

Record Number: 1020
Author, Monographic: Couture, P.//Lambert, M.//Visser, S. A.
Author Role:
Title, Monographic: Effets toxiques des insecticides fénitrothion et matacil sur le
phytoplancton et le zooplancton
Translated Title:
Reprint Status:
Edition:
Author, Subsidiary:
Author Role:
Place of Publication: Québec
Publisher Name: INRS-Eau
Date of Publication: 1979
Original Publication Date:
Volume Identification:
Extent of Work: viii, 103
Packaging Method: pages
Series Editor:
Series Editor Role:
Series Title: INRS-Eau, Rapport de recherche
Series Volume ID: 102
Location/URL:
ISBN: 2-89146-099-5
Notes: Rapport annuel 1979-1980
Abstract: Rapport rédigé pour le ministère des Terres et Forêts du Québec
15.00\$
Call Number: R000102
Keywords: rapport/ ok/ dl

EFFETS TOXIQUES DES INSECTICIDES
FENITROTHION ET MATACIL SUR LE PHYTOPLANCTON
ET LE ZOOPLANCTON

par

P. COUTURE, M. LAMBERT, S.A. VISSER

INRS-Eau
Université du Québec
C.P. 7500, Sainte-Foy,
Québec G1V 4C7

Rapport présenté au Ministère des Terres et Forêts du Québec
(contrat en vertu du CT 111428 - le 4 avril 1978)

Rapport scientifique No 102

1979

EFFETS TOXIQUES DES INSECTICIDES
FENITROTHION ET MATACIL SUR LE PHYTOPLANCTON
ET LE ZOOPLANCTON

par

P. COUTURE, M. LAMBERT, S.A. VISSER

INRS-Eau
Université du Québec
C.P. 7500, Sainte-Foy,
Québec G1V 4C7

Rapport présenté au Ministère des Terres et Forêts du Québec
(contrat en vertu du CT 111428 - le 4 avril 1978)

Rapport scientifique No 102

1979

TABLE DES MATIERES

	<u>PAGE</u>
TABLE DES MATIERES	i
LISTE DES TABLEAUX	iii
LISTE DES FIGURES	iv
SOMMAIRE	vii
1. INTRODUCTION	1
1.1 Fénitrothion	1
1.1.1 Historique et structure chimique	1
1.1.2 Produits de dégradation	1
1.1.3 Effets sur les animaux	4
1.1.4 Effets sur les végétaux	7
1.1.5 Impact et persistance dans l'environnement aquatique	7
1.2 Matacil	10
1.2.1 Historique et structure chimique	10
1.2.2 Produits de dégradation	12
1.2.3 Effets sur les animaux	12
1.2.4 Effets sur les végétaux	13
2. PROBLEMATIQUE	14
2.1 Fénitrothion	14
2.2 Matacil	15
2.3 Objectif	15
3. PARTIE EXPERIMENTALE	16
3.1 Détermination de la toxicité du fénitrothion et du matacil	16
3.1.1 Introduction	16
3.1.2 Méthodes expérimentales	17
A. Réactifs	17
B. Matériel biologique	21
C. Bioessais	21
a) Test avec <u>Daphnia magna</u>	21
b) Test avec <u>Selenastrum capricornutum</u>	23

	c) Test avec <u>Chlamydomonas variabilis</u>	24
	d) Dosage chimique des résidus	26
3.1.3	Résultats	26
	A. Dosage des résidus	26
	B. Le concept RLC50	27
	C. Dosage biologique de la toxicité: LC50 et RLC50	29
3.1.4	Discussion	29
	A. Test avec <u>Daphnia magna</u>	29
	B. Test avec <u>Selenastrum capricornutum</u>	29
	C. Test avec <u>Chlamydomonas variabilis</u>	36
3.2	Effets de certains facteurs physiques et chimiques sur la toxicité du fénitrothion et du matacil	40
3.2.1	Introduction	40
3.2.2	Méthodes expérimentales	41
	A. Réactifs et matériel biologique	41
	B. Tests biologiques	41
	a) Température	41
	b) pH	41
	c) Nutriments (P,N)	41
3.2.3	Résultats	42
3.2.4	Discussion	42
	A. Effets de la température	42
	B. Effets du pH	56
	C. Effets du phosphore et de l'azote	57
4.	CONCLUSION GENERALE	58
5.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	61
ANNEXE 1:	Etudes complémentaires	68
ANNEXE 2:	Tableaux des valeurs qui sont illustrées aux figures 5 à 25	82

LISTE DES TABLEAUX

		<u>PAGE</u>
1	Effets toxiques du fénitrothion sur différentes espèces animales	9
2	Conditions d'opération pour la chromatographie en phase gazeuse du fénitrothion et du matacil	20
3	Les concentrations léthales (LC50) où 50% des organismes meurent ou sont immobilisés (ppb)	30
4	Les concentrations léthales relatives (RLC50) où 50% des organismes meurent ou sont immobilisés (ppb)	31

LISTE DES FIGURES

		<u>PAGE</u>
1	Structure chimique du fénitrothion et de quelques-uns de ses métabolites	2
2	Matacil (I) et quelques-uns des métabolites carbamates	11
3	Chromatogrammes du fénitrothion obtenus sous les conditions indiquées au tableau 3	18
4	Chromatogrammes du matacil obtenus sous les conditions indiquées au tableau 2	19
5	Variations des concentrations en résidus des pesticides dans le milieu de culture PAAP stérile au cours d'une période de 14 jours	28
6	Croissance relative de l'algue <i>Selenastrum capricornutum</i> en fonction des concentrations de fénitrothion (96%)	32
7	Croissance relative de l'algue <i>Selenastrum capricornutum</i> en fonction des concentrations de fénitrothion / paratex / cyclo-sol 63	33
8	Croissance relative de l'algue <i>Selenastrum capricornutum</i> en fonction des concentrations de matacil 1.4 OSC	34
9	Croissance relative de l'algue <i>Selenastrum capricornutum</i> en fonction des concentrations de matacil 1.4 OSC / paratex	35
10	Variation de la concentration létale (LC50) du fénitrothion en fonction du temps d'exposition dans un milieu de culture de <i>Selenastrum capricornutum</i>	37

11	Variation de la concentration létale (LC50) des "produits inertes" en fonction du temps d'exposition dans un milieu de culture de <i>Selenastrum capricornutum</i>	38
12	Variation de la concentration létale (LC50) du matacil en fonction du temps d'exposition dans un milieu de culture de <i>Selenastrum capricornutum</i>	39
13	Effet de la température sur la concentration létale (LC50) affectant <i>Daphnia magna</i> (fénitrothion)	43
14	Effet de la température sur la concentration létale (LC50) affectant <i>Daphnia magna</i> (matacil)	44
15	Effet de la température sur la concentration létale (LC50) affectant <i>Chlamydomonas variabilis</i> (fénitrothion)	45
16	Effet de la température sur la concentration létale (LC50) affectant <i>Chlamydomonas variabilis</i> (matacil)	46
17	Effet de la température sur la concentration létale (LC50) affectant <i>Selenastrum capricornutum</i> (fénitrothion)	47
18	Effet de la température sur la concentration létale (LC50) affectant <i>Selenastrum capricornutum</i> (matacil)	48
19	Effet du pH sur la concentration létale (LC50) affectant <i>Daphnia magna</i> (matacil)	49
20	Effet du pH sur la concentration létale (LC50) affectant <i>Chlamydomonas variabilis</i> (fénitrothion)	50
21	Effet du pH sur la concentration létale (LC50) affectant <i>Chlamydomonas variabilis</i> (matacil)	51

22	Influence du phosphore sur la sensibilité de l'algue <i>Selenastrum capricornutum</i> au fénitrothion	52
23	Influence du phosphore sur la sensibilité de l'algue <i>Selenastrum capricornutum</i> au matacil	53
24	Influence de l'azote sur la sensibilité de l'algue <i>Selenastrum capricornutum</i> au fénitrothion	54
25	Influence de l'azote sur la sensibilité de l'algue <i>Selenastrum capricornutum</i> au matacil	55

SOMMAIRE

Il est connu que les insecticides fénitrothion et matacil sont utilisés de façon efficace dans la lutte contre l'infestation des épinettes par la chenille, *Choristoneura fumiferana*. Les effets du fénitrothion sur les organismes non-cibles et sur l'environnement ont en général été étudiés depuis quelques années. Aux doses utilisées lors des pulvérisations, cet insecticide n'a pas d'effet majeur sur la vie animale et végétale. Toutefois, les incidences à long terme de leurs produits de dégradation mériteraient une étude plus approfondie. En ce qui concerne le matacil, ses effets sur l'environnement furent très peu étudiés vu son utilisation tout-à-fait récente; on distingue une activité beaucoup plus grande que le fénitrothion contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette.

Notre étude tend à déterminer en laboratoire la toxicité de chaque insecticide sur certains organismes non-cibles, et ensuite à vérifier si certains facteurs physiques et chimiques peuvent influencer cette toxicité.

Les techniques utilisées concernent les essais biologiques. Ces bio-essais sont réalisés avec trois organismes, soit deux algues (*Selenastrum capricornutum* et *Chlamydomonas variabilis*) et un crustacé (*Daphnia magna*). Ces organismes sont en général peu utilisés par les chercheurs qui travaillent sur la toxicité du fénitrothion et du matacil.

La mesure de la toxicité consiste à déterminer la concentration de substance capable d'inhiber 50% des organismes utilisés dans un test (LC50). Les essais sont réalisés aussi bien sur la formulation des insecticides que sur chacun des produits retrouvés dans les composés utilisés lors des pulvérisations.

En ce qui concerne le fénitrothion (formulation), l'effet toxique majeur est obtenu avec *Daphnia magna*. En effet, des concentrations relatives aussi faibles que 1 ppb immobilisent 50% des individus en 24 heures (RLC50 - 24 h = 1 ppb). Les algues *Chlamydomonas variabilis* et *Selenastrum capricornutum* semblent beaucoup moins sensibles au fénitrothion (RLC50 - 24h = 10.6×10^3 ppb et RLC50 - 14j = 0.6×10^3 ppb).

Le matacil (formulation) apparaît beaucoup moins toxique que le fénitrothion sur la *Daphnie* (RLC50 - 24h < 0.1×10^3 ppb). La sensibilité des algues est à peu près la même que celle mesurée pour la *Daphnie*.

En ce qui concerne les ingrédients inertes composant les formulations utilisées au Québec, ils sont étudiés en fonction de leurs effets synergétiques ou antagonistes sur les produits purs. Les résultats obtenus avec les différents organismes montrent que les produits inertes ont un effet synergétique sur la toxicité du fénitrothion (pour *Selenastrum* et *Chlamydomonas*) et un effet antagoniste dans le cas du matacil (pour *Daphnia*). Les variations dans la toxicité du fénitrothion et du matacil sont en général observées avec des changements de température et de pH. En ce qui concerne l'effet des nutriments sur la sensibilité de l'algue *Selenastrum capricornutum* en présence des pesticides, les résultats mettent en évidence des variations selon les différentes concentrations en phosphore et en azote.

Enfin des études complémentaires ont mis en évidence la stabilité du fénitrothion en milieu stérile durant 14 jours sous une intensité lumineuse de 5,400 lux.

1. INTRODUCTION

En 1952, il y avait apparition d'une épidémie dans les forêts canadiennes causée par la tordeuse des bourgeons de l'épinette, *Choristoneura fumiferana*. Pour la contrer, on a utilisé le D.D.T. [1,1,1-trichloro-2,2 bis (p - chlorophényl) éthane] qui, après maintes études, démontrait la production d'effets toxiques sur les organismes non-cibles, surtout au niveau de la faune aquatique (Kingsbury, 1977).

La prohibition du D.D.T., en 1968, conduisit à l'introduction des insecticides organophosphorés qui se sont avérés moins toxiques pour les organismes non-cibles. Le principal insecticide utilisé fut le fénitrothion. Par la suite, on a découvert un produit plus puissant, le matacil.

1.1 Fénitrothion

1.1.1 Historique et structure chimique

Le fénitrothion, appelé aussi sumithion, folithion, métathion ou MEP, est un composé organophosphoré (figure 1) préparé pour la première fois en 1957, en Tchécoslovaquie (Eto, 1974). Cet insecticide est synthétisé à partir de la réaction du diméthyl phosphorochlorodithionate avec le 3-méthyl-4-nitrophénol. Ceci donne le 0,0-diméthyl 0-(4-nitrophényl) phosphorothionate. Il est hautement soluble dans les alcools, les éthers et les hydrocarbures aromatiques. Sa solubilité dans l'eau se situe à 30 ppm. Il se présente en liquide jaunâtre ayant une densité de 1.3227 g/cm³. Il fut introduit en 1959 par "Sumitomo Chemical Company" comme un insecticide expérimental; sa haute activité d'insecticide a été démontrée par Nishizawa (1960).

1.1.2 Produits de dégradation

Le fénitrothion se métabolise dans la plupart des cas via trois voies différentes. Premièrement, l'hydrolyse de l'insecticide nous donne le 3-méthyl-4-nitrophénol. Une autre voie est celle de l'oxydation où nous avons la formation du fénitrooxon. Enfin, le S-méthyl-fénitrothion est formé par l'isomérisation du fénitrothion.

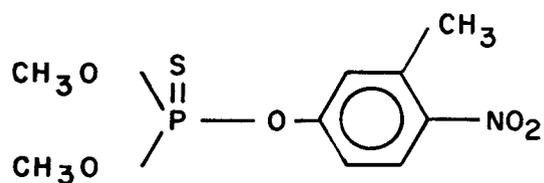
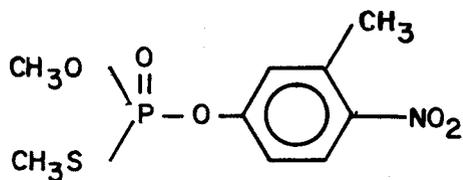
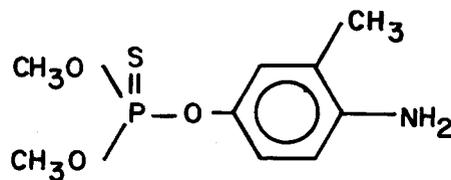
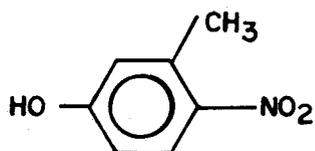
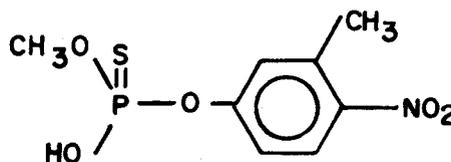
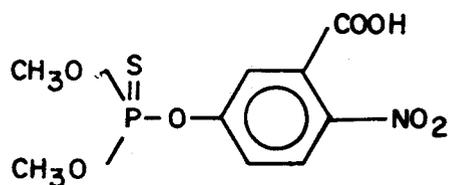
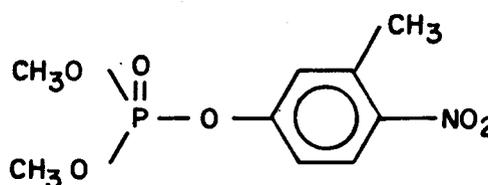
FENITROTHIONS-METHYL-FENITROTHIONAMINO - FENITROTHION3 - METHYL - 4 - NITROPHENOL
(nitrocrésol)DIMETHYL - FENITROTHIONCARBOXY - FENITROTHIONFENITROOXON

Figure 1 . Structure chimique du fénitrothion et de quelques-uns de ses métabolites.

Chez plusieurs espèces animales incluant les rats, les souris, les lapins, les chiens, les chèvres et les oiseaux, le fénitrothion se métabolise rapidement et les métabolites formés sont presque complètement éliminés dans l'urine et les fèces (Miyamoto, 1978). Ces métabolites incluent le S-méthyl-fénitrothion, le fénitrooxon et le 3-méthyl-4-nitrophénol. Par exemple, certaines études effectuées à l'aide de l'insecticide marqué ont permis de démontrer que 75% de la radio-activité initiale se retrouvait dans les urines et les fèces; on a de plus observé que la quantité de métabolites formés est en relation directe avec la concentration de fénitrothion assimilée.

Une autre voie métabolique mineure est celle qui conduit à la formation de l'amino-fénitrothion par des micro-organismes intestinaux. Celle-ci se retrouve chez des espèces animales comme les ruminants. En fait, une étude sur des chèvres a révélé que la plupart des métabolites fécaux et urinaires du fénitrothion était des dérivés amino (Mihara *et al.*, 1978). Une autre étude a été effectuée sur des vaches Jersey. Celles-ci ont reçu dans leur diète 3 mg/kg de poids/jour de fénitrothion pendant 7 jours consécutifs. Elles ont secrété au-dessus de 0.003 mg/kg d'amino-fénitrothion dans le lait (Miyamoto *et al.*, 1967). Toutefois, Johnson et Bowman (1972) n'ont pas retrouvé de métabolites dans le lait, l'urine ou les fèces des vaches Jersey. De plus, l'administration de 0.5 g/kg de poids/jour de fénitrothion pendant 7 jours à des chèvres ne révèle aucun métabolite dans leur lait (Mihara *et al.*, 1978).

En étudiant le métabolisme du fénitrothion, il est permis de se demander s'il existe vraiment une rétention des résidus de fénitrothion dans les tissus animaux. On remarque une accumulation du fénitrothion dans la graisse abdominale de rats mâles après une administration orale de 15 mg/kg de poids/jour pendant 7 jours. Toutefois, ce phénomène disparaît assez rapidement avec l'arrêt de l'administration de l'insecticide (Miyamoto et Mihara, 1977). Miyamoto *et al.* (1976) ont effectué une expérience similaire chez les lapins. Ils n'ont pas observé de métabolites accumulés. Ceci nous indique que le fénitrothion n'a pas tendance à s'accumuler dans les tissus des mammifères, même sous forme de métabolites. Il semblerait que seules les graisses ont tendance à retenir une infime partie du fénitrothion.

1.1.3 Effets sur les animaux

En ce qui concerne le fénitrothion, l'effet pharmacologique le plus important est l'inhibition de l'enzyme acétylcholinestérase. Cet enzyme a pour fonction la dégradation de l'acétylcholine qui permet la transmission nerf-impulsion. L'inhibition de l'acétylcholinestérase par des composés organophosphorés implique une phosphorylation du site actif de l'acétylcholine par lequel le processus normal d'hydrolyse survient; à un stade avancé, elle peut entraîner la mort de l'individu. Toutefois, lorsque l'inhibition est à un degré moins poussé, la réaction peut être renversée par l'atropine.

Chez l'homme

Depuis le début de l'utilisation du fénitrothion contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette, on a effectué des observations chez des hommes traités à différentes doses de ce produit organophosphoré. Dans une série d'expériences, 24 sujets humains ont reçu une seule fois par voie orale des concentrations variant entre 0.042 et 0.033 mg/kg ce qui correspondait à des teneurs variant entre 2.5 et 20 mg/personne. L'excrétion du métabolite 3-méthyl-4-nitrophénol s'est effectuée de façon partielle dans l'urine en dedans de 24 heures. L'effet d'inhibition de l'acétylcholinestérase est survenu à 0.33 mg/kg de poids seulement (Nosal et Hladka, 1968; Hladka *et al.*, 1977). Enfin, dans une autre série d'expériences où les concentrations s'évaluaient entre 0.3 et 0.5 mg/kg, les symptômes d'activité anticholinestérasique étaient observés chez approximativement la moitié des personnes traitées. Cependant aucun effet ne fut observé avec des doses de 0.2 mg/kg de poids/jour pendant 3 semaines (Garofalo *et al.*, 1972).

Un cas d'intoxication provoquée par contact chimique et par l'inhalation chez une personne a été rapporté par Ecobichon *et al.* (1977). Les symptômes furent observés 8 mois après l'exposition. On a alors suggéré que le fénitrothion pouvait avoir été emmagasiné dans les tissus adipeux humains et avoir été relâché dans des conditions de stress. Toutefois, ceci est contestable puisque des études sur les tissus adipeux

de rats, de lapins et de chiens n'ont pas démontré de tels effets à la suite d'une exposition chronique au fénitrothion (Miyamoto, 1977).

Il faut signaler que parmi les personnes qui travaillaient à la fabrication de cet insecticide, aucun travailleur n'a développé des signes d'intoxication; les examens étaient effectués sur 92 employés, 2 fois par année (Miyamoto, 1978).

Chez certains autres animaux

Les études de Garofalo *et al.* (1972) ont montré qu'après une administration de 10 mg/kg de poids, on observait chez des lapins mâles une baisse de l'activité acétylcholinestérase. Vu la grande variété des espèces animales, différentes études ont été effectuées en laboratoire pour vérifier les doses toxiques et les différentes formes de toxicité du fénitrothion. En ce qui concerne la toxicité aiguë ou à court terme, on retrouve une toxicité variable selon l'animal testé, le sexe, le groupe, la méthode d'administration et/ou la formulation utilisée. La dose où 50% des individus meurent (LC50) varie chez les mammifères de 3.3 mg/kg de poids (rat mâle, voie intraveineuse) à 1,850 mg/kg de poids (cochon d'Inde, voie orale) (Miyamoto, 1969).

Dans le cadre des études sur la toxicité chronique ou à long terme, on a observé les effets de hautes doses de fénitrothion. Les expériences portaient sur les lapins avec une diète de 10 mg/kg de poids/jour durant 6 mois (Miyamoto *et al.*, 1976), sur des chiens avec une diète de 200 ppm d'insecticide pendant 24 mois (Burtner *et al.*, 1974), et sur des rats avec une diète de 100 ppm de fénitrothion pendant 24 mois. Les résultats indiquent invariablement que le fénitrothion n'est pas hépatotoxique, ne cause pas de désordres fonctionnels au niveau rénal, ni de changements de structure dans les tissus. Des hypothèses ont aussi été émises pour vérifier l'apparition de tumeurs cancérogènes en fonction des doses de fénitrothion. On a traité des souris avec des hautes doses de l'insecticide sur une période de 78 semaines et les tissus prélevés ont été examinés au microscope. Il n'y a pas eu de changements tissulaires reliés au traitement du fénitrothion (Rutter et Banas,

1975). Alors, le seul effet chronique discernable du fénitrothion chez les mammifères fut l'inhibition de la cholinestérase à de hautes doses.

La contamination des mammifères par le fénitrothion peut se présenter sous différentes formes. L'inhalation de l'insecticide transporté dans l'air est une de ces formes. Des rats exposés à une atmosphère contenant 15 mg/m^3 de fénitrothion 2 heures par jour pendant 5 semaines subissent une diminution lente de l'activité de l'acétylcholinestérase (Kohda *et al.*, 1975). Toutefois, une étude similaire nous rapporte aucun effet majeur au niveau de l'activité de l'enzyme lorsqu'on utilise 20 mg/m^3 de fénitrothion (Kohda *et al.*, 1977). Une autre forme de contamination est l'absorption dermique. Kohda *et al.* (1977) ont déterminé une dose non-toxique pour l'activité de l'acétylcholinestérase à 10 mg/kg de poids chez des rats. Après une application dermique d'une forte concentration en fénitrothion (132 mg), 45% de l'insecticide est absorbé en 24 heures. Ceci produit une baisse considérable de l'activité de l'acétylcholinestérase sanguine (Kohli *et al.*, 1974). Des expériences effectuées sur le cochon d'Inde ont démontré que la peau n'a pas développé de sensibilité accrue à une exposition intracutanée de fénitrothion 22% et 5% (Kohda *et al.*, 1972; Matsubara *et al.*, 1977).

Les effets sur l'activité de l'acétylcholinestérase ne sont pas toujours évidents. Ainsi chez des rats une diète de 5 ppm ou 0.27 mg/kg de poids/jour pendant 92 jours n'a aucun effet sur le système enzymatique (Kadota *et al.*, 1975); on retrouve le même phénomène chez les chiens avec une diète de 5 ppm ou 0.15 mg/kg de poids/jour pendant 12 mois (Burtner *et al.*, 1974), chez les singes avec une diète de 0.5 mg/kg de poids/jour pendant 12 mois (Keplinger, 1976).

Enfin en ce qui concerne les effets du fénitrothion sur la reproduction, une étude avec des rats pendant 3 générations démontre qu'une concentration de 100 ppm de fénitrothion dans la diète affecte le nombre et le poids des jeunes (Ruttner et Nelson, 1974). De plus, une étude sur des jeunes lapins qui ont reçu des doses de 0.3 à 1 mg/kg de poids de fénitrothion, par voie orale, pendant 29 jours, nous permet d'observer aucun effet tératogénique (Ladd *et al.*, 1971).

En conséquence

Chez l'homme, l'activité de l'acétylcholinestérase serait affectée uniquement aux fortes doses de l'insecticide (> 0.33 mg/kg de poids); chez les autres animaux c'est aussi à des doses élevées (> 10 mg/kg de poids) que les effets se manifestent.

