membranaires (BUSH et al., 1986; ANDERSON et al., 1982). La composition biochimique des cires de protection des feuilles module également la bioaccumulation des composés organochlorés (THOMAS et al., 1984). RÜHLING & TYLER (1973) ont montré que les parois cellulaires des bryophytes sont riches en polysaccharides (acide polyuronique). A leur surface, il existe donc de nombreux groupements chimiques ayant un rôle potentiel de ligand pour les molécules organochlorées.

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

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

Les perspectives sont vastes. Si le potentiel de la méthode est large (surveillance conjointe de la micropollution métallique et organochlorée), les mécanismes de l'accumulation et la localisation cellulaire des micropolluants organochlorés sont encore inconnus. Un autre domaine de recherche consisterait à étudier les paramètres physico-chimiques de l'eau (pH, teneur en

carbone organique et abondance des particules en suspension) susceptibles d'influencer la biodisponibilité des organochlorés pour les mousses et par conséquence, leur bioaccumulation. L'étude non pas d'une période d'accumulation et de relargage mais de plusieurs vagues successives de pollution et de dépollution permettrait une interprétation judicieuse des données récoltées *in situ*.

5 - REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

- ABERNETHY S., A.M. BOBRA, W.Y. SHIU, P.G. WELLS & D. MACKAY, 1986. Acute lethal toxicity of hydrocarbons and chlorinated hydrocarbons to two planctonic crustaceans : the key role of organism-water partitioning. Aquat. Toxicol., 8, 163-174.
- ADDISON R.F., P.F. BRODIE & M.E. ZINCK, 1984. DDT has declined more than PCB in eastern canadian seals during the 1970s. Environ. Sci. Technol., 18, 935-937.
- AGENCE FINANCIERE DE BASSIN RHIN-NEUSE (AFBRM), 1983. Inventaire du degré de pollution des eaux superficielles (rivières et canaux). Volume II, Bassin Rhin-Neuse, F-57160 Moulins-Lès-Metz, France, 547 p.
- AHNOFF M. & B. JOSEFSSON, 1975. Clean-up procedures for PCB analysis on river water extracts. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 13, 159-166.
- ALLEN J.R. & L.J. ABRAHAMSON, 1973. Morphological and biochemical changes in the liver of rats fed poly-chlorinated biphenyls. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1, 205-209.
- ALLEN J.R. & D.A. BARSOTTI, 1976. The effects of transplacental and mammary movement of PCBs on rhesus monkeys. Toxicology, 6, 331-340.
- ALLEN J.R. & L. LAMBRECHT, 1978. Responses of rhesus monkeys to polychlorinated biphenyls. Toxicol. Appl. Pharmacol., 45, 340-342.
- ALLEN J.R., L.A. CARSTENS & D.A. BARSOTTI, 1974. Residual effects of short-term, low-level exposure of non human primates to polychlorinated biphenyls. Toxicol. Appl. Pharmacol., 30, 440-447.
- ALLEN J.R., L.K. LAMBRECHT & D.A. BARSOTTI, 1978. Effects of polychlorinated biphenyls in non-human primates. J. Amer. Vet. Med. Assn., 173, 1485-1492.
- ALVARES A.P., A. FISCHBEIN, K.E. ANDERSON & A. KAPPAS, 1977. Alterations in drug metabolism in workers exposed to polychlorinated biphenyls. Clin. Pharmacol. Therapeut., 22 (2), 140-146.
- ANDERSON M.L., C.P. RICE & C.C. CARL, 1982. Residues of PCB in a *Cladophora community* along the lake Huron shoreline. J. Great Lakes Res., 1, 196-200.
- ANONYME, 1985. Agrochemicals and their impact on the environment. Industry & Environnement., 8(3), 1-2.
- AQUATIC BIOLOGY GROUP, 1984. Pesticide and PCB levels in fish from Alberta (Canada). Chemosphere, 13, 19-32.
- ASWALD K., G. BURGERMEISTER, L. MACHADO & J. MOWRER, 1979. Etude préliminaire de la pollution du Léman par les PCB. Programme d'études postgrades en Génie de l'Environnement. Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Ecublens, Suisse, 124 p.
- ATKINSON R., 1987. Estimation of OH radical reaction rate constants and atmospheric lifetimes for polychlorobiphenyls, dibenzo-p-dioxins, and dibenzofurans. Environ. Sci. Technol., 21, 305-307.
- BACCI E. & C. GAGGI, 1986. Chlorinated pesticides and plant foliage : translocation experiments. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 37, 850-857.
- BACCI E., D. CALAMARI, C. GAGGI, C. BINEY, S. FOCARDI & M. NOROSINI, 1988. Organochlorine pesticide and PCB residues in plant foliage. Chemosphere, 17(4), 693-702.

- BACCI E., D. CALAMARI, C. GAGGI, R. FANELLI, S. FOCARDI & M. MOROSINI, 1986. Chlorinated hydrocarbons in lichen and moss samples from the Antarctic Peninsula. Chemosphere, 15 (6), 747-754.
- BAHN A.K., J.L. MILLS, P.J. GANN, L.O. HOUTEN, L. HOLLMANN & R.D. UTIGER, 1980. Hypothyroidism in workers exposed to polybrominated biphenyls. N. Engl. J. Med., 302, 31-44.
- BAKER J.E. S.J. EISENREICH, T.C. JOHNSON & B. HALPMAN, 1985. Chlorinated hydrocarbon cycling in the benthic nepheloid layer of Lake Superior. Environ. Sci. Technol., 19(9), 854-861.
- BALLSCHMITTER K. & M. ZELL, 1980. Analysis of polychlorinated biphenyls (PCB) by glass capillary gas chromatography. Presenius Z. Anal. Chem., 302, 20-31.
- BALUGA G., L.M. HERNANDEZ, M.J. GONZALES & M.C. RICO, 1982. Presence of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and mercury in Spanish human milk samples. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 28, 573-579.
- BANERJEE S., 1985. Calculation of water solubility of organic compounds with U.N.I.P.A.C. derived parameters. Environ. Sci. Technol., 19 (4), 369-370.
- BANERJEE S., R.H. SUGATT & D.P. O'GRADY, 1984. A simple method for determining bioconcentration parameters of hydrophobic compounds. Environ. Sci. Technol., 18 (2), 79-81.
- BARR M.Jr., 1981. Environmental contamination of human breast milk. Amer. J. Public. Health, 71, 124-139.
- BARSOZZI D.A. & J.P. VAN MILLER, 1984. Accumulation of commercial polychlorinated biphenyl mixture (Aroclor 1016) in adult rhesus monkeys and their nursing infants. Toxicology, 30, 31-34.
- BAXTER R.M. & A.D. SUTHERLAND, 1984. Biochemical and photochemical process in the degradation of polychlorinated biphenyls. Environ. Sci. Technol., 18, 608-610.
- BEDARD D.L., R. UNTERMAN, L.H. BOPP, J. BRENNAN, M.L. HABERL & C. JOHNSON, 1986. Rapid assay for screening and characterizing microorganisms for the ability to degrade polychlorinated biphenyls. Appl. Environ. Microbiol., 51, 761-768.
- BENGTSON S.A. & A. SÖDERGREN, 1974. DDT and PCB residues in airborne fallout and animals in Iceland. Ambio, 3 (2), 84-86.
- BENGTSSON B.E., 1980. Long-term effects of PCB (Chlophen A 50) on growth, reproduction and swimming performance in the minnow, *Phoxinus phoxinus*. Wat. Res., 14, 681-687.
- BERAN M., I. BRANDT & P. SLANINA, 1983. Distribution and effect of some polychlorinated biphenyls in the hemopoietic tissues. J. Toxicol. Environ. Health, 12, 521-532.
- BIGGAR J.W. & R.L. RIGGS, 1974. Apparent solubility of organo-chlorine insecticides in water at various temperatures. Hilgardia, 42, 383-391.
- BONNEFOY D. & A. BOURG, 1984. Estimation du fond géochimique naturel dans les sols et évaluation du niveau de pollution dues aux activités humaines : cas du versant de l'Orne, affluent de la Moselle. Rapport du BRGM, 84SGN 169 GMX, B.P. 6009, F645060 Orléans Cedex, 50 p & annexes.
- BOON J.P. & J.C. DUINKER, 1985. Processes determining the kinetics of PCB congeners in marine organisms : a comparison between laboratory and environmental studies. Mar. Environ. Res., 17, 301-305.
- BOON J.P., P.J.H. REIJNDERS, J. DOLS, P. WENSVOORT & T. HILLEBRAND, 1987. The kinetics of individual polychlorinated biphenyl congeners in female harbour seals (*Phoca vitulina*), with evidence for structure related metabolism. Aquat. Toxicol., 10, 307-324.

- BOON J.P., M.B. VAN ZANTVOORT, M.J.M.A. GOVAERT & J.C. DUINKER, 1985. Organochlorines in benthic polychaetes (*Nephtys spp.*) and sediments from the Southern North sea. Identification of individual PCB components. Neth. J. Sea Res., 19, 93-109.
- BREMOND R. & C. PERRONDON, 1979: Paramètres de la qualité des eaux. Eds.: MINISTERE DE L'ENVIRONNEMENT ET DU CADRE DE VIE, Direction de la prévention des pollutions, Service des problèmes de l'eau, 14 Bvd du Général Leclerc, F-92521 Neuilly-Sur-Seine, 259 p.
- BRITTON W.M. & T.M. HUSTON, 1972. Yolk content and hatchability of eggs from hens fed Aroclor 1242. Poultry Sci., 51, 1869-1873.
- BROOKE D.N., A.J. DOBBS & W. WILLIAMS, 1986. Octanol/water partition coefficient (P): Measurement, estimation and interpretation : particularly for chemicals with P>5. Ecotoxicol. Environ. Safety, 11 (3), 251-260.
- BROWN D.H. & G.W. BUCK, 1979. Dessiccation effects and cation distribution in bryophytes. New Phytol., 82, 115-125.
- BROWN D.P. & M. JONES, 1981. Mortality and industrial hygiene study of workers exposed to polychlorinated biphenyls. Arch. Environ. Health, 36, 120-129.
- BROWN M.P., M.B. WERNER, R.J. SLOAN & K.W. SIMPSON, 1985. Polychlorinated biphenyls in the Hudson river. Recent trends in the distribution of PCBs in water, sediment, and fish. Environ. Sci. Technol., 19(9), 1985.
- BROWN J.F., Jr. R. E. WAGNER, H. FENG, D.L. BEDARD, M.J. BRENNAN, J.C. CARNAHAN & R.J. MAY, 1987. Environmental dechlorination of PCBs. Environ. Toxicol. Chem., 6, 579-593.
- BUNYAN P.J. & J.M.J. PAGE, 1978. Polychlorinated biphenyls. The effects of structure of the induction of quail hepatic microsomal enzymes. Toxicol. Appl. Pharmacol., 43, 506-518.
- BURKHARD L.P., D.E. ARMSTRONG & W.A. ANDREN, 1985a. Henry'law constants for the polychlorinated biphenyls. Environ. Sci. Technol., 19, 590-596.
- BURKHARD L.P., D.E. ARMSTRONG & W.A. ANDREN, 1985b. Partitioning behavior of polychlorinated biphenyls. Chemosphere, 14, 1703-1716.
- BUSER H. R., H.P. BOSSHARDT, C. RAPPE & R. LINDHAL, 1978. Identification of polychlorinated dibenzofuran isomers in fly ash and PCB pyrolysis. Chemosphere, 7, 419-429.
- BUSH B., L.A. SHANE, L.R. WILSON, E.L. BARNARD & D. BARNES, 1986. Uptake of polychlorobiphenyl congeners by purple loosestrife (*Lythrum salicaria*) on the banks of Hudson river. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 15, 285-290.
- BUSH B., K.W. SIMPSON, L. SHANE & R.R. KOBLINTZ, 1985. PCB congener analysis of water and caddisfly larvae (Insecta : Trichoptera) in the upper Hudson river by glass capillary chromatography. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 34, 96-105.
- CAPEL P.D., R.A. RAPAPORT, S.J. EISENREICH & B.B. LOONEY, 1986. PCBQ : computerized quantification of total PCB congeners in environmental samples. Chemosphere, 14 (5), 439-450.
- CARLBERG G.E., K. MARTINSEN, A. KRINGSTAD, E. GJESSING, M. GRANDE, T. KALLQVIST & J.U. SKARE, 1986. Influence of aquatic humus on the bioavailability of chlorinated micropollutants in Atlantic Salmon. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 15, 543-548.
- CECIL H.C., J. BITMAN & R.J. LILLIE, 1974. Embryotoxic and teratogenic effects in unhatched fertile eggs from hens fed polychlorinated biphenyls (PCBs). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 6, 489-495.

- CECIL H.C., S.J. HARRIS & J. BITMAN, 1975. Effects of polychlorinated biphenyls and terphenyls and polybrominated biphenyls on pentobarbital sleeping times of Japanese quail. Arch. Environm. Contam. Toxicol., 3 (2), 183-192.
- CHIOU C.T., 1985. Partition coefficients of organic compounds in lipid-water systems and correlations with fish bioconcentration factors. Environ. Sci. Technol., 19 (1), 57-62.
- CHIOU C.T., V.H. FREED, D.W. SCHNEEDING & R.L. KOHNERT, 1977. Partition coefficient and bioaccumulation of selected organic chemicals. Environ. Sci. Technol., 11, 475-478.
- CHIOU C.T., R.L. MALCOLM, T.I. BRINTON & D.E. KILE, 1986. Water solubility enhancement of some organic pollutants and pesticides by dissolved humic and fulvic acids. Environ. Sci. Technol., 20(5), 502-508.
- CLARK D.R. Jr., 1978. Uptake of dietary PCB by pregnant big brown bats (*Eptesicus fuscus*) and their fetuses. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 19, 707-714.
- CLARK J.R., J.M. PATRICK, J.C. MOORE & J. FORESTER, 1986. Accumulation of sediment-bound PCBs by fiddler crabs. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 36, 571-578.
- CORBETT J., P.W. ALBRO, K. CHAE & S. JORDAN, 1982. The relation-ship between metabolism of 2,3,4,5,3',4',5'-heptachloro-biphenyl and its ability to induce both cytochrom P-448 and P-450. Chem. Biol. Interactions, 39, 331-337.
- CORDELE F., P. CORNELIUSSEN, C. JELINEK, G. HACKLEY, R. HEBMAN, J. McLAUGHLIN, R. RHODEN & R. SHAPIRO, 1979. Human exposure to polychlorinated biphenyls and polybrominated biphenyls. Environ. Health Perspect., 24, 157-162.
- COSPER E.M., C.F. WURSTER & R.G. ROWLAND, 1984. PCB resistance within phytoplankton populations in polluted and unpolluted marine environments. Mar. Environ. Res., 12, 209-223.
- CUTKOMP L.K., H.H. YAP, E.Y. CHENG & R.B. KOCH, 1971. ATPase activity in fish tissue homogenates and inhibitory effects of DDT and related compounds. Chem. Biol. Interactions, 3, 439-447.
- De ALENCASTRO L.F. & J. TARRADELLAS, 1983. Etude de la concentration en PCB des eaux usées dans les stations d'épuration. Gaz-Eaux-Eaux usées, 63, 113-122.
- De ALENCASTRO L.F., J. PRELAZ & J. TARRADELLAS, 1985. An improved quantitation method used to determine the origin of PCB in wastewaters : the index of similarity. Intern. J. Environ. Anal. Chem., 22, 183-201.
- DELVAL C., S. FOURNIER & Y. VIGNEAULT, 1986. Polychlorinated biphenyl residues in some marine organisms from the Baie des Anglais (Baie-Comeau, Quebec, Saint Lawrence estuary). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 37, 823-829.
- DENIS-LEMPEREUR, 1986. La dioxine habite au 21. Libération, 17 avril 1986.
- DEQUIDT J., F. ERB, J. POMMERY & P. COLEIN, 1976. Etude toxicologique expérimentale de quelques isomères du trichlorobiphényle. Eur. J. Toxicol., 9(1), 23-29.
- DERR S.K., 1978. *In vivo* metabolism of exogenous progesterone by PCB treated female rats. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 19, 729-732.
- DESAIAH D., L.K. CUTKOMP, H.H. YAP & R.B. KOCH, 1972. Inhibition of oligomycin-sensitive and -insensitive magnesium adenosine triphosphatase activity in fish by polychlorinated biphenyls. Biochem. Pharmac., 21, 857-865.
- DICKUT R.M., A.W. ANDREN & D.E. ARMSTRONG, 1986. Aqueous solubilities of six polychlorinated biphenyl congeners at four temperature. Environ. Sci. Technol., 20, 807-810.

- DIETER M.P., 1974. Influence of environmental contaminants on biochemical adaptation to stress in birds. Toxicol. Appl. Pharmacol., 29, 110-113.
- DIGIOVANNI J., A. VIAJE, D.L. BERRY, T.J. SLAGA & M.R. JUCHAU. 1977. Tumor initiating ability of 2,3,7,8 tetrachlorodibenzo p dioxin (TCDD) and Aroclor 1254 in the two stage system of mouse skin carcinogenesis. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 18, 552-557.
- DILKS T.J.K. & M.C.F. PROCTOR. 1975. Comparative experiments on temperature responses of bryophytes : assimilation, respiration and freezing damage. J. Bryol., 8, 317-336.
- DOUCETTE W.J. & A.W. ANDREN. 1987. Correlation of octanol/water coefficients and total molecular surface area for highly hydrophobic aromatic compounds. Environ. Sci. Technol., 21 (8), 821-824.
- DUINKER J.C., 1986. The role of small, low density particules on the partition of selected PCB congeners between water and suspended matter (North Sea area). Neth. J. Sea Res., 20(3), 229-238.
- DUINKER J.C., M.T.J. HILLEBRAND & J.P. BOON, 1983. Organochlorines in benthic invertebrates and sediments from the dutch wadden sea : identification of individual PCB components. Neth. J. Sea Res., 17, 19-38.
- DUINKER J.C., M.T.J. HILLEBRAND & R.F. NOLTING, 1985. The river Ems : Processes affecting the behaviour of metals and organochlorines during estuarine mixing. Neth. J. Sea Res., 19(1), 19-29.
- DUNK Von Der K. & K. Von Der DUNK, 1977. Laubmoose in fliessendem Wasser. Mikokosmos, 66, 101-105
- DUNN W.J., D.L. STALLING, T.R. SCHWARTZ, J.W. HOGAN, J.D. PETTY, E. JOHANSSON & S. WOLD, 1984. Pattern recognition for classification and determination of polychlorinated biphenyls in environmental samples. Anal. Chem., 56, 1308-1313.
- DURST H.I., L.B. WILLETT, C.J. BRUMM & P.L. SCHANABACHER. 1978. Changes in blood and urine composition from feeding polybrominated biphenyls to pregnant Holstein heifers. J. Dairy Sci., 61, 197-205.
- DUURSMAN E.K., J. NIEUWENHUIZE, J.M. VAN LIERE & M.T.J. HILLEBRAND, 1986. Partitioning of organochlorines between water, particulate matter and some organisms in estuarine and marine systems of the Netherlands. Neth. J. Sea Res., 20 (2/3), 239-251.
- ECOBICHON D.J. & A.M. COMBEAU, 1975. Isomerically pure chlorobiphenyl congeners and hepatic function in the rat : influence of position and degree of chlorination. Toxicol. Appl. Pharmacol., 33(1), 94-105.
- EDGREN M., M. OLSSON & L. RENBERG. 1979. Preliminary results on uptake and elimination at different temperatures of pp'-DDT and two chlorobiphenyls in perch from brackish water. Ambio, 8(6), 270-272.
- EISENREICH S.J., G.J. HOLLOD, T.C. JOHNSON & J. EVANS, 1980. Polychlorinated biphenyls and other microcontaminant-sediment interactions in lake Superior. In: Contaminants and sediments, R.A. BAKER Ed., Ann. Arbor Science Publishers, 1, 67-94.
- EISENREICH S.J., G.J. HOLLOD & T.C. JOHNSON. 1981. In : Atmospheric inputs of pollutants to natural waters. S. EISENREICH Ed., Ann. Arbor Science Publishers, MI, 425-444.
- EKELUND R., A. GRANMO, M. BERGGREN, L. RENBERG & C. WAHLBERG, 1987. Influence of suspended solids on bioavailability of hexachlorobenzene and lindane to the deposit-feeding marine bivalve. *Abra nitida* (Muller). Bull. Environ. Toxicol., 38, 500-508.

- ELDER J.F. & H.C. MATTRAW, 1984. Accumulation of trace elements, pesticides, and polychlorinated biphenyls in sediments and the clam *Corbicula manilensis* of the Apalachicola river, Florida. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 13, 453-469.
- EMMETT E.A., 1985. Polychlorinated biphenyl exposure and effects in transformer repair workers. Environ. Health Perspec., 60, 185-192.
- EMPAIN A., 1973a. Les bryophytes aquatiques utilisés comme traceurs de la contamination en métaux lourds des eaux douces. Mém. Soc. Roy. Bot. Belg., 7, 141-156.
- EMPAIN A., 1973b. La végétation bryophytique aquatique et subaquatique de la Sambre belge, son déterminisme écologique et ses relations avec la pollution des eaux. Lejeunia, 69, 1-58.
- EMPAIN A., 1976. Estimation de la pollution par les métaux lourds dans la Somme par l'analyse des bryophytes aquatiques. Bull. Fr. Pisc., 260, 138-142.
- EMPAIN A., 1977. Ecologie des populations bryophytiques aquatiques de la Meuse, de la Sambre et de la Somme. Relations avec la qualité des eaux, écophysiologie comparée et étude de la contamination par les métaux lourds. Mém. Doct. Sci. Bot., Univ. de Liège, 179 p.
- EMPAIN A., 1978. Relations quantitatives entre les populations de bryophytes aquatiques et la pollution des eaux courantes. Définition d'un indice de qualité des eaux. Hydrobiol., 60, 49-74.
- EMPAIN A., J. LAMBINON, C. MOUVET & R. KIRCHMANN, 1980. Utilisation des bryophytes aquatiques et subaquatiques comme indicateurs biologiques de la qualité des eaux courantes. In "La pollution des eaux continentales", 2^e éd., P. Pesson, Ed., Gauthier-Villars, Paris, 195-223.
- FARBER T., L. KASZA, A. GIOVETTI, C. CARTER, F. EARL & T. BALZAS, 1978. Effect of polybrominated biphenyls (fire master BP-6) on the immunological system of the beagle dog. Toxicol Appl. Pharmacol., 45, 343-346.
- FARRENKOTHEM I., 1985. Sample preparation and analysis conditions. In : Polychlorinated biphenyls (PCB). Determination in sewage sludges and related samples. R. LESCHBER, J. TARRADELLAS & P. L'HERMITE, Eds. Commission of the European Communities COST 681, 96pp.
- FELT G.R., W.P. MUELLER, M.J. IATROPOULOS, F. COULSTON & P. KORTE, 1977. Chronic toxicity of 2,5,4'-trichlorobiphenyl in young rhesus monkeys. I. Body distribution, elimination, and metabolism. Toxicol. Appl. Pharmacol., 41, 619-627.
- FINGERMAN S.W. & L.C. RUSSEL, 1980. Effects of the polychlorinated biphenyl Aroclor 1242 on locomotor activity and the neurotransmitters dopamine and norepinephrine in the brain of the gulf killifish, *Fundulus grandis*. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 25, 682-686.
- FISHBEIN L., 1974. Toxicity of chlorinated biphenyls. Annu. Rev. Pharmacol., 14, 139-156.
- FISHER S.W., 1985. Effects of pH on the toxicity and uptake of C14 lindane in the midge, *Chironomus riparius*. Ecotoxicol. Environ. Safety, 10, 202-208.
- FORTNER A.R. & L.V. SICK, 1985. Simultaneous accumulations of naphtalene, a PCB mixture, and benzo (a) pyrene, by the oyster, *Crassostrea virginica*. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 34, 256-264.
- FREEMAN H.C. & G.B. SANGALANG, 1977. A study of the effects of methyl mercury, cadmium, arsenic, selenium, and a PCB, (Aroclor 1254) on adrenal and testicular steroidogenesis *in vitro*, by the gray seal, *Halichoerus grypus*. Arch. Environ. Contamin. Toxicol., 5, 369-383.
- FRIEND M. & D.O. TRAINER, 1970. Polychlorinated biphenyl interaction with duck hepatitis virus. Science., 170, 1314-1321.

