Université du Québec

Mémoire présenté à
l'Institut national de la recherche scientifique
(INRS-Eau)

comme exigence partielle
de la
maîtrise ès Sciences de l'Eau

par

Martine Lafond
B.Sc. Biologie

Etude du potentiel toxique et génotoxique d'un microcosme agricole: sol, eau de ruissellement, fraction S9 de plants de maïs, après épandage de lisier de porc et d'herbicide atrazine en condition de ruissellement

janvier 1992

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier très sincèrement monsieur Denis Couillard, mon directeur de thèse, pour ses précieux conseils, son encouragement et sa grande disponibilité depuis le tout début de l'élaboration de ce projet. Mes remerciements vont également à monsieur Pierre Couture, mon co-directeur, pour ses recommandations et suggestions éclairées en tout temps et son examen critique lors de la correction du mémoire, également à monsieur Georges Costan, d'Environnement Canada pour son esprit critique.

Je suis très reconnaissante et je remercie chaleureusement ma grande copine Marie-Emmanuelle Cantin de m'avoir prodigué à maintes reprises son aide amicale, ses conseils attentifs en informatique et sa constante disponibilité.

Je désire également remercier le personnel des quatre laboratoires où j'ai travaillé de façon ponctuelle, pour leur collaboration et leur travail minitieux. Je m'adresse aux laboratoires de l'INRS-Eau, du MENVIQ, d'Ecorecherche à Pointe-Claire, ainsi que du Capitaine Bernier à Longueuil.

Finalement, à celle qui accomplit son travail avec patience, sérieux et habileté, madame Suzanne Dussault, je lui redis toute ma reconnaissance pour avoir contribué à la présentation finale de ce mémoire.

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION 3

1.1 Problématique 3
1.2 Objectifs 6

2. REVUE DE LITTERATURE 11

2.1 Présence de l'atrazine dans l'environnement aquatique 11
2.2 Toxicité de l'atrazine 13
2.3 Toxicité de l'atrazine et de ses produits de dégradation 16
2.4 Transformation des herbicides dans le sol 18
2.5 Interaction pesticide - matière organique 21
2.6 Génotoxicité 22

2.6.1 Investigations de la génotoxicité de l'atrazine pure 23
2.6.2 Investigations de la génotoxicité de produits de dégradation chez la plante 24

2.7 Investigation de la génotoxicité après effet métabolique 24

2.7.1 Approche A 24
2.7.2 Approche B 25

2.8 Les systèmes de métabolisation des substances xénobiotiques chez les plantes 26

2.8.1 Métabolisme oxydatif 27
2.8.2 Réduction, hydrolyse, conjugaison 27

2.9 Métabolisme de l'atrazine 28

3. MATERIEL ET METHODES 31

3.1 Evaluation de la toxicité 31

3.1.1 Simulation de pluies et prélèvements d'échantillons 31
3.1.2 Préparation des échantillons pour les tests et analyses 35
3.1.2.1 Echantillons d'eau de ruissellement 35
3.1.2.2 Echantillons de sol 35
3.1.2.3 Lixiviation des sols 36

3.1.3 Méthodes d'analyse des échantillons 38
3.1.3.1 Dosage de l'atrazine 38
3.1.3.2 Carbone organique dissous 39
3.1.3.3 Azote, carbone et soufre dans les sols 39
3.1.3.4 Détermination du pH 39
3.1.3.5 Dosage de l'azote et du phosphore 39

3.1.4 Potentiel de fertilité 40
3.1.5 Test de toxicité avec bactéries (Microtox) 43

3.2 Evaluation de la génotoxicité 43

3.2.1 Croissance des plantes 43
3.2.2 Extraction des plants de maïs 45
3.2.3 Préparation des fractions S9 de plantes ou extraits 45
3.2.4 Préparation de la fraction S1 de plantes ou extrait 45
3.2.5 Dosage des protéines 45
3.2.6 Test du dépistage génotoxique par le S.O.S. Chromotest 46
3.2.7 Préparation des échantillons et des microplaques 47
3.2.8 Disposition des échantillons dans la microplaque 48
3.2.9 Calcul et expression des résultats (méthode en microplaque) 51
3.2.9.1 Correction de la toxicité 51
3.2.9.2 Correction reliée à l'activité de la phosphate alcaline 52
3.2.9.3 Facteur d'inhibition 53
3.2.9.4 Expression de l'activité génotoxique 53