1.1.4 Effets sur les végétaux

Après une pulvérisation de fénitrothion sur des pommiers, on a retrouvé dans les pommes des métabolites à l'état de traces. Ces métabolites étaient le fénitrooxon, le S-méthyl-fénitrothion et le 3-méthyl-4-nitrophénol (Hosokawa et Miyamoto, 1974). On a remarqué aussi une persistance et une accumulation des résidus de fénitrothion dans le feuillage des conifères. Les faibles concentrations en produits de dégradation retrouvées peuvent être liées au phénomène suivant: dans l'environnement, une grande partie de l'insecticide déposé sur les plantes ou le feuillage des arbres se volatilise. Par exemple, sur des plants de riz, 50% du fénitrothion se volatilise, 10% demeure sur la plante et 40% pénètre dans les tissus végétaux (Miyamoto et Sato, 1965). Sur les feuilles de haricot, il se produit une volatilisation de 26-64% (Ohkawa *et al.*, 1974).

Des études en laboratoire sur des graines de pin blanc ont démontré la pénétration du fénitrothion et l'accumulation des métabolites comme le fénitrooxon et le S-méthyl-fénitrothion dans l'embryon et le périsperme. Ces métabolites altèrent la synthèse des acides aminés de la graine, mais n'affectent pas la croissance des semis (Hallet *et al.*, 1974). En somme, aucune différence significative n'est rapportée entre les graines de pin blanc des surfaces pulvérisées à 2-4 g/145m² de fénitrothion et les graines des surfaces intactes (Pomber *et al.*, 1974).

1.1.5 Impact et persistance dans l'environnement aquatique

On ne peut pas parler de l'impact du fénitrothion dans l'environnement sans discuter de sa stabilité chimique, et en particulier de sa

stabilité dans l'eau. Celle-ci dépend du pH, de la température et de la radiation solaire du milieu (Miyamoto, 1977). A la température ambiante, la décomposition de l'insecticide est rapide entre pH 7 et 9, mais devient presque nulle à pH 3. A ce pH, le fénitrothion a une demi-vie de 50 heures par rapport à 20 heures à pH 7 et à 6 heures à pH 9. De plus, 3% du fénitrothion est décomposé après 2 semaines à pH 3 à 37°C alors qu'à pH 9 on rencontre jusqu'à 36% du produit de décomposition (Miyamoto *et al.*, 1974). Une élévation de température favoriserait aussi une accélération des processus chimiques et ainsi une dégradation du fénitrothion (Miyamoto, 1977). De plus, il faut signaler la plus grande stabilité du produit à la noirceur. En effet, Lockart *et al.* (1973) trouvent que le fénitrothion exposé à la lumière solaire disparaît plus rapidement et qu'ainsi la photo-décomposition serait probablement le mécanisme le plus important dans la disparition de l'insecticide. Enfin, il ne faudrait pas sous-estimer l'activité des processus biologiques; en effet, les travaux de Zitko et Cunningham (1974) attribuent la disparition rapide de l'insecticide dans l'environnement à l'activité de certains micro-organismes.

Lors de la pulvérisation du fénitrothion, l'insecticide qui entre en contact avec l'eau influence plus ou moins la flore et la faune aquatique. En ce qui concerne la flore, après une pulvérisation de 4 g/145m², on retrouve dans les lentilles d'eau stagnante, après une heure, 1.44 ppm de fénitrothion et 0.03 ppm après 192 heures (Moody *et al.*, 1978). De plus, selon Mandoul *et al.* (1968), 5 ppm de fénitrothion n'affecte pas le microplancton. Pour la faune aquatique en générale, la toxicité du produit est différente selon les espèces (tableau 1). Le fénitrothion touche en particulier les insectes qui servent de nourriture aux poissons. Une pulvérisation de 2-3 g/145m² est sans effet alors que 6-8 g/145m² réduit la population d'insectes aquatiques, qui, par la suite, revient à la normale. Les résidus de fénitrothion dans ces insectes ne sont pas suffisamment élevés pour causer la mortalité des poissons qui s'en nourrissent (Wildish et Lister, 1973; Peterson, 1974; Kingsbury, 1976).

Quant aux poissons certaines études ont porté sur l'absorption et la dégradation de l'insecticide. Par exemple, si on expose des truites arc-en-ciel à une eau contenant 0.1 ou 0.02 ppm de fénitrothion, ces

TABLEAU 1: Effets toxiques du fénitrothion sur différentes espèces animales

Espèces	LC50 24h. ¹	LC50 96h. ¹	Auteurs
<u>Insectes</u>			
Moustique (larves)	0.5 - 5	- ²	Wildish et Philipps (1972)
Perle (nymphe)	2	-	Flannagan (1973)
Libellule	66	-	McLeese (1976)
"Alderfly larvae"	186	-	McLeese (1976)
Phrygane (larves)	610	-	McLeese (1976)
Tipule (larves)	40 x 10 ³	-	McLeese (1976)
<u>Crustacés</u>			
Daphnie	50	-	McLeese (1976)
Daphnie	50	-	Santharam <i>et al.</i> (1976)
Gammare	100	-	McLeese (1976)
Ecrevisses (grosses)	100	-	McLeese (1976)
Ecrevisses (petites)	32	-	McLeese (1976)
Homard			McLeese (1974)
- larves	100	1 x 10 ³	
- adultes	>10 - <100	1 x 10 ³	
<u>Mollusques</u>			
Escargot			
	175	-	Rorke <i>et al.</i> (1974)
<u>Poissons</u>			
Saumon d'Atlantique (jeune)	7.4 x 10 ³	1 x 10 ³	Wildish <i>et al.</i> (1971)
Truite arc-en-ciel	4 x 10 ³	-	Klaverkamp <i>et al.</i> (1975)

¹ Concentration létale pour 50% des individus en ppb (µg/l)² Non déterminé

poissons absorbent rapidement le produit chimique (Takimoto et Miyamoto, 1976). La concentration de fénitrothion dans les poissons atteint un maximum après 1 à 3 jours d'exposition et demeure constante par la suite. Donc, le taux de bioaccumulation n'augmente pas avec une exposition plus longue et il est plus ou moins indépendant de la concentration du fénitrothion dans l'eau. Aucun poisson ne montre des symptômes évidents d'intoxication durant la période d'exposition. De plus, lorsque l'on transfère les poissons de l'eau contenant l'insecticide à une eau fraîche, les niveaux de fénitrothion chez les poissons diminuent rapidement. Par la suite, des autoradiogrammes pratiqués sur les truites arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*) avec du fénitrothion radioactif permettent après 6 heures de retrouver l'insecticide dans la vessie et l'intestin et après 24 heures dans la plupart des tissus sauf le cerveau et le cœur (Takimoto et Miyamoto, 1976). Puis, on note une disparition de l'insecticide radioactif dans la plupart des tissus 24 heures après avoir placé les poissons dans l'eau fraîche. Seuls la vessie, l'intestin et le caecum conservent un taux appréciable de fénitrothion radioactif. On observe 90% de fénitrothion intact et 10% de métabolites parmi lesquels on retrouve le fénitrooxon, le diméthyl fénitrothion et le 3-méthyl-4-nitrophénol. Lockhart *et al.* (1973) n'ont pas remarqué de changements biochimiques significatifs incluant l'activité de l'acétylcholinestérase du cerveau lors d'une pulvérisation de 4 g/145m² de fénitrothion chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*).

1.2 Matacil

1.2.1 Historique et structure chimique

Le matacil ou plus précisément le 4-diméthylamino-3-méthylphényl N-méthylcarbamate est un insecticide introduit en 1963 par Bayer (Leverkusen, Allemagne). Les premières utilisations furent effectuées en Europe sur des récoltes de choux, de laitue et de maïs. Le matacil est un méthylcarbamate dont la structure est présentée à la figure 2. Il est légèrement soluble dans l'eau et sa demi-vie est d'environ une semaine.

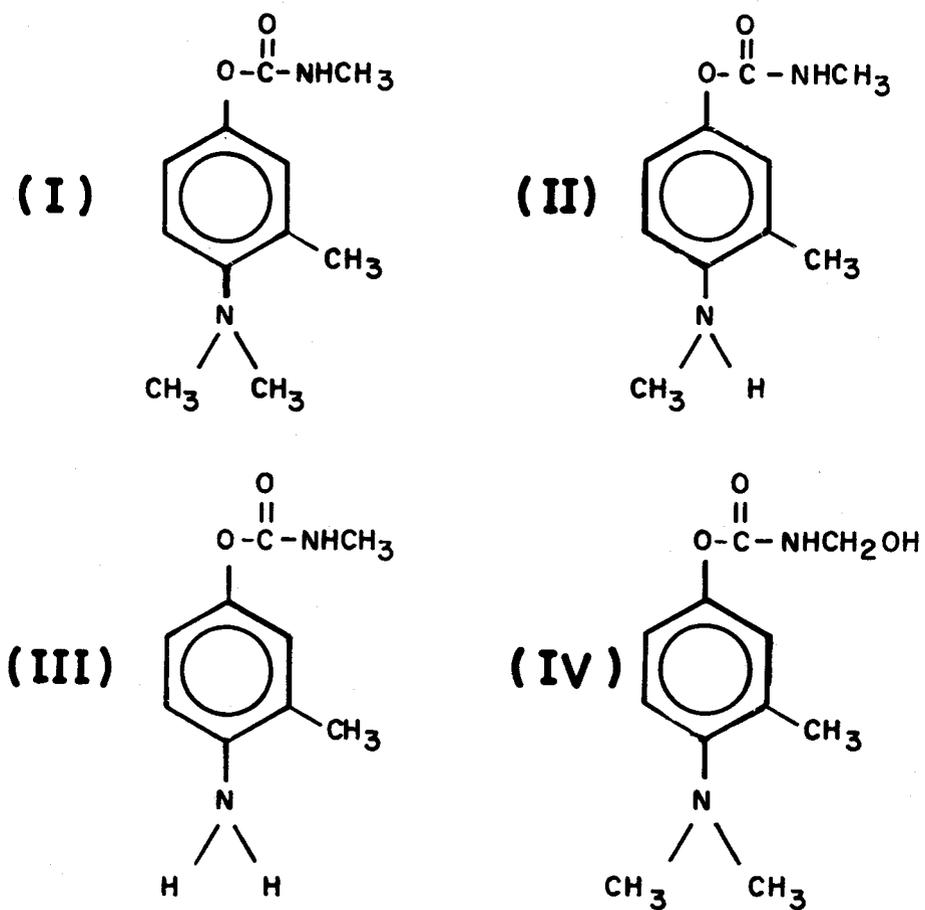


Figure 2 . Matacil (I) et quelques-uns des métabolites carbamates.

1.2.2 Produits de dégradation

Chez les animaux, le matacil subit surtout une hydrolyse. Des études *in vitro* avec des microsomes de foie de rat démontrent que le matacil est métabolisé en 6 produits. Les enzymes du foie humain ne dégradent pas le matacil de la même façon que les enzymes du foie de rat, mais ce sont les mêmes métabolites qui sont formés. Parmi les métabolites que l'on retrouve en plus grande quantité (figure 2), mentionnons le 4-méthylamino-3-méthylphényl N-hydroxyméthylcarbamate (II), le 4-diméthylamino-3-méthylphényl N-hydroxyméthylcarbamate (IV) et le 4-amino-3-méthylphényl N-méthylcarbamate (III). Les produits II et III ont une activité anticholinestérasique supérieure aux autres métabolites et au matacil (Balba *et al.*, 1974). Ces produits constituent les principaux métabolites connus; toutefois, certaines études effectuées sur des végétaux permettent de soupçonner l'existence de d'autres produits de dégradation (Kuhr et Dorrough, 1977).

La température, le pH, la lumière influencent de façon importante la stabilité du matacil. Une augmentation de température accélère la dégradation du produit. Quant au pH, un pH alcalin favorise l'instabilité du matacil par rapport à un pH acide. Enfin la photodécomposition aurait un effet sur la dégradation du matacil. L'ultra-violet serait parmi les longueurs d'onde du spectre de la lumière les plus actives vis-à-vis le pesticide. La pénétration de la lumière UV dans l'eau et le sol étant limitée, c'est à la surface de l'eau ou du sol que les effets risquent d'être les plus rencontrés (Kuhr et Dorrough, 1977).

1.2.3 Effets sur les animaux

Cet insecticide agit comme poison résiduel de l'estomac contre plusieurs larves de lépidoptères et certains insectes piquants. Il est employé pour le contrôle de certaines épidémies d'insectes de forêt, entre autres pour la lutte contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette. Comparativement au fénitrothion, peu de travaux ont été effectués avec le matacil.

Des études ont été faites avec la mouche domestique. Après une dose de matacil marqué en C^{14} sur le groupe carbonyle, peu d'hydrolyse a été observée. Même si plus de 80% de l'insecticide a été absorbé en 24 heures, seulement 5% a été converti en $^{14}CO_2$, 45% a été excrété. Les métabolites n'ont pu être identifiés. Toutefois, des études *in vitro* nous permettent de croire que les microsomes de la mouche domestique produisent les mêmes métabolites que ceux du foie des mammifères (Kuhr et Dorrough, 1977).

Des travaux effectués par la compagnie "Chemagro Agricultural Division" ont porté sur la détermination du seuil de toxicité pour le crustacé *Daphnia magna*, la truite arc-en-ciel *Salmo gairdneri* et le poisson chat *Ictalurus punctatus*. Ces résultats ne sont cependant pas disponibles. Toutefois, certains travaux effectués sur la truite arc-en-ciel (Nelson, 1978) montrent que les produits inertes souvent associés à la formulation du matacil (ex.: matacil 1.4 OSC) sont aussi toxiques.

1.2.4 Effets sur les végétaux

La biotransformation du matacil chez les plantes ressemble à celle que l'on retrouve chez les animaux. Toutefois, sauf le dérivé N-hydroxy-méthyl, les métabolites retrouvés chez les plantes ressemblent à ceux formés dans les microsomes de la mouche domestique. La différence réside dans le fait que les résidus sont dans une forme ne permettant pas leur extraction complète du tissu végétal. Par exemple, si on injecte du matacil marqué en C^{14} au groupe carbonyle dans des plants de fèves, 70% de la dose n'est pas extractable après 6 jours. On peut extraire moins de 2% sous forme organique et 8% sous forme de métabolites solubles dans l'eau. Enfin, on observe une perte de 24% de la radioactivité injectée sur une période de 6 jours (Kuhr et Dorrough, 1977).

2. PROBLEMATIQUE

2.1 Fénirothion

En ce qui concerne le métabolisme de certains animaux, la dégradation du fénirothion est rapide et les métabolites formés sont complètement ou presque complètement éliminés dans l'urine et les fèces. De plus, nous savons que la quantité de métabolites formée est proportionnelle à la concentration de fénirothion assimilée et qu'une légère accumulation dans les graisses animales est observée.

Au point de vue pharmacologique, le fénirothion a un effet inhibiteur sur l'acétylcholinestérase. Toutefois, cette baisse d'activité enzymatique ne provoque pas de changement de structure aux terminaisons nerveuses.

De plus en ce qui concerne la toxicité aiguë ou à court terme, le taux de toxicité varie selon l'animal testé, le sexe, le groupe, la méthode d'administration et/ou la formulation utilisée.

Dans le cadre des études sur la toxicité chronique ou à long terme, de hautes doses de fénirothion ne causent pas des changements dans les fonctions vitales, ni dans la structure dans les tissus. L'apparition de tumeurs cancérigènes ne peut être reliée aux effets de l'insecticide organophosphoré.

En ce qui concerne les organismes végétaux, l'insecticide n'a aucun effet sur la croissance et la structure de ceux-ci; on remarque cependant une persistance et une accumulation de fénirothion dans le feuillage des conifères.

Dans la faune aquatique, les poissons, par exemple ont un seuil de bioaccumulation qui est plus ou moins indépendant de la concentration du fénirothion dans l'eau. La quantité d'insecticide accumulée diminue lorsque les poissons sont placés dans l'eau non contaminée. De plus, on n'a pas remarqué de changements biochimiques significatifs. Enfin, dans la plupart de ces études, on observe une disparition rapide du fénirothion dans l'eau due à l'action de certains facteurs comme la température, le pH, la lumière

solaire et les micro-organismes.

2.2 Matacil

Chez les animaux, le matacil subit surtout une hydrolyse. Des études *in vitro* avec des microsomes de foie de rat démontrent que le matacil peut se métaboliser en plusieurs produits. Mais les produits de dégradation sont en quantité très faible par rapport à l'insecticide au départ. De plus, certaines études effectuées avec les crustacés *Daphnia magna*, la truite arc-en-ciel *Salmo gairdneri* et le poisson chat *Ictalurus punctatus*, ont montré la toxicité de ce produit sur ces organismes.

En ce qui concerne les organismes végétaux, les produits de dégradation du matacil ressemblent à ceux que l'on retrouve chez les animaux. Par contre, les effets toxiques de ce carbamate sont encore mal connus sur les plantes.

2.3 Objectif

La présente étude vise à évaluer la toxicité des différents produits présents dans la formulation des deux insecticides (fénitrothion et matacil) utilisés au Québec pour contrer l'action de la tordeuse des bourgeons de l'épinette. La toxicité sera évaluée à l'aide de bioessais effectués sur des producteurs primaires (algues) et secondaires (zooplancton) représentatifs du milieu naturel.

La première partie de ce travail consiste à mesurer la toxicité des insecticides ainsi que celle des produits entrant dans leur formulation à l'aide de deux espèces d'algues, soit *Selenastrum capricornutum* et *Chlamydomonas variabilis* et d'un crustacé, *Daphnia magna*. La seconde partie concernera une étude de différentes conditions (température, pH et concentration en azote et phosphore) susceptibles d'influencer la toxicité des deux insecticides.

3. PARTIE EXPERIMENTALE

3.1 Détermination de la toxicité du fénitrothion et du matacil

3.1.1 Introduction

La toxicité du fénitrothion et du matacil fait l'objet au cours des dernières années de plusieurs études (Wildish *et al.*, 1971; Klaverkamp *et al.*, 1975; Bull *et al.*, 1971; Hatfield et Anderson, 1972; Flannagan, 1973; McLeese, 1976; Rorke *et al.*, 1974; Kadota *et al.*, 1975; Santharam *et al.*, 1976). Néanmoins, la toxicité de ces deux insecticides a été très peu étudiée sur les algues; de plus, aucun travail à notre connaissance n'a porté sur la toxicité des formulations utilisées au Québec. Dans cette étude, la toxicité sera mesurée à l'aide de bioessais effectués sur les algues *Selenastrum capricornutum* et *Chlamydomonas variabilis* et sur le crustacé *Daphnia magna*.

Le choix de *Selenastrum capricornutum*, est basé sur les critères suivants. Premièrement, les manipulations relatives à la conservation et à l'entretien des cultures sont faciles. Ces organismes sont des unicellulaires, leurs changements morphologiques sont faibles durant la croissance et les cellules demeurent en suspension sans s'agglomérer. Les individus d'une culture peuvent donc être dénombrés à l'aide d'un compteur électronique de particules. Dans le milieu naturel, elles se retrouvent dans des eaux oligotrophes et dans des eaux eutrophes. L'algue s'est avérée un très bon indicateur de l'effet toxique de certains produits sur l'environnement aquatique (Couture et Visser, 1978).

En ce qui concerne *Chlamydomonas variabilis*, cette chlorophycée d'eau douce est répandue dans la plupart de nos rivières. C'est une algue mobile biflagellée qui se reproduit par voie sexuée et asexuée. Elle est facile à cultiver et à observer au microscope.

Le choix de *Daphnia magna* en tant que matériel biologique s'appuie aussi sur une série de critères (Tunstall and Solinas, 1977). Tout d'abord, on peut facilement obtenir en laboratoire une population génétiquement homogène ayant le même âge, la même taille, le même sexe et la même

sensibilité aux toxiques. Cet organisme est considéré comme représentatif du milieu naturel. Il joue un rôle important dans les chaînes trophodynamiques des écosystèmes. Les daphnies sont répandues dans les eaux douces stagnantes ou à cours lent d'une grande partie du monde. Elles sont disponibles toute l'année en laboratoire. Lors de leur prélèvement, elles peuvent rester hors de l'eau quelques minutes. Elles nagent constamment de manière saccadée, sauf si elles sont immobilisées par la présence d'un toxique. Enfin, elles peuvent vivre dans des milieux pauvres en oxygène dissous, ce qui permet, dans la plupart des cas, de se dispenser d'aérer le contenu des récipients (Lundahl, 1974).

3.1.2 Méthodes expérimentales

A Réactifs

Fénitrothion (sumithion) (Sumitomo Chemical Co., Osaka, Japan), matacil (pureté: 99.3%) (Chemagro Agricultural Division, Kansas City, Missouri, U.S.A.), cyclo-sol 63 (Shell, Canada), paratex (insecticide diluant 585), mélange d'algues séchées (Gen. Biol. Supply House, Illinois, U.S.A.).

Les formulations utilisées sont les suivantes (dans chaque cas les rapports sont exprimés en v/v):

fénitrothion/paratex/cyclo-sol 63:	14.9/50.1/35.0
fénitrothion/cyclo-sol 63	: 30/70
fénitrothion/paratex	: 23.1/76.9
cyclo-sol 63/paratex	: 58.8/41.2
matacil 1.4 OSC	: 17% I.A.* en poids de matacil
matacil 1.4 OSC/paratex	: 37.2 / 62.8

Tout au long de cette première partie de l'étude, la pureté du fénitrothion et celle du matacil furent vérifiées par chromatographie en phase gazeuse grâce à la collaboration du laboratoire des pesticides des SPEQ (figure 3 et 4). Les conditions d'opération du chromatographe sont identifiées au tableau 2.

* Ingrédients actifs

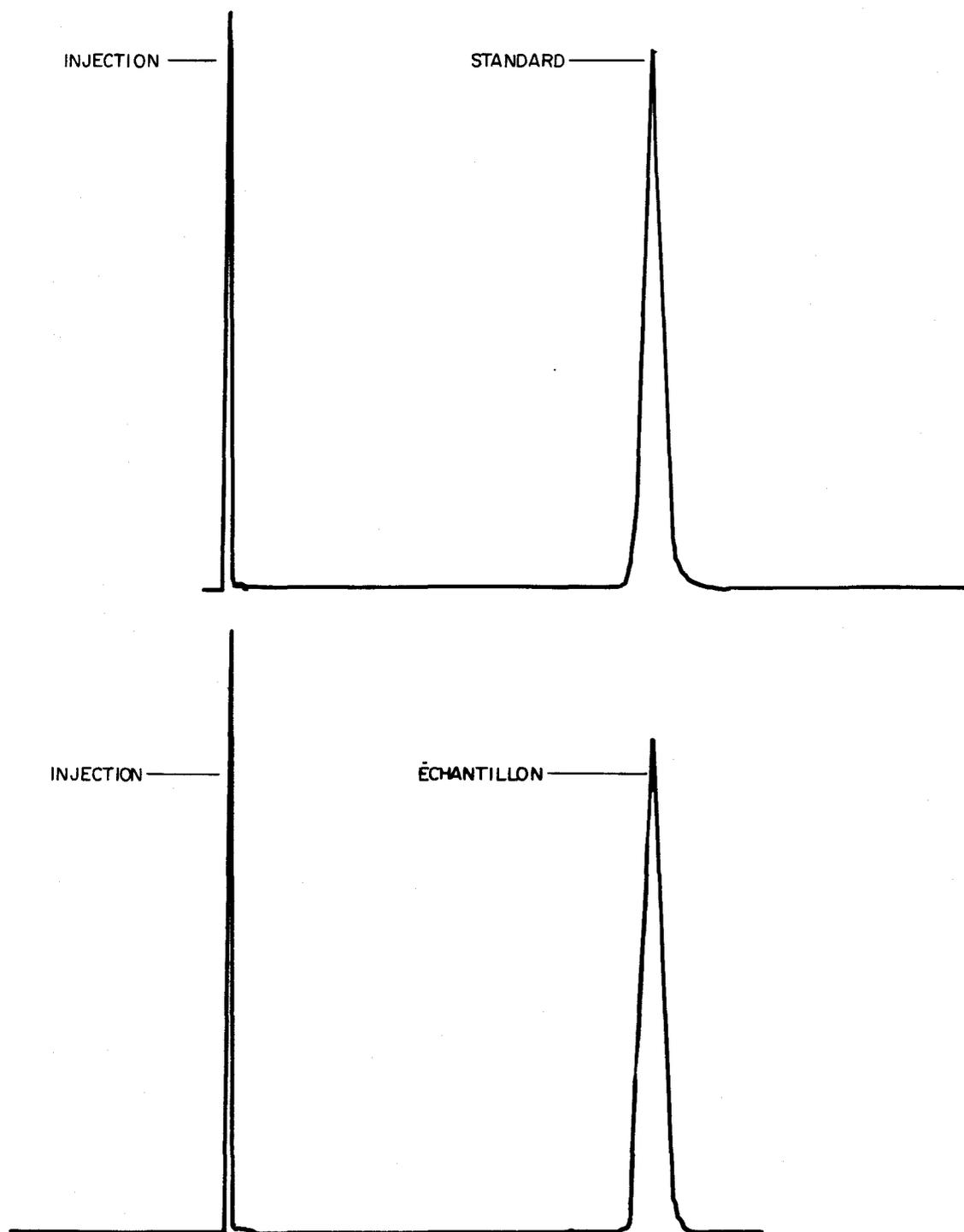


Figure 3 . Chromatogrammes du fénitrothion obtenus sous les conditions indiquées au tableau 2 .