- FRISQUE G., 1981. Accumulation par des bryophytes aquatiques de la Meuse de deux micropolluants : les polychlorobiphényles et le gamma-HCH. Mémoire Lic. Sci. Sanitaires Assainissement. Univ. Liège (Belgium), Fac. Médecine, 152 p..
- FRISQUE G.E., M. GALOUX & A. BERNES, 1983. Accumulation de deux micropolluants (les polychlorobiphényles et le gamma-HCH) par des bryophytes aquatiques de la Meuse. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent, 48/4, 971-983.
- FUJIWARA K., 1975. Environmental and food contamination with PCBs in Japan. Sci. Total Envir., 4, 219-223.
- GALASSI S., G. GANDOLFI & G. PACCHETTI, 1981. Polychlorinated hydrocarbons in fish from the river Po (Italy). Sci. Total Envir., 20, 231-240.
- GARDNER A.M., J.T. CHEN, J.A.G. ROACH & E.P. RAGELIS, 1973. Polychlorinated biphenyls : hydroxylated urinary metabolites of 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl identified in rabbits. Bioch. Bioph. Res. Comm., 55 (4), 1377-1385.
- GELLERT R.J., 1978. Uterotrophic activity of polychlorinated biphenyls (PCB) and induction of precocious reproductive aging in neonatally treated female rats. Environ. Res., 16, 123-130.
- GERMAIN A. & C. LANGLOIS, 1988. Contamination des eaux et des sédiments en suspension du fleuve St Laurent par les pesticides organochlorés et les biphényles polychlorés (1981 à 1987). Environnement Canada, Direction des eaux intérieures, Longueuil (soumis au Water Poll. Res. J. Canada).
- GEYER H., D. FREITAG & F. KORTE, 1984. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in the marine environment, particularly in the Mediterranean. Ecotoxicol. Environ. Safety, 8, 129-151.
- GEYER H., P. SHEEHAN, D. KOTZIAS, D. FREITAG & F. KORTE, 1982. Prediction of ecotoxicological behaviour of chemicals : relationship between physico-chemical properties and bioaccumulation of organic chemicals in the mussel *Mytilus edulis*. Chemosphere, 11, 1121-1134.
- GILBERTSON M., 1983. Etiology of chick edema disease in herring gulls in the Lower Great Lakes. Chemosphere, 12, 357-366.
- GILMAN A.P., F.A. FOX, D.B. PEAKALL, S.M. TEEPLE, T.R. CAROLL & G.T. HAYMES, 1977. Reproductive parameters and contaminant levels of Great Lakes herring gulls. J. Wildlife Manage., 41, 458-462.
- GLINE J.M., 1971. Response of two species of *Fontinalis* to field isolation from stream water. The Bryol., 74, 383-386.
- GLINE J.M., 1978. Insect utilization of bryophytes. The Bryol., 13, 257-262.
- GLINE J.P., 1984. Physio-ecological factors relating to reproduction and phenology in *Fontinalis dalecarlica*. The Bryol., 87, 17-23.
- GLINE J.P. & R.E. CARR, 1974. Temperature survival of *Fontinalis novae-angliae* Sull. The Bryol., 77, 17-22.
- GLINE J.P., P.C. NISSILA, S.B. TRYNSKI & M.D. FORNWALL, 1979. A model for attachment of aquatic mosses. J. Bryol., 10, 313-320.
- GLINE J.P. & D.H. VITT, 1984. The physiological adaptations of aquatic Musci. Lindbergia, 10, 41-52.
- GOLDSTEIN J.A., P. HICKMAN & D.L. JUE, 1974. Experimental hepatic porphyria induced by polychlorinated biphenyls. Toxicol. Appl. Pharmacol., 27, 437-445.

- GOLDSTEIN J.A., P. HICKMAN, P. BERGMAN & V BURSE, 1975. A comparative study of two polychlorinated mixture (Aroclor 1242 and 1016) containing 42% chlorine on induction of hepatic porphyria and drug metabolizing enzymes. Toxicol. Appl. Pharmacol., 32, 461-468.
- GONNORD M.F., F.W. KARASER & C. FINET, 1985. Formation de dioxines et de chlorobenzènes à partir de PVC dans un incinérateur de déchets urbains. Techniques et Sciences Municipales., 80 (5), 211-216.
- GOOCH J.A. & M.K. HANDY, 1983. Uptake and concentration factor of Aroclor 1254 in aquatic organisms. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 31, 445-452.
- GOSSET R.W., D.A. BROWN & D.R. YOUNG, 1983. Predicting the bioaccumulation of organic compounds in marine organisms using octanol/water partition coefficients. Mar. Pollut. Bull., 14 (10), 387-392.
- GRANHALL U. & H. SELANDER, 1973. Nitrogen fixation in a subarctic mire. Oikos, 24, 8-15.
- GREENLEE W. F. & R.D. IROWS, 1981. Modulation of benzene-induced lymphocytopenia in the rat by 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl and 3,4,4',5'-tetrachlorobiphenyl. Chem. Biol. Interactions, 30, 271-277.
- GREICHUS Y.A., A. GREICHUS, H.A. DRAAYER & B. MARSHALL, 1978a. Insecticides, polychlorinated biphenyls and metals in African lakes ecosystems. II Lake Mc Iiwaine, Rhodesia. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 19, 445-454.
- GREICHUS Y.A., A. GREICHUS, B.D. ANMANN & J. HOPCRAFT, 1978b. Insecticides, polychlorinated biphenyls and metals in African lake ecosystems. III Lake Nakuru, Kenya. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 19 455-461.
- GROTE W., A. SCHNOLDT & H.F. BENTHE, 1975. Hepatic porphyrin synthesis in rats after pretreatment with polychlorinated biphenyls (PCB). Acta Pharmacol. Toxicol., 36, 215-220.
- GSCHWEND P.M. & S. WU, 1985. On the constancy of sediment-water partition coefficients of hydrophobic organic pollutants. Environ. Sci. Technol., 19, 90-96.
- GUPTA B.H., E.E. Mc CONNELL, J.A. GOLDSTEIN, M.W. HARRIS & J.A. MOORE, 1983. Effect of a polybrominated biphenyl mixture in the rat and mouse. I. Six-month exposure. Toxicol. Appl. Pharmacol., 68, 1-7.
- HARRIS S.J., H.C. CECIL, J. BITMAN & R.J. LILLIE, 1976. Antibody reponse and reproduction in bursa of Fabricius and spleen weight of progeny of chickens fed PCBs. Poultry Sci., 55, 1933-1937.
- HASSET J.P. & E. MILICIC, 1985. Determination of equilibrium and rate constants for binding of a polychlorinated biphenyl congener by dissolved humic substances. Environ. Sci. Technol., 19, 638-643.
- HEATH R.G., J.W. SPANN, E.F. HILL & J.F. KREITZER, 1972. Comparative dietary toxicities of pesticides to birds. U.S. Fish and Wildlife Service Special Science. Rep. Wildlife, No 151.
- HEINZ G.H., E.F. HILL & J.F. CONTRERA, 1980. Dopamine and norepinephrine depletion in Ring Doves fed DDE, dieldrin and Aroclor 1254. Toxicol. Appl. Pharmacol., 53, 75-82.
- HEINZ G.H., D.M. SWINEFORD & D.E. KASTNA, 1984. High PCB residues in birds from the Sheboygan river, Wisconsin. Environ. Monit. Assessment, 4, 155-161.
- HELLE E., M. OLSSON & S. JENSEN, 1976. PCB levels correlated with pathological changes in seal uteri. Ambio, 5(5-6), 261-263.

- HERNANDEZ F.H., F.J. LOPEZ BENET, J.M. ESCRICHE & J.C. BARBERA UBEDA, 1987. Sulfuric acid clean-up and KOH-ethanol treatment for confirmation of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls : Application to wastewater samples. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 4 (70), 726-734.
- HIGUCHI K., Ed., 1976. PCB poisoning and pollution. Academic Press, N.Y., 1976.
- HOLDRINET M.W., H.F. BRAUN, R. FRANK, G.J. STOPPS, M.S. SMOUT & J.W. McWADE, 1977. Organochlorine residues in human adipose tissue and milk from Ontario residents 1969-1974. Can. J. Publ. Health, 68, 74-89.
- HOWARD S.K., P.R. WERNER & S.D. SLEIGHT, 1980. Polybrominated biphenyls toxicosis in swine : effects on some aspects of the immune system in lactating sows and their off spring. Toxicol. Appl. Pharmacol., 55, 146-149.
- HUCK M.C., 1987. Influence de la température sur l'accumulation de zinc par les mousses en laboratoire. Mém. Stage IUT. Laboratoire d'Ecologie de l'Univ. de Metz, F-57000, METZ, 47 p.
- HUTZINGER O., D. NASH, S. SAFE, R.J. NORSTROM, D.J. WILDISH & V. ZITKO, 1972. Polychlorinated biphenyls : metabolic behavior of pure isomers in pigeons, rats and brook trout. Science, 178, 312-315.
- HUTZINGER O., S. SAFE & D. JONES, 1975. The mechanism of chlorobiphenyl metabolism. J. Agr. Food Chem., 23(5), 851-853.
- HUTZINGER O., S. SAFE & V. ZITKO, 1974. The chemistry of PCB's. CRC Press Inc, Boca Raton, Florida 33431, 269 p
- HUTZINGER O., S. SAFE & V. ZITKO, 1974. Photodegradation of chlorobiphenyls. In : The chemistry of PCB's. CRC Press Inc, Boca Raton, Florida 33431, 133-149.
- JACKSON W.A. & R.J. VOLK, 1970. Photorespiration. Ann. Rev. Plant Physiol., 6, 421-429.
- JANSSON B., S. JENSEN, M. OLSSON, L. RENBERG, G. SUNDSTRÖM & R. VAR, 1975. Identification by GC-MS of phenolic metabolites of PCB and pp'DDE isolated from Baltic guillemot and seal. Ambio, 4 (2), 53-61.
- JAPENGA J., W. J. WAGENAAR, F. SNEDES & W. SALOMONS, 1987. A new, rapid clean-up procedure for the simultaneous determination of different groups of organic micropollutants in sediments ; application in two european estuarine sediment studies. Environ. Technol. Let., 8 (1), 9-20.
- JENSEN S., 1972. The PCB story. Ambio, 1 (4), 123-131.
- JENSEN S. & B. JANSSON, 1976. Methyl sulfone metabolites of PCB and DDE. Ambio, 5, 257-259.
- JENSEN S., B. JANSSON & M. OLSSON, 1979. Number and identity of anthropogenic substances known to be present in Baltic seals and their possible effects on reproduction. Ann. N.Y. Acad. Sci., 320, 436-442.
- JENSEN S., J.B. KIHLSTRÖM, M. OLSSON, C. LUNDBERG & J. ÖRBERG, 1977. Effects of PCB and DDT on mink (*Mustela vison*) during the reproductive season. Ambio, 6 (4), 239.
- JENSEN S. & J. MOWRER, 1985. Analysis of dried sewage sludge (sample M 4). In : Polychlorinated biphenyls (PCB). Determination in sewage sludge and related samples. R. LESCHBER, J. TARRADELLAS & P. L'HERMITE, Eds.. Commission of the European Communities. SL/111/85, 96 p.
- JENSEN S., L. RENBERG & M. OLSSON, 1972. PCB contamination from boat bottom paint and levels of PCB in plankton outside a polluted area. Nature, 240 (5380), 358-360.

- JENSEN S. & G. SUNDSTRÖM, 1974. Structure and levels of most chlorobiphenyls in the technical PCB products and in human adipose tissue. Ambio, 3 (2), 70-76.
- JONES K.C., P.J. PETERSON & B.E. DAVIES, 1985. Silver and other metals in some aquatic Bryophytes from streams in the land mining District of Mid-Wales, Great Britain. Water Air Soil Pollut., 24, 329-338.
- JONSSON H.T., E.M. WALKER, W.B. GREENE, M.D. HUGHSON & G.R. HENNIGAR, 1981. Effects of a prolonged exposure to dietary DDT and PCB on rat liver morphology. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 10, 171-178.
- KANAMOORTHY S., 1985. Competition of fate processes in the bioconcentration of lindane. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 34, 349-358.
- KANPS L.V.R., W.J. TROTTER, S.J. YOUNG, L.J. CARSON, J.A.G. ROACH, J.A. SPHON, J.T. TANNER & B. McNAHON, 1978. Polychlorinated quaterphenyls identified in rice oil associated with Japanese "Yusho" poisoning. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 20, 589-601.
- KARATSUNE M., T. YOSHIMARA, J. MATSUZAKA & A. YAMAGUCHI, 1972. Epidemiologic study on Yusho : a poisoning caused by ingestion of rice oil contaminated with a commercial brand of polychlorinated biphenyls. Environ. Health Perspec., 1, 119-129.
- KARICKHOFF S.W., D.S. BROWN & T.A. SCOTT, 1979. Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. Wat. Res., 13 (3), 241-248.
- KECK G., 1977. Etude écologique et toxicologique d'un micropolluant aquatique-type : les biphényles polychlorés (P.C.B.). Rev. Méd. Vét., 128 (1), 25-49.
- KECK G., 1981. Effets de la contamination par les polychlorobiphényles (PCB) sur le développement de la tumeur d'Ehrlich chez la souris SWISS. Toxicol. European Res., 3 (5), 229-236.
- KECK G. & J. RAFFENOT, 1979. Etude écotoxicologique de la contamination chimique par les PCB dans la rivière du Furans (Ain). Rev. Méd. Vét., 130, 339-358.
- KENAGA E.E. & C.A.I. GORING, 1980. Relationship between water solubility, soil sorption, octanol-water partitioning and bioconcentration of chemicals in biota. In Aquat. Toxicol. (J.G. BAYON, P.R. PARRISH & A.C. HENDRICKS eds.), 707, 78 - 115, American Society for Testing and Materials. ASTM-STP.
- KERVILLET M.I. & D.J. KIMELDORF, 1977. Antitumor activity of polychlorinated biphenyl mixture, Aroclor 1254, in rats inoculated with Walker 256 carcinosarcoma cells. J. Natl. Cancer Inst., 59, 951-954.
- KIHLSTRÖM J.E., J. ÖRBERG, C. LUNDBERG & P.O. DANIELSSON, 1974. Post-natal growth in mice sucking milk containing PCB or DDT. Ambio, 3 (6), 231-233.
- KIMBROUGH R.D., J. BUCKLEY, L. FISHBEIN, G. FLANN, L. KASZA, W. MARCUS S. SHIBKO & R. TESKE, 1978. Animal toxicology. Environ. Health Perspec., 24, 173-189.
- KIMBROUGH R.D. & R.E. LINDER, 1974. Induction of adenofibrosis and hepatomas in the liver of BALB/cJ mice by polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254). J. Natl. Cancer Inst., 53, 547-560.
- KIMBROUGH R.D., R.E. LINDER, V.W. BURSE & R.W. JENNIGS, 1973. Adenofibrosis in the rat liver. Arch. Environ. Health, 27, 390-393.
- KIMBROUGH R.D., R.E. LINDER & T.B. GAINES, 1972. Morphological changes in livers of rats fed polychlorinated biphenyls. Arch. Environ. Health, 27, 390-399.

- KIMBROUGH R.D., R.A. SQUIRE, R.E. LINDER, J.D. STRANDBERG, R.J. MONTALI & V.W. BURSE, 1975. Induction of liver tumors in Sherman strain female rats by polychlorinated biphenyl Aroclor 1260. J. Natl. Cancer Inst., 55, 1453-1463.
- KOCK W.C., 1981. Accumulation of cadmium and polychlorinated biphenyls by *Mytilus edulis* transplanted from pristine water into pollution gradients. Can. J. Fish Aquat. Sci., 40 (Supp. 2), 282-294.
- KOLLER L.D. & J.G. ZINKL, 1973. Pathology of polychlorinated biphenyls in rabbits. Amer. J. Pathol., 70, 363-367.
- KOSHIOKA M., J. KANAZAWA, H. IIZUKA & T. MURAI, 1987. Photodegradation of decachlorobiphenyl. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 38, 409-415.
- KREITZER J.P. & G.H. HEINZ, 1974. The effect of sublethal dosages of five pesticides and polychlorinated biphenyl on the avoidance response of coturnix quail chicks. Environ. Pollut., 6, 21-25.
- KUEHL D.W., E.N. LEONARD, B.C. BUTTERWORTH & K.L. JOHNSON, 1983. Polychlorinated chemical residues in fish from watersheds near the Great Lakes, 1979. Environ. International, 9, 293-299.
- KUTZ F.W., S.C. STRASSMAN & J.P. SPERLING, 1979. Survey of selected organochlorine pesticides in the general population of the United State : fiscal years 1970-1975. Ann. N.Y. Acad. Sci., 320, 60-68.
- LANDRUN P.F., S.R. NIHART, B.J. EADIE & W.S. GARDNER, 1984. Reverse phase separation method for determining pollutant binding to Aldrich humic acid and dissolved organic carbon of natural waters. Environ. Sci. Technol., 18, 187-192.
- LARSEN B.L., N. LOKKE & L. RASMUSSEN, 1985. Accumulation of chlorinated hydrocarbons in moss from artificial rainwater. Oikos, 44, 423-429.
- LARSSON P., 1984. Sedimentation of polychlorinated biphenyls (PCB) in limnic and marine environments. Wat. Res., 18, 1389-1394.
- LEE M.C., E.S.K. CHIAN & R.A. GRIFFIN, 1979. Solubility of polychlorinated biphenyls and capacitor fluid in water. Wat. Res., 13, 1249-1258.
- LEGLISE L. & C. CROCHARD, 1987. Vérification expérimentale du choix de *Dreissena polymorpha* PALLAS (Lamellibranche) comme bioindicateur de contamination métallique. Naturaliste Can. (Rev. Ecol. Syst.), 114, 315-323.
- LIDMAN U., L. FORLIN, O. MOLANDER & G. AXELSON, 1976. Induction of the drug metabolizing system in rainbow trout (*Salmo gairdnerii*) liver by polychlorinated biphenyls (PCB). Acta Pharmacol. Toxicol., 2, 262-272.
- LIGHT J.J. & R.I. LEWIS SMITH, 1976. Deep-water bryophytes from the highest Scottish lochs. J. Bryol., 9, 55-62.
- LLOYD J.W., R.M. MOORE Jr, B.S. WOOLF & H.P. STEIN, 1976. Polychlorinated biphenyls. J. Occup. Med., 25 (3), 86-94.
- MAC H.J. & J.G. SEELYE, 1981. Patterns of PCB accumulation by fry of lake trout. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 27, 368-375.
- MACKAY D. & B. POWERS, 1987. Sorption of hydrophobic chemicals from water : a hypothesis for the mechanism of the particle concentration effect. Chemosphere, 16, 745-757.
- MAISS M., 1988. Pers. Communication.

- MARONI M., A. COLUMBI, S. CANTONI, E. PERIOLI & V. FOA. 1981a. Occupational exposure to polychlorinated biphenyls in electrical workers. I. Environmental and blood chlorinated biphenyls concentrations. Br. J. Ind. Med., 38, 49-54.
- MARONI M., A. COLOMBI, S. CANTONI, E. PERIOLI & V. FOA. 1981b. Occupational exposure to chlorinated biphenyls in electrical workers. II. Health effects. Br. J. Ind. Med., 38, 55-60.
- NASSE R., D. MARTINEAU, L. TREMBLAY & P. BELAND. 1986. Concentrations and chromatographic profile of DDT metabolites and polychlorobiphenyl (PCB) residues in stranded beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the St Lawrence estuary, Canada. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 15, 567-579.
- MATTHEW A., G. FRIES, A. GARDNER, L. GARTHOFF, J. GOLDSTEIN, Y. KU & J. MOORE. 1978. Metabolism and biochemical toxicity of PCBs and PBBs. Environ. Health Perspect., 24, 147-156.
- MAYER F.L., P.M. MEHRLE & H.O. SANDERS. 1977. Residue dynamics and biological effects of polychlorinated biphenyls in aquatic organisms. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 5, 501-511.
- Mc INTYRE A. E. & J.M. LESTER. 1984. Occurrence and distribution of persistent organochlorine compounds in U.K. sewage sludges. Wat. Air Soil Pollut., 23, 397-415.
- MES J. & D.J. DAVIES, 1978a. Variation in the polychlorinated biphenyl and pesticide residues during human breast feeding and its diurnal pattern. Chemosphere, 7, 699-712.
- MES J. & D.J. DAVIES, 1978b. Presence of chlorinated biphenyls and organochlorine residues and the absence of polychlorinated terphenyls in Canadian human milk samples. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 21, 381-388.
- MES J., D. DAVIES & J. TRUELOVE, 1980. The determination of polychlorinated biphenyl in small sample of monkey milk and tissues. I. Intern. J. Environ. Anal. Chem., 8, 89-98.
- NESTRE R., G. LEONARDI, C. CHEVALIER & J. TOURTE. 1968. Etude sur la mesure des résidus de pesticides dans les eaux naturelles. DATAR, 1968, 67 pp.
- MILLER M.M., S.P. WASIK, C.L. HUANG, W.Y. SHIU & D. MACKAY. 1985. Relationships between octanol-water coefficient and aqueous solubility. Environ. Sci. Technol., 19, 522-528.
- MINISTERE DE L'ENVIRONNEMENT ET DU CADRE DE VIE, FRANCE, 1983. Inventaire du degré de pollution des eaux superficielles (rivières et canaux). Campagne 1981. Vol. I à VI. Direction de la Prévention des Pollutions, 14 Bvd du Général Leclerc, F-92521 Neuilly-Sur Seine.
- MIYATA H., T. KASHIMOTO & W. KUNITA, 1977. Detection and determination of polychlorodibenzofurans in normal human tissues and kanemi rice oil caused "Kanemi Yusho". Bull. Environ. Contamin. Toxicol., 15, 9-19.
- MIYAZAKI T. & K. SATAKE. 1985. *In situ* measurements of uptake of inorganic carbon and nitrogen by the aquatic liverworts *Jungermannia vulcanicola* Steph. and *Scapania undulata* (L.) Dum in a acid stream, Kashiranashigawa, Japan. Hydrobiol., 124, 29-34.
- MONOD G., 1983. Etude de la contamination chimique du lac Léman par les résidus organochlorés : Polychlorobiphényles et DDT Essai d'évaluation des risques pour la reproduction de l'Ombre chevalier (*Salvelinus alpinus*). Thèse, Univ. Claude Bernard, Lyon 1, France, 215 p.
- MONOD G., 1984. Apport de PCB (polychlorobiphényles) dans le Léman par les eaux usées collectées sur la rive française de ce lac. Rev. Fr. Sci. Eau, 3, 183-186.
- MONOD G. & G. KECK. 1982. PCBs in lake Geneva (lake Lemán) fish. Bull. Environ. Toxicol., 29, 570-576.

- MOORE R.W., G.A. DANNAN & S.D. AUST, 1980. Structure-function relationships for the pharmacological and toxicological effects and metabolism of polybrominated biphenyl congeners. In : Molecular Basis of Environmental Toxicity, R.S. Bhatnagar Eds., Ann Arbor Science, Ann. Arbor, Mich., Chap. 8, 1980.
- MORITA M., J. NAGAGAWA, K. AKIYAMA, S. MINURA & N. ISONO, 1977. Detailed examination of polychlorinated dibenzofurans in PCB preparations and Kanemi Yusho oil. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 18 (1), 67-72.
- MOUVET C., 1983. Bryophytes aquatiques et métaux lourds. Rapport de contrat à l'Agence Financière de Bassin Rhin-Meuse, F-57160 Moulins-lès-Metz, France, 38 pp.
- MOUVET C., 1984. Mousses aquatiques et micropollution. Rapport de contrat à l'Agence Financière de Bassin Rhone-Méditerranée-Corse, France, 72 p.
- MOUVET C., 1986. Métaux lourds et mousses aquatiques. Synthèse méthodologique. Rapport de contrat à l'Agence Financière de Bassin Rhin-Meuse, F-57160 Moulins-lès-Metz, France, 38 p.
- MOUVET C., P. CORDEBAR, P. ROGER & E. LECLERCQ, 1985a. Détection de la pollution métallique des rivières Traire, Manoise et Seurre par dosages dans les mousses aquatiques. Rapport à l'Agence Financière de Bassin Rhin-Meuse, F-57160, Moulins-lès-Metz, France, 7p.
- MOUVET C., B. GALLISSOT & P. CORDEBAR, 1985b. Micropolluants organochlorés et mousses aquatiques. Rapport de contrat à l'Agence Financière de Bassin Rhin-Meuse, F-57160, Moulins-lès-Metz, France, 74 p..
- MOUVET C., M. GALOUX & A. BERNES, 1985c. Monitoring of polychlorinated biphenyls (PCBs) and hexachlorocyclohexanes (HCH) in freshwaters using the aquatic moss *Cinclidotus danubicus*. Sci. Total Envir., 44, 253-267.
- MOUVET C., M. MAISS, E. MORHAIN & F. MENGIS, 1988. Contamination des cours d'eau du Grand-Duché de Luxembourg par les micropolluants métalliques et organochlorés. Etude par la méthode des mousses aquatiques. Laboratoire d'Ecologie de l'Université de Metz, 1 rue des Récollets, F-57000 Metz, 99p.
- MULLIN M.D., C.M. POCHINI, S. Mc CRINDLE, M. ROMKES & S. SAFE, 1984. High-resolution PCB analysis : synthesis and chromatographic properties of all 209 congeners. Environ. Sci. Technol., 18, 468-476.
- MURPHY T.J., L.J. FORMANSKI, B. BROWNWELL & J.A. MEYER, 1985. Polychlorinated biphenyl emissions to the atmosphere in the great lakes region. Municipal landfills and incinerators. Environ. Sci. Technol., 19; 942-946.
- MURPHY T.J., M.D. MULLIN & J.A. MEYER. 1987. Equilibration of polychlorinated biphenyls and toxaphene with air and water. Environ. Sci. Technol., 21, 155-162.
- NAGASAKI H., S. TOMIL, T. MEGA, S. SUGIHARA, Y. MITATA & N. ITO, 1974. Analysis of various factors on liver cancerogenesis in mice induced by benzene hexachloride (BHC) and technical polychlorinated biphenyls (PCBs). J. Nara. Med. Assoc., 25, 635-638.
- NAU-RITTER G. M. & C. F. WURSTER, 1983. Sorption of polychlorinated biphenyls (PCB) to clay particulates and effects of desorption of phytoplankton. Wat. Res., 17(4), 383-387.
- NIETHAMMER K.R., D.H. WHITE, T.S. BASKETT & M. SAYRE, 1984. Presence and biomagnification of organochlorine chemical residues in oxbow lakes of Northeastern Louisiana. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 13, 63 - 74.
- NIIMI A.J. & V. PALAZZO, 1985. Temperature effect of the elimination of pentachlorophenol, hexachlorobenzene and mirex by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Wat. Res., 19, 205-207.