3.2.10 Préparation des échantillons par la méthode Quillardet et Hofnung 54
3.2.11 Test pour β-galactosidase 54
3.2.12 Test pour l'alcaline phosphatase 55
3.2.13 Calcul et expression des résultats de la méthode Quillardet et Hofnung 55
3.2.14 Composition du mélange d'activation 56
3.2.15 Extraction et concentration des liquides 57
3.2.16 Extraction et concentration des composés organiques de sols 58

4. RÉSULTATS ET DISCUSSION

4.1 Effets de l'atrazine et/ou du lisier de porc sur les eaux de ruissellement et sur les sols 63

4.1.1 Influence sur la composition de l'eau de ruissellement 63
4.1.2 Toxicité des eaux de ruissellement obtenue au moyen d'un bio-essai avec l'algue *Selenastrum capricornutum* 67

4.1.3 Toxicité des eaux de ruissellement par la méthode avec la bactérie bioluminescente *Photobacterium phosphorum* 77
4.1.4 Effets auxiniques et toxiques de lixiviats de sol 77

4.1.4.1 Migration de l'atrazine et prélèvement d'échantillons 77
4.1.4.2 Variation des échantillons dans le temps 78
4.1.4.3 Potentiel de fertilité 87
4.1.4.4 Mesures de toxicité avec la bactérie *Photobacterium phosphoreum* 99

5. GENOTOXICITE DE L'ATRAZINE 103

5.1 Génotoxicité de l'atrazine sans activation in vitro 103

5.1.1 Potentiel génotoxique de la fraction S1 106
5.1.2 Potentiel génotoxique de la fraction S9 107

5.2 Génotoxicité de l'atrazine après activation in vitro par un système S9 de plantes de maïs 114

5.2.1 Concentration de S9 testée 115
5.2.2 Choix du contrôle positif 115
5.2.3 Induction de l'atrazine 116

5.3 Génotoxicité de l'eau de ruissellement 119

5.3.1 Echantillons d'eau de ruissellement brute 119
5.3.2 Echantillons d'eau de ruissellement concentrée 120

5.4 Génotoxicité des sols 120

5.4.1 Résultats d'extraction par la méthode Soxhlet 120
5.4.2 Résultats d'extraction par la méthode Xu Dutka 120

6. SOMMAIRE ET CONCLUSION 125

7. REFERENCES 129

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 3.1	Eaux de ruissellement et échantillons de sol	32
Tableau 3.2	Caractéristiques du lisier de porcs	33
Tableau 3.3	Caractéristiques du sol	33
Tableau 3.4	Composition des milieux de dilution +N+P et -N-P	37
Tableau 3.5	Composition du milieu de culture algale	42
Tableau 3.6	Disposition des échantillons dans les microplaques	49
Tableau 4.1	Dosage d'atrazine µg/mL et de carbone organique dissous échantillons d'eau de ruissellement	64
Tableau 4.2	Moyennes des biomasses algales (Bx) des échantillons d'eau de ruissellement (mg/L)	68
Tableau 4.3	Evolution des éléments nutritifs dans les échantillons d'eau de ruissellement avec ajout de N et P, mars, pluie de 22mm/h	71
Tableau 4.3	Evolution des éléments nutritifs dans les lixiviats de sol avec ajout de N et P, juillet, pluie de 11mm/h (suite)	72
Tableau 4.3	Evolution des éléments nutritifs dans les lixiviats de sol avec ajout de N et P, novembre, pluie de 11mm/h (suite)	73
Tableau 4.4	Evolution des éléments nutritifs dans les échantillons d'eau de ruissellement sans ajout de N et P, mars, pluie de 22 mm/h	81
Tableau 4.4	Evolution des éléments nutritifs dans les lixiviats de sol sans ajout de N et P, mars, pluie de 11mm/h (suite)	82
Tableau 4.4	Evolution des éléments nutritifs dans les lixiviats de sol sans ajout de N et P, juillet, pluie de 11 mm/h (suite)	83
Tableau 4.4	Evolution des éléments nutritifs dans les lixiviats de sol sans ajout de N et P, novembre, pluie de 11 mm/h (suite)	84
Tableau 4.5	Dosage de l'herbicide Atrazine dans les 10 premiers cm de sol (mg/L) en mars, juillet, novembre	85
Tableau 4.6	Calcul des concentrations moyennes d'azote (N), de carbone (C) et de soufre (S) en pourcentage sur des échantillons de sol prélevés sur une profondeur de 10 cm après ruissellement	86