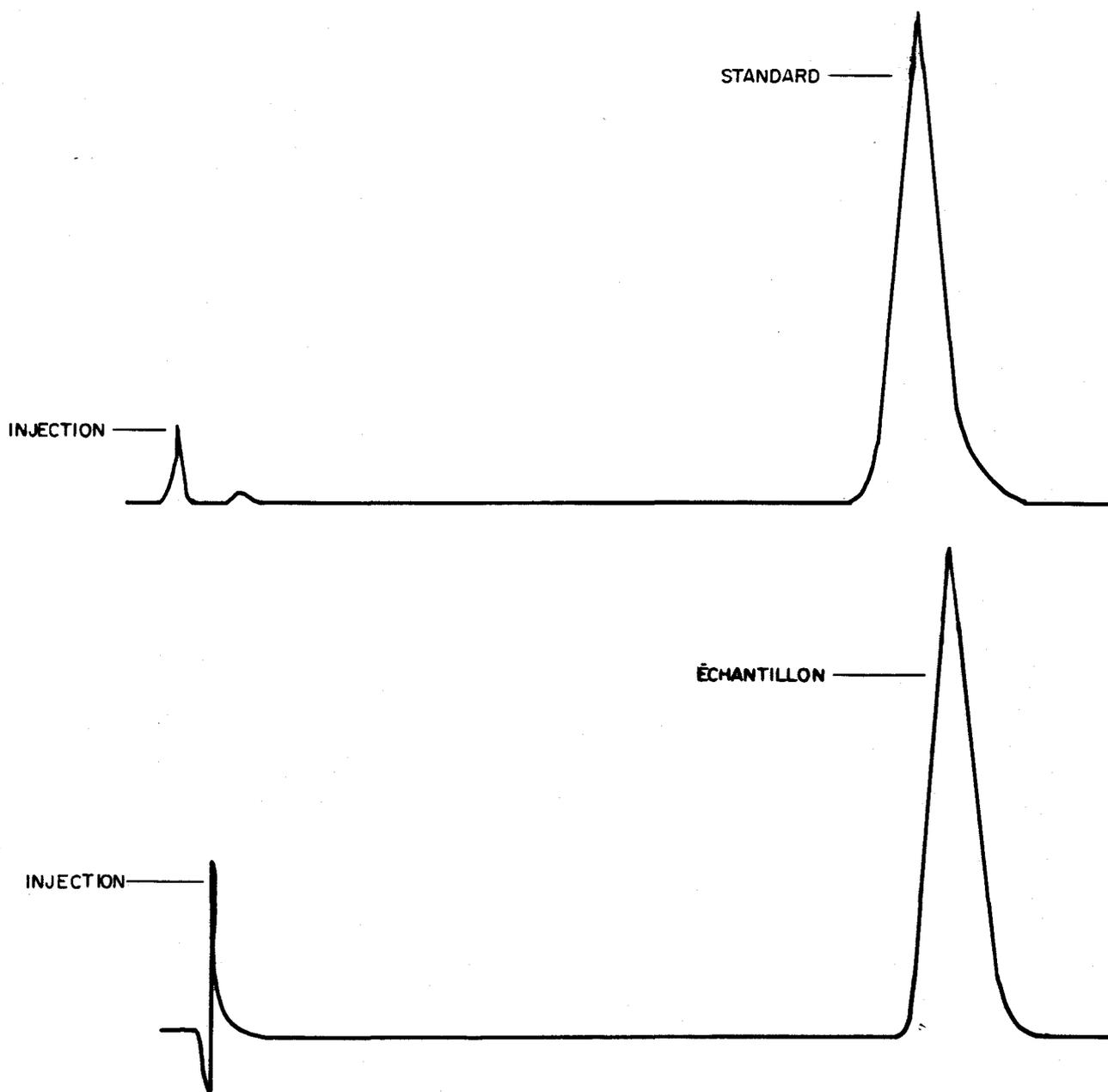


Figure 4. Chromatogrammes du matabil obtenus sous les conditions indiquées au tableau 2 .

TABLEAU 2: Conditions d'opération pour la chromatographie en phase gazeuse du fénitrothion et du matacil

Hewlett-Packard Modèle 5710A	<u>Fénitrothion</u> ¹	<u>Matacil</u> ¹
Détecteur	N - P	N - P
Colonne		
Longueur	1.8 cm	60 cm
Diamètre intérieur	4 mm	2 mm
Support	4% OV101+6% OV210 sur Gas chrome Q	4% OV101+6% OV210 sur Gas chrome Q
Température		
Injection	250°C	150°C
Colonne	200°C	130°C
Détecteur	300°C	300°C
Débit de gaz		
H ₂	3.0 ml/min	3.0 ml/min
Air	50 ml/min	50 ml/min
Débit de gaz vecteur		
He	30 ml/min	30 ml/min
Temps de rétention	13 minutes	21 minutes

¹ Mamarbachi (1978). Communication personnelle.

B Matériel biologique

Daphnia magna Strauss est un crustacé désigné par le nom commun de daphnie. La souche provient de l'Institut national de recherche chimique appliquée (IRCHA, Paris). Les daphnies sont élevées en laboratoire selon la méthode décrite par Lundahl (1975) et AFNOR (1974). Elles se reproduisent par parthénogenèse dans une eau d'aqueduc préalablement passée sur du charbon activé pour enlever les matières organiques, et à laquelle on a ajouté un peu d'un mélange d'algues séchées. Cet ajout permet le développement de phytoplancton qui sert de nourriture aux daphnies. Un peu de levure de bière trois fois par semaine complète l'apport nutritif. Les aquariums sont éclairés (période de 12 heures) et maintenus à une température de 21-22°C. Seules les jeunes daphnies sont utilisées pour les essais.

Selenastrum capricornutum est une algue verte non motile. La souche utilisée provient du "Pacific Northwest Water Laboratory", Corvallis, Oregon. Cette souche est repiquée à toutes les semaines et seules les cultures en phase exponentielle servent pour les tests biologiques. Les conditions d'incubation sont les suivantes: 24 heures de lumière (5,400 lux), température de $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, agitation de 110 oscillations par minute.

Chlamydomonas variabilis est une chlorophycée unicellulaire biflagellée. La souche (IRCHA, Paris) est repiquée sur un milieu PAAP à toutes les semaines. Les conditions d'incubation sont les suivantes: 9 heures de photo-période (1,800 lux), température de $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

C Bioessais

a) Test avec *Daphnia magna*

Les tests sont effectués selon la méthode décrite par l'Association française de normalisation (AFNOR, 1974). Cette méthode consiste à déterminer la concentration qui inhibe la mobilité de 50% des individus. Cette concentration correspond au LC50 - 24 h.

L'essai comprend deux étapes :

- un essai préliminaire qui donne une indication approximative et sert à déterminer la gamme des concentrations définitives;
- un essai définitif dont le résultat est seul retenu.

Dans l'essai préliminaire, on étudie les effets de 9 concentrations comprises entre 0.01% et 90% inclus de la substance toxique. L'eau de dilution est la même que celle utilisée dans la culture de daphnies (eau du robinet filtrée sur charbon activé). Ceci a pour but d'éviter un changement brusque du milieu pour les daphnies.

La taille des daphnies utilisées varie entre 560 μm et 800 μm . Leur prélèvement de l'aquarium se fait à l'aide de deux tamis. Le premier retient les adultes dont la taille est plus grande que 800 μm et le deuxième, ceux dont la grosseur varie entre 560 et 800 μm .

Leur sensibilité (LC50 - 24h) est vérifiée en se servant de concentrations connues de dichromate de potassium. Les daphnies incapables de se déplacer dans les 15 secondes qui suivent une légère agitation sont considérées comme étant immobilisées.

Dans l'essai définitif, les pourcentages des daphnies immobilisées en 24 heures dans 10 concentrations de la substance toxique sont évalués. Les 10 concentrations ont été choisies de manière à recouvrir et à déborder de part et d'autre l'intervalle des concentrations qui lors de l'essai préliminaire ont fait passer le pourcentage d'immobilisation de 0 à 100%. Pour chaque concentration, quatre tubes à essai sont préparés contenant chacun cinq daphnies dans un volume final de 10 ml. Soit n_1 , n_2 , n_3 et n_4 le nombre de daphnies mobiles en fin d'essai dans les 4 tubes correspondant à une concentration donnée. Le pourcentage d'immobilisation P est pour cette concentration :

$$P = 100 - 5 (n_1 + n_2 + n_3 + n_4)$$

Nous portons en ordonnées sur un diagramme gaussien-logarithmique les valeurs de P comprises entre 10 et 90% et en abscisses les concentrations correspondantes. On trace la droite de régression et on en déduit la LC50-24 h.

b) Test avec *Selenastrum capricornutum*

Ce test est réalisé selon la technique décrite par APHA-AWWA-WPCF (1975). Celle-ci consiste à ensemencer une souche d'algues (*Selenastrum capricornutum*: $\sim 1,000$ algues/ml) dans le milieu de culture suivant (PAAP):

A. Macronutriments		B. Micronutriments	
<u>Composé</u>	<u>Concentration</u> (mg/l)	<u>Composé</u>	<u>Concentration</u> (μ g/l)
NaNO ₃	25.500	H ₃ BO ₃	185.520
NaHCO ₃	15.000	MnCl ₂	264.264
K ₂ HPO ₄	1.044	ZnCl ₂	32.709
MgSO ₄ .7H ₂ O	14.700	CoCl ₂	0.780
MgCl ₂ .6H ₂ O	5.700	CuCl ₂	0.009
CaCl ₂ .2H ₂ O	4.410	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	7.260
		FeCl ₃	96.000
		Na ₂ EDTA.2H ₂ O	300.000

Le pH est ajusté à 7.5

Par la suite, on y ajoute les substances toxiques à vérifier. Les conditions d'incubation des échantillons sont les suivantes: 24 heures de lumière (5,400 lux), $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, agitation constante à 110 oscillations par minute. La population d'algues est mesurée aux jours 2, 4, 7, 10 et 14 à l'aide d'un compteur de particules (Coulter Counter Model TA, cellule de 70 μm).

Afin de déterminer la précision de chaque mesure, le test requiert des analyses en triplicata où les coefficients de variation (CV) sont calculés. Pour un $\text{CV} < 15\%$, la valeur est établie d'après la moyenne arithmétique des trois mesures. Pour un $\text{CV} \geq 15\%$, une sélection de deux mesures est faite afin de ramener le CV à une valeur de $< 15\%$; si, malgré cette opération, le CV reste $\geq 15\%$, les trois mesures sont rejetées.

Pour les échantillons ne contenant pas de produits toxiques, la croissance est considérée étant égale à 100%. La croissance est obtenue en dénombrant le nombre de cellules pour un volume déterminé. Les échantillons traités sont comparés avec les résultats obtenus lors d'une croissance à 100%. En utilisant la droite de régression, on peut déterminer la $\text{LC}_{50} - 14\text{j}$, qui correspond alors à la concentration où la croissance est réduite de 50% par rapport à celle du terrain.

c) Test avec *Chlamydomonas variabilis*

Nous utilisons une technique mise au point par l'IRCHA, Paris (communication personnelle H. Lepailleur). Ce test nous permet de déterminer la concentration d'une substance toxique qui immobilise, en 24 heures, en partie ou en totalité, une population homogène, évaluée après lecture au microscope et préalablement soumise à des conditions déterminées de culture.

Le milieu de culture utilisé est le suivant (Pochon et Tardieux, 1962):

<u>Composé</u>	<u>Concentration</u> (mg/l)
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	143
K_2HPO_4	40
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	60
KNO_3	100
FeCl_3	50

A cette solution on ajoute de l'extrait de terre (10 kg de terre dans 5 litre d'eau):20 ml/l; le pH est ajusté à 7.5.

L'essai en présence de substances toxiques dure 24 heures. La population est de 200,000 algues par millilitre. Les conditions d'incubation sont les suivantes: 9 heures de photo-période (1,800 lux), $24 \pm 2^\circ\text{C}$. La méthode comprend un essai préliminaire dont le but est de situer la zone utile de concentration et un essai définitif qui comprend trois tubes par concentration.

La lecture est faite au microscope et la mobilité cellulaire est notée de 0 à 3 (0 = immobilité totale, 3 = aussi mobile que le témoin). Comme produit toxique de référence, nous utilisons le HgCl_2 .

Les notes obtenues pour les trois tubes d'une concentration donnée sont additionnées. On reporte ensuite sur papier semi-logarithmique la somme (0 à 9) ainsi obtenue en fonction de la concentration. Cette dernière est reportée sur l'échelle logarithmique. Puis, on trace la droite de régression passant par les points obtenus et on détermine la LC50 - 24h. La même méthode d'interprétation est appliquée à la référence HgCl_2 . L'indice de toxicité du HgCl_2 vis-à-vis de *Chlamydomonas variabilis* se situe entre 10 et 100 ppb.

d) Dosage chimique des résidus

Pour chacun des milieux de cultures stériles, on a vérifié la stabilité des insecticides (fénitrothion, 96%; fénitrothion/paratex/cyclo-sol 63; matacil 1.4 OSC; matacil 1.4 OSC/paratex). L'expérience a consisté à diluer dans chacun des milieux les insecticides, à les incuber selon les conditions décrites précédemment et à mesurer après 24 heures les concentrations résiduelles en fénitrothion ou en matacil. On a de plus vérifié avec le milieu PAAP pour le fénitrothion (formulation), le matacil 1.4 OSC et le matacil 1.4 OSC/paratex, s'il pouvait y avoir dégradation après 4, 7, 10 et 14 jours.

Il faut bien mentionner que les milieux de culture contenant les pesticides étaient incubés sans la présence des organismes et que le dosage chimique fut réalisé par le laboratoire des pesticides des SPEQ. On a de plus réalisé avec le mélange fénitrothion/paratex/cyclo-sol 63 une expérience complémentaire pour vérifier la stabilité du fénitrothion (voir annexe 1).

3.1.3 Résultats

Les tests de toxicité effectués dans cette étude ont concerné le fénitrothion, le matacil ainsi que les formulations de ces deux insecticides. Parmi tous ces pesticides, il faut mentionner qu'au Québec seules les formulations fénitrothion/paratex/cyclo-sol 63 (14.9/50.1/35.0) et matacil 1.4 OSC /paratex (6.3/30.9/62.8) sont employées au cours des pulvérisations aériennes.

On prendra note que les résultats illustrés à l'intérieur des figures 5 à 25 sont rassemblés à l'annexe 2.

A Dosage des résidus

En ce qui concerne les analyses des résidus, on n'observe pas de dégradation du fénitrothion et du matacil après 24 heures d'exposition dans les différents milieux utilisés, soit celui pour *Daphnia magna*, celui pour

Chlamydomonas variabilis et celui pour *Selenastrum capricornutum*. De plus dans le cas du fénitrothion (formulation) aucune dégradation ne semble survenir au cours des 14 jours qui suivent (figure 5). Par contre durant la même période, le matacil 1.4 OSC et le matacil 1.4 OSC/paratex subissent une dégradation constante, en effet, après 6 jours, on remarque une diminution de 50% de l'insecticide et après 14 jours il est presque totalement dégradé.

La stabilité du fénitrothion au cours d'une période de 14 jours peut apparaître surprenante compte tenu des résultats obtenus par Miyamoto *et al.* (1974) et Lockart *et al.* (1973): voir section 1.1.5. Afin de vérifier cet état de fait des expériences complémentaires furent réalisées et les résultats ont confirmé la stabilité de l'insecticide en milieu stérile avec un éclairage de 5,400 lux (cool-white) (annexe 1).

B Le concept RLC50

La toxicité des différents insecticides sera étudiée à partir de la détermination des LC50. De plus, afin de mettre en évidence les effets synergétique ou antagoniste associés aux composants "inertes" présents dans les formulations, on a introduit la conception des concentrations léthales relatives (RLC50). Ces dernières sont la résultante de la transformation des concentrations léthales obtenues pour les formulations en fénitrothion ou en matacil sous forme pure. Ils sont calculés en multipliant la LC50 de la formulation par la fraction représentative de la concentration de l'ingrédient actif de la formulation.

exemple: pour *Selenastrum capricornutum*

$$\text{LC50 du fénitrothion/paratex/cyclo-sol 63} = 3.9 \times 10^3 \text{ ppb}$$

fraction en fénitrothion présent dans cette formulation: 14.9/100

$$\text{RLC50} = 3.9 \times 10^3 \times \frac{14.9}{100} \approx 0.6 \times 10^3 \text{ ppb}$$

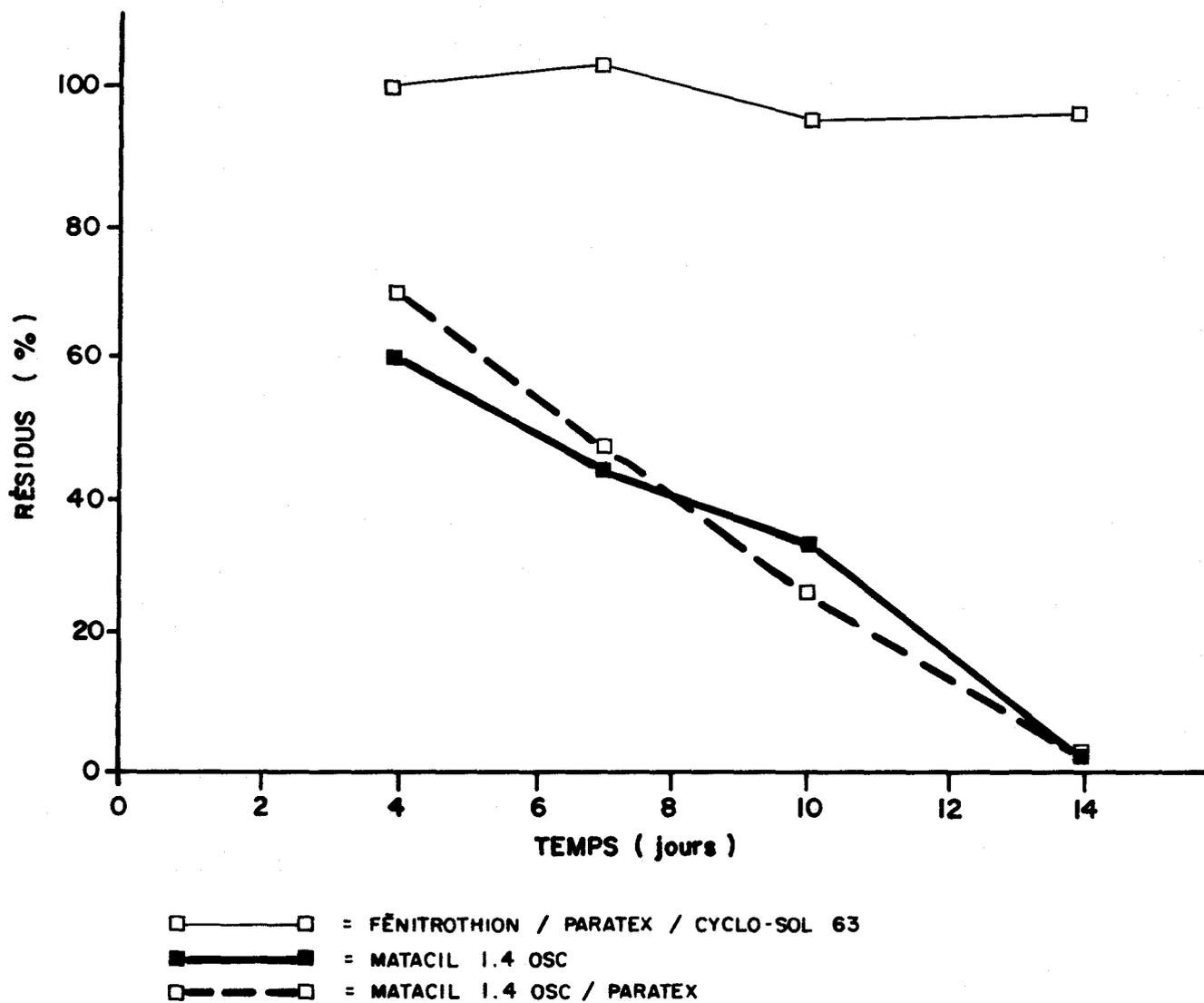


Figure 5 . Variations des concentrations en résidus des pesticides dans le milieu de culture PAAP stérile au cours d'une période de 14 jours .

C Dosage biologique de la toxicité: LC50 et RLC50

Les résultats des tests biologiques effectués à l'aide des différents organismes (*Daphnie*, *Selenastrum* et *Chlamydomonas*) sont présentés aux tableaux 3 et 4.

3.1.4 Discussion

A Test avec *Daphnia magna*

Comme le montrent les valeurs présentées au tableau 3, les daphnies semblent être les organismes les plus sensibles à la présence du fénitrothion pur ou en formulation (LC50: 1 - 5 ppb) et du matacil pur (LC50: 0.2 ppb). Quant au matacil en formulation sa toxicité est beaucoup moins forte que celle du fénitrothion pur ou en formulation et varie peu en fonction des organismes (LC50: 0.8×10^3 - 6.5×10^3 ppb). Ces résultats appuient les observations de certains chercheurs (Kannamal *et al.*, 1973) qui ont eux aussi remarqué la forte toxicité du fénitrothion pour *Daphnia magna*.

Les effets synergétiques ou antagonistes des produits inertes sur le fénitrothion ou le matacil doivent être étudiés à partir des concentrations léthales relatives (RLC50: tableau 4). Dans le cas du fénitrothion, aucun effet n'est observé. En ce qui concerne le matacil un effet antagoniste est mis en évidence: RLC50 matacil (99.3%) < RLC50 matacil 1.4 OSC ~ matacil 1.4 OSC/paratex; ainsi les produits inertes entrant dans la composition de la formulation utilisée pour la pulvérisation diminuent la toxicité du matacil vis-à-vis *Daphnia magna*.