- NIMMO D.R., P.D. WILSON, R.P. BLACKMAN & A.J. WILSON, 1971. Polychlorinated biphenyls absorbed from sediments by fiddler crabs and pink shrimps. Nature, 231, 51-51.
- NIMMO D.R., J. FORESTER, P.T. HEITMULLER & G.H. COOK, 1974. Accumulation of Aroclor 1254 in grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) in laboratory and field exposures. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 4, 303-308.
- NORHEIM G. & S. O. ROALD, 1985. Distribution and elimination of hexachlorobenzene, octachlorostyrene and decachlorobiphenyl in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Aquat. Toxicol., 6, 13-24.
- O'CONNORS H.B., C.F. WURSTER, C.D. POWERS, D.C. BIGGS & R.G. ROWLAND, 1978. Polychlorinated biphenyls may alter marine trophic pathways by reducing phytoplankton size and production. Science, 201, 737-739.
- OEHM M., S. MANO & W. THOMAS, 1985. Quantitative determination of sub-ppb traces of polychlorinated compounds and pesticides in moss samples. Fresenius Z Anal. Chem., 321, 655-659.
- OFSTAD - BAUMAN E., G. LUNDE & H. DRANGSHOLT, 1979. Chlorinated organic compounds in the fatty surface film on water. In : Recent Adv. Environ. Anal. R. W. Frei Gordon Breach Ed., 1979.
- OLIVER B.G. & M.N. CHARLTON, 1984. Chlorinated organic contaminants on settling particulates in the Niagara river vicinity of lake Ontario. Environ. Sci. Technol., 18, 903-908.
- OLIVER B.G. & K.D. NICOL, 1984. Chlorinated contaminants in the Niagara river, 1981-1983. Sci. Total Envir., 39, 57-70.
- OLIVER B.G. & A.J. NIIMI, 1985. Bioconcentration factors of some halogenated organics for rainbow trout : limitation in their use for prediction of environmental residues. Environ. Sci. Technol., 19, 842-848.
- O.M.S., Genève, 1976. Polychlorinated biphenyls and terphenyls. Environmental Health Criteria 2.
- OPPERHUIZEN A., E. VELDE, F. GOBAS, D. LIEM & J. STEEN, 1985. Relationship between bioconcentration in fish and steric factors of hydrophobic chemicals. Chemosphere, 14, 1871-1896.
- ØRBERG J., 1977. Placental and mammary transfer of two PCB (2,4',5'-TCB and 2,2',4,4',5,5'-HCB) and their effects on reproductive capacity in mice. Ambio, 6 (5), 278-280.
- ØRBERG J., N. JOHANSSON, J.E. KIHLESTRÖM & C. LUNDBERG, 1972. Administration of DDT and PCB prolongs oestrus cycle in mice. Ambio, 1 (4), 148-149.
- PARKINSON A., L. ROBERTSON, L. SAFE & S. SAFE, 1981. Polychlorinated biphenyls as inducers of hepatic microsomal enzymes : structure-activity rules. Chem. Biol. Interactions, 30, 271-277.
- PEAKALL D.B., 1975. PCBs and their environmental effects. CRC Crit. Rev. Environ. Contr., 469-497.
- PEAKALL D.B. & M.L. PEAKALL, 1973. Effect of polychlorinated biphenyl on the reproduction of artificially and naturally incubated dove eggs. J. Appl. Ecol., 10, 863-872.
- PETERSON R.E., J.L. SEYMOUR & J.R. ALLEN, 1976. Distribution and biliary excretion of polychlorinated biphenyls in rat. J. Toxicol. Appl. Pharmacol., 38, 609-619.
- PHILLIPS D.J.H., 1977. The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environments. A review. Environ. Pollut., 13, 281-317.

- PIHAN J.C., C. CROCHARD, J.L. TOURMAN, M.N. BEAUVAIS, A.M. MEYER, C. MULLER & L. KRIER, 1987. IV Partie : Etude histologique et microanalytique. In : Mécanisme de l'intoxication et de la détoxification par le zinc et le plomb de deux organismes d'eau douce bioindicateurs *Pontinalis antipyrretica* et *Dreissena polymorpha*. Rapport Final ATP/PIREN Ecotoxicologie, Convention Piren/Env n°=85/159, Laboratoire d'Ecologie de l'Université de Metz, 1 rue des Récollets, F-57000 METZ, 48 p.
- PLATONOW N.S., R.M. LIPTRAP & H.D. GEISSINGER, 1972. The distribution and excretion of polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) and their effect on urinary gonadal steroid levels in the boar. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 7(6), 358-365.
- POULICER M., J.P. THOME & M. LOUVET, 1988. Accumulation de polychlorobiphényles (PCB) dans la coquille de bivalves mytilidae. Haliopsis, sous presse.
- PUHVEL S.M., M. SAKAMOTO, O.C. ERTL & R.M. REISNER, 1982. Hairless mice as models for chloracne : a study of cutaneous changes induced by topical application of established chloracnogens. Toxicol. Appl. Pharmacol., 64, 492-497.
- RAPPENOT J., 1979. Les biphenyles polychlorés et leur comportement dans un écosystème de rivière : le Furan (Ain). Thèse, Université Claude Bernard, Lyon I, 157 p.
- RAINIO K., P. RANTAMÄKI & J. SOINI, 1985. Material and methods for the analysis of the sample M4. In : Polychlorinated biphenyls (PCB). Determination in sewage sludges and related samples. R. LESCHBER, J. TARRADELLAS & P. L'HERNITE, Eds. Commission of the European Communities SL/111/85, 96p.
- RAMADE F., 1987. La pollution de la biosphère par les composés halogénés. In Les catastrophes écologiques, 212 - 233., Mac GRAW-HILL eds., 28 rue Beaunier, F-75014, Paris, 317 p.
- RAPPE C., M. NYGREN, H. BUSER, Y. MASUDA, H. KUROKI & P.H. CHEM, 1983. Identification of polychlorinated dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in human samples, occupational exposure and Yusho patients. In : Human and environmental risks of chlorinated dioxins and related compounds, R.E. TUKER, A.L. YOUNG & A.P. GRAY, Eds., Plenum Press, N.Y. 1983. 241 p.
- RICE C.P. & D.S. WHITE, 1987. PCB availability assessment of river dredging using caged clams and fish. Environ. Toxicol. Chem., 6, 259-274.
- RINGER R.K., R.J. AUERLICH & M. ZABIK, 1972. Effects of dietary polychlorobiphenyls on reproduction in link. 164 TH Natl. Am. Chem. Soc. Meet., 12, 149-153.
- RINGER R.K., R.J. AUERLICH & M.R. BLEAVINS, 1981. Biological effects of PCBs and PBBs on minks and ferrets - a review. In : Toxicology of halogenated hydrocarbons. Health and ecological effects. M.A.Q. KAHN & R.H. STANTON, Eds., Pergamon Press, N.Y., 329 pp.
- RISEBROUGH R.W., P. RIECHE, S.G. HERMAN, D.B. PEAKALL & M.N. KIRVEN, 1968. Polychlorinated biphenyls in the global ecosystem. Nature, 220, 1098-1102.
- ROBBE D., P. MARCHANDISE, C. THOME & G. RUBAN, 1984. Campagne de 1981 de l'inventaire du degré de pollution des eaux superficielles. Interprétation des résultats obtenus sur les sédiments. 113 - pp. LCPC, Boite Postale n° 19, F-44340 Bouguenais.
- ROSSEL L.D., P. HONSBERGER & J. TARRADELLAS, 1987. Bioaccumulative behaviour of some PCB congeners in Lake Geneva brown trout (*Salmo trutta lacustris* L.). Intern. J. Environ. Anal. Chem., 31, 219-223.
- RUBINSTEIN N.I., W.T. GILLIAM & M.R. GREGORY, 1984. Dietary accumulation of PCBs from a contaminated sediment source by a demersal fish (*Leiostomus xanthurus*). Aquat. Toxicol., 5, 331-342.

- RÜHLING A. & G. TYLER, 1973. Heavy metal deposition in Scandinavia. Water, Air, Soil Pollut., 2, 445-455.
- RUSSEL D.L., 1977. PCBs: The problem surrounding us and what must be done. Pollut. Engng., 9(8), 34-35.
- SAFE S., 1982. Halogenated hydrocarbons and aryl hydrocarbons identified in human tissues. Toxicol. Environ. Chem., 5, 153-169.
- SAFE S., 1984. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs) : Biochemistry, toxicology and mechanism of action. CRC Crit. Rev. Toxicol., 13(4), 319-396.
- SAFE S., M. PLATONOW & O. HUTZINGER, 1975. Metabolism of chlorobiphenyls in the goat and cow. J. Agr. Food Chem., 23 (2), 259-262.
- SAFE S., C. WYNDHAM, A. CRAWFORD & J. KOHLI, 1978. Metabolism : detoxication or toxication. In "Aquatic pollutants (Transformation and biological effect)". O. HUTZINGER, L.H. Van LELYVELD & B.C.J. ZOETEMAN Eds..
- SANDERS H.O. & J.H. CHANDLER, 1972. Biological magnification of a polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254) from water by aquatic invertebrates. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 7, 257-263.
- SANDRES H.O., J.B. HUNN, E. ROBINSON-WILSON & L.F. MAYER Jr, 1985. Toxicity of seven potential polychlorinated biphenyl substitutes to algae and aquatic invertebrate. Environ. Toxicol. Chem., 4, 149-154.
- SANDERS O. T. & R.L. KIRKPATRICK, 1975. Effect of a polychlorinated biphenyl (PCB) on sleeping times, plasma cortico-steroids, and testicular activity of white footed mice. Environ. Physiol. Biochem., 5 (5), 308-312.
- SATAKE K. & K. MIYASAKA, 1984. Discovery of bacteria in the cell wall of the aquatic liverwort *Jungermannia vulcanicola* Steph. in an acid stream with pH 4,2-4,6. J. Bryol., 13, 277-279.
- SATAKE K., M. SOMA, H. SEYAMA & T. UEHIRO, 1983. Accumulation of mercury in the liverwort *Jungermannia vulcanicola* Steph. in a acid stream Kashiranashigawa in Japan. Arch. Hydrobiol., 99, 80-92.
- SAUVEGRAIN P., 1981. Les micropolluants organiques dans les eaux superficielles continentales. Rapport 2 : Les pesticides organochlorés et autres. Etude de synthèse. Association Française pour l'étude des eaux (AFEE).
- SAWYER T. & S. SAFE, 1982. PCB isomers and congeners: induction of aryl hydrocarbon hydroxylase and ethoxyresorutin O-deetylase activities in rat hepatoma cells. Toxicol. Lett., 18, 87-95.
- SAY P.J. & B.A. WHITTON, 1983. Accumulation of heavy metals by aquatic mosses. 1 : *Fontinalis antipyretica* Hedw. Hydrobiol., 100, 245-260.
- SAY P.J., J.P.C. HARDING & B.A. WHITTON, 1981. Aquatic mosses as monitors of heavy metal contamination in the river Etherow, Great Britain. Environ. Pollut. Ser. B., 2, 295-307.
- SCHAUERTE W., J.P. LAY, W. KLEIN & P. KORTE, 1982. Long-term fate of organochlorine xenobiotics in aquatic ecosystems. Ecotoxicol. Environ. Safety, 6, 560-569.
- SCHLECTER A., F. SCHAFFNER, T. TIERNAN & M. TAYLOR, 1984. Ultrastructural alterations of liver mitochondria in response to dioxins, furans, PCBs, and biphenylenes. In : Biological Mechanisms of Dioxin Action, Banbury Report 18 : Biological Mechanisms of Dioxin Action , 1984 Cold Spring Harbor Laboratory.

- SCHECTER A., T. TIERNAN, F. SCHAFFNER, M. TAYLOR, G. GITLITZ, G.F. VANNESS, J.H. GARETT & D.J. WAGEL, 1985a. Patient fat biopsies for chemical analysis and liver biopsies for ultrastructural characterization after exposure to polychlorinated dioxins, furans and PCBs. Environ. Health Perspect., 60, 241-254.
- SCHECTER A., J. J. RYAN, R. LIZOTTE, W.F. SUN, L. MILLER, G. GITLITZ & M. BOGDASARIAN, 1985b. Chlorinated dibenzodioxins and dibenzofurans in human adipose tissue from exposed and control New York state patients. Chemosphere, 14 (6-7), 933-937.
- SCHOOR W.P., 1975. Problems associated with low-solubility compounds in aquatic toxicity tests: theoretical model and solubility characteristics of Aroclor 1254 in water. Wat. Res., 9, 937-994.
- SCHWARTZ T.R. & R.G. LEHMAN, 1982. Determination of polychlorinated biphenyls in plant tissue. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 28, 723-727.
- SCHWARTZ T.R., D.L. STALLING & C.L. RICE, 1987. Are polychlorinated biphenyl residues adequately described by Aroclor mixture equivalents? Isomer-specific principal components analysis of such residues in fish and turtles. Environ. Sci. Technol., 21 (1), 72-76.
- SCHWOERBEL J. & G.C. TILLMANN, 1974. Stickstoffaufnahme aus dem wasser und nitratreduktase aktivitat bei submersen wasserpflanzen : *Fontinalis antipyretica* L. Arch. Hydrobiol., Suppl. 47 (2), 282-294.
- SHAW G.R. & D.W. CONNELL, 1987. Comparative kinetics of bioaccumulation of polychlorinated biphenyls by the polychaete (*Capitella capitata*) and fish (*Mugil cephalus*). Ecotox. Environ. Safety, 13, 84-91.
- SHIMADA T., 1976. Metabolic activation of 14C polychlorinated biphenyl mixture by rat liver microsomes. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 16, 25-32.
- SHIMADA T. & M. UGAWA, 1979. Induction of liver microsomal drug metabolism by polychlorinated biphenyls whose gaschromatographic profile having much in common with that in human milk. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 198-205.
- SHIMADA T., Y. INAI & R. SATO, 1981. Covalent binding of polychlorinated biphenyls to proteins by reconstituted mono-oxygenase system containing cytochrome P-450. Chem. Biol. Interactions, 38, 29-38.
- SILKWORTH J.B. & L.D. LOOSE, 1978. Cell-mediated immunity in mice fed Aroclor 1016 or hexachlorobenzene. Toxicol. Appl. Pharmacol., 45, 326-329.
- SILKWORTH J.B. & L.D. LOOSE, 1979. PCB and HCB induced alteration of lymphocytes blastogenesis. Toxicol. Appl. Pharmacol., 49, 86-88.
- SINCLAIR P.R. & S. GRANICK, 1974. Uroporphyrin formation induced by chlorinated hydrocarbons (lindane, polychlorinated biphenyls, tetrachlorodibenzo-p-dioxin). Requirements for endogenous iron, protein synthesis and drug-metabolizing activity. Biochem. Biophys. Res. Comm., 61 (1), 124-135.
- SINGMASTER III J.A. & D.G. CROSBY, 1976. Plasticizers as inter-fereces in pollutants analyses. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 16 (3), 291-300.
- SMITH S.H., V.M. SANDERS, B.A. BARRETT, J.F. BORZELLERA & A.E. MUNSON, 1978. Immunotoxicological evaluation on mice exposed to polychlorinated biphenyls. Toxicol. Appl. Pharmacol., 45, 330-339.
- SÖDERGREN, 1973. Transport, distribution and degradation of DDT and PCB in a south swedish lake ecosystem. Oikos, 24, 30-41.

- SÖDERGREN A., 1984. The effect of sediment dredging on the distribution of organochlorine residues in a lake ecosystem. Ambio, 13, 206-210.
- SÖDERGREN A., B. SVENSSON & S. ULFSTRAND, 1972. DDT and PCB in south Swedish streams. Environ. Pollut., 3, 25-36.
- STANLEY R.L. & H.T. LEFAVOURE, 1965. Rapid digestion and clean-up of animal tissues for pesticide residue analysis. J. Ass. Off. Agri. Chem., 48, 666-667.
- STEICHEN R.S., R.G. TUCKER & E. MECHON, 1982. Standardization of Aroclor lots for individual-peak gas chromatographic calibration. J. Chromatogr., 236, 113-117.
- STICKEL W.H., L.P. STICKEL & R.A. DYRLAND, 1984. Comparison of methods of preserving tissues for pesticide analysis. Environ. Monitoring Asses., 4, 113-118.
- STOLTZ I.J. & Y.A. GREICHUS, 1978. The effects of a polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254) on the white pelican : ultrastructure of hepatocytes. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 18, 319-325.
- STRIK J.J.T.W.A., 1973. Species differences in experimental porphyria caused by polyhalogenated aromatic compounds. Enzyme, 16, 224-232.
- STRIK J.J.T.W.A., 1978. Toxicity of PBBs with special reference to porphyrinogenic action and special interaction with hepatic cytochrome P-450. Environ. Health Perspect., 23, 167-173.
- SUNDSTRÖM G. & O. HUTZINGER, 1976. The metabolism of 2,2',4,4', 5,5'-hexachlorobiphenyl by rabbits, rats and mice. Chemosphere, 4, 249-253.
- SWACKHAMER D.L. & D.E. ANSTRONG, 1987. Distribution and characterization of PCB in lake Michigan water. J. Great Lakes Res., 13 (1), 24-36.
- TANABE S., T. MORI, R. TATSUKAWA & N. MIYAZAKI, 1983. Global pollution of marine mammals by PCBs, DDTs and HCHs (BHCs). Chemosphere, 12, 1269-1275.
- TARRADELLAS J. & DE ALENCASTRO, 1985. Material and methods for the analysis of the sample M4. In : Polychlorinated biphenyls (PCB). Determination in sewage sludges and related samples. R. LESCHBER, J. TARRADELLAS & P. L'HERMITE, Eds. Commission of the European Communities SL/111/85, 96p.
- TARRADELLAS J. H. NUNTAU & H. BECK, 1985. Abundance and analysis of PCB in sewage sludges. In : Polychlorinated biphenyls (PCB). Determination in sewage sludges and related samples. R. LESCHBER, J. TARRADELLAS & P. L'HERMITE, Eds. Commission of the European Communities SL/111/85, 96p.
- TATEN H.E., 1986. Bioaccumulation of polychlorinated biphenyls and metals from contaminated sediment by freshwater prawns, *Macrobranchium rosenbergii* and clams, *Corbicula fluminea*. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 15, 171-183.
- TERAN M.T. & M. SIERRA, 1987. Organochlorine insecticides in trout, *Salmo trutta fario* L., taken from four rivers in Leon, Spain. Bull. Environ. Toxicol., 38, 247-253.
- THOMANN R. V., 1981. Equilibrium model of fate of contaminants in diverse aquatic food chains. Can. J. Fish Aquat. Sci., 38, 280-296.
- THOMANN R.V. & J.P. CONNOLLY, 1984. Model of PCB in the Lake Michigan lake food chain. Environ. Sci. Technol., 18(2), 65-71.
- THOMANN R. V. & D.M. DI TORO, 1983. Physico-chemical model of toxic substances in the Great Lakes. Project Officer. Eds.: Environmental Research Laboratory. Duluth Grosse Ile, Michigan 48138.

- THOMAS W., 1979. Monitoring organic and inorganic trace substances by epiphytic mosses. A regional pattern of air pollution. Trace substances. Environ. Health, 13, 285-289.
- THOMAS W., 1984. Statistical models for the accumulation of PAH, chlorinated hydrocarbons and trace metals in epiphytic *Hypnum cupressiforme*. Water, Air and Soil Pollut., 22, 351-371.
- THOMAS W., A. RÖHLING & H. SIMON, 1984. Accumulation of airborne pollutants (PAH, Chlorinated hydrocarbons, Heavy metals) in various plant species and humus. Environ. Pollut. Ser. A., 36, 295-310.
- THOMAS W., H. SIMON & A. RÖHLING, 1985. Classification of plants species by their organic (PAH, PCB, BHC) and inorganic (heavy metals) trace pollutant concentrations. Sci. Total Environ., 46, 83-94.
- THOME J.P., M. DEBOUGE & M. LOUVET, 1987. Carnivorous insects as bioindicators of environmental contamination: organochlorine insecticide residues related to insect distribution in terrestrial ecosystems. Intern. J. Environ. Anal. Chem., 30, 219-232.
- THOME J.P. & Y. VANDEALE, 1987. PCB trace enrichment from contaminated natural water at the sub ppt level on C18 microcartridges. Int. J. Environ. Anal. Chem., 29: 95-103.
- TRUELOVE J., D. GRANT, J. MES, H. TRYPHONAS, L. TRYPHONAS & Z. ZAWIDZ, 1982. Polychlorinated biphenyl toxicity in the pregnant cynomolgus monkey : a pilot study. Arch. Environ. Health, 11, 583-588.
- TUINSTRAL G.M. Th. & A.H. ROOS, 1985. A universal method for the analysis of PCB congeners : sewage sludge. In : Poly-chlorinated biphenyls (PCB). Determination in sewage sludge and related samples. Result of an interlaboratory comparison. R. LESCHBER, J. TARRADELLAS & P L'HERMITE, Eds., Commission of the European Communities, SL/111/85, 96 p.
- TULP M., G. SUNDSTRÖM & O. HUTZINGER, 1976. The metabolism of 4,4'-dichlorobiphenyl in rats and frogs. Chemosphere, 6, 425-432.
- TURMAN K.W., M.D. ERICKSON, P.J. BOONE, J.D. FLORA & D.T. HEGGEM, 1986. Effect of oil matrix on PCB quantification. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 37, 10-17.
- UNEDA G., 1972. PCB poisoning in Japan. Ambio, 1, 132-134.
- URABE H., H. KODA & M. ASAHII, 1979. Present state of yusho patients. Ann. N.Y. Acad. Sci., 320, 273-279.
- VEITH G.D. & G.F. LEE, 1970. A review of chlorinated biphenyl contamination in natural waters. Wat. Res., 4, 365-269.
- VEIGH G.D., D.W. KUEHL, F.A. PUGLISI, G.E. GLASS & J.G. EATON, 1977. Residues of PCB and DDT in the western lake Superior ecosystem. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 4, 487-499.
- VITKUS T., P.E. GAFFNEY & E.P. LEWIS, 1985. Bioassay system for industrial chemical effects on the waste treatment process : PCB interactions. J. Water Pollut. Contr. Fed., 57, 935-941.
- VOICE T.C. & W.J. WEBER Jr, 1983. Sorption of hydrophobic compounds by sediments, soils and suspended solids. I. Theory and background. Wat. Res., 17, 1433-1441.
- VOS J.G. & R.B. BEEMS, 1971. Dermal toxicity of technical polychlorinated biphenyls and fractions thereof in rabbits. Toxicol. Appl. Pharmacol., 19, 617-623.
- VOS J.G. & T. De ROIJ, 1972. Immunosuppressive activity of a polychlorinated biphenyl preparation on the humoral immune response in guinea pigs. Toxicol. Appl. Pharmacol., 21, 549-555.