B Test avec *Selenastrum capricornutum*

L'étude effectuée avec *Selenastrum capricornutum* s'échelonne sur une période de 14 jours. On peut donc considérer qu'il s'agit d'une mesure de toxicité chronique plutôt qu'aiguë. Les figures 6, 7, 8, 9 représentent l'effet des deux insecticides à différentes concentrations

TABLEAU 3: Les concentrations léthales (LC50) où 50% des organismes meurent ou sont immobilisés (ppb)

Produits	<i>Daphnia magna</i> (LC50-24h.)	<i>Selenastrum capricornutum</i> (LC50-14j.)	<i>Chlamydomonas variabilis</i> (LC50-24h.)
Fénitrothion (96%)	1	1.2×10^3	75.0×10^3
Fénitrothion/paratex (23.1/76.9)	5	2.9×10^3	35.0×10^3
Fénitrothion/cyclo-sol 63 (30/70)	1	3.1×10^3	22.0×10^3
Fénitrothion/paratex/cyclo-sol 63 (14.9/50.1/35.0)	5	3.9×10^3	71.0×10^3
Matacil (99.3%)	0.2	0.1×10^3	0.8×10^3
Matacil 1.4 OSC (I.A. 17%)	2.1×10^3	0.8×10^3	3.5×10^3
Matacil 1.4 OSC/paratex (37.2/62.8)	3.2×10^3	1.0×10^3	6.5×10^3
Paratex (100%)	36×10^3	2.4×10^3	72.0×10^3
Cyclo-sol 63 (100%)	33×10^3	2.9×10^3	57.0×10^3
Paratex/cyclo-sol 63 (41.2/52.8)	36×10^3	1.8×10^3	72.0×10^3
Ethanol (95%)	$>8.000 \times 10^3$	158×10^3	$24,000 \times 10^3$

TABLEAU 4: Les concentrations léthales relatives (RLC50) où 50% des organismes meurent ou sont immobilisés (ppb)

Produits	<i>Daphnia magna</i> (RLC50-24h.)	<i>Selenastrum capricornutum</i> (RLC50-14j.)	<i>Chlamydomonas variabilis</i> (RLC50-24h.)
Fénitrothion (96%)	1	1.2×10^3	75.0×10^3
Fénitrothion/ paratex (23.1/76.9)	1	0.7×10^3	8.1×10^3
Fénitrothion/cyclo- sol 63 (30/70)	<1	0.9×10^3	6.6×10^3
Fénitrothion/ para- tex/cyclo-sol 63 (14.9/50.1/35.0)	1	0.6×10^3	10.6×10^3
Matacil (99.3%)	0.2	0.1×10^3	0.8×10^3
Matacil 1.4 OSC (I.A. 17%)	0.4×10^3	0.1×10^3	0.6×10^3
Matacil 1.4 OSC paratex (37.2/62.8)	$<0.1 \times 10^3$	$<0.1 \times 10^3$	$<0.1 \times 10^3$

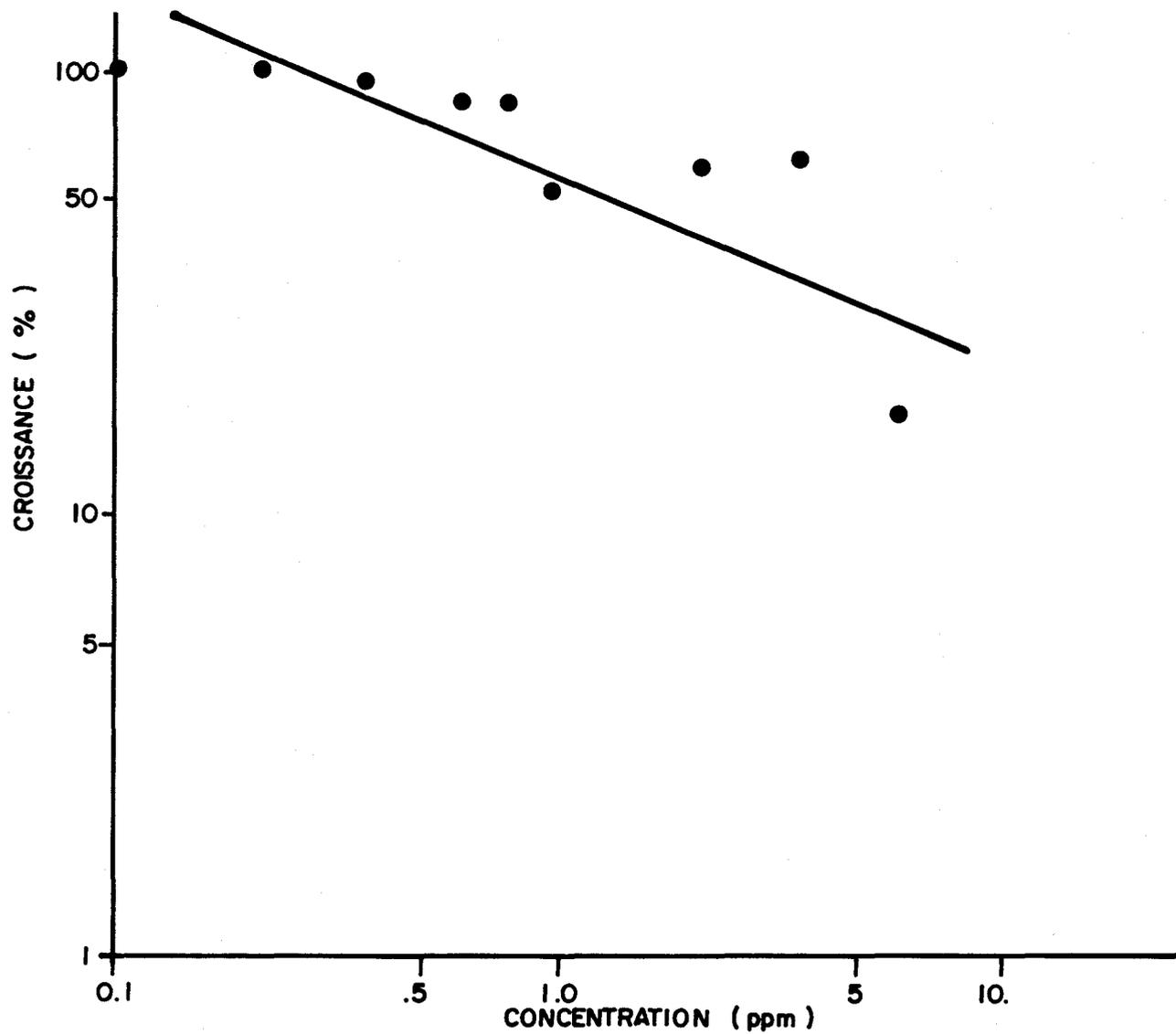


Figure 6 . Croissance relative de l'algue *Selenastrum capricornutum* en fonction des concentrations de fénitrothion (96 %)

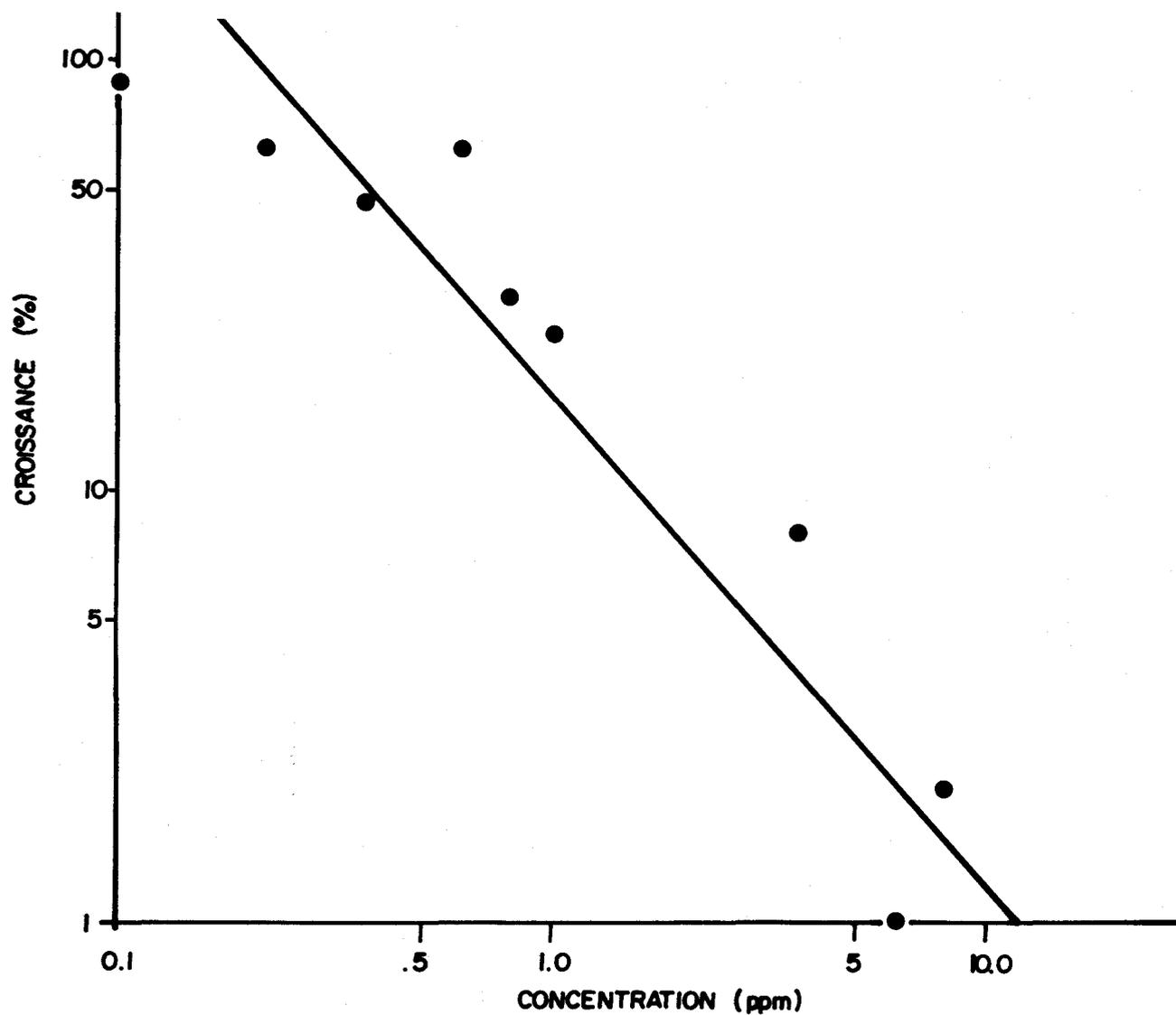


Figure 7 . Croissance relative de l'algue *Selenastrum capricornutum* en fonction des concentrations de fénitrothion / paratex / cyclo-sol 63 .

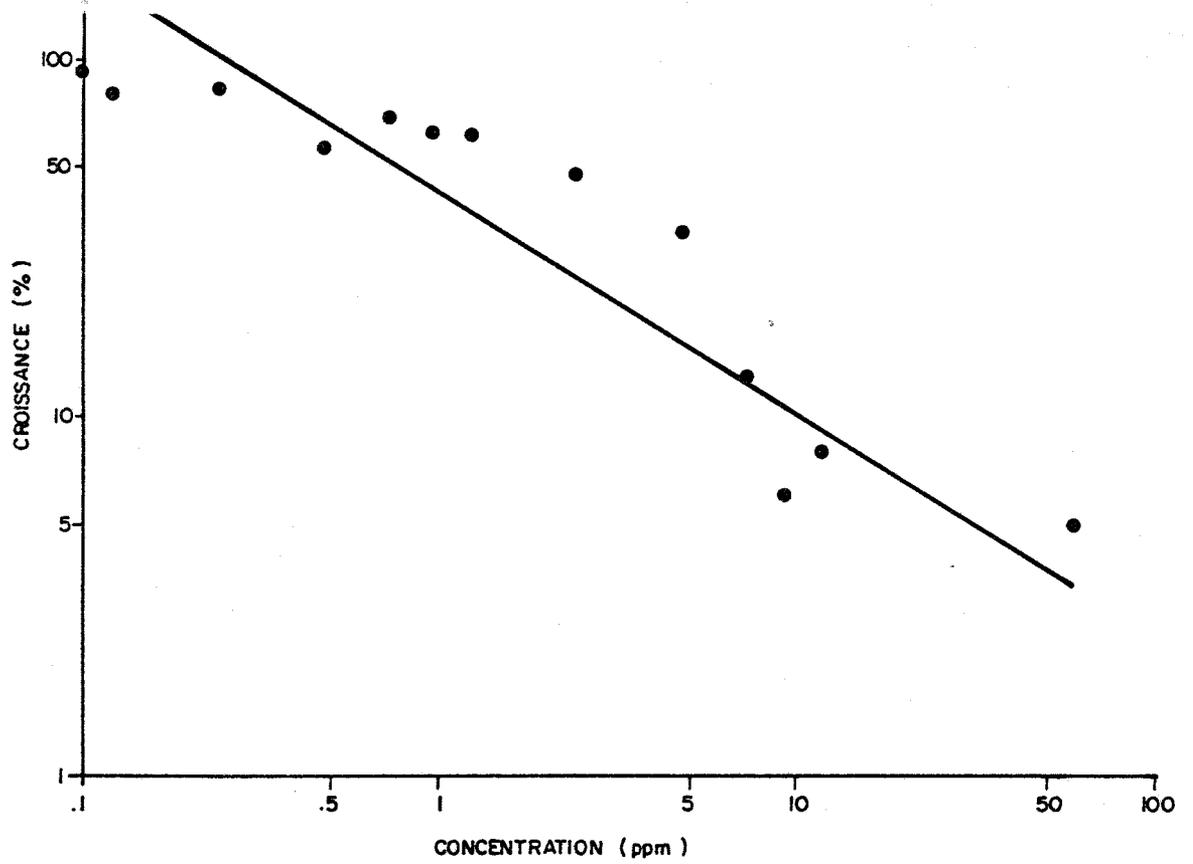


Figure 8. Croissance relative de l'algue *Selenastrum capricornutum* en fonction des concentrations de matacil 1.4 OSC .

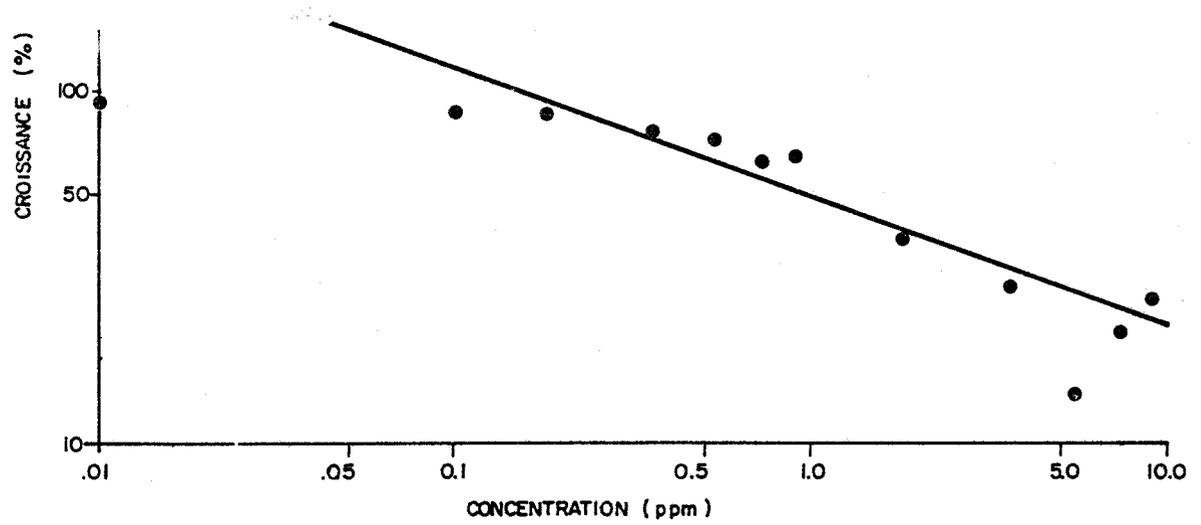


Figure 9) Croissance relative de l'algue *Selenastrum capricornutum* en fonction des concentrations de matacil 1.4 OSC / paratex .

sur la croissance de l'algue. A partir des droites de régression obtenue, les LC50 - 14 jours ont été calculées. Les valeurs de LC50 - 14 jours, qui apparaissent au tableau 3, montrent que la toxicité du fénitrothion ou de ses formulations sur l'algue est de beaucoup inférieure à celle observée chez *Daphnia magna*. Etant donné que les RLC50 - 14 jours des formulations (tableau 4) sont 2 fois plus faibles que celle du produit pur, les formulations sont plus toxiques que l'insecticide à 96%. Il existerait ainsi un effet synergétique entre les composés "inertes" (paratex et cyclosol-63) et le fénitrothion. De plus la toxicité de ces produits en formulation (figure 10) ou pur (figure 11) semble peu changer à l'intérieur d'une période de 14 jours.

Le matacil se montre moins toxique pour l'algue que pour la daphnie (tableau 3), alors que les formulations ont des toxicités semblables pour les deux organismes (tableau 4). Tandis que dans le cas du produit pur on observe une augmentation en toxicité durant les premiers sept jours, on remarque que la toxicité de la formulation diminue jusqu'à la fin de l'expérience (figure 12).

Il apparaît enfin que le fénitrothion et ses formulations sont légèrement moins toxiques que le matacil et ses formulations pour *Selenastrum capricornutum* (tableau 3).

C Test avec *Chlamydomonas variabilis*

Chlamydomonas variabilis démontre une sensibilité moins grande que *Daphnia magna* et *Selenastrum capricornutum* vis-à-vis le fénitrothion et ses formulations (tableau 3). Les produits "inertes" semblent avoir un effet synergétique sur le pesticide: les RLC50 des formulations sont plus faibles que celle du produit pur (tableau 4).

Il apparaît que la toxicité des formulations du matacil est à peu près identique pour les trois organismes étudiés (tableau 3). De plus un effet synergétique est observé entre le paratex et le matacil (tableau 4).

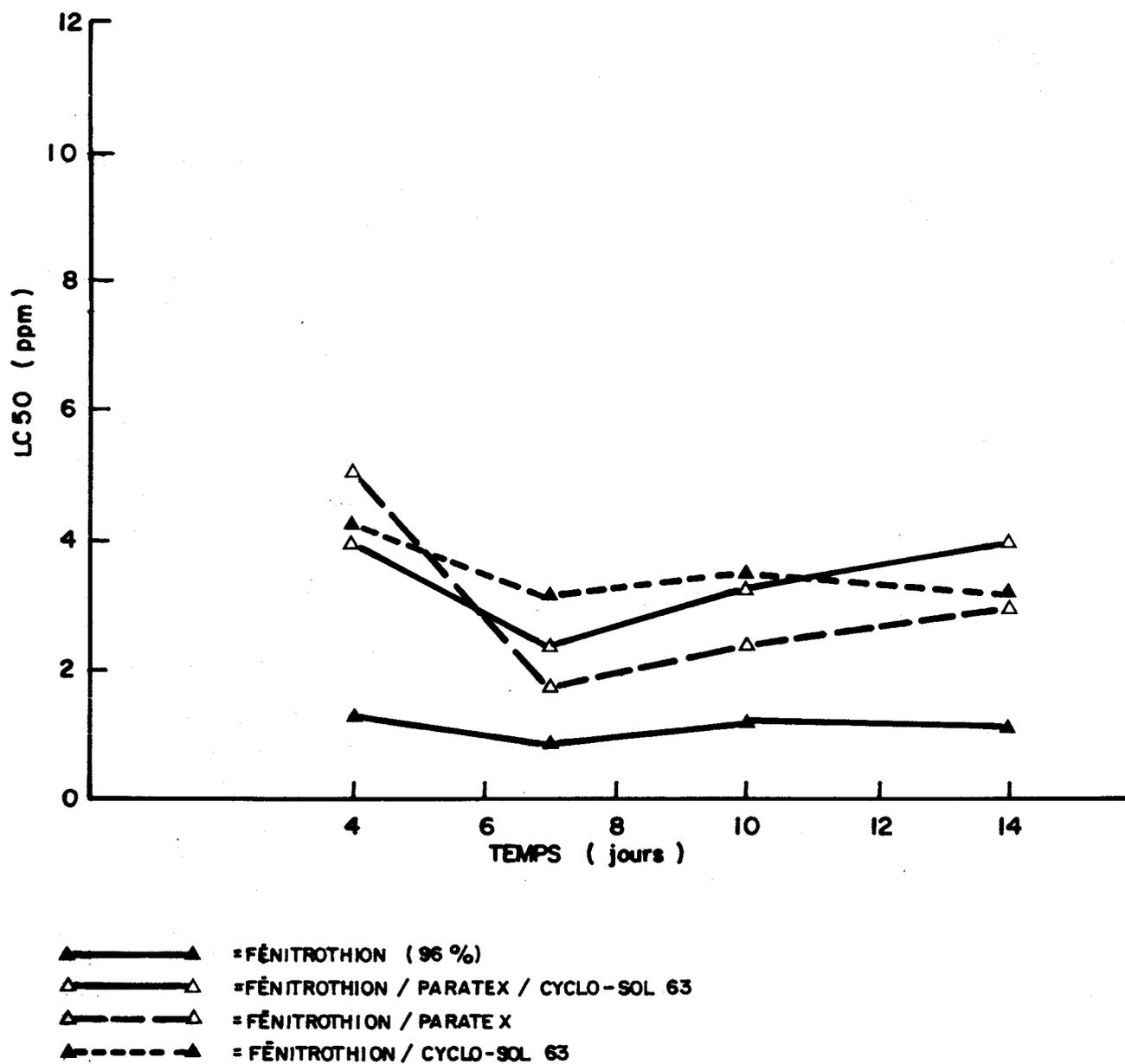


Figure 10 . Variation de la concentration létale (LC50) du fénitrothion en fonction du temps d'exposition dans un milieu de culture de *Selenastrum capricornutum*.

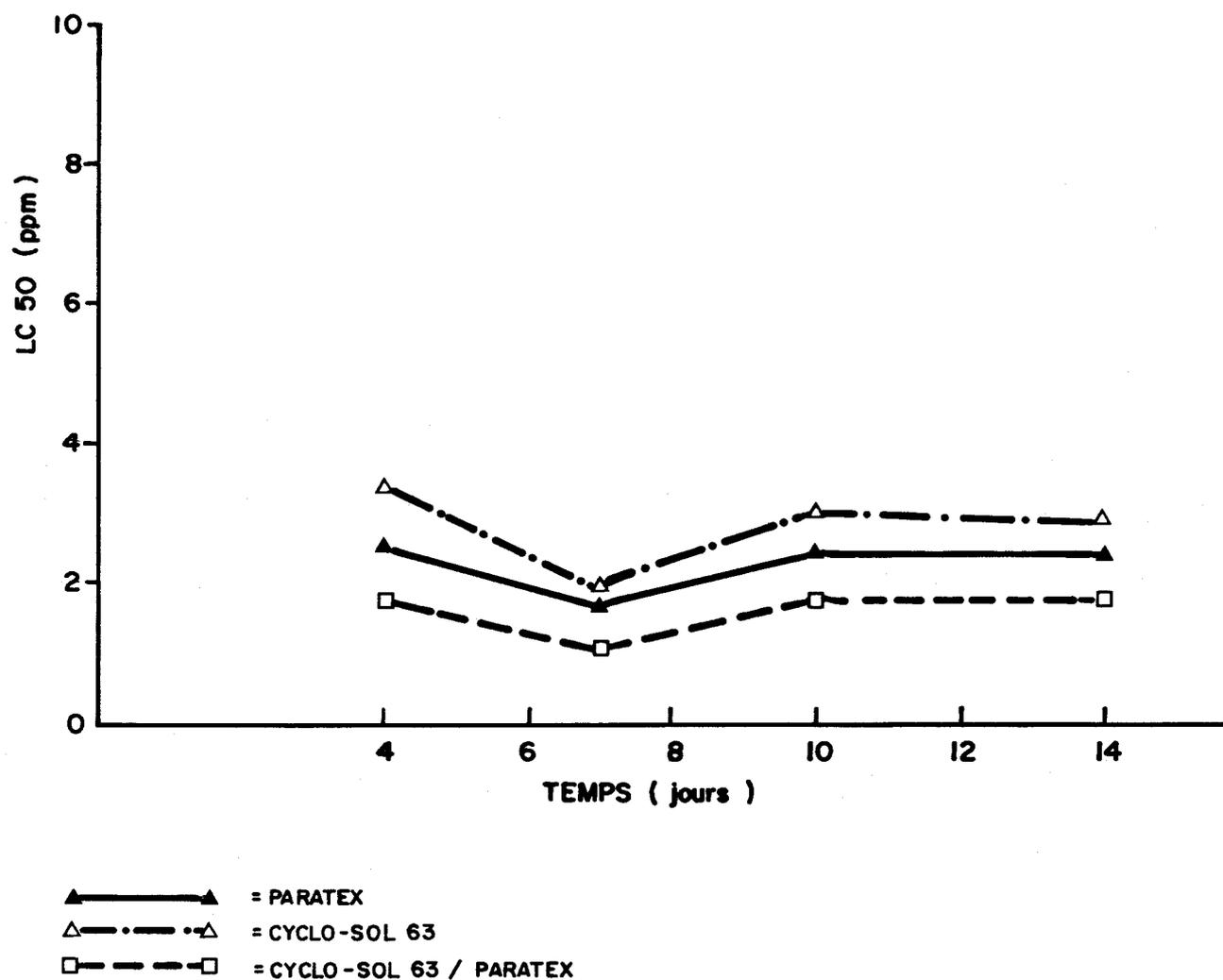


Figure II . Variation de la concentration létale (LC50) des "produits inertes" en fonction du temps d'exposition dans un milieu de culture de *Selenastrum capricornutum* .

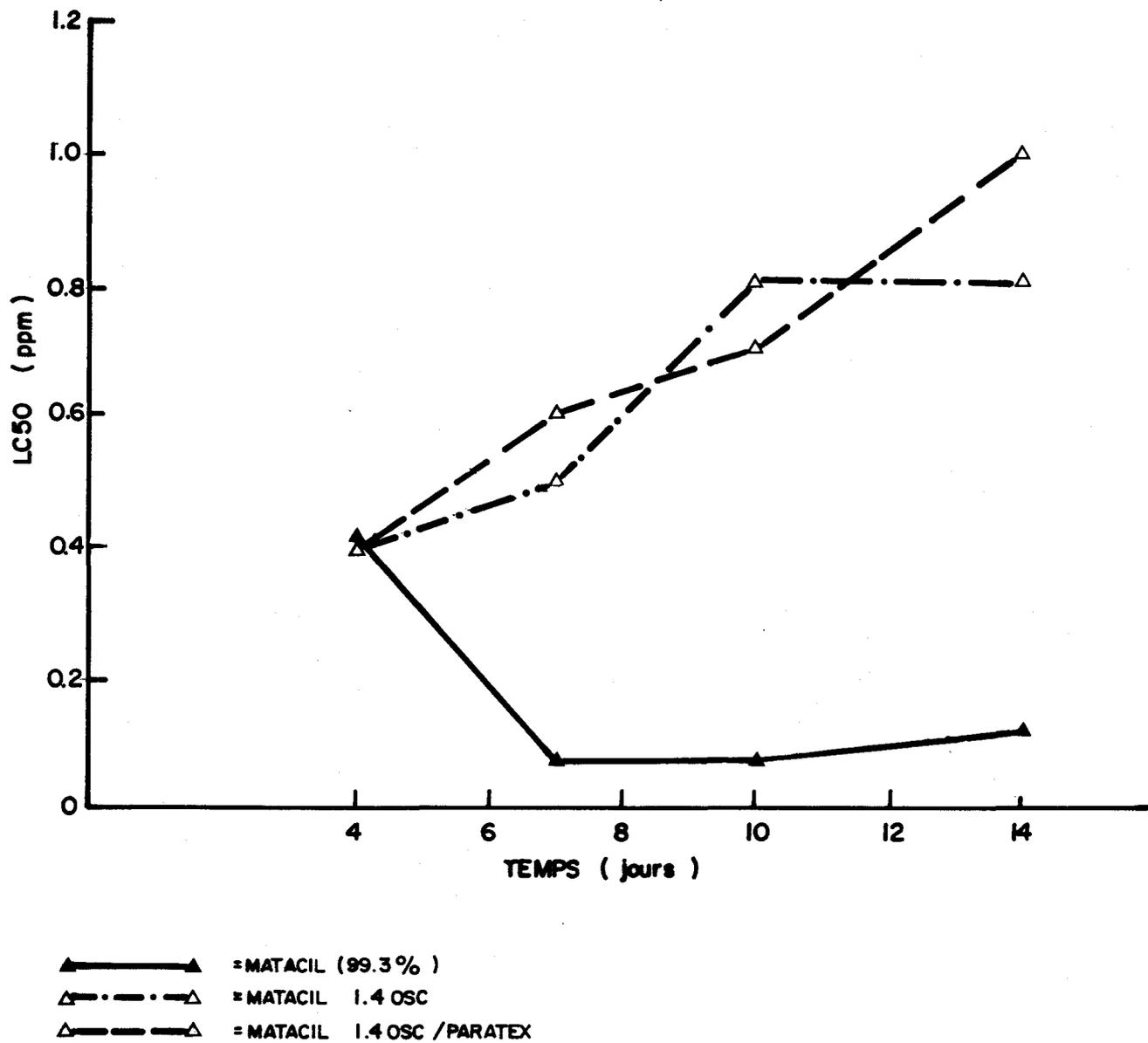


Figure 12 . Variation de la concentration létale (LC50) du matacil en fonction du temps d'exposition dans un milieu de culture de *Selenastrum capricornutum*.