- VOS J.G. & J.H. KOEMAN, 1970. Comparative toxicologic study with polychlorinated biphenyls in chickens with special reference to porphyria, edema formation, liver necrosis and tissue residues. Toxicol. Appl. Pharmacol., 17, 657-667.
- VOS J.G. & L. Van DRIEL-GROOTENHUIS, 1972. PCB induced suppression of the tumoral and cell-mediated immunity in guinea pigs. Sci. Total Environ., 1, 289-293.
- VREELAND V., 1974. Uptake of chlorobiphenyls by oysters. Environ. Pollut., 6, 135-140.
- WARSHAW R., A. FISCHBEIN, J. THORNTON, A. MILLER & I.J. SELIKOFF, 1979. Decrease in vital capacity in PCB-exposed workers in a capacitor manufacturing facility. Ann. N.Y. Acad. Sci., 320, 277-282.
- WASSERMAN M., D. WASSERMAN, S. CUCOS & H.J. MILLER, 1979. World PCBs map : storage and effects in man and his biologic environment in the 1970's. Ann. N.Y. Acad. Sci., 320, 69-78.
- WEHR J.D. & B.A. WHITTON, 1983. Accumulation of heavy metals by aquatic mosses. 3 : Seasonal changes. Hydrobiol., 100; 261-284.
- WEISGERBER I., P. MOZA, W. KLEIN & F. KORTE, 1974. Metabolism of 22' dichlorobiphenyl 14C in two plant water soil systems. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 12 (5), 541-546.
- WESTER R.C., D.A.W. BUCKS, H.I. MAIBACH & J. ANDERSON, 1983. Polychlorinated biphenyls (PCBs) : Dermal absorption, systemic elimination and dermal wash efficiency. J. Toxicol. Environ. Health, 12, 511-519.
- WESTLAKE W.E. & A. GUNTHER, 1966. Occurrence and mode of introduction of pesticides in the environment. Adv. in Chem. Ser., 60, 110 - 121.
- WIDMARK G., 1967. Possible interference by chlorinated biphenyls. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 50, 1067-1069.
- WIDMARK G., 1968. The OECD study analysis of PCB. Report from the Institute of Annal. Chem. Stockholm. Sweden.
- WILLIAMS R.S., 1930. Some deep-water mosses. Bryol., 33, 32.
- WILSON N., S. MUDZINSKI, J. SILKWORTH & L.D. LOOSE, 1979. Influence of polybrominated biphenyl on the splenic antibody reponse in the mouse. Toxicol. Appl. Pharmacol., 49, 89-92.
- WOLFF C.J.M. & H.B. Van Der HEIJDE, 1982. A model to assess the rate of evaporation of chemical compounds from surface waters. Chemosphere, 11(2), 103-117.
- YOSHIDA S. & A. NAKAMURA, 1979. Residual status after parturition of methylsulfone metabolites of polychlorinated biphenyls in the breast milk of a former employee in a capacitor factory. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 21, 111-123.
- ZINKL J.G., 1977. Skin and liver lesions in rats fed a polychlorinated biphenyl mixture. Arch. Environ. Contam., 5 (2), 217-227.

6 - SOMMAIRE

SOMMAIRE.

<u>AVANT PROPOS.</u>	<u>2</u>
<u>RESUME.</u>	<u>3</u>
<u>INTRODUCTION.</u>	<u>4</u>
<u>1. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE.</u>	<u>6</u>
1.1 POLLUTION ORGANOCHLOREE DES EAUX SUPERFICIELLES ET BIOINDICATEURS	6
1.1.1 <u>Généralités.</u>	<u>6</u>
1.1.2 <u>Principales caractéristiques des bioindicateurs.</u>	<u>7</u>
1.1.3 <u>Mousses aquatiques et micropollutions.</u>	<u>9</u>
1.1.3.1 Description sommaire de la systématique des bryophytes.	9
1.1.3.2 Adaptations physiologiques des mousses aquatiques.	10
1.1.3.3 Niche écologique et aire de répartition des bryophytes aquatiques.	12
1.2 ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE DE L'ECOTOXICITE DES PCB.	13
1.2.1 Découverte de l'aspect écotoxicologique des PCB.	13
1.2.2 Structure chimique des PCB.	14
1.2.3 Composition des mélanges commerciaux.	15
1.2.4 Propriétés physiques des polychlorobiphényles.	16
1.2.5 Principales applications industrielles des PCB.	16
1.2.6 Production et législation relative aux PCB.	18
1.3 CONTAMINATION DES ECOSYSTEMES AQUATIQUES PAR LES PCB.	20
1.3.1 <u>Voies de pénétration dans les écosystèmes aquatiques.</u>	<u>20</u>
1.3.1.1 Apports par les eaux usées.	20
1.3.1.1.1 Origine domestique.	20
1.3.1.1.2 Origine industrielle.	21
1.3.1.2 Apports atmosphériques.	21
1.3.1.2.1 Evaluation quantitative.	21
1.3.1.2.2 Origine des apports atmosphériques.	23
1.3.1.2.3 Partage des PCB entre l'atmosphère et l'eau.	23
1.3.2 <u>Distribution des PCB dans l'écosystème aquatique.</u>	<u>24</u>
1.3.2.1 Solubilité des PCB.	25
1.3.2.1.1 Solubilité et coefficient de partage octanol-eau.	25
1.3.2.1.2 Influence de la température sur la solubilité.	27

1.3.2.2	Spéciation des PCB.	28
1.3.2.2.1	Influence des matières en suspension.	28
1.3.2.2.2	Influence des particules colloïdales.	30
1.3.2.2.2.1	Abondance des particules colloïdales.	30
1.3.2.2.2.2	Nature des particules colloïdales.	31
1.3.2.2.2.3	Mécanismes de l'adsorption.	32
1.3.3	<u>Bioaccumulation et biomagnification des PCB.</u>	<u>32</u>
1.3.3.1	Liposolubilité et bioaccumulation des PCB.	33
1.3.3.1.1	Fluctuations saisonnières des teneurs en lipides.	34
1.3.3.1.2	Influence du jeune.	34
1.3.3.1.3	Influence du sexe.	34
1.3.3.2	Accumulation différentielle des PCB dans les tissus.	35
1.3.3.2.1	Mécanismes d'accumulation.	35
1.3.3.3	Distribution tissulaire des PCB.	36
1.3.3.4	Expression des concentrations en PCB.	37
1.3.3.5	Influence de la température sur la bioaccumulation	38
1.3.3.6	Influence de l'habitat.	39
1.3.3.7	Effets démoécologiques différés.	40
1.3.4	<u>Elimination des PCB.</u>	<u>42</u>
1.3.4.1	Elimination physique.	42
1.3.4.2	Elimination biologique.	43

2. MISE EN OEUVRE DE LA METHODE DES MOUSSES AQUATIQUES POUR L'ETUDE DE LA POLLUTION ORGANOCHLOREE DES EAUX SUPERFICIELLES.

2.1	RECOLTE ET CONDITIONNEMENT DES MOUSSES.	45
2.1.1	Prélèvement des mousses.	45
2.1.2	Conditionnement des échantillons.	46
2.1.3	Préparation des échantillons pour l'analyse des PCB	48
2.1.3.1	Réhumidification des échantillons.	48
2.1.3.2	Nettoyage à l'eau déminéralisée sous pression.	48
2.1.3.3	Préparation pour la pesée.	48
2.2	DOSAGE DES ORGANOCHLORES DANS LES MOUSSES ET DANS L'EAU.	49
2.2.1	Broyage et pesée des mousses.	49
2.2.2	Extraction des organochlorés.	49
2.2.2.1	Extraction des organochlorés dans les mousses.	49
2.2.2.2	Extraction des organochlorés dans l'eau.	50
2.2.3	Purification des extraits.	50
2.2.4	Chromatographie des extraits.	50
2.2.4.1	Choix des standards de PCB.	54
2.2.4.2	Problèmes posés par la quantification.	56
2.2.4.3	Méthode de calcul des concentrations en PCB.	60

2.2.5	Expression des résultats.	62
2.2.5.1	Problèmes analytiques liés à la présence des pesticides.	62
2.2.5.2	Choix des solvants et rendement d'extraction.	64
2.2.5.3	Choix de la méthode d'extraction et rendement d'extraction.	67
2.2.5.4	Problèmes analytiques liés à l'étape de purification.	71
2.2.6	Evaluation de l'efficacité du nettoyage des mousses.	72
2.2.6.1	Abondance du feutrage recouvrant les bryophytes.	74
2.2.6.2	Evaluation de la contamination du feutrage.	74
2.2.6.3	Répétabilité du lavage des mousses.	76
<u>3.RESULTATS.</u>		<u>79</u>
3.1	ETUDE DE LA POLLUTION ORGANOCHLOREE DE QUEQUES RIVIERES.	<u>81</u>
3.1.1	<u>LA SEINE.</u>	<u>81</u>
3.1.1.1	<u>Matériel et méthodes.</u>	<u>81</u>
3.1.1.1.1	Sites d'études.	81
3.1.1.1.2	Motifs du recours au transfert.	83
3.1.1.1.3	Principe des transferts.	83
3.1.1.1.4	Calendrier des opérations.	85
3.1.1.1.5	Analyse des échantillons par spectrométrie de masse.	85
3.1.1.2	<u>Résultats.</u>	<u>87</u>
3.1.1.2.1	Profil global de la pollution de la Seine.	87
3.1.1.2.2	Comparaison entre mousses autochtones et transférées.	90
3.1.1.2.3	Aspect qualitatif de la pollution.	90
3.1.1.2.4	Comparaisons avec d'autres études.	97
3.1.1.3	<u>Conclusions.</u>	<u>101</u>
3.1.2	<u>L'ISERE.</u>	<u>105</u>
3.1.2.1	<u>Objectifs de l'étude.</u>	<u>105</u>
3.1.2.2	<u>Matériel et méthodes.</u>	<u>107</u>
3.1.2.2.1	Sites d'étude.	107
3.1.2.2.2	Motifs du recours au transferts.	107
3.1.2.2.3	Calendrier de l'étude.	107
3.1.2.3	<u>Résultats</u>	<u>109</u>
3.1.2.3.1	Profil global de la pollution de l'Isère.	109
3.1.2.3.2	Comparaison entre mousses allochtones et autochtones.	113
3.1.2.3.3	Evolution de la pollution des mousses allochtones.	115
3.1.2.3.4	Aspect qualitatif de la pollution par les PCB	119
3.1.2.3.5	Evolution de la pollution de l'Isère et de certains de ses affluents entre 1984 et 1987.	121
3.1.2.4	<u>Conclusions.</u>	<u>123</u>

3.1.3	<u>LE RHIN ET LA MOSELLE.</u>	<u>126</u>
3.1.3.1	<u>Choix des sites d'étude.</u>	<u>126</u>
3.1.3.2	<u>Résultats et discussion.</u>	<u>130</u>
3.1.3.2.1	Comparaison avec la contamination des poissons.	130
3.1.3.2.2	Echantillons prélevés à proximité d'industries du bois.	132
3.1.3.2.3	Echantillons prélevés en amont et en aval de grandes agglomérations.	134
3.1.3.2.4	Echantillons prélevés à proximité de prises d'eau potable.	136
3.1.3.2.5	Echantillons prélevés à proximité de secteurs agricoles.	136
3.1.3.2.5.1	Bassin de la Meuse	136
3.1.3.2.5.1	Bassins de la Moselle et du Rhin.	139
3.1.3.3	<u>Conclusions.</u>	<u>144</u>
3.1.4	<u>PROPOSITION DE GRILLES DE QUALITE BASEES SUR LES TENEURS EN MICROPOLLUANTS DES BRYOPHYTES AQUATIQUES.</u>	<u>144</u>
3.1.4.1	Intérêts et problèmes de la recherche de valeurs de référence pour les micropolluants organochlorés.	144
3.1.4.2	Proposition de valeurs de référence.	145
3.1.4.2.1	Grille de qualité pour l'interprétation des teneurs en PCB dans les mousses.	146
3.1.4.2.2	Grille de qualité pour l'interprétation des teneurs en a- et b-HCH dans les mousses .	148
3.1.4.2.3	Grille de qualité pour l'interprétation des teneurs en Lindane dans les mousses.	152
3.1.4.2.4	Grille de qualité pour l'interprétation des teneurs en HCB dans les mousses.	152
3.1.4.2.5	Grille de qualité pour l'interprétation des teneurs en Somme DDT dans les mousses.	154
3.1.4.3.	Conclusions.	157
3. 2	<u>ETUDE IN SITU DE L'ACCUMULATION DES PCB PAR DEUX ESPECES DE BRYOPHYTES.</u>	<u>159</u>
3.2.1	Présentation du site.	159
3.2.2	Choix des sites de prélèvement.	161
3.2.3	Choix des espèces de mousses et calendrier de l'étude.	161
3.2.4	Résultats.	163
3.2.4.1	Paramètres physico-chimiques.	163
3.2.4.2	Contamination des mousses transférées par les PCB.	165
3.2.4.3	Activité photosynthétique des mousses.	173
3.2.5	Discussion.	173
3.2.5.1	Aspect qualitatif de la pollution.	173
3.2.5.2	Potentiel bioaccumulateur des mousses <i>in situ</i> .	173
3.2.5.3	Comparaison avec d'autres bioindicateurs.	175
3.2.5.4	Comparaison avec les teneurs mesurées en 1987.	177
3.3	<u>ETUDE IN VITRO DE L'ACCUMULATION DES PCB PAR DEUX ESPECES DE BRYOPHYTES.</u>	<u>178</u>
3.3.1	Travaux préliminaires à l'installation du pilote.	178
3.3.1.1	Etude de la résistance des mousses à l'acétone.	178
3.3.1.2	Etude de la résistance de l'installation à l'acétone.	179

3.3.2 Intoxication des bryophytes <i>in vitro</i> .	180
3.3.2.1 Le milieu expérimental.	180
3.3.2.2 Description du dispositif expérimental.	182
3.3.2.3 Modalités de l'intoxication.	183
3.3.2.4 Ajustement des concentrations en PCB dans les bacs.	184
3.3.2.5 Prélèvement des mousses.	184
3.3.2.6 Calendrier de l'étude.	186
3.3.3 Résultats.	186
3.3.3.1 Evolutions des paramètres physico-chimiques (débits, températures et pH).	186
3.3.3.2 Evolution des concentrations en PCB dans l'eau.	188
3.3.3.3 Etude de la cinétique d'accumulation des PCB par les mousses.	188
3.3.3.4 Etude <i>in vitro</i> du relargage des PCB par les mousses.	194
3.3.3.5 Bilan des concentrations en PCB dans les mousses.	202
3.3.4 Conclusions.	203
4. SYNTHESE ET PERSPECTIVES.	205
5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.	209
6. SOMMAIRE.	229
7. ANNEXES.	234
<u>ANNEXE 1</u> : TOXICITE DES PCB.	<u>234</u>
1. Généralités.	234
2. Toxicité aigue.	237
3. Toxicité sub-aigue et chronique des PCB.	238
3.1 Lésions dermiques et acnéiformes.	238
3.2 Neurotoxicité.	239
3.3 Immunotoxicité.	240
3.4 Hépatotoxicité.	241
3.5 Effets sur la reproduction et le système endocrinien.	241
3.6 Effets mutagènes et cancérogènes.	242
3.7 Métabolisme des PCB.	243
3.8 Porphyrie.	244
3.9 Actions sur le métabolisme des drogues.	245
3.10 Effets toxiques liés à la structure des PCB.	245
<u>ANNEXE 2</u> : RESULTATS BRUTS.	<u>247</u>
<u>ANNEXE 3</u> : RESULTATS DES ANALYSES DE SPECTROMETRIE DE MASSE.	<u>251</u>
<u>ANNEXE 4</u> : APPLICATION DES GRILLES DE QUALITE.	<u>273</u>

7 - ANNEXES

Annexe 1	234
Annexe 2	247
Annexe 3	251
Annexe 4	274

ANNEXE I.Toxicité des PCB.1. GENERALITES.

La recherche de PCB dans les tissus humains révèle des teneurs de l'ordre de la dizaine de ppb dans le sang et du ppm dans le tissu adipeux et les graisses du lait. La plupart des hommes ont été et/ou sont encore exposés aux PCB (MES *et al.*, 1980; MES & DAVIES, 1978 a, 1978 b; CORDLE *et al.*, 1979; HOLDRINET *et al.*, 1977; JENSEN & SUNDSTRÖM, 1974).

L'exposition est présumée passer par la consommation de nourriture contaminée. Il existe cependant un groupe à risques constitué des ouvriers manipulant les PCB et estimé à environ un million d'individus (BALUGA *et al.*, 1982; SAFE, 1982; BARR, 1981). Chez ceux-ci, les concentrations en PCB dans le sang sont variables (de 7 ppb à 2 ppm) et statistiquement supérieures à celles relevées pour l'ensemble des populations contrôlées.

L'effet des PCB sur l'homme a été observé chez les individus à risque et les victimes des intoxications alimentaires de Yusho en 1968 et Taiwan 1979 (UMEDA, 1972). Le tableau 1 inspiré des travaux de KARATSUNE *et al.* (1972) et MARONI *et al.*, (a et b, 1981) illustre les principaux symptômes des malades de Yusho. Avec des teneurs sanguines en PCB comparables à celles des victimes de Yusho, les ouvriers exposés aux PCB ne présentent cependant que quelques-uns de ces symptômes (EMMETT, 1985; BROWN & JONES, 1981). Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce phénomène:

-I- Il semblerait que les quantités élevées de polychlorodibenzofuranes (PCDF) et polychlorodibenzodioxines (PCDD) contaminant les huiles à base de PCB à l'origine des accidents de Yusho et de Taiwan aient exacerbé les effets

TABLEAU 1 : Symptomatologie des victimes de Yusho.

Peau : Chloracné, signes dermiques et hyperkératose, alopécie.

Yeux : Hypersécrétion des glandes lacrymales, inflammation des yeux.

Système nerveux : fatigue extrême.

Appareil respiratoire : bronchite chronique, toux persistante.

Foie : Hépatomégalie, porphyrie, lésions des hépatocytes.

Effets sur la reproduction : Faible poids à la naissance.

Effets immunosuppresseurs : effets dépresseurs sur certaines familles de lymphocytes.

Hypertriglycéridémie plasmatique : hyperapoprotéïnémie A.

D'après KARATSUNE *et al.*, 1972 ; MARONI *et al.*, 1981 a et b.

toxiques des biphényles polychlorés (KAMPS et al., 1978; MIYATA et al., 1977; MORITA et al., 1977). Des études plus récentes, (SCHECTER et al., 1985b; SAFE, 1984; RAPPE, 1983), confirment par ailleurs la présence de PCDD et de PCDF dans le sang, le tissu adipeux et le foie des victimes de Yusho.

-II- A concentrations sanguines en PCB comparables, la toxicité des PCB varie selon le mode d'intoxication et la durée d'exposition. Pour les ouvriers, l'intoxication par inhalation et passage transcutané est chronique alors qu'elle est orale et aiguë chez les victimes de Yusho.

-III- Il est à noter que les études sus-mentionnées ne donnent pas l'identité précise des congénères de PCB présents dans les échantillons de sang contaminé. On peut aussi supposer que ce phénomène soit imputable à la nature des congénères et de leurs métabolites.

Les populations en contact avec les PCB (victimes accidentelles, travailleurs à risques et individus contaminés via les chaînes alimentaires) ne présentent pas d'augmentation significative des taux de cancers. L'étude épidémiologique des 31 victimes de Yusho relate cependant 11 cas de décès (34,5%) dûs à des cancers. Bien que ce taux de mortalité soit supérieur à celui des populations normales (21,2%), on ne peut en incriminer la seule responsabilité aux PCB (URABE, 1979).

Des effets carcinogènes chez l'homme n'ont pas réellement été mis en évidence ; une seule étude suggère que l'augmentation de l'incidence des mélanomes chez 31 travailleurs à risques serait imputable aux PCB (BAHN et al., 1980). Notons que les effets des faibles doses n'ont pu être déterminés faute de témoins exempts de contamination.

2. TOXICITÉ AIGUË.

La toxicité aiguë des PCB vis-à-vis des animaux dégage les 4 règles suivantes:

1- Les effets toxiques se développent une à trois semaines après l'exposition initiale.

2- La toxicité aiguë des solutions commerciales de PCB est variable selon les espèces et le mode de contamination, elle dépend également du sexe et de l'âge des animaux d'expérience.

3- A dose identique, la toxicité est apparemment plus forte en administration multiple qu'en dose unique.

4- La plupart des symptômes toxiques engendrés par les PCB sont comparables à ceux observables pour d'autres composés aromatiques tels que les polychlorodibenzofurannes (PCDF), les polychloro-dibenzodioxines (PCDD), les naphthalènes (PCN), les azo et les azoxybenzènes (PAB).

Chez le lapin, le rat et la souris, la DL 50 après injection intrapéritonéale se situe entre 1 g/Kg et 10 g/Kg ; les formulations commerciales à plus haut taux de chlore (Aroclor 1254 et 1260) étant les plus toxiques (KIMBROUGH *et al.*, 1978).

Le vison semble être très sensible aux PCB. L'injection intrapéritonéale de 30 ppm d'un mélange (1:1:1) d'Aroclor 1242, 1245 et 1254 entraîne une mortalité de 100% en 6 mois (RINGER *et al.*, 1981 ; RINGER *et al.*, 1972). Si l'intoxication se fait par une nourriture contaminée à raison de 3,6 ppm d'Aroclor 1260, la mortalité atteint 100% en 105 jours. Chez plusieurs espèces aviaires (canards, poules, cailles), la DL 50 déterminée à la suite de l'absorption de nourriture contaminée par de l'Aroclor 1232, 1242, 1248, 1254 1260 et 1262, est de l'ordre de 600 ppm (HEATH *et al.*, 1972).

On peut considérer que la toxicité aiguë des PCB est modérée pour le rat, la souris et les bovins; elle est importante chez le vison. Bien que les espèces réagissent différemment et que les mélanges commerciaux de biphényles polychlorés aient une toxicité aiguë variable, la plupart des animaux expérimentés présentent des symptômes communs: atrophie splénique et thymique, hépatomégalie et amaigrissement consécutif à une diminution des prises prandiales et de l'assimilation des aliments.

Chez les poissons, la toxicité aiguë semble également faible. Pour la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*), la DL 50 est supérieure à 1,5 g/Kg de poids vif (MAYER et al., 1977). Signalons que la plupart des concentrations létales 50 (CL 50) sont généralement supérieures aux seuils de solubilité des mélanges testés, ce qui modère l'intérêt des résultats. Aussi, l'exposition d'alevins de vairons juste éclos à une eau contaminée par 150 µg/L d'Aroclor 1242 entraîne 50% de mortalité (CL 50) après 96 heures d'exposition. Si les alevins sont âgés de 2 mois, la CL 50 est alors de 2,34 mg/L (NEBEKER et al. in MONOD, 1983). La toxicité aiguë des PCB pour les poissons diminue généralement avec l'âge et elle augmente quand le nombre moyen de chlore diminue.

3. TOXICITÉ SUB-AIGUË ET CHRONIQUE DES PCB.

3.1 Lésions dermiques et acnéiformes.

Les lésions dermiques et la chloracné considérées comme les signes caractéristiques de l'intoxication humaine aux PCB sont aussi présentes chez d'autres espèces animales (WESTER et al., 1983 ; ZINKL, 1977 ; VOS & BEEMS, 1971).

Les primates ont une extrême sensibilité cutanée aux PCB ; les singes développent une chloracné et dans la plupart des cas, des oedèmes, une alopécie et une folliculite de la face (ALLEN et al., 1978). Ces symptômes sont observables chez des animaux alimentés par une nourriture contenant 50 ppm d'Aroclor 1254. Les

bébés Rhésus nés au cours d'une expérience similaire présentaient des lésions dermiques, probablement consécutives à l'exposition *in utero* et à une intoxication alimentaire par l'excrétion des PCB dans le lait maternel (ALLEN & BARSOTTI, 1976 ; BARSOTTI & VAN MILLER, 1984) .

Le lapin est particulièrement sensible aux PCB. Le badigeonnage des oreilles montre typiquement une hyperplasie et une hyperkératose de l'épiderme et de l'épithélium folliculaire (VOS & BEEMS, 1971).

Chez la souris "chauve", outre une hyperkératose et la formation de kystes kératineux intradermiques, l'application sur la peau de 0,2 mg de Phenoclor 54, cinq fois par semaine pendant 10 semaines, entraîne une disparition des glandes sébacées. Chez le même animal, l'Aroclor 1254 ne produit pas d'effets cutanés notoires bien que le 33'44' tétrachlorobiphényle soit extrêmement acnéogène (PUHVEL et al., 1982).

3.2 Neurotoxicité.

La neurotoxicité et les effets comportementaux des mélanges de PCB ont surtout été étudiés chez les espèces aviaires (DIETER, 1974; PEAKALL, 1973). A raison d'une ration quotidienne (pendant 7 jours) de 200 ppm d'Aroclor 1254 dans la nourriture, des poulets développent un comportement de fuite qui semble irréversible (KREITZER & HEINZ, 1974).

Quelques études suggèrent que les rapaces sont aussi extrêmement sensibles aux effets neurotoxiques des PCB (GILMAN, 1977).

HEINZ et al., (1980) constatent que chez le pigeon ramier, la diminution des taux d'adrénaline et de dopamine engendrée par une nourriture contaminée par l'Aroclor 1254 modifie leur comportement et pourrait avoir une incidence sur les migrations.

Les poissons exposés à l'Aroclor ont un comportement désorienté et leur taux de neurotransmetteurs sont altérés. L'Aroclor diminue les taux cérébraux des neurotransmetteurs (dopamine et noradrénaline) du *Fundulus* et perturbe ainsi son activité locomotrice (FINGERMAN & RUSSEL, 1980).