Finalement, le matacil semble avoir une toxicité beaucoup plus forte que le fénitrothion pour *Chlamydomonas variabilis*.

3.2 Effets de certains facteurs physiques et chimiques sur la toxicité du fénitrothion et du matacil

3.2.1 Introduction

Comme nous l'avons déjà mentionné, la stabilité du fénitrothion dans l'eau dépend en grande partie de facteurs physiques comme la température, le pH et la lumière. Dans la plupart des cas, on observe une disparition rapide de l'insecticide dans l'eau due à des processus chimiques comme l'hydrolyse (Zitko et Cunningham, 1974), microbiologiques, ou de photodécomposition (Lockhart *et al.*, 1973). Selon Miyamoto *et al.* (1974), un pH alcalin augmente la décomposition du fénitrothion par rapport à un pH acide; de plus, une augmentation de température favoriserait une accélération des processus chimiques et ainsi une dégradation de l'insecticide.

Une étude effectuée par Kingsbury (1977), sur le lac Tassel au Québec démontre que pour des variations de température entre 18 et 24°C et un pH entre 6.3 et 7.0 à la surface du lac, on retrouve, après une pulvérisation de fénitrothion de 420 g/hectare, 21.6 µg/l de résidus après une heure. Après 12 heures, la concentration en résidus est tombée à 3 µg/l et < 1 µg/l après deux semaines.

La température, le pH et la lumière ont aussi un effet négatif sur la stabilité du matacil (Kuhr et Dorough, 1977).

Les changements dans l'environnement de certains nutriments comme le phosphore et l'azote ont certes une influence sur la production phytoplanctonique. Etant donné que les nutriments peuvent influencer l'état physiologique de l'algue, il est possible que leur disponibilité vienne influencer la sensibilité de l'organisme vis-à-vis les substances toxiques.

Dans ce chapitre, notre étude portera sur l'effet de facteurs physiques comme la température et le pH et de facteurs chimiques comme les nutriments sur la toxicité du fénitrothion et du matacil. Cet aspect sera traité à l'aide des tests biologiques décrits dans la première partie de l'étude.

3.2.2 Méthodes expérimentales

A Réactifs et matériel biologique

Les détails sont inscrits à la section 3.1.2.

B Tests biologiques

a) Température

Les températures choisies sont les suivantes: 5, 10, 15 et 20°C, avec une variation de $\pm 2^{\circ}\text{C}$.

b) pH

Etant donné que le pH des eaux naturelles au Québec se situe normalement entre 5 et 8 cet intervalle a été choisi dans notre étude. On a choisi de soumettre durant 24 heures le fénitrothion et le matacil aux valeurs de pH suivantes: 5, 6, 7 et 8. Lors du pré-traitement des insecticides, on a évité la photo-décomposition en conservant les échantillons à l'obscurité. Ensuite, l'essai a eu lieu dans une eau où le pH correspondait à celui de l'eau d'aquarium soit ~ 8.5 .

c) Nutriments (P,N)

Pour les mêmes raisons mentionnées à la section précédente on a fixé les teneurs en phosphore à 5, 15, 30 et 186 ppb et les concentrations d'azote à 0.1, 1.0, 1.5 et 4 ppm.

3.2.3 Résultats

Les résultats des effets des différentes conditions expérimentales (température, pH, nutriments) pour *Daphnia*, *Selenastrum* et *Chlamydomonas* sont présentés aux figures 13 à 25.

3.2.4 Discussion

A Effets de la température

Pour *Daphnia magna* la toxicité du fénitrothion (96%) augmente avec l'augmentation de la température à l'intérieur de l'intervalle étudié (figure 13). La toxicité de la formulation est élevée pour l'intervalle de température étudiée, mais les faibles valeurs de LC50 mesurées nous empêchent d'en détecter les variations.

Dans le cas du matacil, pour les deux formulations utilisées, on observe par contre que la toxicité diminue avec l'augmentation de la température (figure 14).

Avec *Chlamydomonas variabilis* la toxicité des deux insecticides est moins forte que celle mesurée avec la daphnie. Pour le fénitrothion (96%) et sa formulation, la température a en général peu d'effet sur la toxicité; une augmentation de celle-ci est cependant observée dans le cas de la formulation à 20°C (figure 15). Dans le cas du matacil 1.4 OSC la température ne semble pas affecter la toxicité du produit; en ce qui concerne l'autre formulation la toxicité est plus forte à 5°C qu'aux températures supérieures où elle reste constante (figure 16).

Pour ce qui est de *Selenastrum capricornutum*, les fluctuations de la toxicité observée avec le fénitrothion (96%) sont difficilement interprétables (figure 17); par contre la formulation montre une augmentation de la toxicité avec la hausse de la température. L'effet de la toxicité sur cette algue est donc différent de celui observé avec *Daphnia magna* et *Chlamydomonas variabilis*. Dans le cas du matacil 1.4 OSC la toxicité de l'insecticide est plus forte aux basses températures (figure 18); l'effet contraire est observé avec la formulation matacil 1.4 OSC/

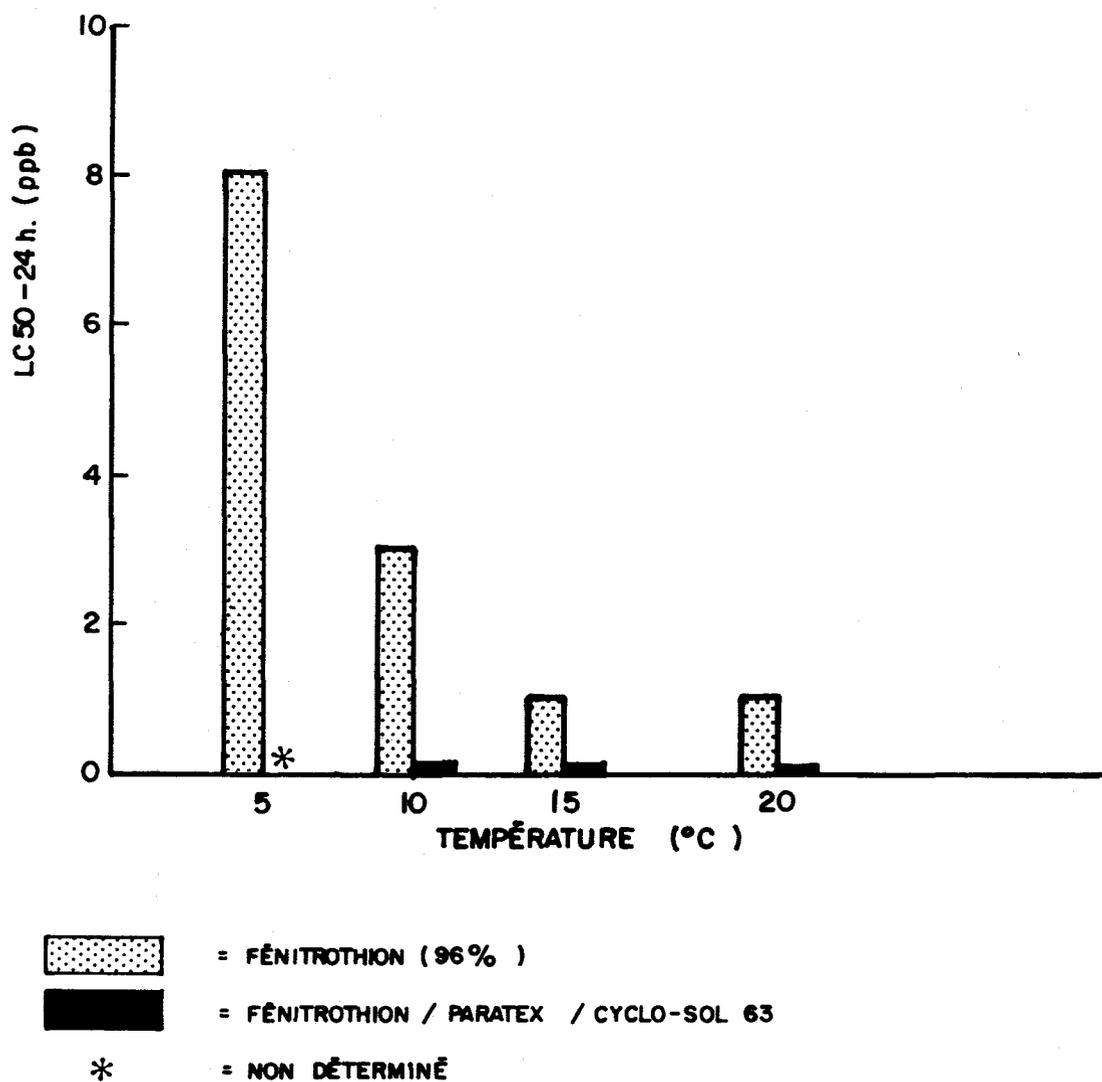


Figure 13 . Effet de la température sur la concentration létale (LC 50) affectant *Daphnia magna* (fénitrothion) .

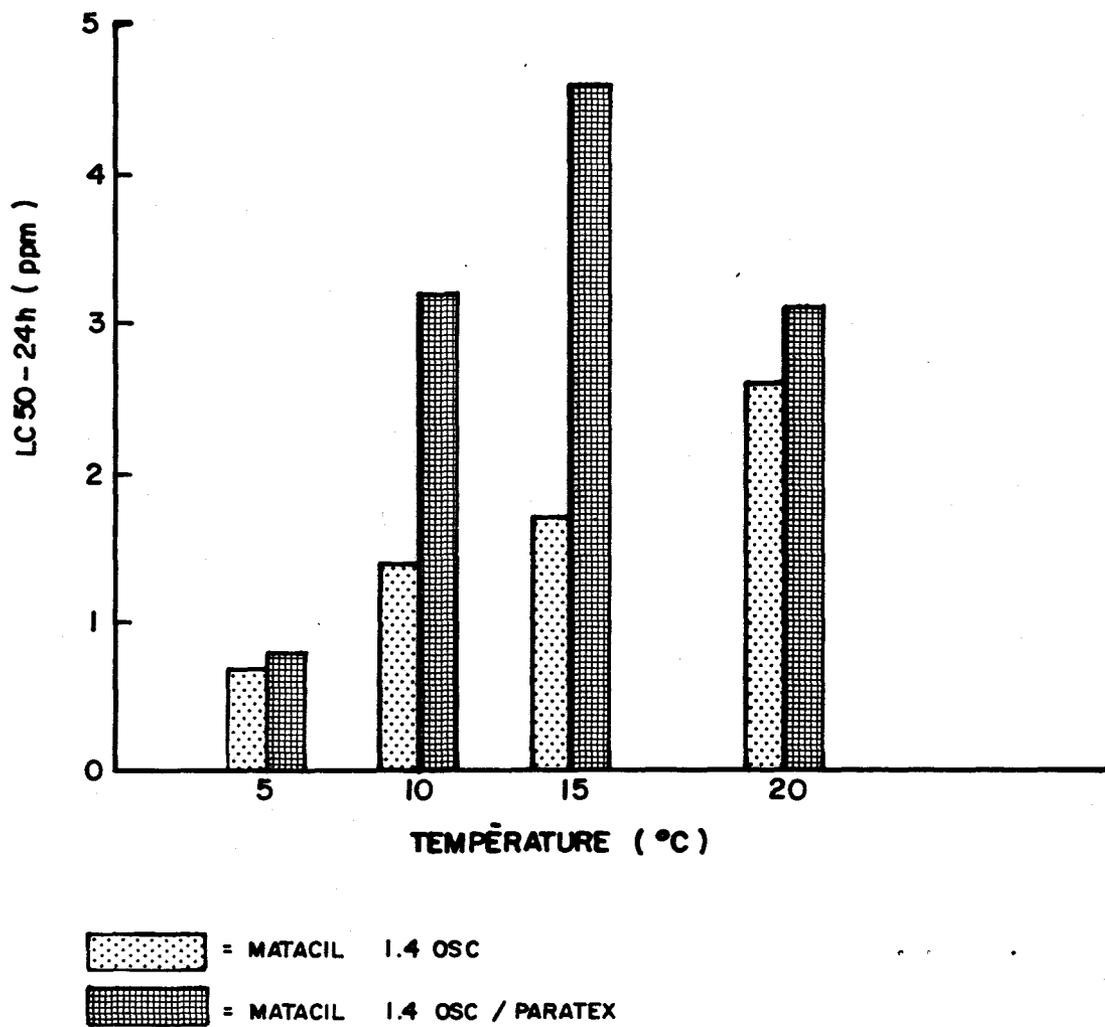


Figure 14 . Effet de la température sur la concentration létale (LC50) affectant *Daphnia magna* (matabil).

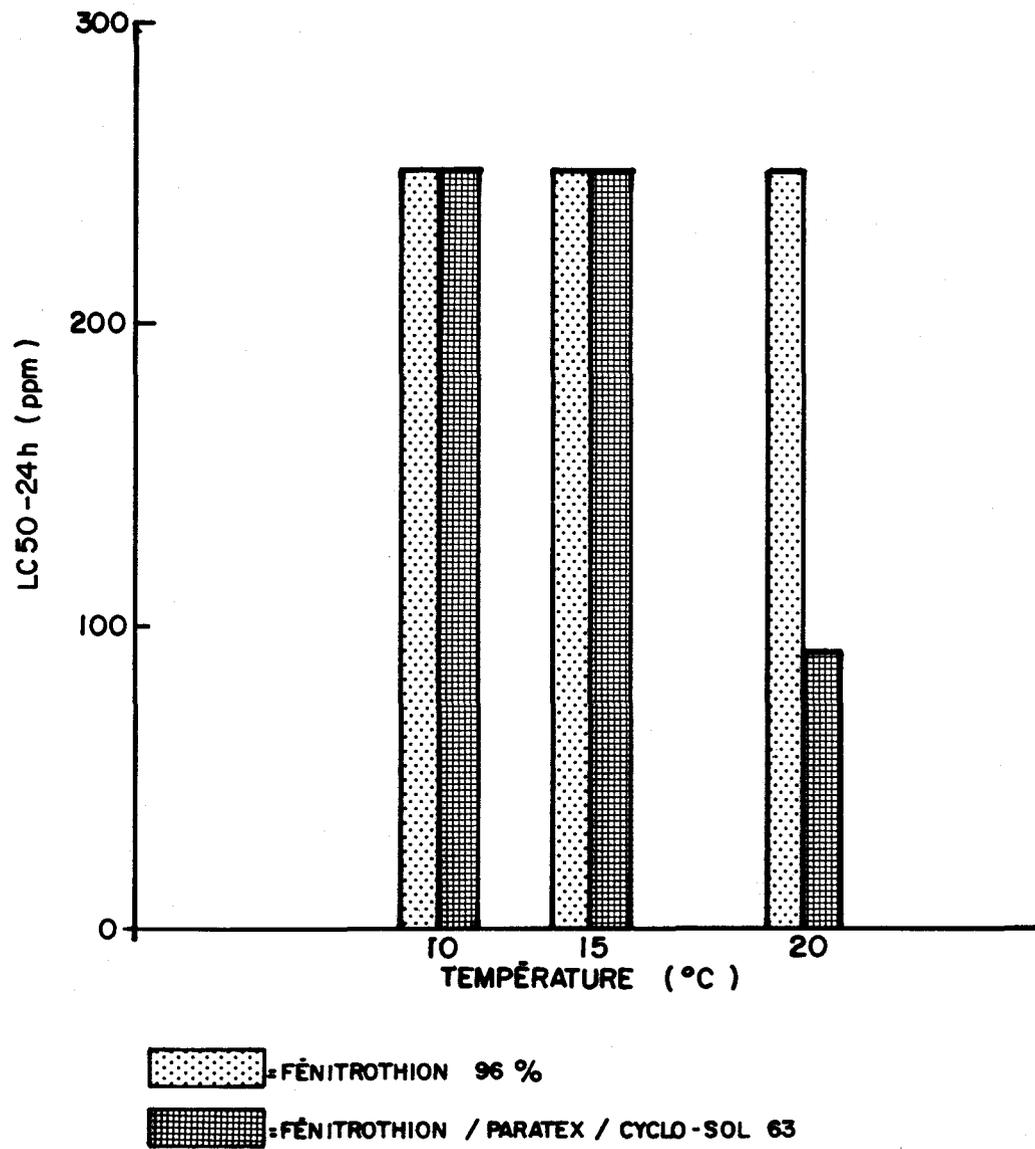


Figure 15 . Effet de la température sur la concentration létale (LC 50) affectant *Chlamydomonas variabilis* (fénitrothion) .

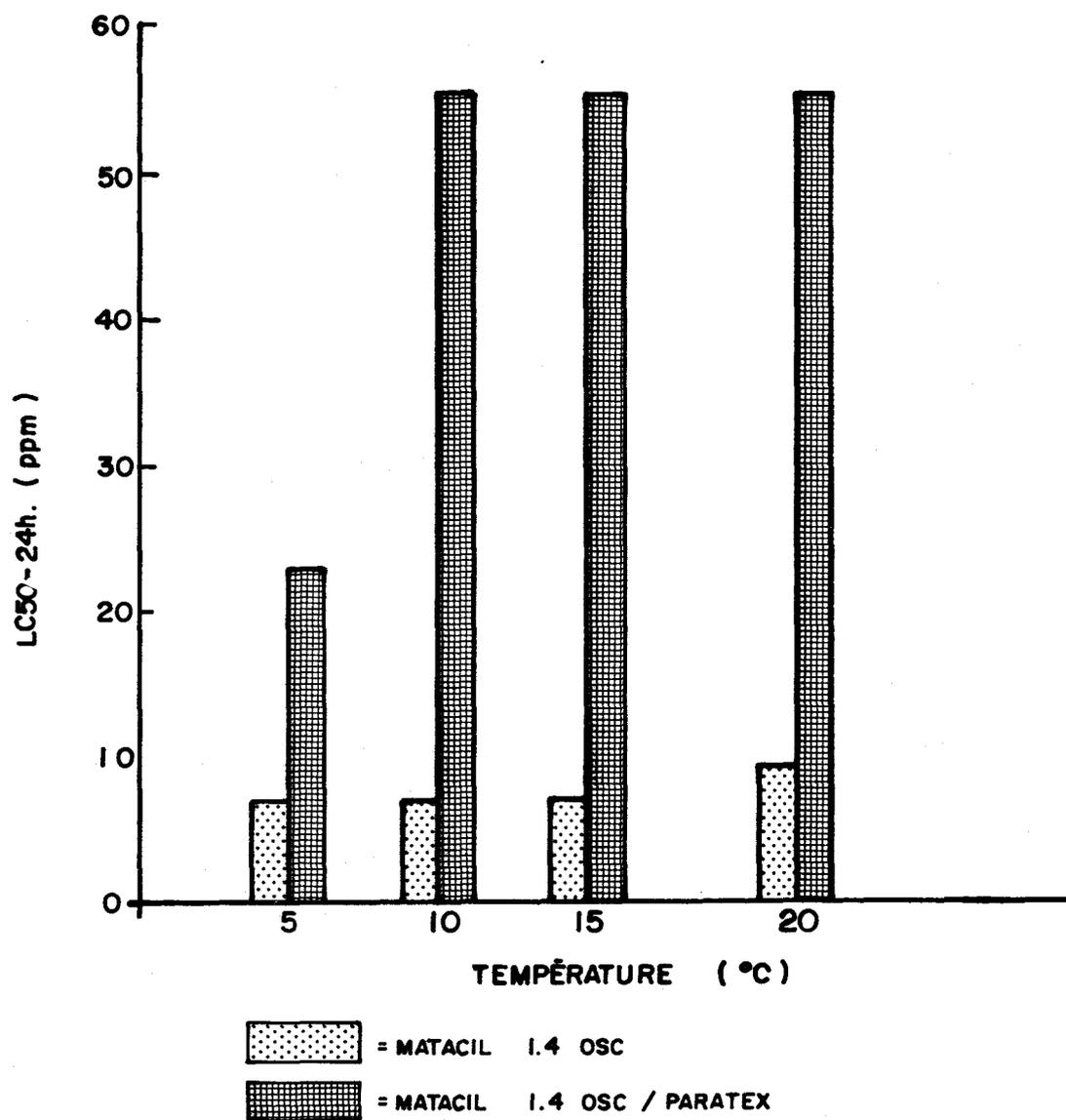


Figure 16 . Effet de la température sur la concentration létale (LC50) affectant *Chlamydomonas variabilis* (maticil).

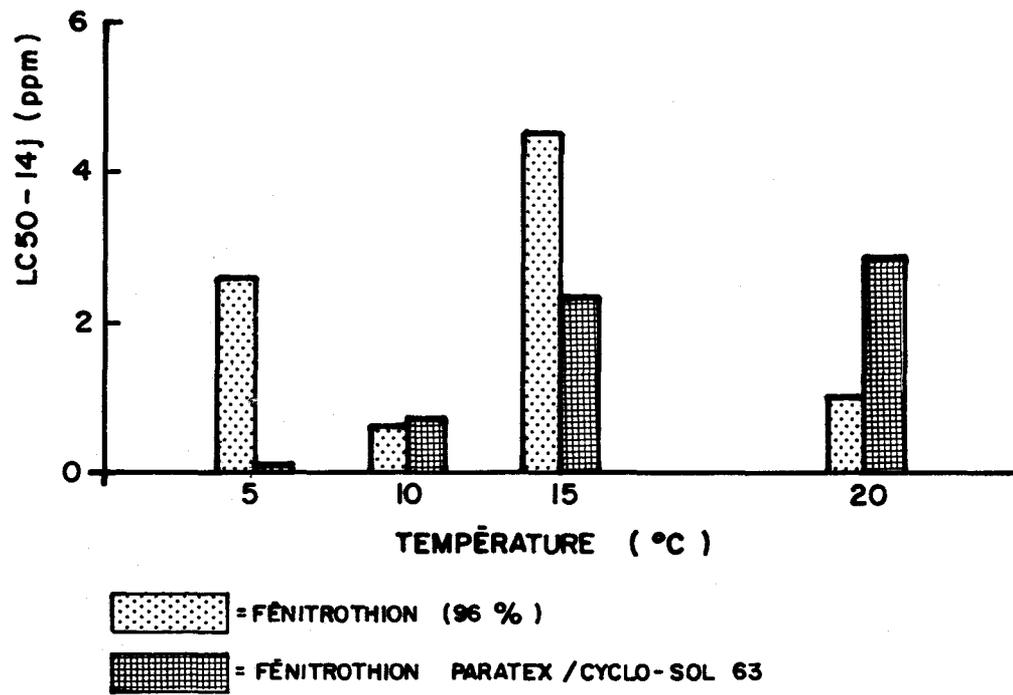


Figure 17 . Effet de la température sur la concentration létale (LC 50) affectant *Selenastrum capricornutum* (fénitrothion).

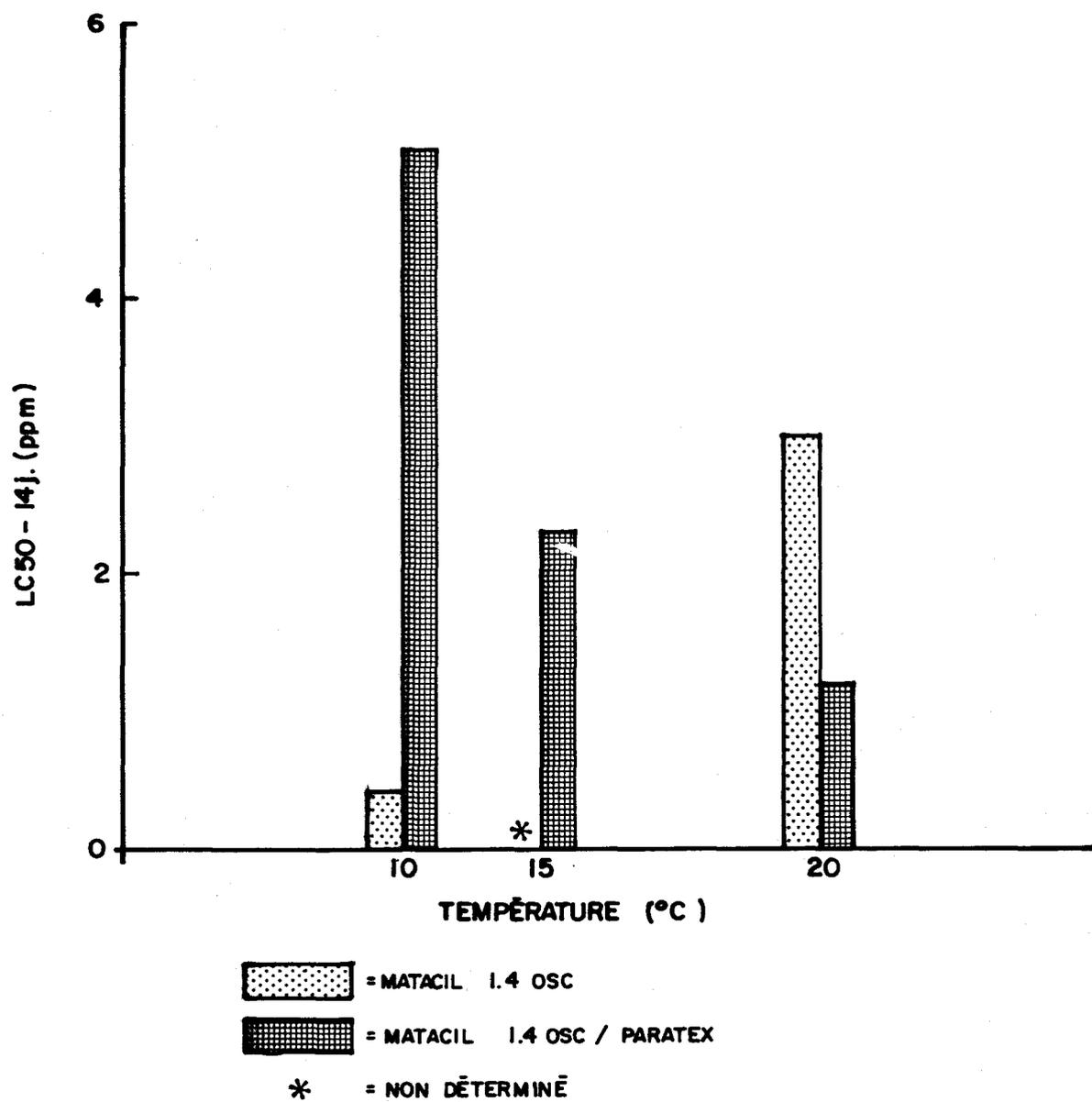


Figure 18 .Effet de la température sur la concentration létale (LC50) affectant *Selenastrum capricornutum* (matacil) .

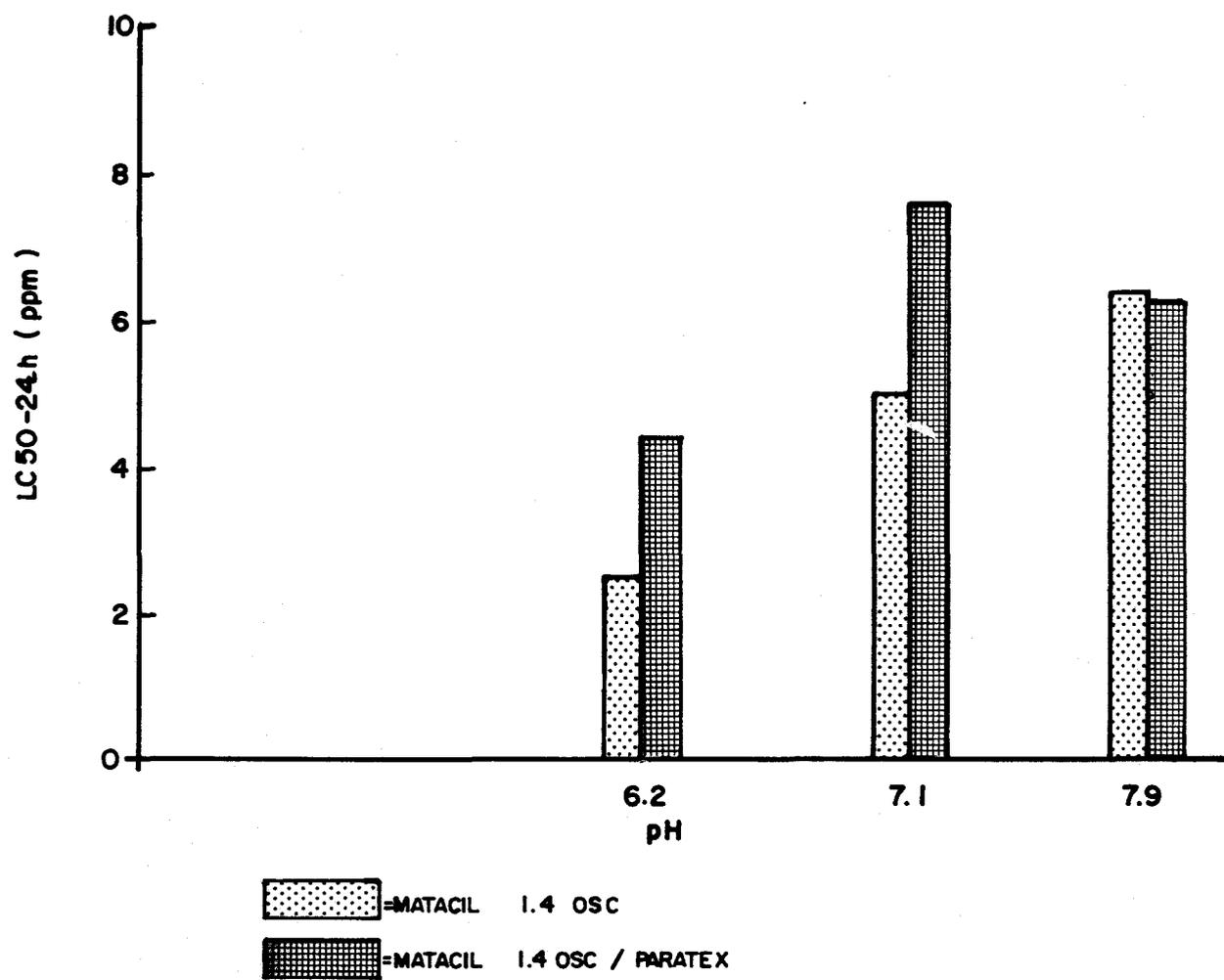


Figure 19 . Effet du pH sur la concentration létale (LC 50) affectant *Daphnia magna* (maticil) .

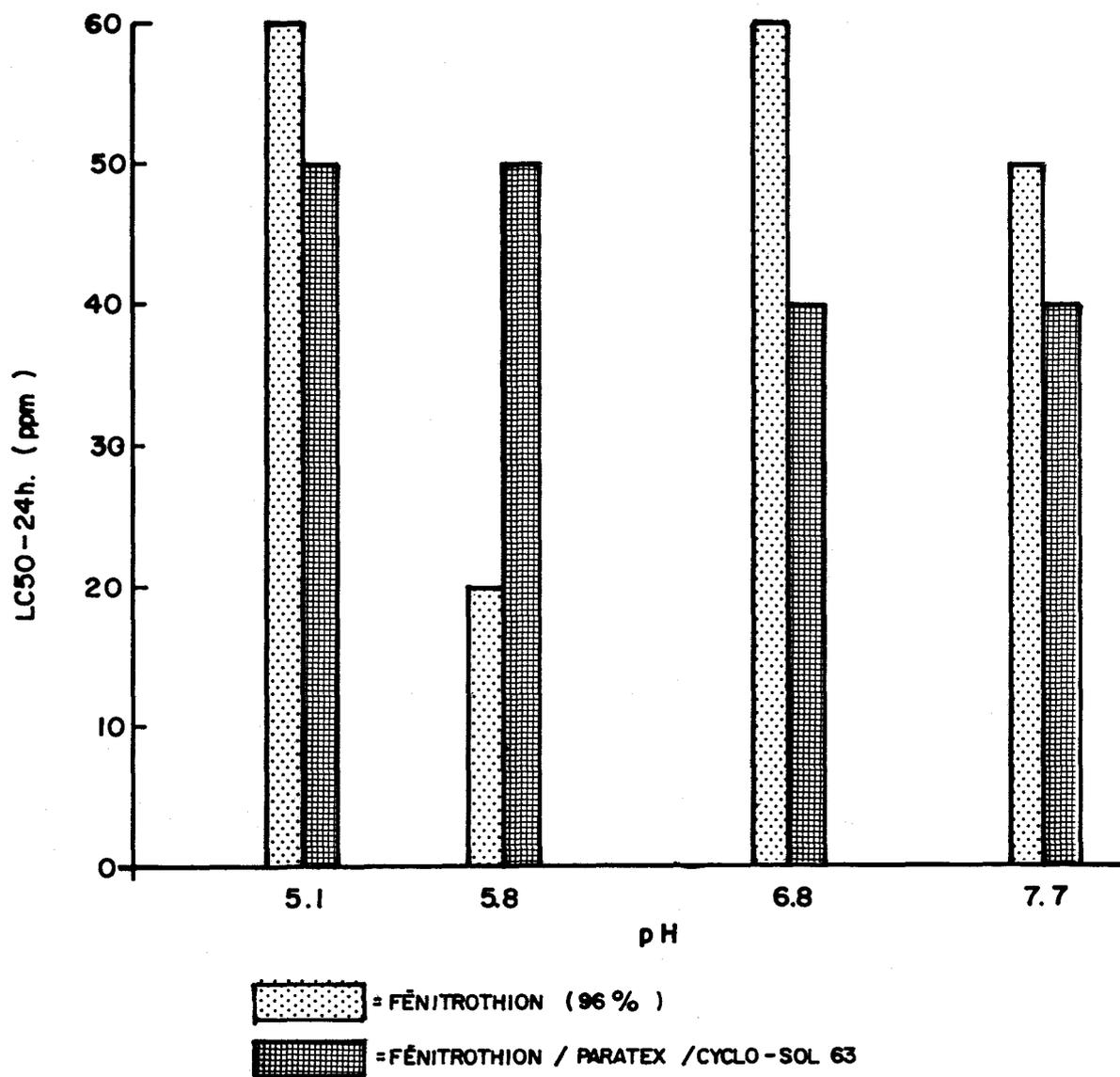


Figure 20 . Effet du pH sur la concentration létale (LC50) affectant *Chlamydomonas variabilis* (fénitrothion) .

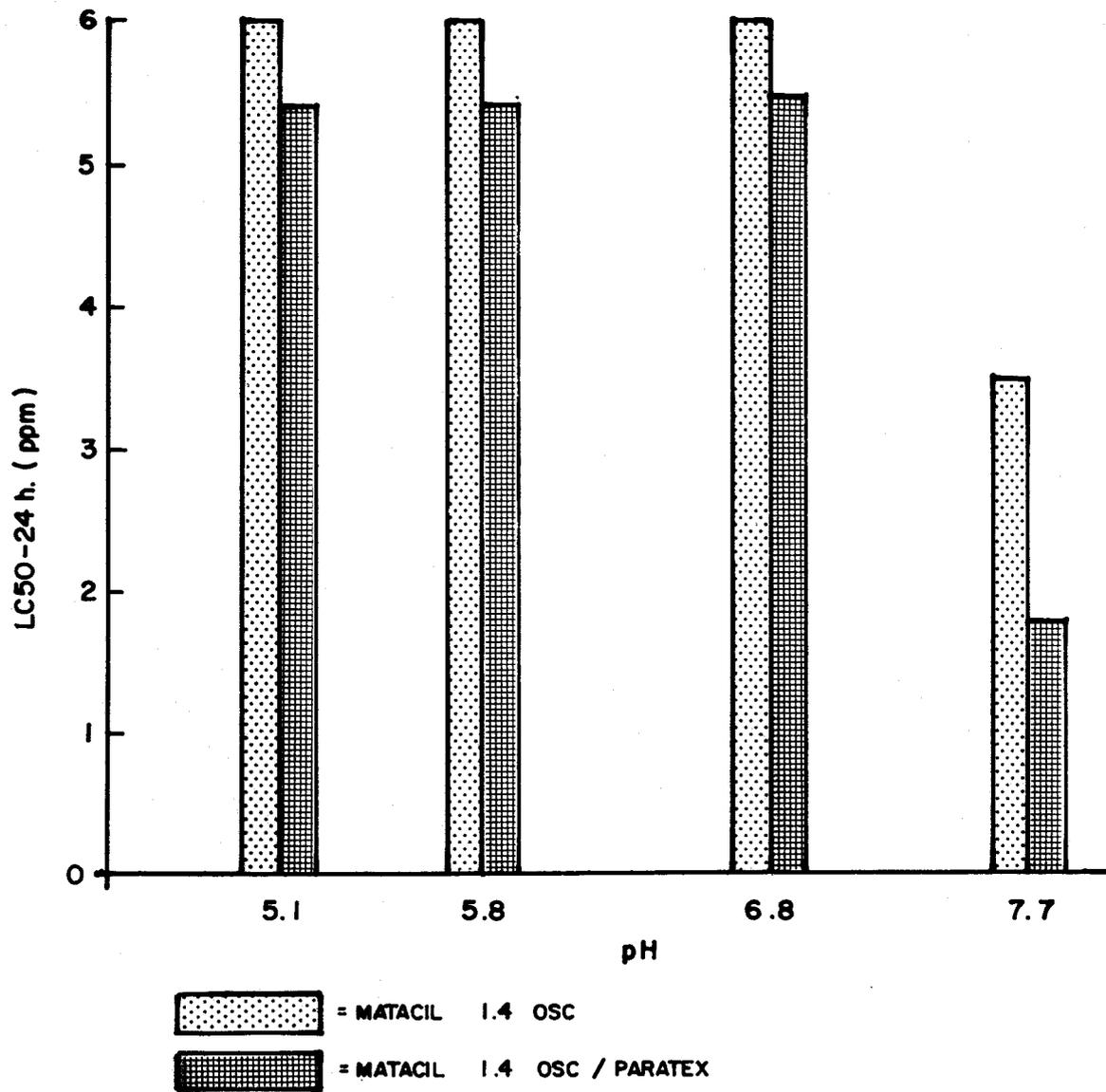


Figure 21 . Effet du pH sur la concentration létale (LC50) affectant *Chlamydomonas variabilis* (matacil) .

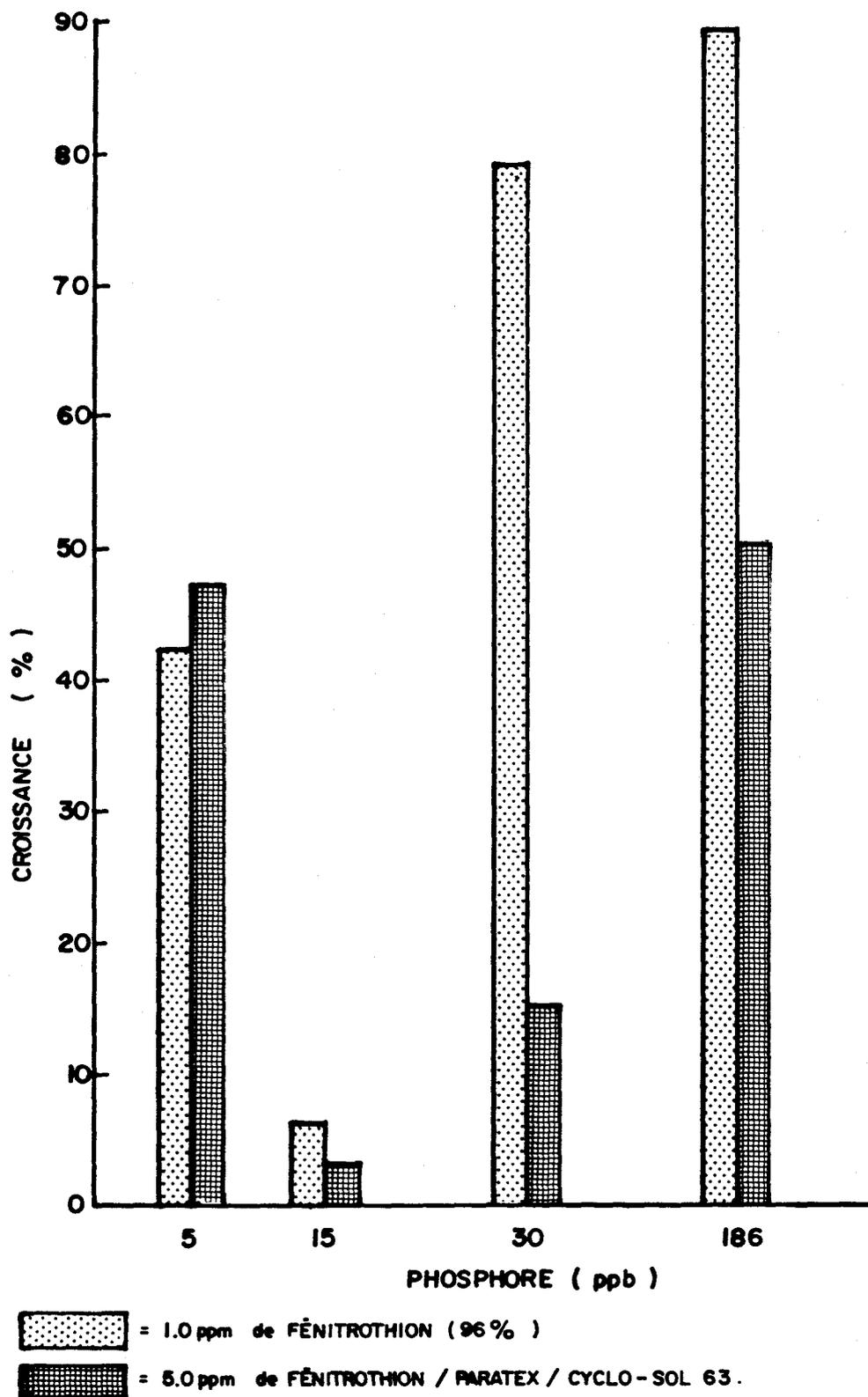


Figure 22. Influence du phosphore sur la sensibilité de l'algue *Selenastrum capricornutum* au fénitrothion.

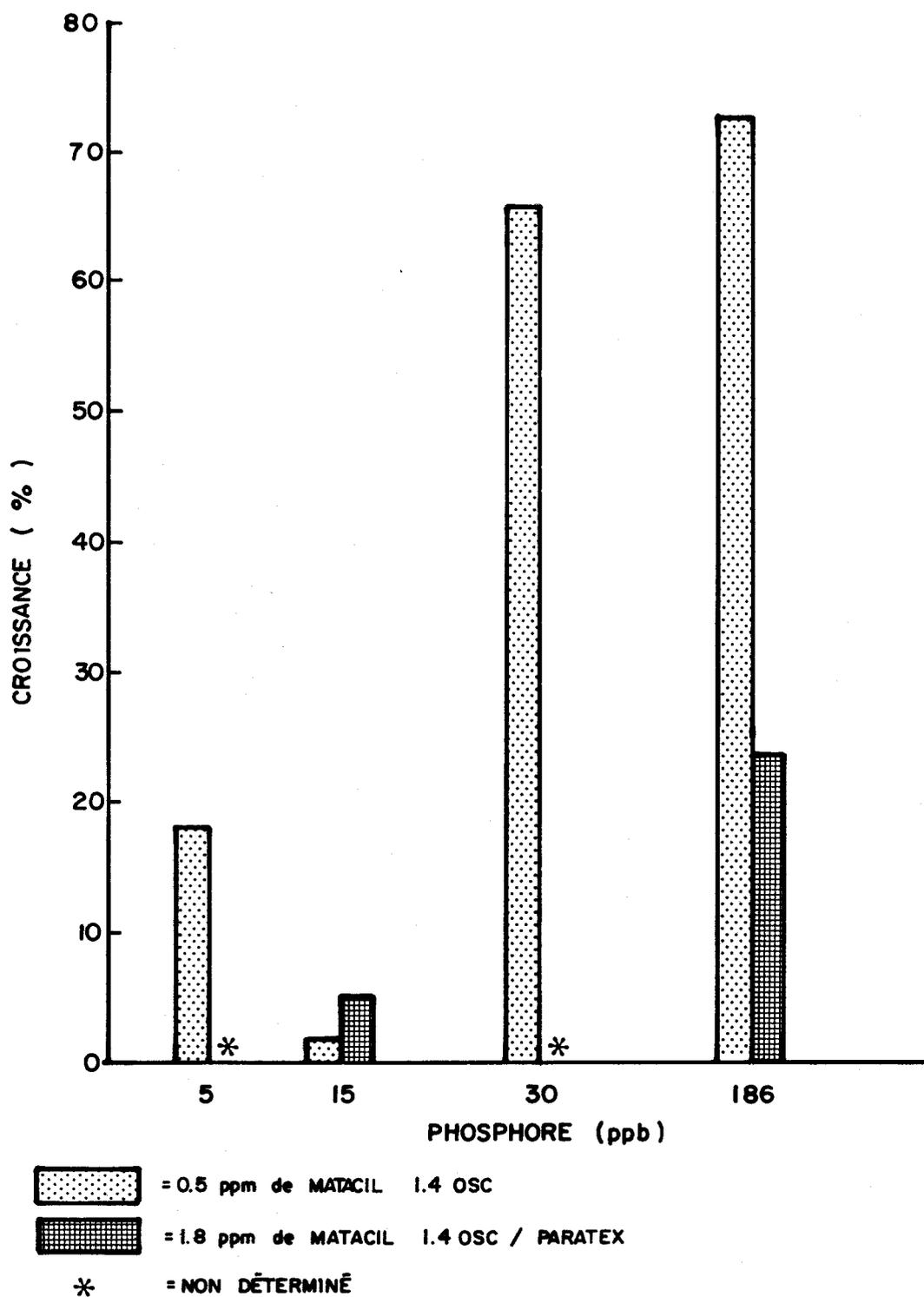


Figure 23 . Influence du phosphore sur la sensibilité de l'algue *Selenastrum capricornutum* au matacil .

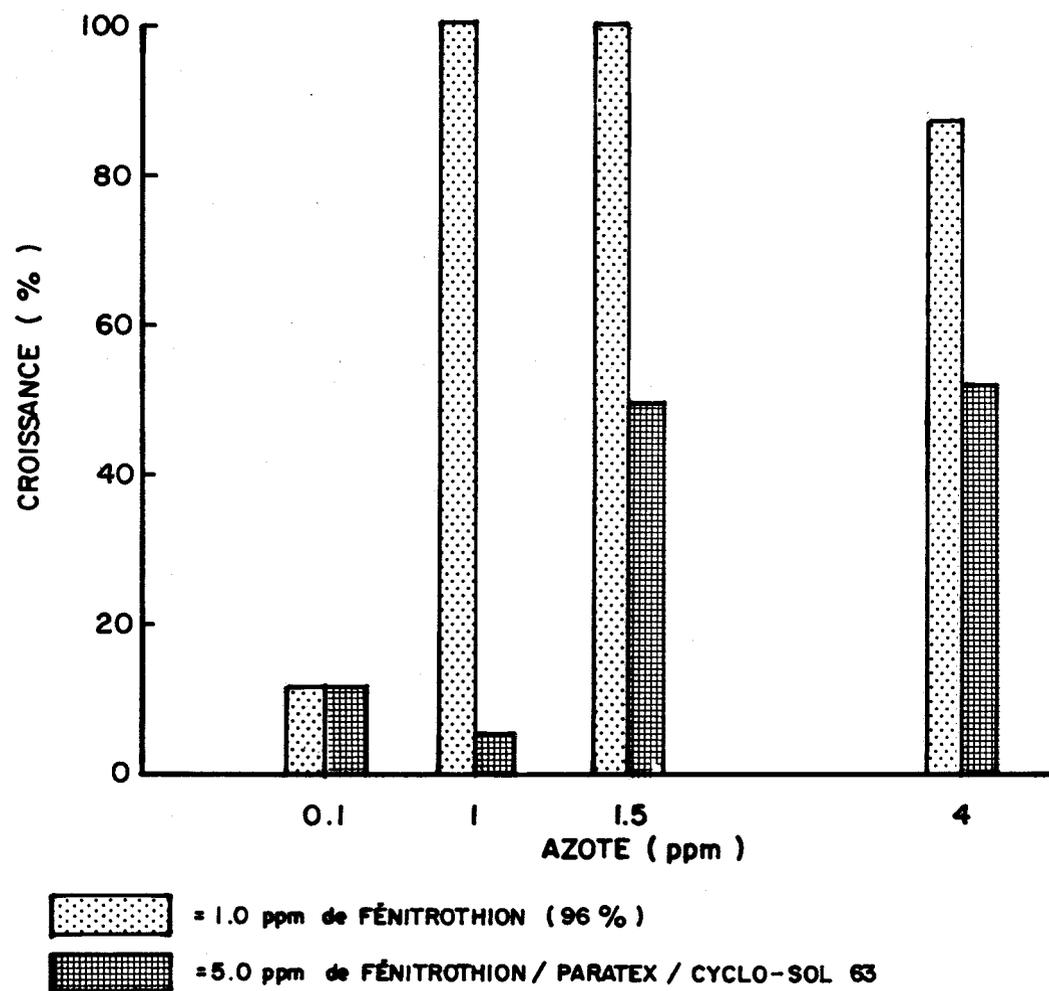


Figure 24 . Influence de l'azote sur la sensibilité de l'algue *Selenastrum capricornutum* au fénitrothion .