3.3 Immunotoxicité.

Chez beaucoup d'espèces animales, l'intoxication par les PCB s'accompagne généralement d'une atrophie des tissus lymphoïdes (VOS & Van DRIEL GROOTENHUIS, 1972). Ce phénomène est particulièrement marqué chez les oiseaux ; on constate une réduction de la bourse de Fabricius et de la rate. Chez les jeunes canards, ces effets, variables en fonction du taux de chloration des PCB (HARRIS et al., 1976 ; VOS & KOEMAN, 1970) induisent une régression de l'immunocompétence sans que d'autres signes manifestes d'intoxications apparaissent (FRIEND & TRAINER, 1970).

L'exposition chronique du cobaye par voie alimentaire à divers mélanges commerciaux de PCB supprime la réaction d'hypersensibilité retardée à la tuberculine, diminue le nombre de leucocytes (VOS & Van DRIEL GROOTENHUIS, 1972) et réduit la réponse immunitaire humorale (VOS & DE ROIJ, 1972).

Chez la souris et le rat, on constate une atrophie splénique et thymique, une diminution de la résistance aux infections et une réduction du nombre de lymphocytes T (SILKWORTH & LOOSE, 1979 ; WILSON et al., 1979 ; SMITH et al., 1978 ; SILKWORTH & LOOSE, 1978).

Les PCB induisent également divers effets immunotoxiques chez le singe, le chien, le lapin et le porc (BERAN et al., 1983 ; TRUELOVE et al., 1982 ; HOWARD et al., 1980 ; ALLEN & LAMBRECHT, 1978 ; FARBER et al., 1978).

3.4 Hépatotoxicité des PCB.

L'hépatotoxicité des PCB varie en fonction de l'âge, du sexe, de la dose administrée, du temps d'exposition et des espèces animales (MATTHEWS *et al.*, 1978 ; FISHBEIN, 1974). Elle se traduit chez l'homme, le poulet, le pélican, le lapin, le rat, la souris, le singe, le phoque et les poissons par une hépatomégalie accompagnée de nécroses et de vacuolisation des hépatocytes (SCHECTER *et al.*, 1984 ; GUPTA *et al.*, 1983 ; BUNYAN & PAGE, 1978 ; STOLTZ & GREICHUS, 1978 ; ALLEN & ABRAHAMSON, 1973 ; KOLLER & ZINKI, 1973 ; KIMBROUGH *et al.*, 1972 ; VOS & KOEMAN, 1970).

Des rats alimentés pendant six semaines avec une nourriture contaminée par 1 000 ppm de divers mélanges de PCB (Aroclor 1248, 1254 et 1260), développent une hypertrophie hépatique associée à une prolifération du réticulum endoplasmique, une nécrose des hépatocytes et une augmentation des inclusions lipidiques du cytoplasme hépatocytaire (HIGUCHI, 1976 ; SHIMADA & UGAWA, 1979). L'analyse des hépatocytes révèle une augmentation du taux d'ARN et une réduction de la concentration en ADN. Une expérience similaire conduite avec 500 ppm d'Aroclor 1254 pendant six mois montre une adénofibrose et un envahissement des cellules de Küpffer et des macrophages par un pigment brun céroïde (JONSSON *et al.*, 1981 ; KIMBROUGH *et al.*, 1973).

3.5 Effets sur la reproduction et le système endocrinien.

Chez le singe Rhésus femelle, l'absorption de nourriture contaminée par 5 ppm d'Aroclor 1248 induit une augmentation de la fréquence des avortements et un faible poids des bébés à la naissance (FELT *et al.*, 1977 ; ALLEN & BARSOTTI, 1976 ; ALLEN *et al.*, 1974). Ces symptômes sont aussi observables chez le vison (JENSEN *et al.*, 1977 ; ORBERG, 1977 ; KIHLMSTROM *et al.*, 1974 ; ORBERG *et al.*, 1972), les bovins (DURST *et al.*, 1978) le rat (GELLERT, 1978) et les chauves-souris (CLARK, 1978).

La bioconcentration des PCB peut avoir des conséquences néfastes sur la reproduction, particulièrement des oiseaux chez

lesquels le métabolisme du calcium étant lié à celui des hormones sexuelles (CECIL *et al.*, 1975), l'action des PCB et des organochlorés en général se traduit par une réduction de l'épaisseur de la coquille voire sa disparition (HEINZ *et al.*, 1984 ; PEAKALL, 1975 ; PEAKALL & PEAKALL, 1975). L'adjonction pendant 39 semaines, d'Aroclor 1254 à la nourriture destinée à des poules, entraîne une réduction de la ponte et une fragilisation des coquilles d'oeufs (BRITTON & HUSTON, 1972). D'après RISEBROUGH (1968), l'activité des PCB sur le catabolisme de l'oestradiol du pigeon serait 5 fois supérieure à celle du DDT et du DDE. De plus, compte tenu de la lipophilie des PCB, leur accumulation à haute concentration dans les graisses des oeufs est susceptible d'induire des anomalies dans le développement embryonnaire.

Cette action inhibitrice des fonctions reproductrices semble exister chez les poissons et il n'est pas exclu que les difficultés de reproduction de certains salmonidés (saumon coho des Grands Lacs Américains, ombre de rivière en Europe), puissent être liées à l'accumulation des PCB (GILBERTSON, 1983 ; KECK, 1977).

Des teneurs en PCB très élevées chez les mammifères marins suggèrent que les naissances prématurées et la mortalité infantile des phoques serait consécutive à une altération du métabolisme des stéroïdes sexuels (ADDISON *et al.*, 1984 ; JENSEN *et al.*, 1979 ; HELLE *et al.*, 1976).

Les études épidémiologiques ont montré que l'exposition chronique aux PCB entraîne une réduction de la densité des spermatozoïdes humains. Il semblerait que la contamination par les PCB soit une des causes de la réduction de la fertilité masculine aux USA (MASSE *et al.*, 1986).

3.6 Effets mutagènes et cancérogènes.

La cancérogénéicité des PCB est dépendante du sexe, de l'âge, de l'espèce animale et de la nature des congénères de PCB

(KIMBROUGH et al., 1975). Le foie est le seul organe pour lequel des tumeurs ont véritablement été constatées après administration orale de PCB (KIMBROUGH & LINDER, 1974). DIGIOVANNI et al., (1977) signalent cependant avoir provoqué chez des souris un cancer de la peau après application cutanée quotidienne de 100 µg d'Aroclor 1254.

Des souris, alimentées pendant 32 semaines avec une nourriture contaminée par 500 mg de Kaneclor 400, développent une hyperplasie nodulaire et un carcinome hépatocellulaire (NAGASAKI et al., 1974). Ces lésions, observables après un long temps d'exposition, nécessitent cependant des doses importantes de xénobiotique.

Chez le rat, l'Aroclor 1254 agit comme promoteur de l'hépatocarcinome induit par la diéthylnitrosamine et comme inhibiteur de la croissance du carcinome de Walker 256 (KERKVILIET & KIMELDORF, 1977). Ces études suggèrent que les PCB sont à la fois génotoxiques (ou initiateurs) et doués d'activités épigénétiques modulant les effets de l'hépatocarcinogénèse.

3.7 Métabolisme des PCB.

HUTZINGER et al. (1972) et WEISGERBER et al. (1974) ont respectivement montré que les PCB peuvent être métabolisés par diverses espèces animales et végétales.

Chez les animaux, les métabolites mono- et di-hydroxylés sont principalement excrétés par les voies urinaires et biliaires (SUNDSTRÖM & HUTZINGER, 1976 ; SAFE et al., 1975 ; GARDNER et al., 1973 ; PLATONOW et al., 1972). L'excrétion fécale représente la partie non absorbée des PCB aussi bien chez le rat (DEQUIT et al., 1976 ; PETERSON et al., 1976), le lapin (HUTZINGER et al., 1975) et le phoque (JANSSON et al., 1975) que chez les poissons (EDGREN et al., 1979) et les grenouilles (SAFE et al., 1978 ; TULP et al., 1976).

La présence de métabolites méthylsulfonés dans le lait humain (YOSHIDA & NAKAMURA, 1979 ; JENSEN & SUNDSTRÖM, 1974), dans les excréments et les tissus des phoques de la Baltique (JENSEN et al., 1979 ; JENSEN & JANSSON, 1976 ; JANSSON et al., 1975) suggère l'existence de plusieurs voies de détoxification chez les mammifères.

Les PCB induisent également les enzymes de la fraction microsomiale des hépatocytes (N déméthylases, hydroxylases à cytochrome P 450 et NADPH cytochrome C réductases) responsables de leur biohydroxylation (SHIMADA et al., 1981 ; SHIMADA, 1976). Cette activité est liée à la teneur en chlore et à la stéréochimie des congénères (BUNYAN & PAGE, 1978 ; ECOBICHON & COMBEAU, 1975).

Notons que, chez les mammifères, le catabolisme passe par une étape d'intermédiaires arène-oxydés.

3.8 Porphyrie.

Les polyhalogénés aromatiques et particulièrement les PCB, PCDF, PCDD et l'HCH sont de puissants inducteurs de l'anabolisme hépatique des porphyrines (GUPTA et al., 1983 ; VOS & KOEMAN, 1970). La conversion en hème de l'acide d-aminolévulinique nécessite la présence d'un pool enzymatique à monooxygénases cytochrome P 450 dépendantes. Chez le rat, l'intoxication alimentaire par les PCB induit, après une semaine d'exposition, la d-aminolévulinate synthétase et augmente en conséquence les taux de porphyrines hépatiques et urinaires (GROTE et al., 1975). Il a été noté que certaines espèces, souris, rats, humains, sont plus sensibles à la porphyrie que d'autres : cobaye, vison (STRIK, 1978 ; GOLDSTEIN et al., 1975 ; GOLDSTEIN et al., 1974 ; SINCLAIR & GRANICK, 1974 ; STRICK, 1973). Dans la plupart des cas, la porphyrie persiste encore quelques semaines après l'exposition et elle est toujours précédée par une induction des enzymes microsomiales hépatiques métabolisant les drogues et les stéroïdes (DERR, 1978).

3.9 Action sur le métabolisme des drogues.

Les PCB ont pour premier effet d'activer les enzymes de la fraction microsomiale en particulier des hépatocytes, ce qui a pour conséquence d'accélérer le métabolisme des drogues. Les inducteurs des enzymes microsomiales métabolisant les drogues sont classiquement divisés en deux groupes à savoir le phénobarbital qui induit le cytochrome P 450 et le 3 méthyle cholantène qui induit le cytochrome P 448. Les PCB possèdent les propriétés de ces deux groupes d'inducteurs.

Ainsi, l'administration prolongée de PCB à des mammifères (singes, rats) ou des oiseaux (pigeons, faucons) augmente le poids du foie par rapport au poids total de l'animal, accélère la synthèse des enzymes d'oxydation microsomiales hépatiques et réduit le temps de sommeil au phénobarbital (CECIL et al., 1975; SANDERS & KIRKPATRICK, 1975).

De même, le Chlophène A 50 accélère la o-déméthylation de la p-nitroanisole chez la truite arc-en-ciel (LIDMAN et al., 1976) et diminue la demi-vie de l'antipyrine chez des ouvriers exposés à ses effets (ALVARES et al., 1977). Dans tous les cas, on constate un développement accru du réticulum endoplasmique agranulaire auquel sont liés la plupart des enzymes responsables de ce métabolisme. Les PCB ont également un effet inhibiteur sur l'activité spécifique des ATPases Na-K et Mg dépendantes (DESAIAH et al., 1972 ; CUTKOMP et al., 1971).

3.10 Effets toxiques liés à la structure des PCB.

Les effets de structure sur la toxicité des PCB ne seront pas abordés en détail dans ce travail (à ce propos, se référer à la monographie de SAFE, (1984)). Notons cependant que la toxicité propre des congénères est liée au nombre et à la distribution des atomes de chlore sur les noyaux aromatiques. Les congénères de PCB les plus toxiques, en l'occurrence le 33'44'tétra-, le 33'44'5

penta- et le 33'44'55' hexachloro- biphényle sont approximativement les isostéroisomères de la 2378 TCDD et possèdent la plupart des effets toxiques caractéristiques des aromatiques halogénés (GOLDSTEIN, 1979 in : SAFE, 1984). La comparaison de leur pouvoir inducteur des enzymes microsomiales (aryl aromatique hydroxylase AAH, glucose 6 phosphatase, etc...) indique que le 33'44'5 pentachlorobiphényle est environ 13 fois moins actif que celui de la 2378 TCDD (SAWYER & SAFE, 1982).

La littérature, abondante sur les corrélations entre la structure et la toxicité des PCB, indique que pour toute une série de congénères substitués en position para et au moins deux chlores en position ortho, le potentiel toxique augmente quand le nombre de substituants en position méta augmente (CORBETT et al., 1982 ; SAWYER & SAFE, 1982 ; GREENLEE & IRONS 1981 ; PARKINSON et al., 1981 ; MOORE et al., 1980).

D'une manière générale, les PCB les plus actifs sont aussi les plus rapidement métabolisés et possèdent au moins deux carbones contigus non substitués dont au moins un est en position para. La toxicité et le potentiel inducteur des PCB sont liés à l'encombrement stérique de la molécule et dépendent probablement de l'affinité des congénères pour les sites effecteurs des enzymes et des récepteurs cytosoliques. La toxicité *in vivo* comme *in vitro* suggère que le métabolisme nécessite une conversion en un intermédiaire arène-oxydé catalysé par un pool enzymatique à cytochrome P 450 dépendant. Ces composés extrêmement instables peuvent alkyler le matériel génétique et initier un processus de cancérogénèse (SAFE, 1984). Bien que la carcinogénéité n'ait pas été mise en évidence par test d'Ames, elle est néanmoins confirmée sur culture d'hépatocytes de rats (SCHOENY in SAFE, 1984).

ANNEXE 2

RESULTATS BRUTS.

TABLEAU 26 : Tableau récapitulatif des concentrations en micropolluants organochlorés (ng/g) dans les bryophytes aquatiques prélevées en 1984 dans l'Isère, le Drac et le Furon.

Sites	Date de retrait	Espèces	A ou T	PCB	HCB	α HCH	β HCH	Lindane	pp'DDE	op'DDD	pp'DDD	op'DDT	pp'DDT	Σ DDT
Furon *	9/3/84	Pla r	A	481	22	22	21	283	18	31	6	16	90	161
Io	9/3/84	Cin d	A	398	27	10	(3	112	13	17	(4	(5	(5	30
Io	9/3/84	Pla r	A	643	42	15	(3	196	26	18	(4	16	37	97
Do	9/3/84	Dre sp.	A	525	29	17	(3	182	15	26	(4	8	15	64
Do	29/3/84	Pla r	T	690	79	17	(3	513	15	17	8	37	59	136
Ia	10/3/84	Cin d	A	833	42	8	(3	94	5	(5	(4	7	14	26
Ia *	16/3/84	Pla r	T	414	37	12	15	288	21	31	(4	41	43	136
Ia *	23/3/84	Pla r	T	840	48	17	13	280	63	47	(4	85	105	300
Ia	29/3/84	Pla r	A	1017	102	18	10	390	33	51	4	62	99	249
Ia	13/4/84	Fon r	A	1016	131	34	(3	623	23	24	(4	57	77	181
Dg	16/3/84	Pla r	T	4171	268	29	27	2759	337	144	107	1692	7256	9536
Dg *	16/3/84	Pla r	T	2193	128	20	38	892	278	171	91	930	2886	4356
Dg *	23/3/84	Pla r	T	1714	168	11	17	895	185	101	39	737	1978	2980
Iv	10/3/84	Cin d	A	1992	163	14	18	2004	207	72	37	458	1751	2495
Iv	10/3/84	Pla r	A	2035	83	20	22	1302	457	82	29	465	1975	3008
Iv *	10/3/84	Fon a	A	2189	201	40	21	680	219	65	28	600	1815	2727
Iv	16/3/84	Pla r	A	1248	86	11	3	881	112	11	33	485	1632	2273
Iv *	16/3/84	Fon a	A	4181	116	37	(3	2263	215	141	58	721	1817	2952
Iv	16/3/84	Fon a	A	1320	84	18	14	858	80	87	20	494	1606	2288
Iv *	16/3/84	Pla r	T	964	75	15	11	414	54	47	11	209	568	889
Iv *	23/3/84	Pla r	T	998	75	15	16	416	82	50	16	206	605	959
Iv *	23/3/84	Fon a	A	2089	87	37	35	798	141	120	(5	465	764	1490
Iv	29/3/84	Pla r	A	2062	167	24	33	1172	143	55	17	592	2178	2985
Iv	29/3/84	Pla r	T	1957	169	23	24	875	152	111	22	278	1131	1694
Iv	13/4/84	Fon a	A	2279	220	31	10	721	120	40	26	409	1277	1872
Iv	13/4/84	Pla r	A	6116	343	23	20	1006	207	62	18	1066	2440	3793
Iv	13/4/84	Pla r	T	3895	430	32	22	1849	157	154	47	718	2610	3686
Iv *	13/4/84	Pla r	T	2781	215	30	19	2572	207	179	98	732	2131	3348
Isg *	10/3/84	Fon a	A	1954	139	38	13	600	113	100	51	612	1796	2672
Isg	29/3/84	Pla r	T	2280	182	22	8	985	149	108	25	305	1274	1861
Isg	13/4/84	Pla r	T	1932	179	17	26	518	124	49	27	307	1093	1600
Isg	13/4/84	Fon a	A	4439	274	25	52	1289	169	54	43	1009	3698	4973
If	5/4/84	Cin d	A	1220	96	10	11	341	56	102	142	101	337	738
Ic	10/3/84	Fon a	A	2408	122	36	81	1149	166	133	45	480	1798	2622
Ic	10/3/84	Cin d	A	1957	105	28	65	1354	125	97	63	266	1125	1676
Ic *	29/3/84	Cin d	A	1173	67	23	18	347	108	103	38	168	520	937
Ic *	29/3/84	Fon a	A	1501	86	17	12	525	149	106	41	358	1034	1688
Ic	30/3/84	Pla r	T	1604	150	27	10	712	112	87	54	226	1338	1817
Ic	30/3/84	Cin d	A	1615	183	33	21	885	90	82	27	307	862	1368
Ic	30/3/84	Fon a	A	2116	283	37	8	816	151	40	71	426	1342	2030
Ic	4/4/84	Cin d	A	1681	127	19	5	517	98	140	219	295	1110	1960
Ic	13/4/84	Cin d	A	1161	118	13	(3	123	64	90	84	234	766	1238
Ic	13/4/84	Fon a	A	1766	182	30	27	990	137	203	188	518	1867	2913

on a = Fontinalis antipyretica; Pla r. = Platyhypnidium riparioides; Cin d. = Cinclidotus danubicus; Dre sp. = Drepanocladus sp.
 i = Autochtones ; T = Transférées.
 : Lavage supplémentaire au laboratoire.

TABEAU 34 : Concentrations en micropolluants organochlorés (ng/g) dans les bryophytes aquatiques prélevées en 1984 sur différents sites du Bassin Rhin-Meuse ($m \pm \sigma$; $n = 2$; ng/g).

CONCENTRATIONS (ng/g)	PCB	α HCH	β HCH	Lindane	HCB	pp'DDE	Σ DDD	Σ DDT
RUPT DE MAD								
Onville	200	5	<2	145	10	<5	<10	<5
Thiaucourt	90	6	<2	125	15	<5	<10	<5
Arnaville	180	7	<2	270	50	<5	<10	<5
MOSELLE								
Saulx	580	8	<2	135	10	<5	10	<5
Epinal	580	6	<2	130	50	<5	<10	<5
MORTAGNE								
Roville	180	6	<2	80	20	<5	<10	<5
Moyen	330	4	<2	40	40	<5	10	<5
Autrey	140	4	<2	40	10	<5	<10	<5
RHIN								
Huningue	250	7	<2	160	30	<5	<10	<5
Chalampé	200	4	<2	70	20	<5	<10	<5
Brisach	190	5	<2	120	35	<5	<10	<5
Rhinau	210	5	<2	70	35	<5	<10	<5
Seltz	260	5	<2	60	35	<5	<10	<5
Gamsheim	150	6	<2	80	50	<5	<10	<5
Lauterbourg	210	5	<2	100	20	<5	<10	<5

TABLEAU 57 : Paramètres physiques contrôlés sur le dispositif expérimental.

TEMPS (h)	DEBITS (ml/mn)				pH	T (°C)
	bac 1	bac 2	bac 3	Témoin		
0	490	500	500	500	7,5	-
24	500	520	540	530	7,6	-
48	520	500	540	520	7,6	-
72	500	500	540	540	7,4	16
96	500	500	540	540	7,7	16
120	480	500	520	520	7,8	17
144	500	500	520	530	7,7	17
168	520	500	520	520	7,6	18
192	470	500	530	610	7,6	18
216	490	520	530	540	7,5	19
240	480	510	530	540	7,5	19
***	---	***	---	*** -fin de l'intoxication-	***	-- **
28	420	490	510	540	7,6	17
52	560	480	510	480	7,6	17
Moyennes						
totales:	494	502	525	532	7,6	17,3
(s)	32	11	13	30	0,1	1,0
fin intox	495	505	528	535	7,6	17,3
(s)	16	8	13	28	0,1	1,0

TABLEAU 58 : Evolution temporelle des teneurs en PCB
(ng/L) dans l'eau des bacs ($m \pm \sigma$, n-11).

TEMPS (h)	TEMOIN	50 ng/L	500 ng/L	500 ng/L
0	<30	72	609	4200
10	<30	565	1287	2280
24	<30	404	511	1881
48	130	245	265	1735
72	84	114	334	1868
96	101	99	239	1624
120	127	87	259	2402
144	62	n.d.	260	2330
168	<30	99	281	505
192	<30	98	275	485
240	<30	34	291	314
Moyenne	51	212	422	1810
σ	47	192	297	1061
264	<30	102	198	290
336	<30	70	108	215

n.d.: non mesuré ; σ = écart-type.

ANNEXE 3

RESULTATS DES ANALYSES DE SPECTROMETRIE
DE MASSE.

Notes liminaires

L'interprétation des spectres de masse est effectuée selon les règles de fragmentation en GC/MS. Une copie des spectres de masse obtenus par Safe et Hutzinger (Safe et Hutzinger, 1976), à partir de solutions standard de différents congénères de PCBs est jointe de manière à permettre la comparaison avec les spectres obtenus lors de notre étude.

Plusieurs documents sont présentés pour chaque échantillon soumis à la spectrométrie de masse. Il s'agit successivement du chromatogramme obtenu sur l'appareillage permettant la GC/MS, d'une sélection de spectres de masse correspondant à certains pics de ce chromatogramme et enfin d'une interprétation succincte des résultats ainsi obtenus.

Les numéros (2 à 7) indiqués sur les pics des chromatogrammes correspondent au nombre de chlores des molécules de PCBs constituant ces pics. Dans le cas où plusieurs pics très voisins n'ont pu être séparés, les numéros correspondent au congénère dont la concentration est la plus importante.

Les lettres (A, B, C, D, E, F) notées sur les chromatogrammes indiquent les pics dont les spectres de masse sont fournis en regard. Pour chaque échantillon analysé par GC/MS, nous avons fait figurer les spectres de masse de 4 à 6 pics de PCBs. Chaque spectre de masse correspondant à un seul congénère, on peut donc identifier de manière certaine la molécule en tant que PCBs mais on ne peut toutefois préciser de quel isomère il s'agit.

Spectres de masse de différents congénères de PCBs
(Safe & Hutzinger, 1976).

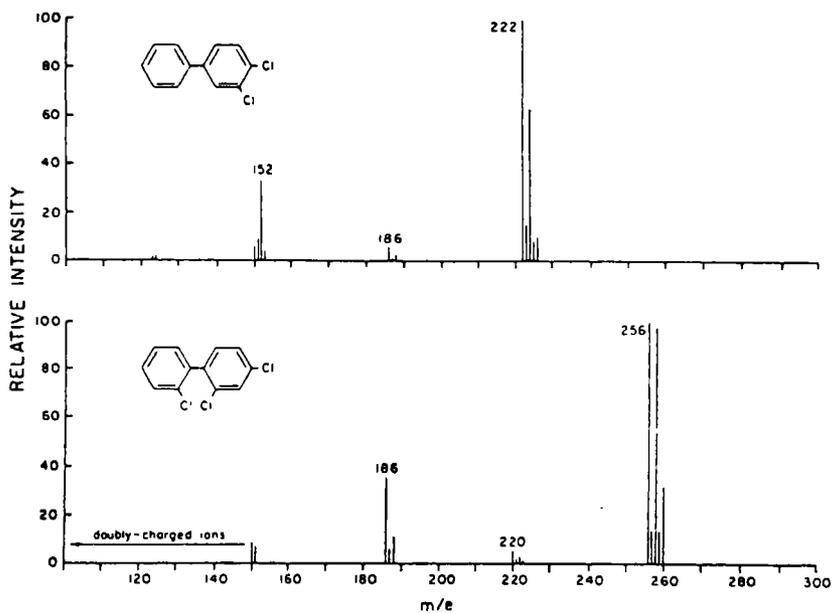


FIGURE 2. Top, mass spectrum of 3,4-dichlorobiphenyl; bottom, mass spectrum of 2,2',4-trichlorobiphenyl.

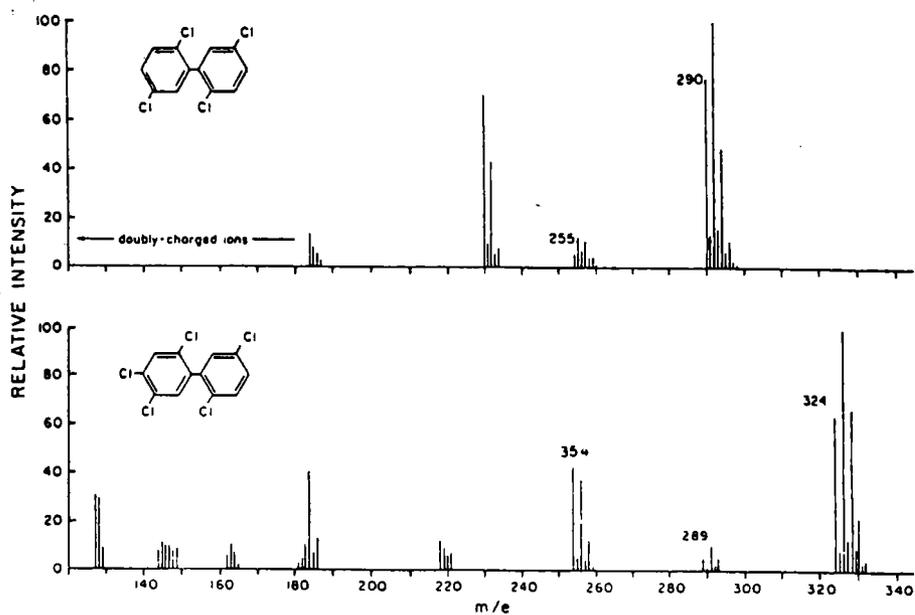


FIGURE 3. Top, mass spectrum of 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl; bottom, mass spectrum of 2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl.

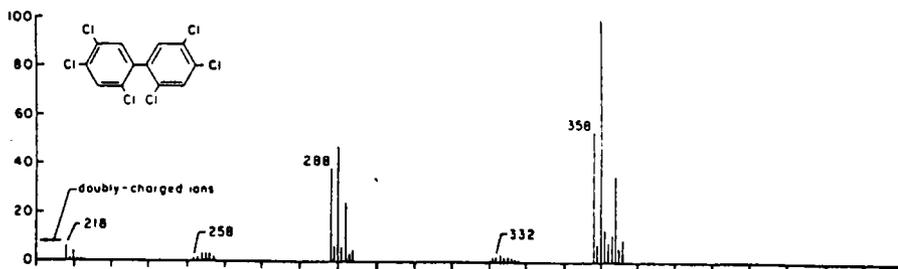


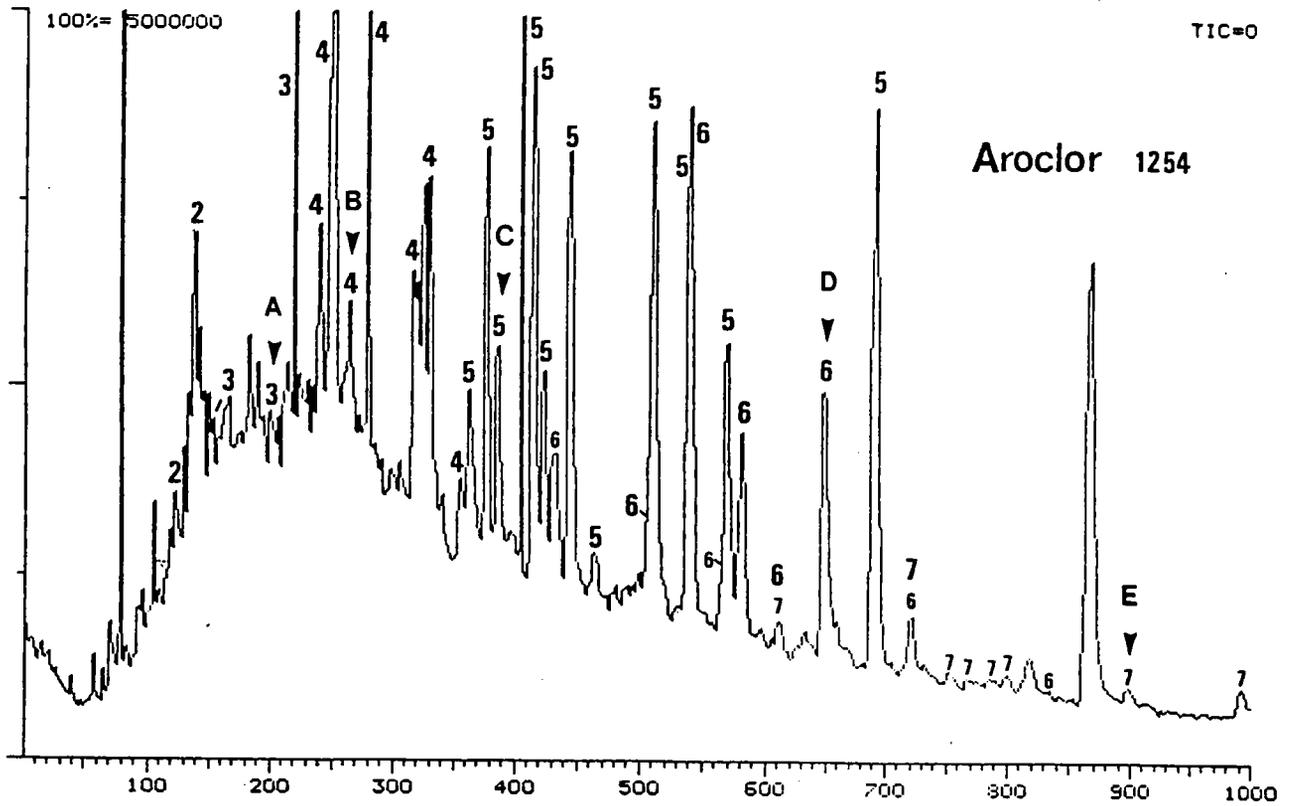
FIGURE 4. Top, mass spectrum of 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl

Chromatogramme de la solution standard d'Arochlor 1254.NERMAC/SIDAR U 2.3
FILE A: DP5:A1254

[64, 8]

21-MAR-88
18-MAR-88

2

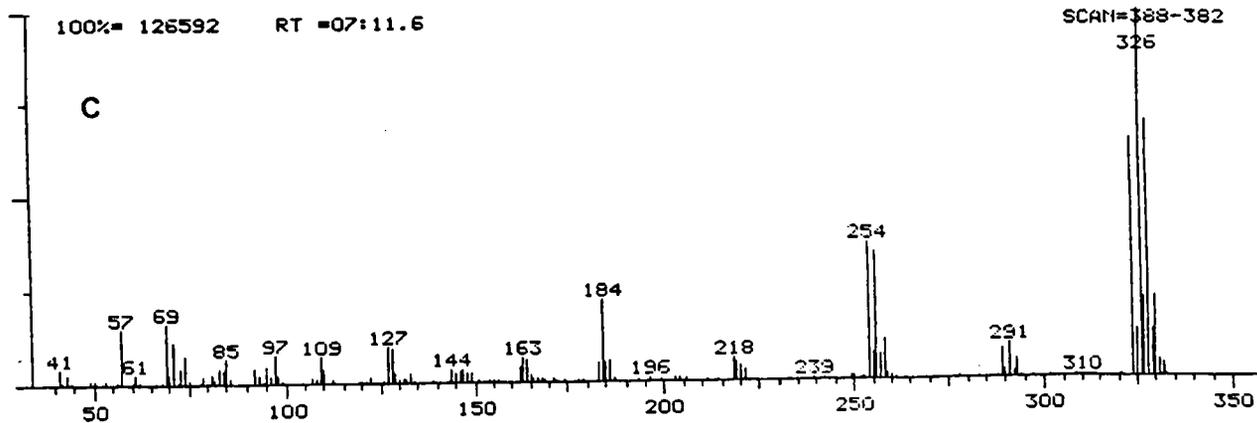
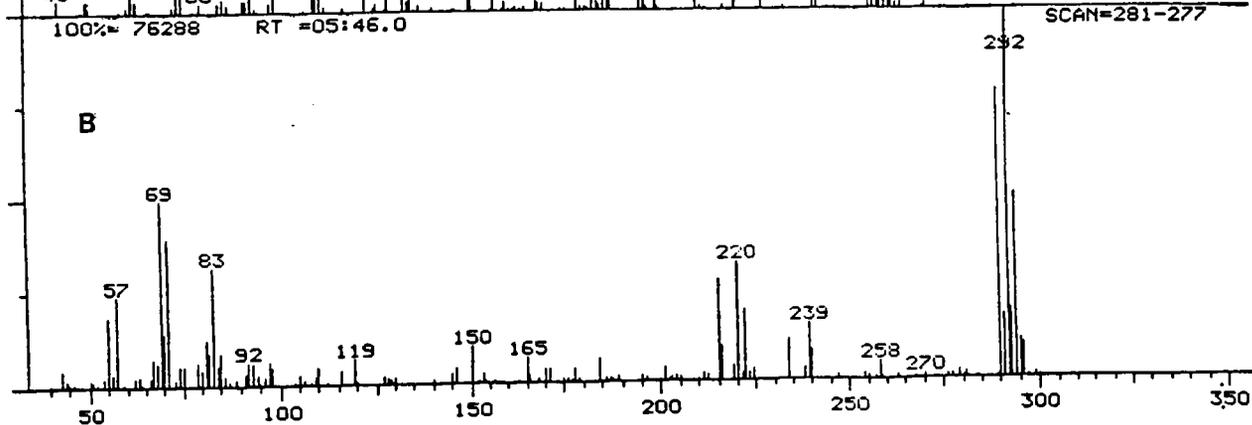
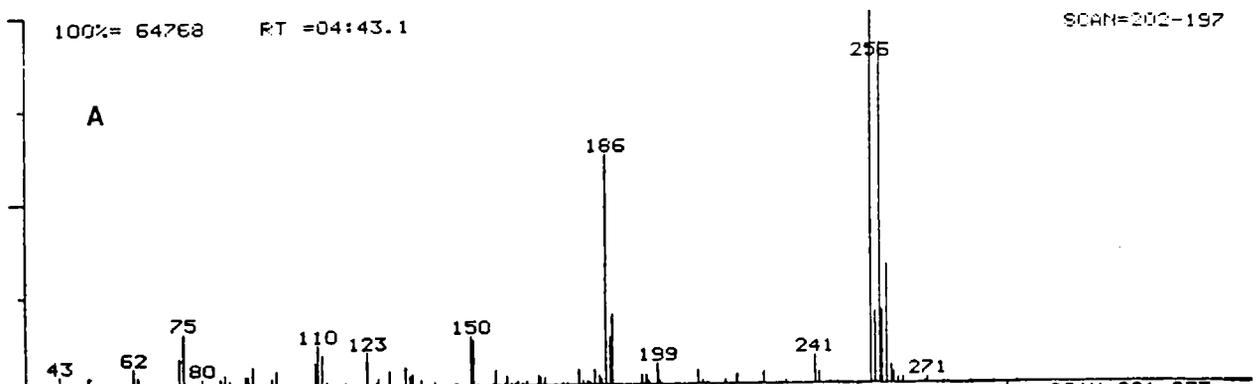


Spectres de masse des pics A à C
de la solution d'Arochlor 1254.

HERIAC/SIDAR U 2.3
FILE A: DPS:A1254

[64, 81

21-MAR-86
18-MAR-86



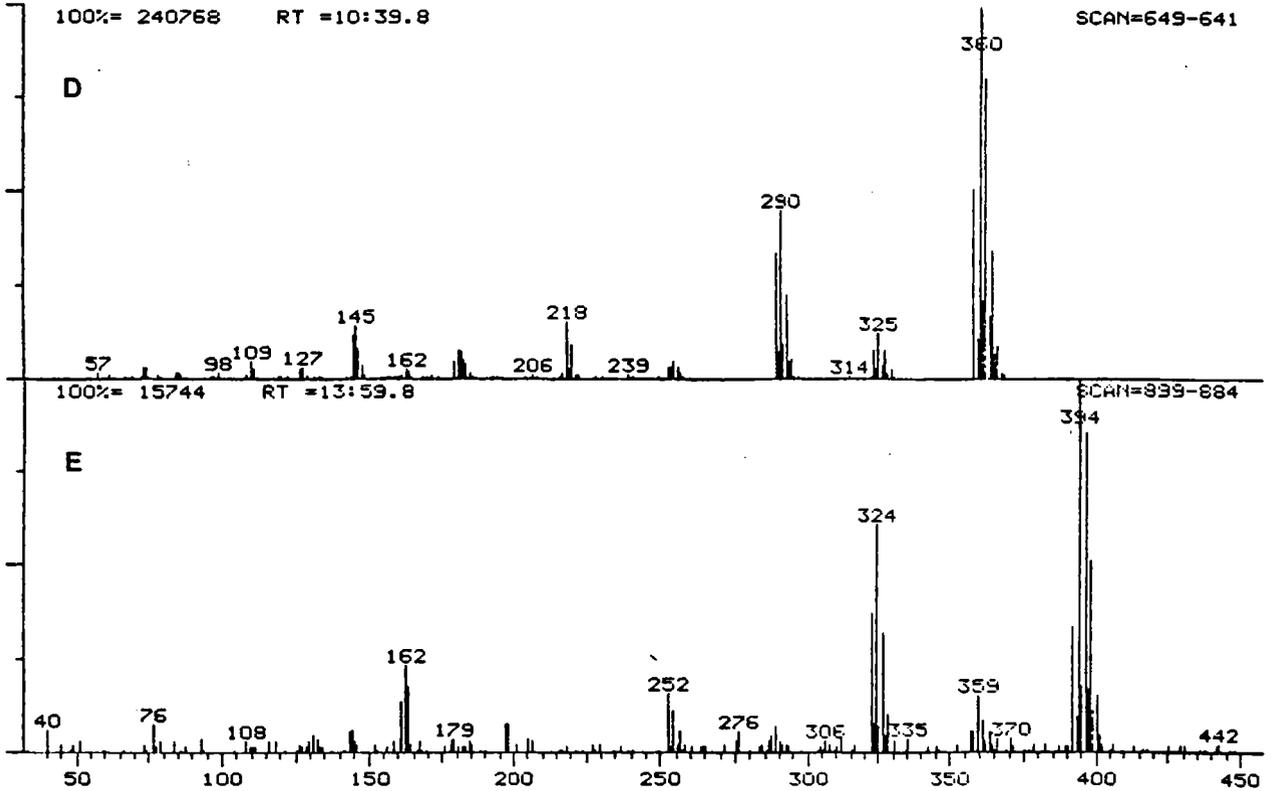
Spectres de masse des pics D et E
de la solution d'Arochlor 1254.

NERMAG/SIDAR U 2.3
FILE A: DP5:A1254

[64, 8]

21-MAR-86
18-MAR-86

3



INTERPRETATION

Pic A	:	Trichlorobiphényle.
Pic B	:	Tétrachlorobiphényle.
Pic C	:	Pentachlorobiphényle.
Pic D	:	Hexachlorobiphényle.
Pic E	:	Heptachlorobiphényle.

L'Arochlor 1254 est constitué par une majorité de tetra-, penta- et hexachlorobiphényles mais il est néanmoins possible d'identifier des di-, tri- et heptachlorobiphényles.

Chromatogramme d'un extrait hexanique obtenu à partir des
Fontinalis antipyretica autochtones de la rivière de Moulineau.

NERMAG/SIDAR U 2.3
FILE A: DP5:PCB26
ECH. 26 SFLITLESS 180 ->240

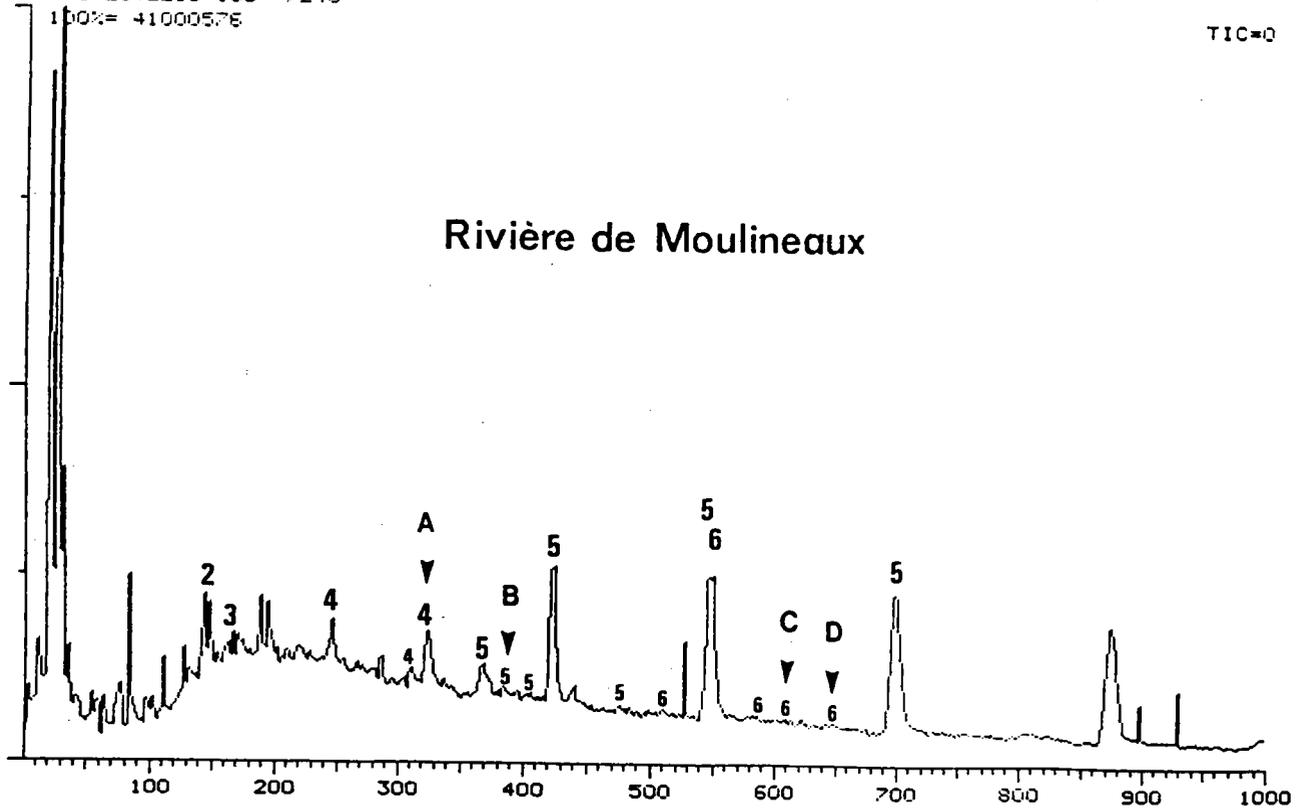
[64, 8]

21-MAR-86
18-MAR-86

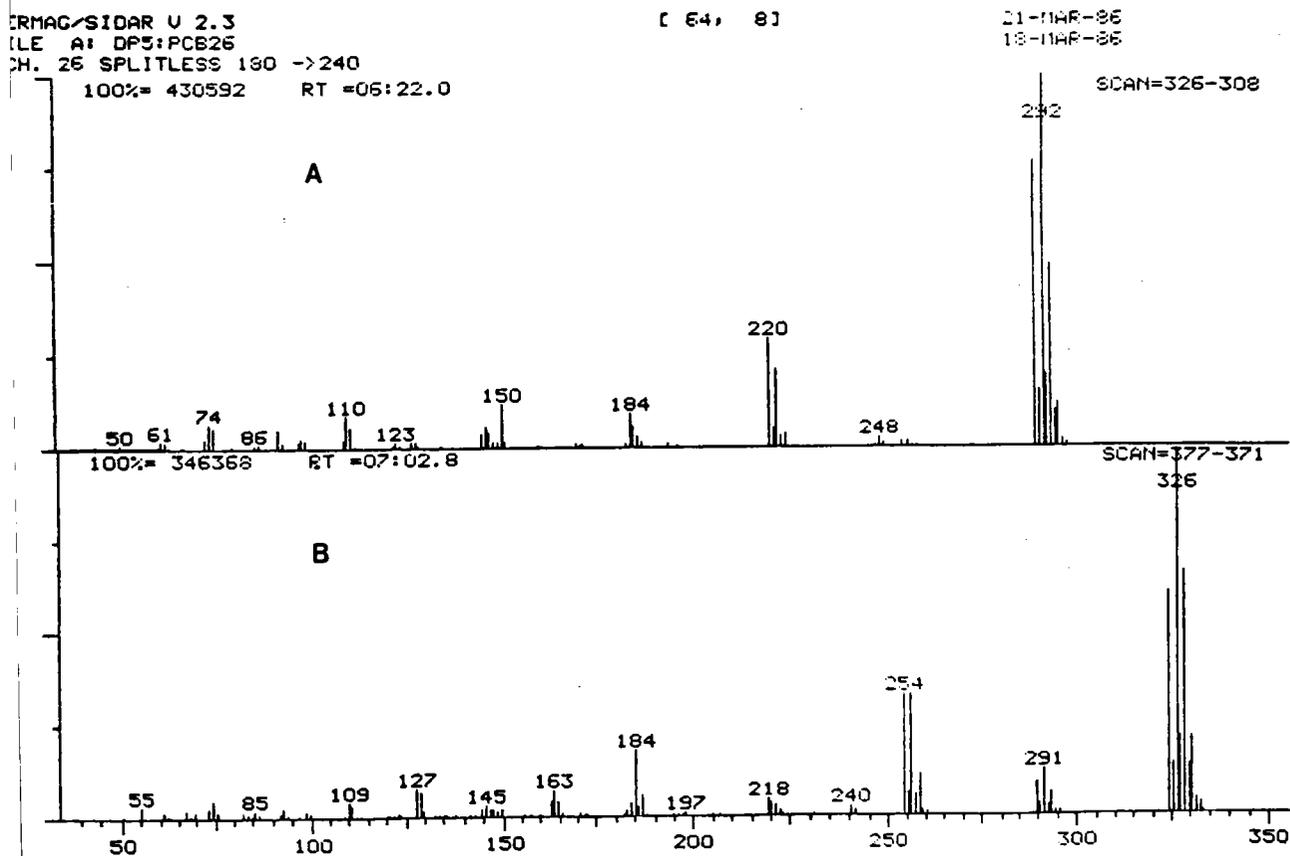
1

TIC=0

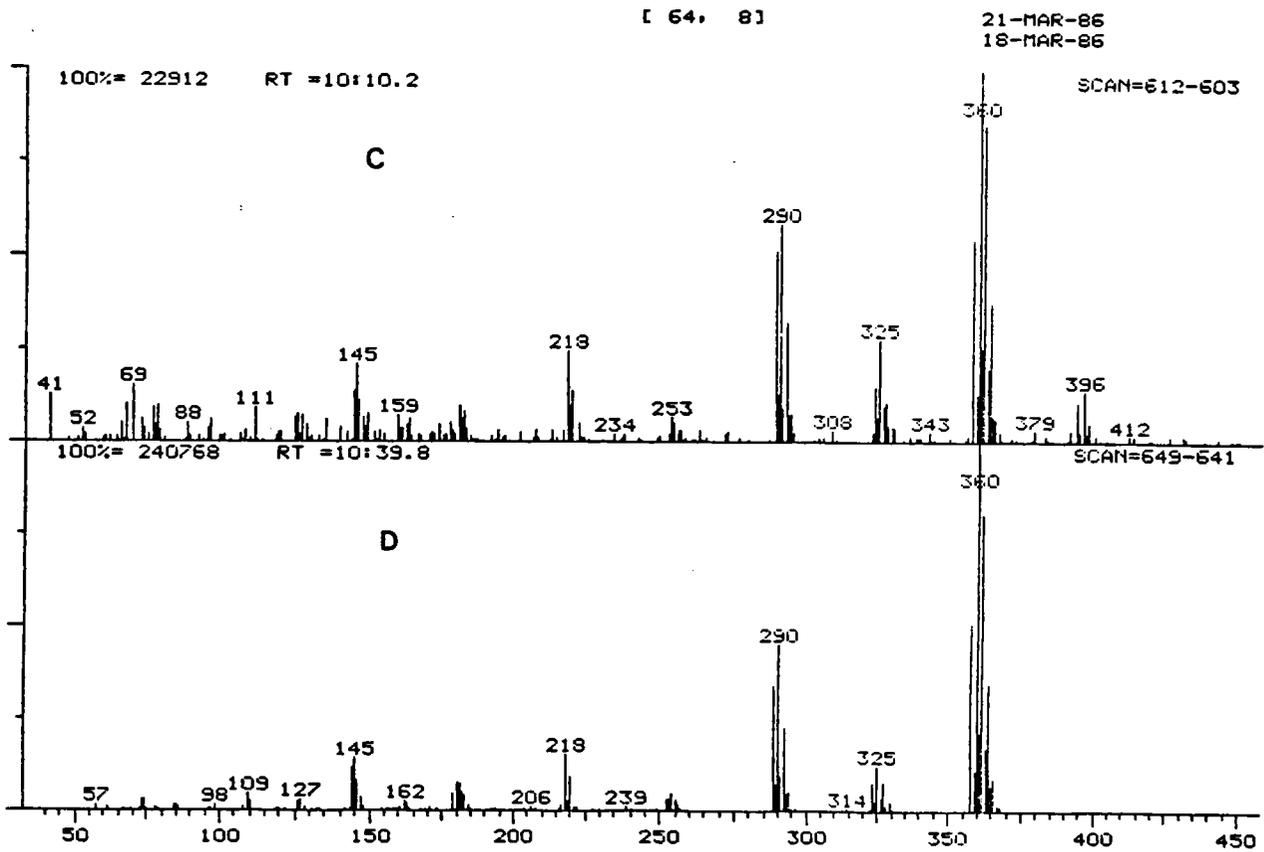
Rivière de Moulineaux



Spectres de masse des pics A et B
de l'extrait hexanique obtenu à partir des mousses
aquatiques autochtones de la rivière de Moulineau.