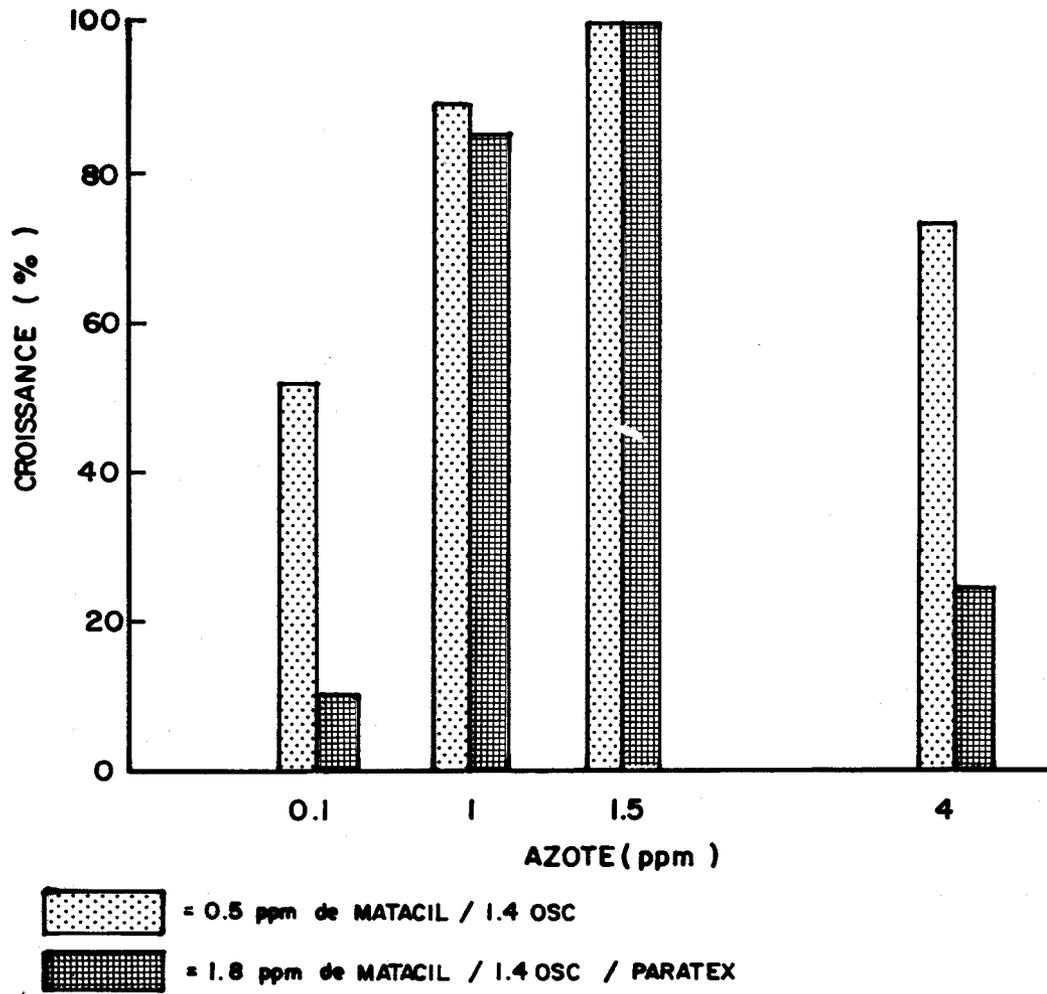


Figure 25 . Influence de l'azote sur la sensibilité de l'algue *Selenastrum capricornutum* au maticil .

paratex. Tout comme ce qui a été observé précédemment avec le fénitrothion, les effets sur cette algue sont différents de ceux obtenus avec les deux autres organismes. Cette variation suggère une réponse différente des organismes selon le type de bioessai utilisé (toxicité chronique vs toxicité aiguë); ainsi il y aurait un changement dans l'activité de l'insecticide ou de ses produits de dégradation selon qu'ils sont en présence des organismes durant 24 heures ou 14 jours.

B Effets du pH

Il faut rappeler ici que les organismes utilisés ne sont pas soumis à différents pH; seules les insecticides ont été préalablement traités avec des solutions alcalines ou acides (voir section 3.2.2). En ce qui concerne le fénitrothion et sa formulation, certaines difficultés expérimentales ont empêché la détermination de la toxicité de l'insecticide sur *Daphnia magna*. Pour les différentes formulations du matacil, la toxicité est plus prononcée aux pH faibles qu'en milieu alcalin (figure 19). Ce phénomène traduit la présence d'un effet physico-chimique du pH sur le matacil étant donné que seul le pesticide était soumis aux différents pH.

Les mesures de toxicité obtenues avec *Chlamydomonas variabilis* pour le fénitrothion sont difficilement interprétables à cause de leur variabilité (figure 20). La formulation apparaît cependant plus toxique pour les produits traités aux pH 6.8 à 7.7 qu'à ceux soumis aux pH 5.1 à 5.8 (figure 20); les différences restent néanmoins faibles. Pour les formulations du matacil, seul un traitement à pH 7.7 semble augmenter la toxicité du produit à l'intérieur de l'intervalle étudié (figure 21).

Aucune mesure de toxicité n'a été effectuée à l'aide de *Selenastrum capricornutum*, les conditions d'incubation (14 jours) pour ce test étant susceptibles de provoquer des changements dans les produits traités auraient rendu inappropriée l'interprétation des résultats en fonction des variations du pH.

C Effets du phosphore et de l'azote

La toxicité du fénitrothion et du matacil semble diminuer avec l'augmentation des concentrations en phosphore dans l'intervalle 15 - 186 ppb (figures 22 et 23). Une explication possible à ce phénomène serait que l'algue en présence de conditions nutritives favorables deviendrait plus résistante aux effets nocifs des pesticides. Cette explication ne peut cependant s'appliquer aux faibles concentrations en phosphore (5 ppb) où l'activité métabolique est nécessairement faible; cette situation peut avoir pour conséquence de diminuer le taux d'échange de la cellule avec son milieu ce qui pourrait expliquer la toxicité moins grande des deux insecticides à cette concentration en phosphore.

L'augmentation des concentrations en azote semble aussi influencer la toxicité des deux pesticides. Celle-ci diminue normalement avec la hausse des teneurs en azote (figures 24 et 25). La baisse observée aux fortes concentrations en azote est étonnante compte tenu du fait que normalement un organisme devient plus résistant lorsque les conditions du milieu lui sont favorables. En ce qui concerne le fénitrothion, sa formulation semble avoir, aux diverses concentrations d'azote une toxicité plus élevée que le produit pur. Etant donné que dans ces essais les concentrations en fénitrothion pour le produit pur étaient identiques à celles de la formulation, un effet synergétique dû à la présence des produits "inertes" est soupçonné. La perte de sensibilité de l'algue observée auparavant dans un milieu pauvre (5 ppb en P) ne s'est pas manifestée dans les milieux plus riches qui ont servi à l'étude des effets de l'azote.

4. CONCLUSION GENERALE

Jusqu'à maintenant, les travaux effectués sur le fénitrothion par plusieurs équipes de chercheurs ont démontré des effets toxiques sur des organismes non-cibles. Dans l'environnement aquatique, ce sont les insectes en général qui sont les plus affectés. Chez les poissons et en particulier chez la truite aucun effet sur le comportement n'est signalé; il y a toutefois une bioaccumulation de certains métabolites; le phénomène est cependant réversible dans des conditions sans fénitrothion. Les études effectuées en laboratoire sur des mammifères indiquent que le principal effet est l'inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase; cet effet se manifeste seulement aux fortes doses du pesticide. Les effets du matacil sont moins connus. Chez les insectes il agit comme poison résiduel de l'estomac; chez la truite arc-en-ciel des effets toxiques ont été associés aux produits inertes qui entrent dans la composition des formulations.

Les travaux réalisés dans nos laboratoires à l'aide de bioessais concernant l'effet du fénitrothion et du matacil sur les algues *Selenastrum capricornutum*, *Chlamydomonas variabilis* et le crustacé *Daphnia magna* ont démontré que:

1. les trois organismes sont sensibles vis-à-vis les deux insecticides purs et en formulation;
2. les organismes ont tous les trois la même sensibilité au matacil en formulation;
3. pour les algues le matacil est plus toxique que le fénitrothion. Ceci s'applique aux pesticides purs aussi bien qu'en formulation;
4. *Chlamydomonas* est généralement l'organisme le plus résistant contre toutes les formes de ces pesticides;
5. *Daphnia* est plus sensible que les algues au fénitrothion dans ses différentes formes et au matacil pur;

6. pour *Daphnia* le fénitrothion en formulation est plus toxique que le matacil en formulation.

Les produits qui entrent dans la composition des formulations utilisées au Québec lors des pulvérisations aurait une influence sur la toxicité du pesticide lui-même; en effet, selon les organismes et les insecticides employés une action antagoniste (matacil: *Daphnia* et *Selenastrum*) ou synergétique (fénitrothion: *Selenastrum* et *Chlamydomonas*) est observée.

Mentionnons aussi que les valeurs de LC50 déterminées avec les algues sont nettement plus élevées (facteur 1,000) que les concentrations en fénitrothion ou en matacil dosées dans l'environnement aquatique (région de Saint-Pascal-de-Kamouraska) après une pulvérisation aérienne (Mathieu *et al.*, 1978). Ceci suggérerait que les deux pesticides soient peu susceptibles d'entraîner des effets toxiques aigus chez les producteurs primaires du milieu naturel. De plus, si on considère la daphnie comme un organisme représentatif du zooplancton, le même raisonnement peut s'appliquer pour cette classe d'organismes dans le cas du matacil en formulation; cependant, en ce qui concerne le matacil (99%) et le fénitrothion (96%) il s'applique moins bien puisque l'écart entre les LC50 et les concentrations mesurées dans l'environnement après pulvérisation est moins prononcé. Elles sont aussi bien supérieures (facteur 1,000) aux concentrations retrouvées dans le lac Tassel 12 heures après une pulvérisation (Kingsbury 1977).

L'activité des pesticides et de leurs formulations varie en fonction des conditions de la température, du pH et des concentrations en phosphore et en azote. On remarque que:

A- en ce qui concerne la température:

- 1- pour *Chlamydomonas* l'activité du fénitrothion pur semble indépendante de la température; la toxicité de la formulation est plus forte à 20°C qu'à 10°C et 15°C. La toxicité du matacil en formulation change peu en fonction de la température; seule la toxicité du matacil 1.4 OSC/paratex augmente à 5°C;

- 2- pour *Selenastrum* la toxicité du fénitrothion pur varie de façon non constante en fonction de la température; l'activité de la formulation est forte à faible température. L'activité de la formulation du matacil est forte à température plus élevée;
- 3- pour *Daphnia*, l'activité du fénitrothion pur est plus forte à température plus élevée. La toxicité du matacil en formulation semble plus forte avec la baisse de température.

B- en ce qui concerne le pH

- 1- pour *Chlamydomonas*, la toxicité du fénitrothion pur varie indépendamment du pH; l'activité de la formulation serait légèrement plus élevée à pH plus élevé. La toxicité du matacil en formulation est faible à pH élevé;
- 2- pour *Daphnia*, la toxicité du matacil en formulation est forte à faible pH.

C- en ce qui concerne les concentrations en nutriments

- 1- la toxicité du fénitrothion (pur ou en formulation) et du matacil diminue pour les algues avec l'augmentation des concentrations en phosphore pour l'intervalle 15-186 ppb de phosphore;
- 2- la toxicité des deux pesticides pour les algues diminue normalement avec la hausse des teneurs en azote.

Enfin les études complémentaires ont mis en évidence la stabilité du fénitrothion en milieu stérile durant 14 jours sous une intensité lumineuse de 5,400 lux.

5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AFNOR. (1974).

Essais biologiques des eaux: détermination de l'inhibition de la motilité *Daphnia magna* Straus (Crustacé, cladocère). Association française de normalisation. Norme expérimentale T90-301.

APHA-AWWA-WPCF. (1975).

Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Waterworks Association and Water Pollution Control Federation, 14th. edition, 1193 p.

BALBA, M., S. HAMDY and G. JADU. (1974).

Degradation of matacil by the ascorbic acid oxydation system. Bull. Envir. Contamin. Toxicol. 11: 193-200.

BULL, C.J. (1971).

The effects of Sumithion, an organophosphate insecticide, on the behaviour of juvenile Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) Walbaum. M. Sc. Thesis, University of Victoria.

BURTNER, B.R., G.L. KENNEDY and M.L. KEIPLINGER. (1974).

Unpublished report to Sumitomo Chemical. Co., Ltd. from Industrial BIO-TEST Laboratories, Inc. (Cité par MIYAMOTO, 1978).

COUTURE, P. et S.A. VISSER. (1978).

Evaluation de la toxicité des eaux du bassin versant de la rivière Kinojévis à l'aide de deux bioessais: test de fertilité et test daphnie. INRS-Eau, rapport scientifique 94. Ste-Foy, Québec, 21 p.

ECOBICHON, D.J., R.L. OZERE, E. REID and J.F.S. CROCKER. (1977).

Acute fenitrothion poisoning. Can. Med. Ass. J. 116: 377-379.

ETO, M. (1974).

Organophosphorus pesticides: organic and biological chemistry. CRC. PRESS, Inc., Cleveland, Ohio. 387 p.

FLANNAGAN, J.F. (1973).

Field and laboratory studies of the effect of exposure to fenitrothion on fresh water aquatic invertebrates. *Man. Ent.* 7: 15-25.

GAROFALO, M., R.J. PALAZZOLO and R.G. SANDERS. (1972).

Unpublished report to Sumitomo Chemical Co., Ltd. from Industrial BIO-Test Laboratories, Inc. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

HALLETT, D.J., P. WEINBERGER, R. GREENHALGH and R. PRASAD. (1974).

Chem. Cont. Res. Inst. Inf. Rep. CC-X-78. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

HATFIELD, C.T. and J.M. ANDERSON. (1972).

Effect of two insecticides on the vulnerability of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Parr to Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) predation. *J. Fish Res. Bd. Canada* 29: 27-29.

HLADKA, A., V. BATORA, J. KOVACICOVA and L. ROSIVAL. (1977).

Effet sur la santé professionnelle et son importante toxicologique du fénitrothion et de son contaminant (S-méthyl fénitrothion) dans la toxicologie de ses formulations. NRCC/CNRS No 16073, Ottawa, p. 416.

HOSOKAWA, S. and J. MIYAMOTO. (1974).

Botyu-Kagaku. 39:49. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

JOHNSON, J.C. Jr, and M.C. BOWMAN. (1972).

Responses from cows fed diets containing fenthion or fenitrothion. *J. Dairy Sci.* 55: 777-782.

KADOTA, T., Y. OKUND and J. MIYAMOTO. (1975).

Acute oral toxicity and delayed neurotoxicity of 5 organophosphorus compounds, salithion, cyanox, surecide, sumithion and sumioxon in adult hens. *Botyu-Kagaku* 40: 49-53.

KANNAMMAL, S., S. THIRUMURTHI, T.R. SUBRAMANIAM and P. PALANISWAMI. (1973).

Effect of aerial spraying of pesticides on *Daphnia sp.* *Madras agric. J.* 60(5): 338.

KEPLINGER, M.L. (1976).

Private communication to Sumitomo chemical Co., Ltd. from Industrial BIO-TEST laboratories, Inc. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

KINGSBURY, P.D. (1976).

A history of the effects of aerial forest spraying in Canada on aquatic fauna. Chem. Contr. Res. Inst., Report CC-X-117, Ottawa, 31 p.

KINGSBURY, P.D. (1977).

Fenitrothion in a lake ecosystem. Chem. Contr. Res. Inst. Report CC-X-146, Ottawa, 123 p.

KLAVERKAMP, J.F., B.R. HOBDEN and S.E. HARRISON. (1975).

Acute lethality and *in vitro* brain cholinesterase inhibition of acephate and fenitrothion in rainbow trout. Proc. West. Pharmacol. Soc. 18: 358-361.

KOHDA, H., M. KAGOSHIMA and T. KADOTA. (1972).

Unpublished report of Research Department, Pesticides Division, Sumitomo Chemical Co., Ltd. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

KOHDA, H., T. KADOTA and J. MIYAMOTO. (1975).

Unpublished report of Research Department, Pesticides Division, Sumitomo Chemical Co., Ltd. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

KOHDA, H., T. SUZUKI, T. KADOTA and J. MIYAMOTO. (1977).

Unpublished report of Research Department, Pesticides Division, Sumitomo Chemical Co., Ltd. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

KOHLI, J.D., M.Z. HASAN and B.N. GUPTA. (1974).

Dermal absorption of fenitrothion in rat. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 11: 285-290.

LADD, R., D.H. JENKINS, P.L. WRIGHT and M.L. KEPLINGER. (1971).

Unpublished report of Industrial BIO-TEST Laboratories to Sumitomo Chemical Co., Ltd. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

- LOCKHART, W.L., D.A. METNER and N. GRIFT. (1973).
Biochemical and residue studies on rainbow trout (*Salmo gairdneri*) following field and laboratory exposures to fenitrothion. *Man. Ent.* 7: 26-36.
- LUNDAHL, P. (1974).
Contribution à l'étude de la pollution des eaux par les substances toxiques; propriétés biologiques de quelques agents de surfaces anioniques. Thèse, Université de Paris VI. 184 p.
- MATHIEU, P., P. LAROCHELLE et R. DOSTIE. (1979).
Comportement des insecticides dans les milieux aquatiques, lors des pulvérisations aériennes contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette. Ministère des Richesses naturelles, Direction du domaine hydrique, Groupe conseil en écologie, 57 p., 1 annexe.
- MANDOUL, R., M. DUBOS, M. DECOMMAND and G.L. MOULINIER. (1968).
Bull. soc. Path. Exet. 60: 568. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).
- MATSUBARA, T., T. KADOTA and S. HARA. (1977).
Unpublished report of Research Department, Pesticides Division, Sumitomo Chemical Co., Ltd. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).
- McLEESE, D.W. (1974).
Olfactory response and fenitrothion toxicity in american lobsters (*Homarus americanus*). *J. Fish. Res. Board. Can.* 31: 1127-1131.
- McLEESE, D.W. (1976).
Fenitrothion toxicity to the freshwater crayfish, *Oreconectes limosus*. *Bull. Env. Contam. Toxicol.* 16: 411-416.
- MIHARA, K., Y. OKUNO, Y. MISAKI and J. MIYAMOTO. (1978).
Metabolism of fenitrothion in goats. *J. Pesticide Sci.* 3: 233-242.
- MIYAMOTO, J. and Y. SATO. (1965).
Butyu-Kagaku, 30:45. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

MIYAMOTO, J., Y. SATO and S. SUZUKI. (1967).

Determination of insecticide residue in animal and plant tissues. IV. Determination of residual amount of Sumithion and some of its metabolites in fresh milk. *Butyu-Kagaku*. 32: 95-100.

MIYAMOTO, J. (1969).

Mechanism of low toxicity of sumithion toward mammals. *Residue Reviews*, 25: 251-264.

MIYAMOTO, J., Y. TAKIMOTO and M. HIROTA. (1974).

Unpublished report of Sumitomo Chem. Co. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

MIYAMOTO, J. and K. MIHABA. (1977).

Unpublished report of Research Department, Pesticides Division, Sumitomo Chemical Co., Ltd. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

MIYAMOTO, J., S. HOSOKAWA, T. KADOTA, H. KOHDA, M. ARAI, S. SUGIHARA and K. KIRAO. (1976).

Studies on cholinesterase inhibition and structural changes at neuromuscular junctions in rabbits by subacute administration of sumithion. *J. Pesticide Sci.* 1: 171-178.

MIYAMOTO, J. (1977).

Proceedings of a symposium on fenitrothion NRCC/CNRC No. 16073, 105. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

MIYAMOTO, J. (1978).

Impact of fenitrothion (sumithion) on the whole environment including humans. Sumitomo Chemical Co., Ltd. Osaka, Japan. 71 p.

MOODY, R.P., R. GREENHALGH, L. LOCKHART and P. WEINBERGER. (1978).

The fate of fenitrothion in an aquatic ecosystem. *Bull. Envir. Cont. Toxicol.* 19: 8-13.

NISHIZAWA, Y. (1960).

New low toxic organophosphorus insecticide. *Bull. Agric. Chem. Soc. Jap.* 24: 744.

NELSON, D.L. (1978).

Unpublished reports to Chemagro Agricultural Co. Ltd., Missouri.

NOSAL, M. and A. HLADKA. (1968).

Int. Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. 25: 28-38. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

OHKAWA, H., N. MIKAMI and J. MIYAMOTO. (1974).

Agr. Biol. Chem. 38: 2247. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

PETERSON, R.H. (1974).

Influence of fenitrothion on swimming velocities of Brooktrout (*Salvelinus fontinalis*). J. Fish. Res. Board. Can. 31: 1757-1762.

POCHON, J. and P. TARDIEUX. (1962).

Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Edition de la Tourelle, St-Mandé, 111 p.

POMBER, L., P. WEINBERGER, R. PRASAD. (1974).

Chem. Cont. Res. Inst., Inf. Rep. CC-X-80. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

RORKE, M.A., D.R. GARDNER and R. GREENHALGH. (1974).

Lethality and behavioral symptoms produced by some organophosphorus compound in the snail (*Helix aspersa*). Bull. Env. Contam. Toxicol. 11: 417-424.

RUTTNER, H.A. Jr. and L.W. NELSON. (1974).

Unpublished report to Sumitomo Chemical Co., Ltd. from Hazleton Laboratories, Inc. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

RUTTER, H.A. Jr. and D.A. BANAS. (1975).

Unpublished report to Sumitomo Chemical Co., Ltd. from Hazleton Laboratories, Inc. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

SANTHARAM, K.R., B. THAYUMANAVAN and S. KRISHNASWAMY. (1976).

Toxicity of some insecticides to *Daphnia carinata* King, an important link in the food chain in the freshwater ecosystems. Indian J. Ecol. 3: 70-73.

STROTHER, A. (1972).

In vitro metabolism of methylcarbamate insecticides by human and rat liver fraction. Toxicol. Appl. Pharmacol. 21:112.

TAKIMOTO, Y. and J. MIYAMOTO. (1976).

J. Pestic. Sci. 1: 261. (*Cité par* MIYAMOTO, 1978).

TUNSTALL, E.W. and SOLINAS, M. (1977).

Daphnia pulex pulls its weight in pulp mill toxicity tests. Pulp Pap. Can. 78: T93-T98.

WILDISH, D.J., W.G. CARSON, T. CUNNINGHAM and N.J. LISTER. (1971).

Toxicological effects of some organophosphate insecticides to atlantic salmon. J. Fish Res. Bd. Can. Report No. 1157: 1-22.

WILDISH, D.J. and R.L. PHILIPPS. (1972).

Acute lethality of fenitrothion to freshwater aquatic insects. Fisheries Research Board of Canada, Manuscript Report No. 1210, St. Andrews, N.B.

WILDISH, D.J. and N.A. LISTER. (1973).

Biological effects of fenitrothion in the diet of brook trout. Bull. Environ. Cont. Toxicol. 10: 333-339.

ZITRO, V. and J.D. CUNNINGHAM. (1974).

Free toxicity of S-methyl fenitrothion. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 14: 19-24.

Annexe 1

Etudes complémentaires

Pour mieux répondre aux objectifs de la présente étude et afin de compléter et préciser les sections 3.1.3A, 3.1.4A et 3.1.4C du présent rapport, certaines analyses complémentaires furent réalisées. Les résultats ont permis de:

- i) vérifier la stabilité du fénitrothion au cours d'une période de 14 jours;
- ii) vérifier les concentrations léthales en fénitrothion (96%) et en matacil 1.4 OSC pour *Daphnia* et pour *Chlamydomonas*.

1.1 Stabilité du fénitrothion

Les expériences furent réalisées par le laboratoire des pesticides du Ministère de l'Environnement. Les analyses visaient à vérifier la stabilité du fénitrothion dans le milieu de culture PAAP stérile et non stérile.

1.1.1 Préparation de la solution

La composition de la formulation utilisée était la suivante (v/v):

fénitrothion	15%
cyclo-sol	35%
paratex	50%

Dans cette formulation la concentration en fénitrothion est de 146.8 g/l.

Afin de faciliter la solubilisation de la formulation dans le milieu de culture PAAP¹, on a dilué préalablement (1/1000) la solution dans l'éthanol (grade pesticide). La concentration en fénitrothion de la nouvelle solution était donc de 146.8 mg/l.

Cette solution était ensuite diluée dans les milieux de culture PAAP, soit non-stérile soit stérile de façon à obtenir une teneur finale en fénitrothion de 734 µg/l et une concentration en éthanol de 0.5%.

¹ La composition de ce milieu synthétique est décrite à la page 23.

1.1.2 Conditions expérimentales

Les solutions étaient incubées durant 14 jours dans les conditions suivantes:

pH: 7.5
T : 26°C
luminosité: 5,400 lux, 24 heures/jour
agitation: 110 oscillations/minute.

Pour les expériences réalisées à l'aide du milieu PAAP non-stérile trois erlenmeyers de 3 litres contenant chacun 1.5 litre de solution étaient utilisées. Au début de l'expérience (jour 0) ainsi qu'aux jours 2, 4, 7, 10 et 14 on a prélevé 250 ml dans chacun des contenants afin de doser la teneur en fénitrothion. Les résultats apparaissent aux tableau 1.1a.

En ce qui concerne l'expérimentation en milieu stérile, on a utilisé 18 erlenmeyers de 500 ml qui contenaient chacun 200 ml de solution. Aux jours 0, 2, 4, 7, 10 et 14, le contenu en fénitrothion de trois erlenmeyers était dosé. Les résultats sont présentés au tableau 1.1b.

1.1.3 Discussion

Les valeurs obtenues confirment celles présentées précédemment à l'intérieur du rapport (page 26): sur une période de 14 jours, dans le milieu de culture PAAP stérile peu de dégradation est observée. Ainsi que nous l'avons déjà mentionné (section 3.1.3A), cette stabilité du fénitrothion peut paraître surprenante compte tenu des résultats obtenus par d'autres chercheurs (Miyamoto *et al.*, 1974; Lockart *et al.*, 1973). Il faut cependant noter la dégradation rapide de l'insecticide entre le 2ième et le 4ième jour d'incubation dans le milieu non-stérile. Il semblerait donc que l'activité de certains micro-organismes puisse avoir davantage d'influence sur la dégradation de l'insecticide que l'action de facteurs physiques comme la lumière. A notre avis, cet aspect mériterait une étude plus approfondie; en effet d'autres chercheurs ont insisté sur les phénomènes de photodécomposition qui seraient les principaux responsables de la disparition

de l'insecticide dans l'environnement (Lockart *et al.*, 1973). D'autres facteurs liés à la qualité de la lumière pourraient aussi contribuer à expliquer les différences entre nos valeurs et celles mentionnées dans la littérature. En effet, il faut mentionner que nos expériences eurent lieu dans des conditions de lumière artificielle alors que celles décrites dans la littérature étaient poursuivies sous la lumière du jour.

1.2 Toxicité du fénitrothion et du matacil

Cette section est destinée à vérifier les valeurs de LC50 (fénitrothion 96% et matacil 1.4 OSC) obtenues à l'aide des tests effectués avec *Daphnia magna* et *Chlamydomonas variabilis*.

1.2.1 Préparation des solutions initiales d'insecticides

Dans une fiole volumétrique de 100 ml, 1 gramme de fénitrothion est dilué dans de l'éthanol (95%) de façon à obtenir un volume final de 100 ml. La concentration en fénitrothion de cette solution est de 10,000 mg/l.

En ce qui concerne le matacil 1.4 OSC on utilise le même procédé avec 1 g de la formulation; cette solution de 10,000 mg/l en matacil 1.4 OSC est à nouveau diluée (1/100) cette fois dans l'eau millipore de façon à obtenir une concentration finale de 100 mg/l.

Il faut signaler qu'afin de faciliter le processus de dilution des solutions alcoolisées de pesticides, on doit toujours ajouter la solution concentrée en insecticide à l'eau.

1.2.2 Test Daphnie

Fénitrothion 96%

Le test fut réalisé sur 7 concentrations de fénitrothion dont chacune des solutions avait été préparée à partir de la solution initiale de 10,000 mg/l de fénitrothion.

A partir de cette solution on prépare d'abord les solutions A et B.

Solution A: Dans un volume de 1 litre, 0.1 ml de la solution initiale est dilué avec l'eau de dilution¹ pour obtenir une concentration de 1 mg/l de fénitrothion.

Solution B: Dans un volume de 1 litre, 10 ml de la solution A est dilué avec l'eau de dilution de façon à obtenir une concentration de 0.010 mg/l de fénitrothion.

Avec la solution A, on prépare en triplicata les trois solutions suivantes:

- i) 100 μ l de la solution A sont dilués dans l'eau de dilution de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- ii) 50 μ l de la solution A sont dilués dans l'eau de dilution de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- iii) 20 μ l de la solution A sont dilués dans l'eau de dilution de façon à obtenir un volume de 9 ml.

Dans chacun de ces milieux, on ajoute 1 ml d'eau de dilution qui contient 5 daphnies. Les concentrations finales en fénitrothion sont alors les suivantes:

- i) 10 μ g/l
- ii) 5 μ g/l
- iii) 2 μ g/l

¹ Na HCO₃ 0.200 g
 CaCl₂ 0.224 g
 K₂SO₄ 0.026 g
 Le volume est complété à 1 litre
 Le pH est ajusté à 8.0 \pm 0.2.

Avec la solution B, on prépare en triplicata les trois solutions suivantes:

- iv) 1 ml de la solution B est dilué dans l'eau de dilution de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- v) 0.5 ml de la solution B est dilué dans l'eau de dilution de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- vi) 0.1 ml de la solution B est dilué dans l'eau de dilution de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- vii) 0.05 ml de la solution B est dilué dans l'eau de dilution de façon à obtenir un volume de 9 ml.

Dans chacun de ces milieux, on ajoute 1 ml d'eau que contient 5 daphnies. Les concentrations finales en fénitrothion sont alors les suivantes:

- iv) 1 $\mu\text{g/l}$
- v) 0.5 $\mu\text{g/l}$
- vi) 0.1 $\mu\text{g/l}$
- vii) 0.05 $\mu\text{g/l}$

Les éprouvettes sont couvertes d'un papier aluminium et sont incubées au laboratoire durant 24 heures. Le dénombrement des organismes vivants est par la suite effectué.

Matacil 1.4 OSC

Tout comme pour le fénitrothion, les tests furent réalisés sur 7 concentrations; les différentes solutions furent préparées à partir de la solution initiale de 100 mg/l.

- i) 2 ml de la solution initiale sont dilués dans l'eau de dilution de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- ii) 1 ml de la solution initiale est dilué dans l'eau de dilution de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- iii) 0.500 ml de la solution initiale est dilué dans l'eau de dilution de façon à obtenir un volume de 9 ml;

- iv) 0.200 ml de la solution initiale est dilué dans l'eau de dilution de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- v) 0.100 ml de la solution initiale est dilué dans l'eau de dilution de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- vi) 0.050 ml de la solution initiale est dilué dans l'eau de dilution de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- vii) 0.010 ml de la solution initiale est dilué dans l'eau de dilution de façon à obtenir un volume de 9 ml.

Dans chacun de ces milieux on ajoute 1 ml d'eau de dilution qui contient les 5 daphnies. Les concentrations finales en matacil 1.4 OSC sont alors les suivantes:

- | | |
|-------------|---------------|
| i) 20 mg/l | v) 1 mg/l |
| ii) 10 mg/l | vi) 0.5 mg/l |
| iii) 5 mg/l | vii) 0.1 mg/l |
| iv) 2 mg/l | |

La procédure d'incubation pour les tests sur le matacil est identique à celle employée lors des tests sur le fénitrothion.

1.2.3 Test *Chlamydomonas*

Fénitrothion 96%

Le test fut réalisé sur 7 concentrations dont chacune des solutions était préparée soit à partir de la solution initiale de 10,000 mg/l de fénitrothion soit à partir de la solution A contenant 1 mg/l de fénitrothion (voir test Daphnie).

A partir de la solution initiale on prépare en triplicata dans des éprouvettes les dilutions suivantes:

- i) 50 µl de la solution initiale sont dilués dans le milieu de culture¹ de façon à obtenir un volume de 9 ml;

¹ Milieu Pochon et Tardieux: voir composition page 25.

- ii) 10 μ l de la solution initiale sont dilués dans le milieu de culture de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- iii) 5 μ l de la solution initiale sont dilués dans le milieu de culture de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- iv) 1 μ l de la solution initiale est dilué dans le milieu de culture de façon à obtenir un volume de 9 ml.

Dans chacun de ces milieux, on ajoute 1 ml d'une culture de *Chlamydomonas* de façon à avoir une concentration finale de 500,000 cellules/ml. Les concentrations finales en fénitrothion dans chacune de ces solutions sont les suivantes:

- i) 50 mg/l
- ii) 10 mg/l
- iii) 5 mg/l
- iv) 1 mg/l

Avec la solution A on prépare en triplicata dans des éprouvettes les dilutions suivantes:

- v) 5 ml de la solution A sont dilués dans le milieu de culture de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- vi) 1 ml de la solution A est dilué dans le milieu de culture de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- vii) 0.5 ml de la solution A est dilué dans le milieu de culture de façon à obtenir un volume de 9 ml.

Dans chacun de ces milieux, on ajoute 1 ml d'une culture de *Chlamydomonas*, de façon à avoir une concentration finale de 500,000 cellules/ml dans chaque éprouvette. Les concentrations finales en fénitrothion dans chacune des solutions sont les suivantes:

- v) 0.5 mg/l
- vi) 0.1 mg/l
- vii) 0.05 mg/l.

Chacune de ces solutions est incubée selon les conditions décrites précédemment et après 24 heures on procède à l'évaluation de la toxicité (voir section 3.1.2C du rapport: Test avec (*Chlamydomonas variabilis*).

Matacil 1.4 OSC

Le test fut réalisé sur 7 concentrations dont chacune des solutions était préparée à partir de la solution initiale de 100 mg/l de matacil 1.4 OSC.

- i) 0.5 ml de la solution initiale est dilué dans le milieu de culture de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- ii) 0.4 ml de la solution initiale est dilué dans le milieu de culture de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- iii) 0.3 ml de la solution initiale est dilué dans le milieu de culture de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- iv) 0.2 ml de la solution initiale est dilué dans le milieu de culture de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- v) 0.1 ml de la solution initiale est dilué dans le milieu de culture de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- vi) 50 µl de la solution initiale sont dilués dans le milieu de culture de façon à obtenir un volume de 9 ml;
- vii) 25 µl de la solution initiale sont dilués dans le milieu de culture de façon à obtenir un volume de 9 ml.

Dans chacun de ces milieux, on ajoute 1 ml d'une culture de *Chlamydomonas* de façon à avoir un concentration finale de 500,000 cellules/ml dans chaque éprouvette. Les concentrations finales en matacil 1.4 OSC dans chacune de ces solutions sont les suivantes:

- i) 5 mg/l
- ii) 4 mg/l
- iii) 3 mg/l
- iv) 2 mg/l
- v) 1 mg/l
- vi) 0.5 mg/l
- vii) 0.25 mg/l.

Chacune de ces solutions est incubée et la toxicité est évaluée de la même façon que pour le fénitrothion.

1.2.4 Résultats

En ce qui concerne les tests avec la daphnie (tableau 1.2), les résultats sont voisins de ceux présentés à l'intérieur du rapport (tableau 3). On note en effet ici que la concentration létale pouvant inhiber 50% des individus (LC50) se situe entre 0.5 et 2 µg/l pour le fénitrothion (96%) et entre 1 et 2 mg/l pour le matacil 1.4 OSC. Ces concentrations se comparent respectivement pour les deux pesticides, avec les LC50 de 1 µg/l et de 2.1 mg/l déterminées au début de l'étude. Les résultats des tests obtenus avec l'algue *Chlamydomonas* (tableau 1.3) se comparent aussi avec ceux présentés précédemment dans le rapport. Les LC50 se situent entre 5 et 50 mg/l pour le fénitrothion (96%) et entre 1 et 3 mg/l pour le matacil 1.4 OSC alors que précédemment on avait évalué les LC50 des deux pesticides à 75 mg/l et 3.5 mg/l respectivement.

A notre avis, les différences entre les deux séries de mesures restent faibles puisque les valeurs obtenues demeurent à l'intérieur du même ordre de grandeur. La tendance à la diminution des LC50 déterminées ici par rapport aux valeurs présentées dans le rapport pourrait être attribuable à des changements dans la sensibilité des organismes ou dans la qualité (activité) des pesticides employés.

TABLEAU 1.1.a Dégradation du fénitrothion dans le milieu PAAP non-stérilisé

TEMPS D'INCUBATION (jour)	QUANTITE INTRODUITE ($\mu\text{g/l}$)	CONCENTRATION RETROUVEE ($\mu\text{g/l}$)	RECUPERATION (%)	COEFFICIENT DE VARIATION (%)
0	734	722	98	2.1
2	734	669	91	3.8
4	734	60	8	123

$$\text{Récupération (\%)} = \frac{\text{Concentration retrouvée (\mu g/l)}}{\text{Concentration introduite (\mu g/l)}}$$

$$\text{Coefficient de variation} = \frac{\text{écart type}}{\text{moyenne}}$$

TABLEAU 1.1b Dégradation du fénitrothion dans le milieu PAAP stérilisé

TEMPS D'INCUBATION (jour)	QUANTITE INTRODUITE ($\mu\text{g/l}$)	CONCENTRATION RETROUVEE ($\mu\text{g/l}$)	RECUPERATION (%)	COEFFICIENT DE VARIATION (%)
0	734	730	99	1.8
2	734	713	97	4.6
4	734	694	94	2.2
7	734	671	91	3.1
10	734	648	88	2.2
14	734	628	85	2.6

$$\text{Récupération (\%)} = \frac{\text{Concentration retrouvée (\mu\text{g/l})}}{\text{Concentration introduite (\mu\text{g/l})}}$$

$$\text{Coefficient de variation} = \frac{\text{écart type}}{\text{moyenne}}$$

TABLEAU 1.2: Dénombrement des daphnies vivantes après 24 heures de contact avec différentes solutions de fénitrothion (96%) et de matacil 1.4 OSC

Concentration en fénitrothion ($\mu\text{g/l}$)	Tubes à essais ¹			Concentration en matacil 1.4 OSC (mg/l)	Tubes à essais		
	1	2	3		1	2	3
0.05	5	5	5	0.1	5	5	5
0.1	5	5	5	0.5	5	5	5
0.5	3	4	4	1.0	5	5	5
1.0	2	0	2	2.0	0	0	0
2.0	0	0	0	5.0	0	0	0
5.0	0	0	0	10.0	0	0	0
10.0	0	0	0	20.0	0	0	0

¹ Nombre de daphnies vivantes pour chaque replica de chacune des solutions

TABLEAU 1.3: Evaluation de la motilité des cultures de *Chlamydomonas variabilis* après 24 heures de contact avec différentes solutions de fénitrothion (96%) et de matacil 1.4 OSC

Concentration en fénitrothion (mg/l)	Tubes à essais ¹			Total	Concentration en matacil 1.4 OSC (mg/l)	Tubes à essai			Total
	1	2	3			1	2	3	
0.05	3	3	3	9	0.25	3	3	3	9
0.1	3	3	3	9	0.5	3	3	3	9
0.5	3	3	3	9	1.0	2	3	3	8
1.0	3	3	3	9	2.0	1	0	1	2
5.0	3	3	3	9	3.0	0	0	0	0
10.0	2	2	2	6	4.0	0	0	0	0
50.0	0	0	0	0	5.0	0	0	0	0

¹ Evaluation de la motilité des *Chlamydomonas*; pour chaque replica de chacune des solutions

0 = immobilité totale de la culture

3 = aussi mobile que la solution sans pesticide

Annexe 2

Tableaux des valeurs qui sont illustrées aux figures 5 à 25

TABLEAU 2.1: Variations des concentrations en résidus de pesticides dans le milieu de culture PAAP stérile au cours d'une période de 14 jours telles qu'illustrées à la figure 5

Temps (jours)	Résidus (%)		
	(1)	(2)	(3)
4	100	61	70
7	103	45	47
10	95	33	26
14	96	~2	~2

Résidus %: $\frac{[\text{pesticide au temps } x]}{[\text{pesticide au début}]}$

(1) Fénitrothion/paratex/cyclo-sol 63

(2) Matacil 1.4 OSC

(3) Matacil 1.4 OSC/paratex

TABLEAU 2.2: Croissance relative de l'algue *Selenastrum capricornutum* en fonction des concentrations de fénitrothion (96%) telle qu'illustrée à la figure 6

Concentration en fénitrothion (ppm)	Croissance (%) ¹
0.13	104
0.29	103
0.48	99
0.81	88
1.04	87
1.30	54
2.86	62
4.81	64
8.06	17

$$^1 \text{ Croissance (\%)} = \frac{\text{Concentration de la culture dans le milieu contenant le pesticide (c/ml)}}{\text{Concentration de la culture dans le milieu sans pesticide (c/ml)}}$$

TABLEAU 2.3: Croissance relative de l'algue *Selenastrum capricornutum* en fonction des concentrations de fénitrothion/paratex/cyclo-sol 63 telle qu'illustrée à la figure 7

Concentrations en fénitrothion/paratex/cyclo-sol 63 (ppm)	Croissance (%) ¹
0.13	87
0.28	61
0.48	47
0.81	62
1.04	28
1.30	23
2.86	-
4.81	8
8.06	1
10.40	2

$$^1 \text{ Croissance (\%)} = \frac{\text{Concentration de la culture dans le milieu contenant le pesticide (c/ml)}}{\text{Concentration de la culture dans le milieu sans pesticide (c/ml)}}$$

TABLEAU 2.4: Croissance relative de l'algue *Selenastrum capricornutum* en fonction des concentrations de matacil 1.4 OSC telle qu'illustrée à la figure 8

Concentration en matacil 1.4 OSC (ppm)	Croissance (%) ¹
0.10	91
0.12	80
0.23	82
0.47	58
0.71	69
0.94	63
1.20	61
2.40	47
4.70	33
7.10	13
9.40	6
12.0	8
58.8	5

¹ Croissance (%) = $\frac{\text{Concentration de la culture dans le milieu contenant le pesticide (c/ml)}}{\text{Concentration de la culture dans le milieu sans pesticide (c/ml)}}$

TABLEAU 2.5: Croissance relative de l'algue *Selenastrum capricornutum* en fonction des concentrations de matacil 1.4 OSC/paratex telle qu'illustrée à la figure 9

Concentration de matacil 1.4 OSC/paratex (ppm)	Croissance (%) ¹
0.010	93
0.045	-
0.090	88
0.180	87
0.360	78
0.540	71
0.720	64
0.900	65
1.800	38
3.600	28
5.400	14
7.200	21
9.0	26

¹ Croissance (%) = $\frac{\text{Concentration de la culture dans le milieu contenant le pesticide (c/ml)}}{\text{Concentration de la culture dans le milieu sans pesticide (c/ml)}}$

TABLEAU 2.6: Variation de la concentration létale (LC50) du fénitrothion en fonction du temps d'exposition dans un milieu de culture de *Selenastrum capricornutum* telle qu'illustrée à la figure 10

Temps (jours)	LC 50 (ppm)			
	(¹)	(²)	(³)	(⁴)
4	1.2	3.9	5.0	4.2
7	0.8	2.3	1.7	3.1
10	1.1	3.2	2.3	3.4
14	1.0	3.9	2.9	3.1

(¹) Fénitrothin (96%)

(²) Fénitrothion/paratex/cyclo-sol 63

(³) Fénitrothion/paratex

(⁴) Fénitrothion/cyclo-sol 63

TABLEAU 2.7: Variation de la concentration létale (LC50) des produits "inertes" en fonction du temps d'exposition dans un milieu de culture de *Selenastrum capricornutum* telle qu'illustrée à la figure 11

Temps (jours)	LC50 (ppm)		
	(¹)	(²)	(³)
4	2.5	3.40	1.8
7	1.7	1.90	1.1
10	2.4	3.0	1.8
14	2.4	2.9	1.8

(¹) Paratex

(²) Cyclo-sol 63

(³) Cyclo-sol 63 / paratex

TABLEAU 2.8: Variation de la concentration létale (LC50) du matacil en fonction du temps d'exposition dans un milieu de culture de *Selenastrum capricornutum* telle qu'illustrée à la figure 12

Temps (jours)	LC50 (ppm)		
	(1)	(2)	(3)
4	0.41	0.40	0.40
7	0.07	0.50	0.57
10	0.07	0.80	0.70
14	0.11	0.80	1.03

(¹) Matacil (99.3%)

(²) Matacil 1.4 OSC

(³) Matacil 1.4 OSC / Paratex

TABLEAU 2.9: Effet de la température sur la concentration létale (LC50) affectant *Daphnia magna* (fénitrothion) tel qu'illustré à la figure 13

Température (°C)	LC50 - 24 h. (ppb)	
	(1)	(2)
5	8	-
10	3	0.1
15	1	0.1
20	1	0.1

(1) Fénitrothion (96%)

(2) Fénitrothion / paratex / cyclo-sol 63

TABLEAU 2.10: Effet de la température sur la concentration létale (LC50) affectant *Daphnia magna* (matacil) tel qu'illustré à la figure 14

Température (°C)	LC50 - 24 h. (ppb)	
	(¹)	(²)
0	0.7	0.8
10	1.4	3.2
15	1.7	4.6
20	2.6	3.1

(¹) Matacil 1.4 OSC

(²) Matacil 1.4 OSC / paratex

TABLEAU 2.11: Effet de la température sur la concentration létale (LC50) affectant *chlamydomonas variabilis* (fénitrothion) tel qu'il- lustré à la figure 15

Température (°C)	LC50 - 24 h. (ppm)	
	(¹)	(²)
5	-	-
10	250	250
15	250	250
20	250	90

(¹) Fénitrothion (96%)

(²) Fénitrothion / paratex / cyclo-sol 63

TABLEAU 2.12: Effet de la température sur la concentration létale (LC50) affectant *chlamydomonas variabilis* (matacil) tel qu'illustré à la figure 16

Température (°C)	LC50 - 24 h. (ppm)	
	(1)	(2)
5	7.1	23
10	7.1	55
15	7.1	55
20	9.4	55

(1) Matacil 1.4 OSC

(2) Matacil 1.4 OSC / paratex

TABLEAU 2.13: Effet de la température sur la concentration létale (LC50) affectant *Selenastrum capricornutum* (fénitrothion) tel qu'illustré à la figure 17

Température (°C)	LC50 - 14 j. (ppm)	
	(¹)	(²)
5	2.6	0.1
10	0.6	0.7
15	4.5	2.3
20	1.0	2.9

(¹) Fénitrothion (96%)

(²) Fénitrothion / paratex / cyclo-sol 63

TABLEAU 2.14: Effet de la température sur la concentration létale (LC50) affectant *Selenastrum capricornutum* (matacil) tel qu'illustré à la figure 18.

Température (°C)	LC50 - 14 j. (ppm)	
	(1)	(2)
5	-	-
10	0.4	5.1
15	-	2.3
20	3.0	1.2

(1) Matacil 1.4 OSC

(2) Matacil 1.4 OSC / paratex

TABLEAU 2.15: Effet du pH sur la concentration létale (LC50) affectant *Daphnia magna* (matacil) tel qu'illustré à la figure 19

pH	LC50 - 24 h. (ppm)	
	(1)	(2)
5.1	-	-
6.2	2.5	4.4
7.1	5.0	7.6
7.9	6.4	6.2

(1) Matacil 1.4 OSC

(2) Matacil 1.4 OSC / paratex

TABLEAU 2.16: Effet du pH sur la concentration létale (LC50) affectant *Chlamydomonas variabilis* (fénitrothion) tel qu'illustré à la figure 20

pH	LC50 - 24 h. (ppm)	
	(1)	(2)
5.1	60	50
5.8	20	50
6.8	60	40
7.7	50	40

(1) Fénitrothion (96%)

(2) Fénitrothion / paratex / cyclo-sol 63

TABLEAU 2.17: Effet du pH sur la concentration létale (LC50) affectant *Chlamydomonas variabilis* (matacil) tel qu'illustré à la figure 21

pH	LC50 - 24 h. (ppm)	
	(¹)	(²)
5.1	6.0	5.4
5.8	6.0	5.4
6.8	6.0	5.4
7.7	3.5	1.8

(¹) Matacil 1.4 OSC

(²) Matacil 1.4 OSC / paratex

TABLEAU 2.18: Influence du phosphore sur la sensibilité de l'algue *Selenastrum capricornutum* au fénitrothion telle qu'illustrée à la figure 22

Concentration en phosphore (ppb)	Croissance (%)	
	(1)	(2)
5	42	47
15	6	3
130	79	15
186	89	51

(¹) 1 ppm de fénitrothion (96%)

(²) 5 ppm de fénitrothion / paratex / cyclo-sol 63

TABLEAU 2.19: Influence du phosphore sur la sensibilité de l'algue *Selenastrum capricornutum* au matacil telle qu'illustrée à la figure 23

Concentration en phosphore (ppb)	Croissance (%)	
	(1)	(2)
5	18	-
15	2	5
30	66	-
186	73	24

(¹) 0.5 ppm de matacil 1.4 OSC

(²) 1.8 ppm de matacil 1.4 OSC / paratex

TABLEAU 2.20: Influence de l'azote sur la sensibilité de l'algue *Selenastrum capricornutum* au fénitrothion telle qu'illustrée à la figure 24

Concentration en azote (ppm)	Croissance (%)	
	(1)	(2)
0.1	12	12
1.0	105	6
1.5	100	50
4.0	89	51

(¹) 1 ppm de fénitrothion (96%)

(²) 5 ppm de fénitrothion / paratex / cyclosol 63

TABLEAU 2.21: Influence de l'azote sur la sensibilité de l'algue *Selenastrum capricornutum* au matacil telle qu'illustrée à la figure 25

Concentration en azote (ppm)	Croissance (%)	
	(1)	(2)
0.1	52	10
1.0	89	85
1.5	100	100
4.0	73	24

(¹) 0.5 ppm de matacil 1.4 OSC

(²) 1.8 ppm de matacil 1.4 OSC / paratex