Spectres de masse des pics C et D de l'extrait hexanique
obtenu à partir des bryophytes aquatiques autochtones
de la rivière de Moulineau.



INTERPRETATION

A	:	Tétrachlorobiphényle.
B	:	Pentachlorobiphényle.
C	:	Hexachlorobiphényle.
D	:	Hexachlorobiphényle.

Le profil du chromatogramme montre une pollution des bryophytes aquatiques de la rivière de Moulineau par des PCBs moyennement lourds type Arochlor 1254.

Chromatogramme d'un extrait hexanique obtenu à partir des
Cinclidotus danubicus implantées à l'arrivée en Seine du
rejet de Oissel I.C.I.

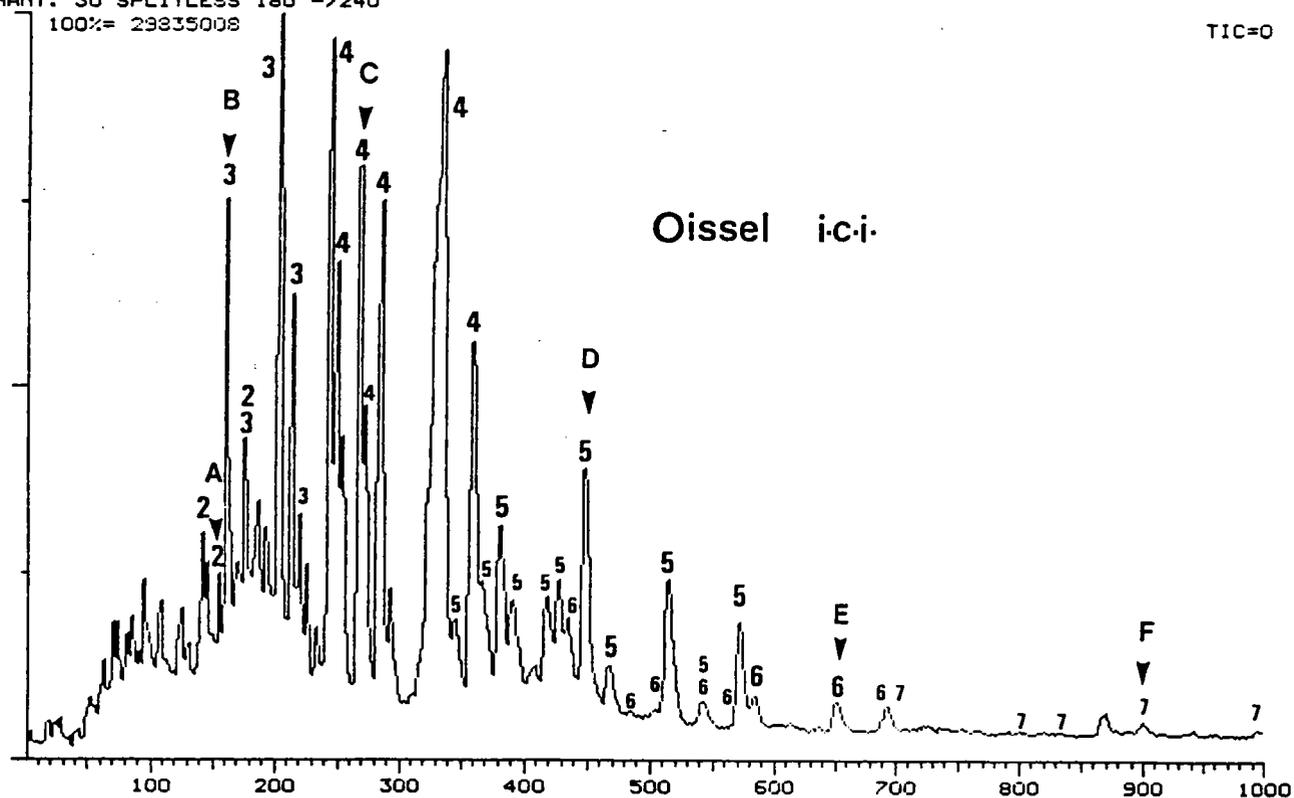
NERMAG/SIDAR U 2.3
FILE A: DP5:PCB30
ECHANT. 30 SPLITLESS 180 ->240

[64, 8]

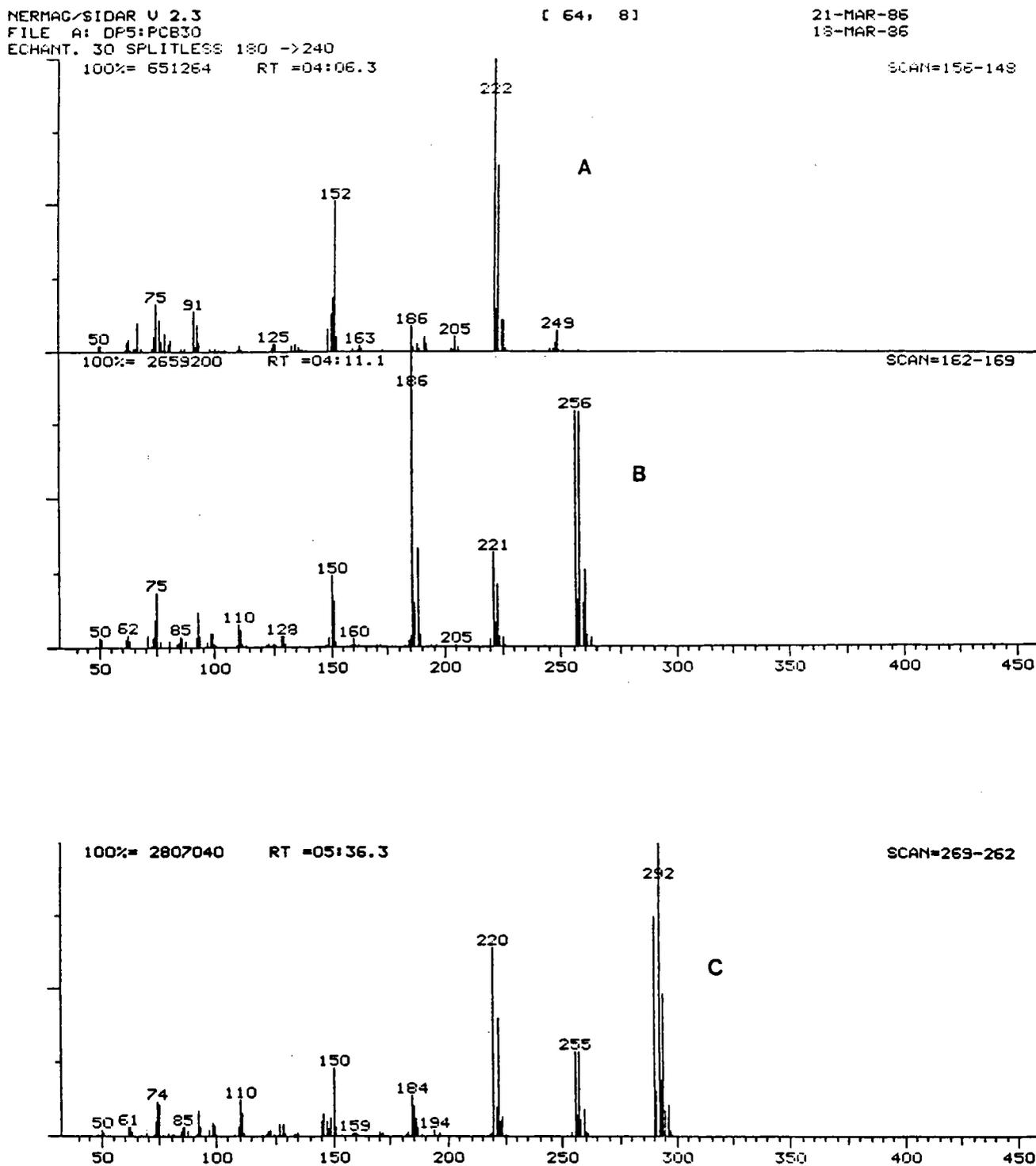
21-MAR-86
18-MAR-86

2

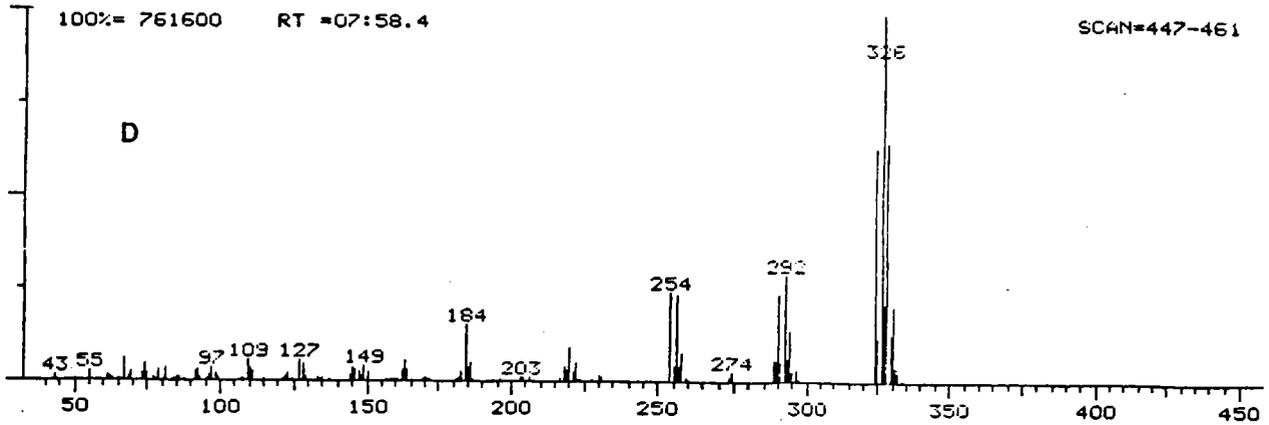
TIC=0



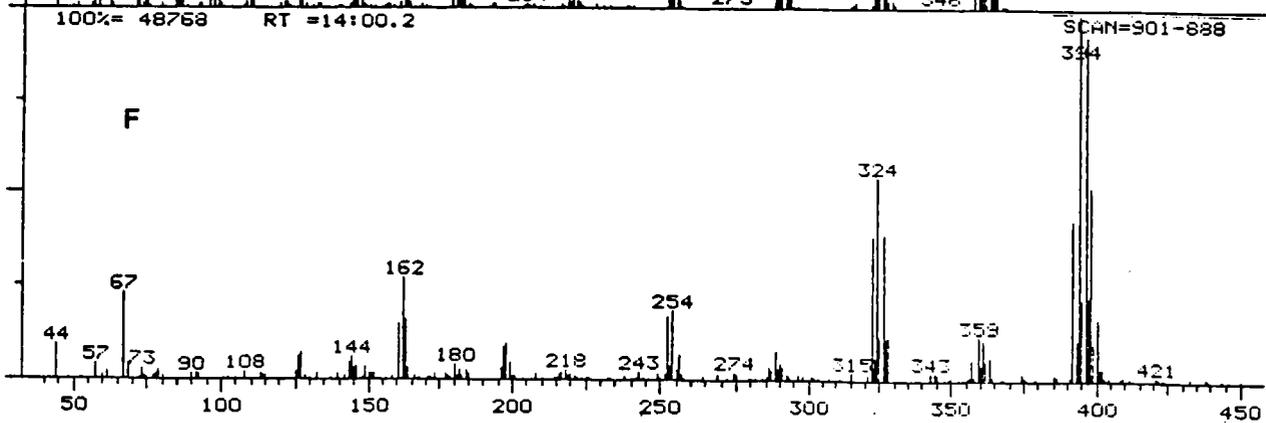
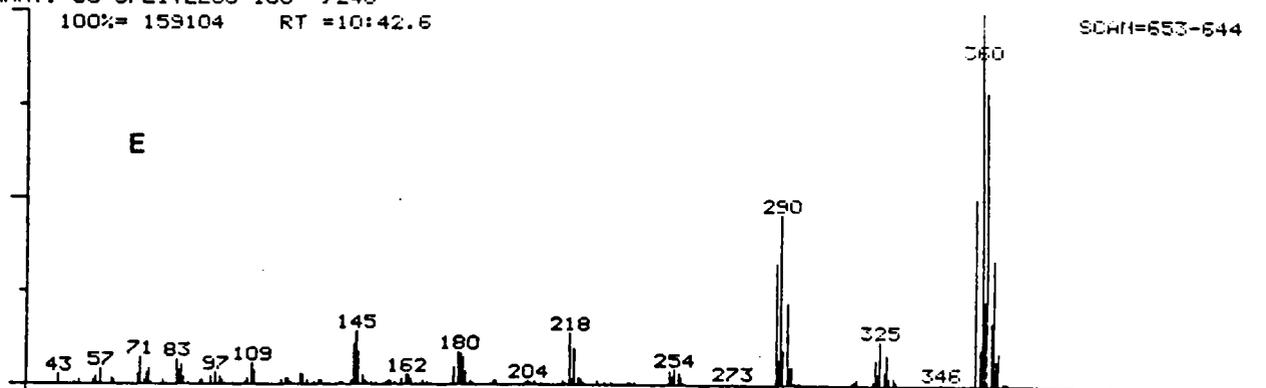
Spectres de masse des pics A, B et C de l'extrait hexanique
obtenu à partir des bryophytes aquatiques implantées à
l'arrivée en Seine de Oissel I.C.I.



Spectres de masse des pics D, E et F de l'extrait hexanique
obtenu à partir des bryophytes aquatiques implantées à
l'arrivée en Seine du rejet de Oissel I.C.I.



NERMAC/SIDAR U 2.3 [64, 81 21-MAR-86 2
 FILE A: DP5:PCB30 18-MAR-86
 ECHANT. 30 SPLITLESS 180 ->240
 100% = 159104 RT = 10:42.6 SCAN=653-644



INTERPRETATION

A	:	Dichlorobiphényle.
B	:	Trichlorobiphényle.
C	:	Tetrachlorobiphényle.
D	:	Pentachlorobiphényle.
E	:	Hexachlorobiphényle.
F	:	Heptachlorobiphényle.

La spectrométrie de masse confirme la pollution des mousses aquatiques implantées à l'arrivée du rejet en Seine de Oissel I.C.I. par des PCBs légers type Arochlor 1242. En effet, les pics majeurs correspondent bien à des PCBs essentiellement tri et tetrachlorés.

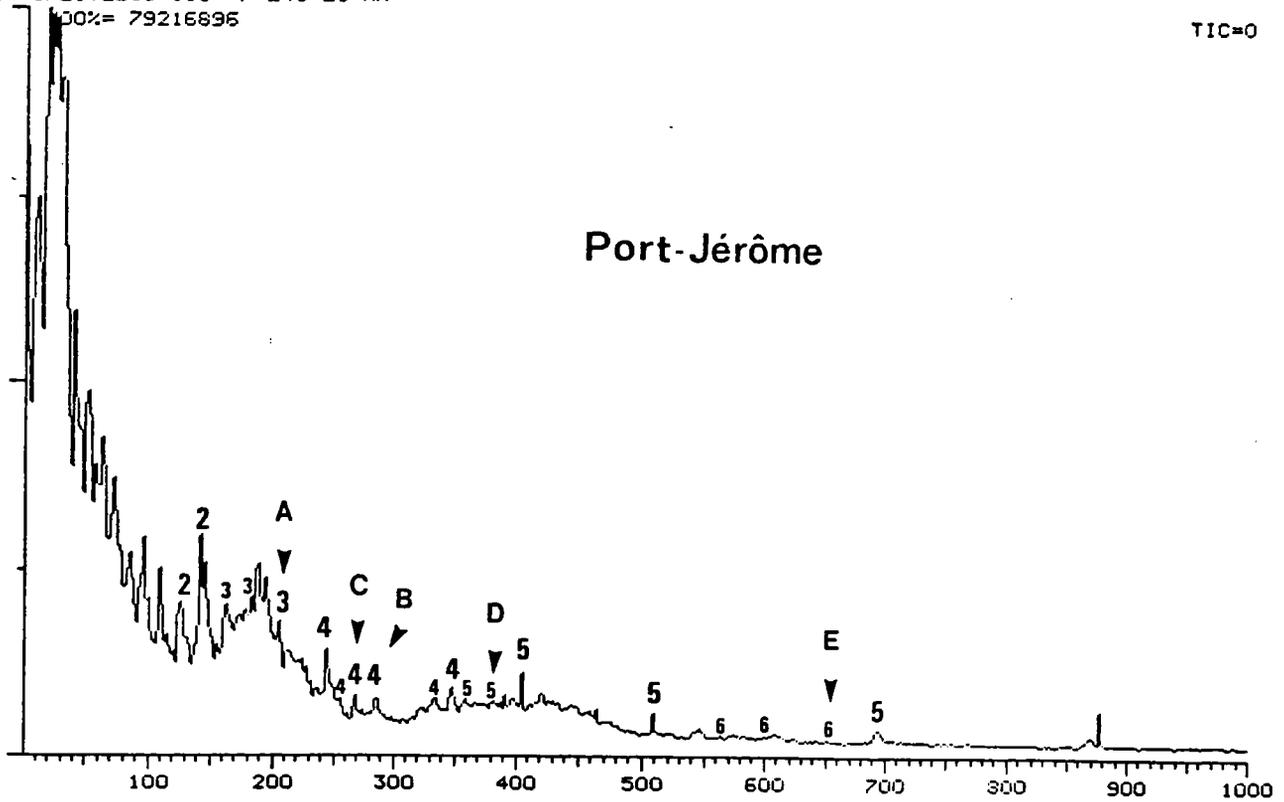
Chromatogramme d'un extrait hexanique obtenu à partir des
Cinclidotus danubicus implantées à Port-Jérôme.

NERMAC/SIDAR U 2.3
FILE A: DPS:PCB34
F 34 SPLITLESS 180 -> 240 20\MN
100%= 79216895

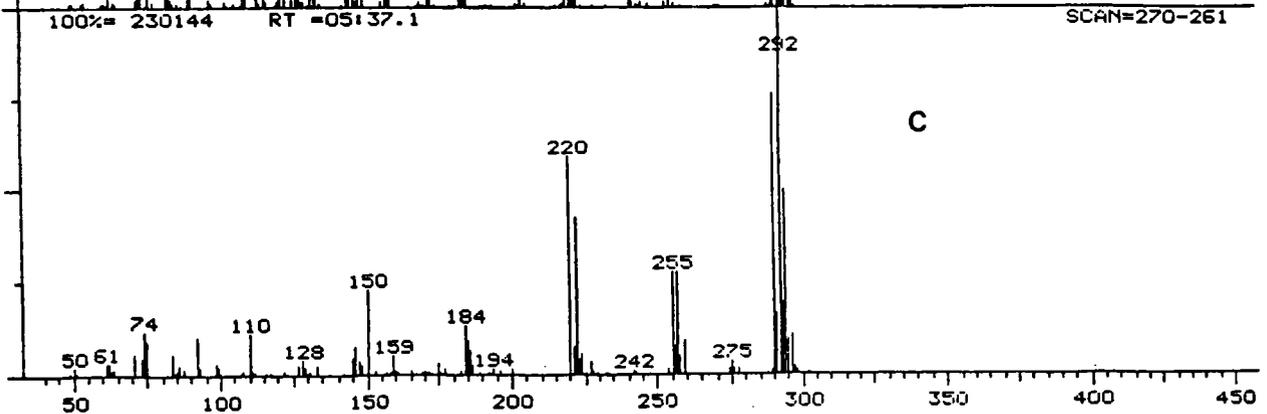
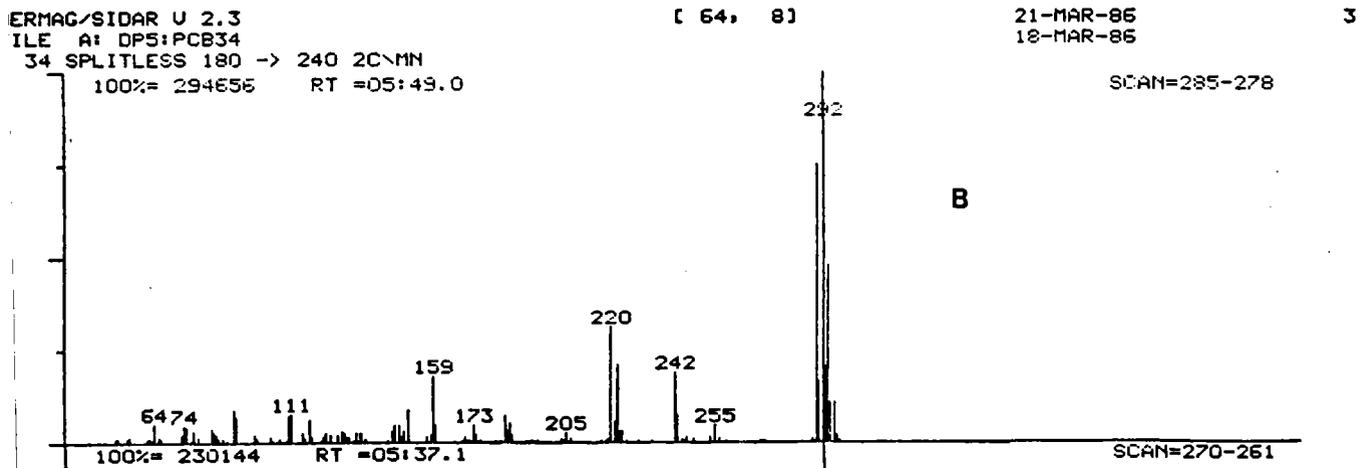
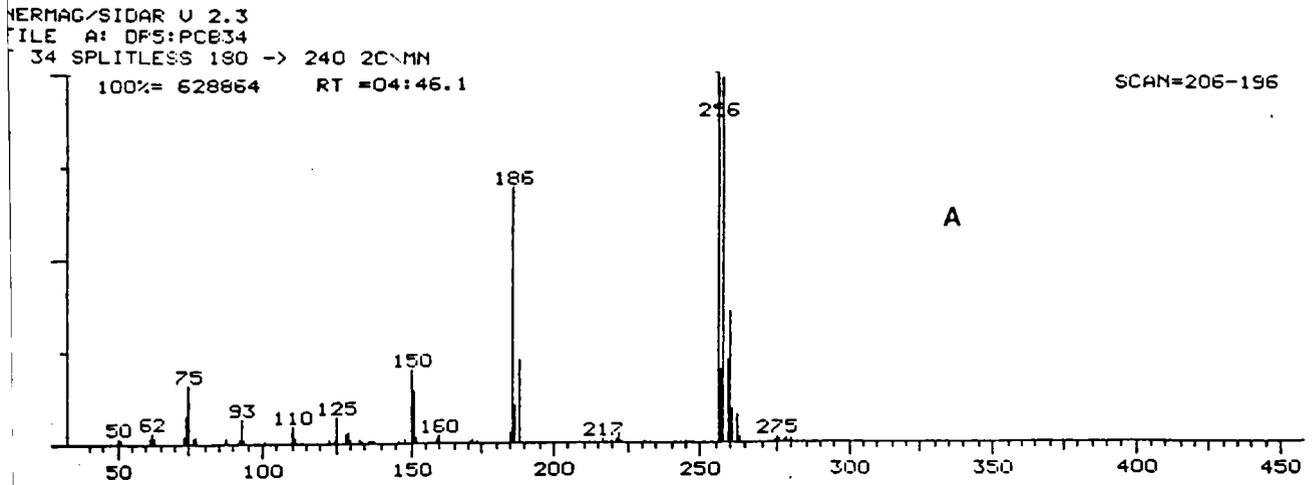
[64, 8]

21-MAR-86
18-MAR-85

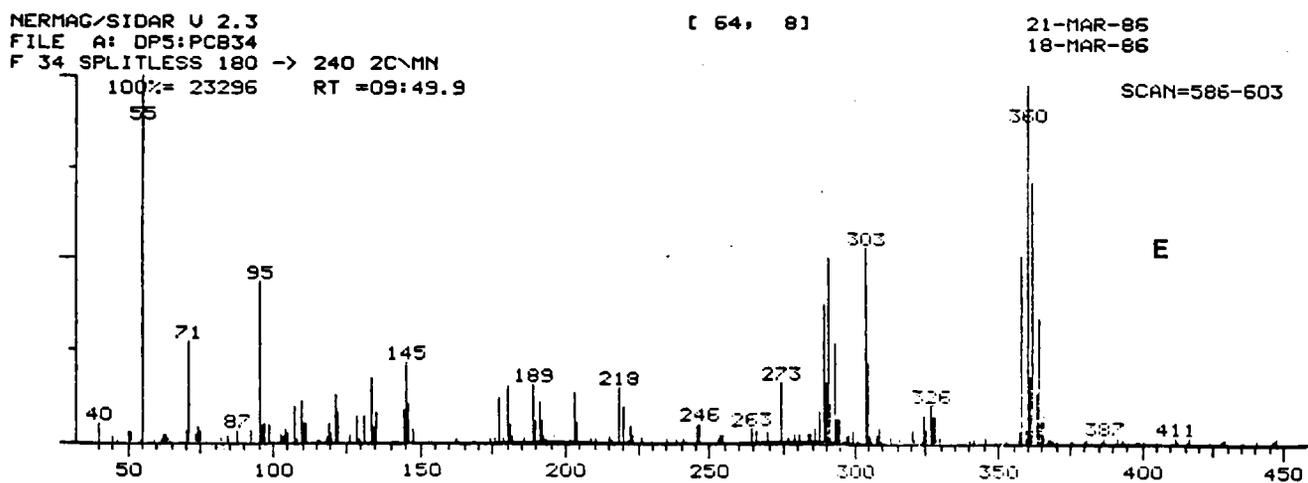
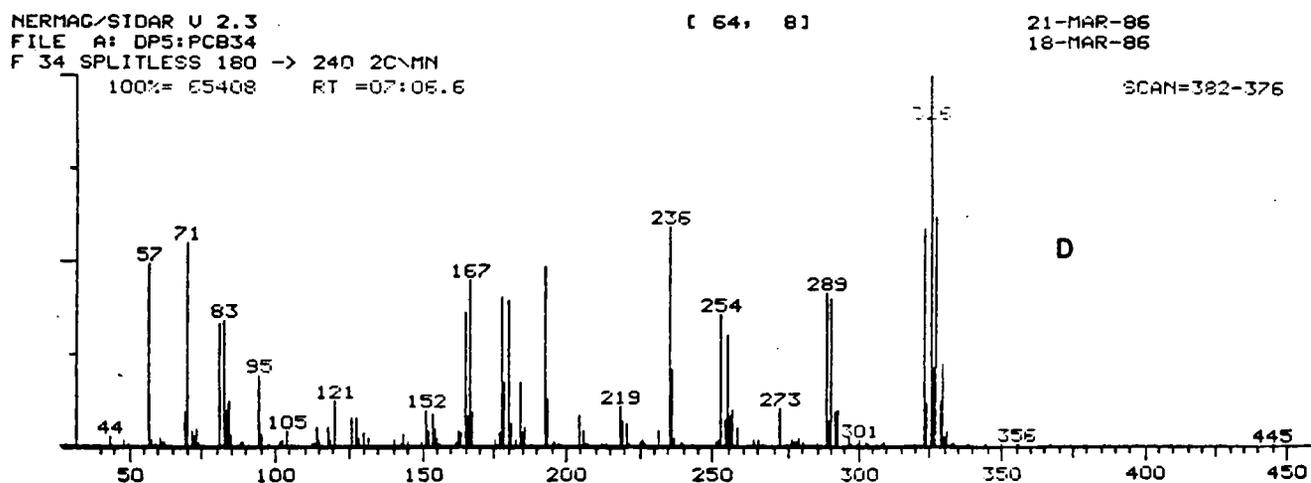
TIC=0



Spectres de masse des pics A, B et C de l'extrait hexanique
obtenu à partir des bryophytes aquatiques implantées
à Port-Jérôme.



Spectres de masse des pics D et E de l'extrait hexanique
obtenu à partir des bryophytes aquatiques implantées
à Port-Jérôme.



INTERPRETATION

A	:	Trichlorobiphényle.
B	:	Tetrachlorobiphényle.
C	:	Tetrachlorobiphényle.
D	:	Pentachlorobiphényle.
E	:	Hexachlorobiphényle.

Le profil du chromatogramme montre une pollution des bryophytes aquatiques de Port-Jérôme par des PCBs moyennement lourds type Arochlor 1254.

Chromatogramme d'un extrait hexanique obtenu à partir des
Cinclidotus danubicus autochtones de Poses.

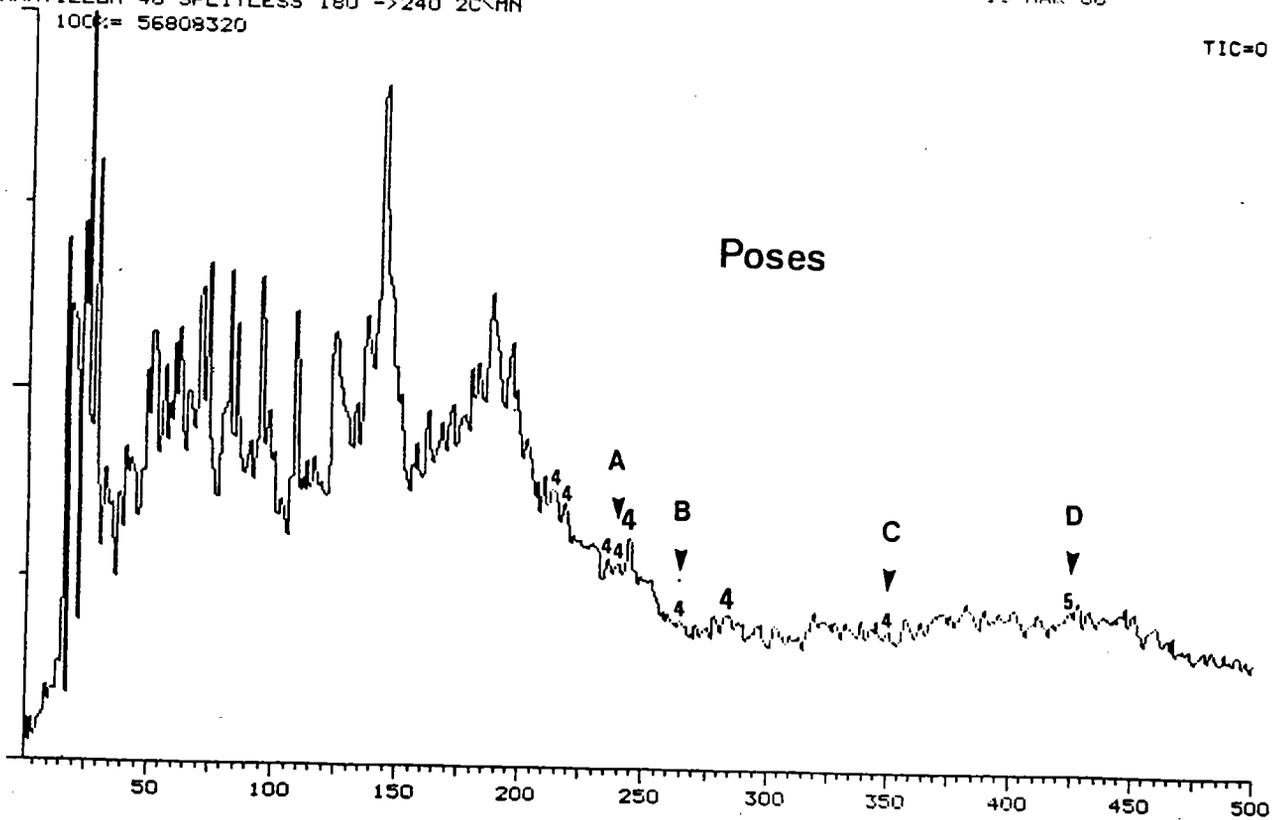
NERMAG/SIDAR U 2.3
FILE A: PCB40
ECHANTILLON 40 SPLITLESS 180 ->240 20MIN
100% = 56808320

[64, . 8]

21-MAR-86
13-MAR-86

1

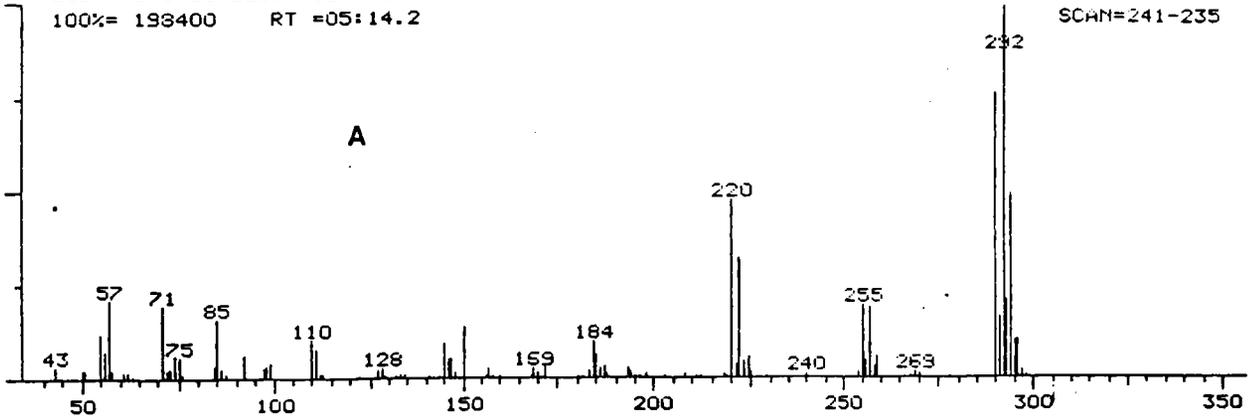
TIC=0



Spectres de masse des pics A et B de l'extrait hexanique
obtenu à partir des bryophytes aquatiques
autochtones de Poses.

NERMAG/SIDAR U 2.3
FILE A: PCB40
ECHANTILLON 40 SPLITLESS 180 ->240 20MIN
100%= 198400 RT =05:14.2

SCAN=241-235

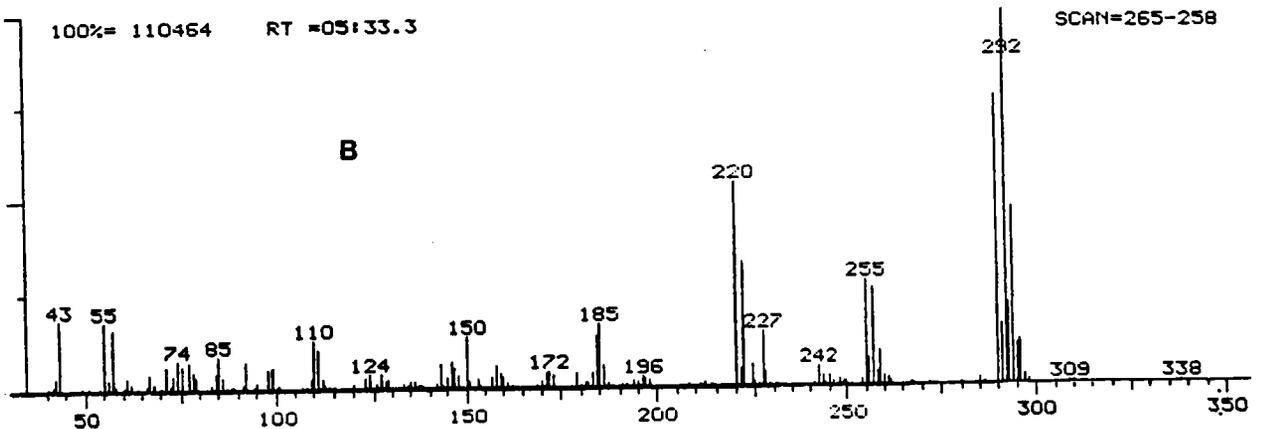


[64, 8]

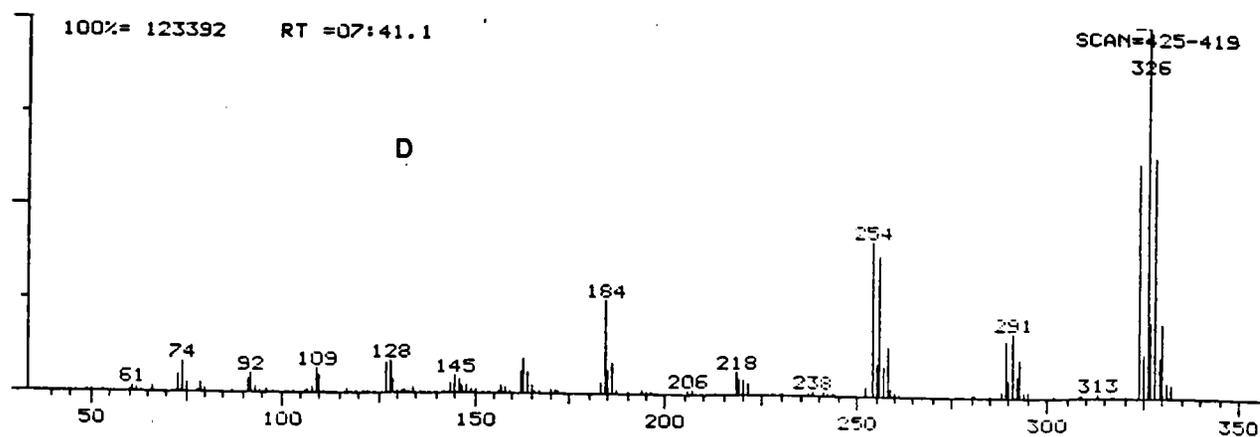
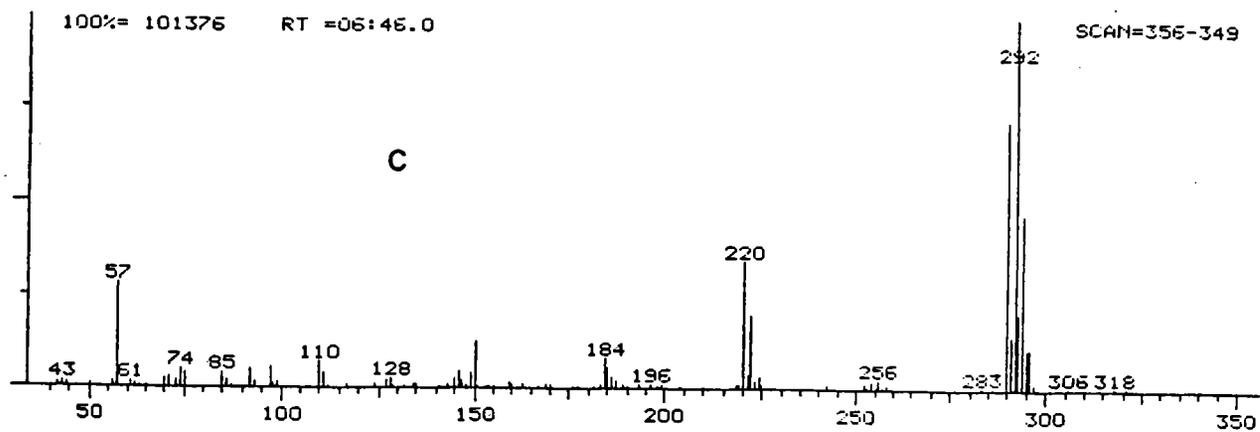
21-MAR-86
18-MAR-86

100%= 110464 RT =05:33.3

SCAN=265-258



Spectres de masse des pics C et D de l'extrait hexanique
obtenu à partir des bryophytes aquatiques
autochtones de Poses.



INTERPRETATION

A	:	Tetrachlorobiphényle.
B	:	Tetrachlorobiphényle.
C	:	Tetrachlorobiphényle.
D	:	Pentachlorobiphényle.

La pollution des bryophytes aquatiques de Poses est représentée par une majorité de PCBs lourds type Arochlor 1254 mais aussi par des PCBs plus légers type Arochlor 1242.

ANNEXE 4

APPLICATION DES GRILLES DE QUALITE.

TABLEAU 64 : Application des grilles de qualité à la Seine.

No	STATIONS	BRYOPHYTE	Esp	Début du transfert	Date de retrait	Durée	PCB
	To Transfert	autochtone	Cin		18/6		++
1	La Cave	autochtone	Cin		18/7		++
2	Vives-Eaux	autochtone	Cin		3/7		++
		autochtone	Cin		18/7		++
3	Coudray	autochtone	Cin		19/6		++
		autochtone	Cin		18/7		++
4	Evry	autochtone	Fon		19/6		++
		autochtone	Cin		18/7		++
5	Ablon	autochtone	Cin		3/7		++
		transfert	Cin	19/6	3/7	14 J	++
		transfert	Cin	19/6	18/7	29 j	++
6	Port à l'Anglais	autochtone	Cin		20/6		++
		transfert	Cin	20/6	3/7	13 j	++
7	Suresnes	autochtone	Cin		20/6		++
		autochtone	Cin		4/7		+++
8	Epinay	transfert	Cin	20/6	4/7	14 j	+++
		transfert	Cin	20/6	19/7	29 j	+++
9	Chatou	transfert	Cin	24/6	8/7	14 j	++
10	Les Mureaux	transfert	Cin	24/6	8/7	14 j	+++
11	Porcheville	transfert	Cin	26/6	10/7	14 j	++
12	Ile de Limay	transfert	Cin	26/6	10/7	14 j	++
		transfert	Cin	26/6	24/7	28 j	++
13	Mantes	transfert	Cin	11/7	24/7	13 j	++
14	Méricourt	autochtone	Cin		26/6		++
		autochtone	Cin		11/7		++
		transfert	Cin	26/6	11/7	15 j	++
		transfert	Cin	26/6	30/7	34 j	++
15	St Marcel	transfert	Cin	27/6	24/7	27 j	++
16	Poses	autochtone	Cin		17/6		+++
		autochtone	Cin		16/7		+++
		transfert	Cin	17/6	16/7	29 j	+++
17	Elbeuf	transfert	Cin	17/6	1/7	14 j	++
		transfert	Cin	17/6	15/7	28 j	+++
18	Oissel Quino.	transfert	Cin	17/6	1/7	14 j	++
		transfert	Cin	17/6	15/7	28 j	+++
19	Oissel ICI	transfert	Cin	17/6	1/7	14 j	+++
		transfert	Cin	17/6	15/7	28 j	+++
20	Grand-Quevilly	transfert	Cin	1/7	15/7	14 j	+++
		transfert	Cin	1/7	26/7	25 j	+++
21	Grand-Couronne	transfert	Cin	18/6	1/7	13 j	++
		transfert	Cin	18/6	15/7	27 j	++
22	La Bouille	transfert	Cin	17/6	15/7	28 j	++
23	Duclair	transfert	Cin	17/6	15/7	28 j	++
24	Caudebec	transfert	Cin	18/6	15/7	27 j	++
25	Port-Jérôme	transfert	Cin	28/6	15/7	17 j	+++
		transfert	Cin	28/6	26/7	30 j	++
E	Eure	autochtone	Cin		16/7		+++

+ : Niveau de contamination faible
 ++ : Niveau de contamination importante
 +++ : Niveau de contamination très importante

TABLEAU 65 : Application des grilles de qualité à l'Isère, le Drac et le Furon (témoin).

Sites	Date de retrait	Espèces	A ou T	PCB	HCB	α HCH	β HCH	Lindane	Σ DDT
Furon *	9/3/84	Pla r	A	++	++	+++	+++	+++	++
Io	9/3/84	Cin d	A	++	++	++	+	++	++
Io	9/3/84	Pla r	A	++	++	++	+	+++	++
Do	9/3/84	Dre sp.	A	++	++	+++	+	+++	++
Do	29/3/84	Pla r	T	++	+++	+++	+	+++	++
Ia	10/3/84	Cin d	A	++	++	++	+	++	++
Ia *	16/3/84	Pla r	T	++	++	++	+++	+++	++
Ia *	23/3/84	Pla r	T	++	++	+++	++	+++	++
Ia	29/3/84	Pla r	A	++	+++	+++	++	+++	++
Ia	13/4/84	Fon r	A	++	+++	+++	+	+++	++
Dg	16/3/84	Pla r	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Dg *	16/3/84	Pla r	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Dg *	23/3/84	Pla r	T	+++	+++	++	+++	+++	+++
Iv	10/3/84	Cin d	A	+++	+++	++	+++	+++	+++
Iv	10/3/84	Pla r	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Iv *	10/3/84	Fon a	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Iv	16/3/84	Pla r	A	++	+++	++	+	+++	+++
Iv *	16/3/84	Fon a	A	+++	+++	+++	+	+++	+++
Iv	16/3/84	Fon a	A	++	+++	+++	++	+++	+++
Iv *	16/3/84	Pla r	T	++	+++	+++	++	+++	+++
Iv *	23/3/84	Pla r	T	++	+++	+++	+++	+++	+++
Iv *	23/3/84	Fon a	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Iv	29/3/84	Pla r	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Iv	29/3/84	Pla r	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Iv	13/4/84	Fon a	A	+++	+++	+++	++	+++	+++
Iv	13/4/84	Pla r	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Iv	13/4/84	Pla r	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Iv *	13/4/84	Pla r	T	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Isg *	10/3/84	Fon a	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Isg	29/3/84	Pla r	T	+++	+++	+++	++	+++	+++
Isg	13/4/84	Pla r	T	+++	+++	+++	++	+++	+++
Isg	13/4/84	Fon a	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++
If	5/4/84	Cin d	A	++	+++	++	++	+++	+++
Ic	10/3/84	Fon a	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ic	10/3/84	Cin d	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ic *	29/3/84	Cin d	A	++	+++	+++	+++	+++	+++
Ic *	29/3/84	Fon a	A	+++	+++	+++	++	+++	+++
Ic	30/3/84	Pla r	T	+++	+++	+++	++	+++	+++
Ic	30/3/84	Cin d	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ic	30/3/84	Fon a	A	+++	+++	+++	++	+++	+++
Ic	4/4/84	Cin d	A	+++	+++	+++	+	+++	+++
Ic	13/4/84	Cin d	A	++	+++	++	+	++	+++
Ic	13/4/84	Fon a	A	+++	+++	+++	+++	+++	+++

+ : Niveau de contamination faible

++ : Niveau de contamination importante

+++ : Niveau de contamination très importante

TABLEAU 66 : Application des grilles de qualité basées sur la contamination des mousses aquatiques par les PCB
Exemple du fossé de Prinsonrue et de la Moselle en aval de Metz.

+ : Niveau de contamination faible
++ : Niveau de contamination importante
+++ : Niveau de contamination très importante

DUREE D' EXPOSITION	Espèces de mousses	station 1	station 2	station 3	station 4	ARGANCY station 5	HAUCONCOURT station 6	UCKANGE station 7
4 jours	Fontinalis	+++	+++	+++	++	++	++	++
	Platyhypnidium	+++	+++	+++	++	++	+++	+++
11 jours	Fontinalis	+++	+++	+++	++	— —	++	++
	Platyhypnidium	+++	+++	+++	+++	++	++	++
18 jours	Fontinalis	+++	+++	+++	++	++	++	++
	Platyhypnidium	+++	+++	+++	++	++	++	++
24 jours	Fontinalis	+++	+++	+++	++	++	++	++
	Platyhypnidium	+++	+++	+++	++	++	++	++

Cinclidotus autochtones ARGANCY : 0,83 µg/g. (++)

Cinclidotus autochtones UCKANGE : 2,08 µg/g. (+++)

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

Nom : GALLISSOT

Date de soutenance

Prénom : Brigitte

17 novembre 1988

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

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

RESUME :

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

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

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

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

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

MOTS-CLES : Macrophytes aquatiques ; Résidus organochlorés ; PCB ; DDT ; Bioaccumulation ; Dépuraton ; Grille de qualité ; *Fontinalis antipyretica* ; *Platyhypnidium riparioides*.

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

DIRECTEUR DE RECHERCHE : Pr. Michel NOURISSON.

RAPPORTEURS : Pr. J.-C. PIHAN - Pr. F. RAMADE

EXAMINATEURS : Pr. G. KECK - F. LANGENFELD - C. MOUVET - Pr P. VASSEUR

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

Nom : GALLISSOT

Date de soutenance

Prénom : Brigitte

17 novembre 1988

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

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

RESUME :

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

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

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

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

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

MOTS-CLES : Macrophytes aquatiques ; Résidus organochlorés ; PCB ; DDT ; Bioaccumulation ; Dépuraton ; Grille de qualité ; *Fontinalis antipyretica* ; *Platyhypnidium nipaoides*.

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

DIRECTEUR DE RECHERCHE : Pr. Michel NOURISSON.

RAPPORTEURS : Pr. J.-C. Pihan - Pr. F. RAMADE

EXAMINATEURS : Pr. G. KECK - F. LANGENFELD - C. MOUVET - Pr P. VASSEUR