Tableau 4.7 Biomasses algales mesurées (échantillons sol) / Biomasse contrôle (milieu AAP + algues) en juillet et novembre 93

Tableau 4.8 Mesure de toxicité des lixiviats de juillet au moyen du Microtox 100

Tableau 5.1 Evaluation comparative de l'activité génotoxique des surnageants fraction S1 de plant de maïs (St-Lambert) dans un sol contenant de l'atrazine 104

Tableau 5.2 Evaluation comparative des facteurs d'induction de la fraction S9 de plants de maïs (Méthode Quillardet et Hofnung) 105

Tableau 5.3 Evaluation de l'induction du promutagène *atrazine* en présence de fraction S9 de plant de maïs 117

LISTE DES FIGURES

Figure 3.1 Procédure d'extraction et de concentration des échantillons liquides 60

Figure 4.1 Biomasses mesurées / Biomasse contrôle des eaux de ruissellement 70

Figure 4.2 Biomasses mesurées / Biomasse contrôle des eaux de ruissellement 74

Figure 4.3 Biomasses algales mesurées (mg/L) des lixiviats de sol (mars) 88

Figure 4.4 Biomasses mesurées / Biomasse contrôle des lixiviats de sol (juillet) 98

Figure 4.5 Biomasses mesurées / Biomasse contrôle des lixiviats de sol (novembre) 97

RESUME

L'impact toxique et génotoxique sur l'environnement et la santé publique de l'épandage de lisier de porc et de l'herbicide atrazine n'est que très peu connu. La présence du lisier à la surface du sol a pour effet de modifier les conditions de ruissellement pour ainsi engendrer des conditions plus propices à la pollution des eaux. Elle influence également les caractéristiques physiques, chimiques et biologiques du sol qui, à leur tour, affectent le taux de dégradation des pesticides. L'atrazine, herbicide de base dans la production du maïs est toxique envers certains organismes photosynthétiques et serait une substance promutagène biotransformée par les tissus du maïs en produits secondaires mutagènes.

L'étude temporelle du potentiel toxique et génotoxique du fertilisant lisier de porc et de l'herbicide atrazine (formulation commerciale) a été réalisée en 2 parties à l'aide de trois bioessais: le microtox, le potentiel de fertilité avec l'algue *Selenastrum capricornutum* et le SOS Chromotest, à l'intérieur d'un microcosme agricole du type sols-eaux-plants de maïs. Dans la première partie, une incubation sur une période de 7 mois de sols agricoles a été effectuée en laboratoire, après application de lisier au taux de 150 kg N/ha selon 2 modes (surface, enfoui), et d'atrazine aux taux de 2 et 4 kg/ha; les processus impliqués dans la dissipation (adsorption, dégradation, écoulement) du lisier et de l'atrazine affectant le potentiel toxique et génotoxique de l'eau de ruissellement et du sol sont étudiés en simulant des pluies provoquant le ruissellement.

La présence de lisier et d'atrazine en surface a modifié les conditions d'écoulement et a occasionné davantage de pertes d'atrazine par rapport au sol traité seulement à l'atrazine ou au sol traité au lisier enfoui et atrazine lorsque la pluie de plus faible intensité, 11 mm/h durant 142 minutes a été simulée, comparativement à la pluie de 22 mm/h durant 90 minutes. Des trois bioessais ayant servi à mesurer le potentiel toxique et génotoxique des eaux de ruissellement et de lixiviats de sol, seul le bioessai mesurant le potentiel de fertilité a fourni des réponses positives.

Une semaine après épandage, la pluie de 22 mm/h sur les mini-parcelles a occasionné, à la dilution 10X, sur les eaux de ruissellement filtrées (traitement 2 et 4 kg/ha d'atrazine), une toxicité significativement différente du témoin (non traité). Des baisses de 34.5 et 30.5% des rapports biomasse mesurée/biomasse contrôlée (Bx/Bt) ont été mesurées. Des baisses de rapport Bx/Bt de 10 et 56% ont été enregistrées pour l'eau des traitements lisier et atrazine 2 et 4 Kg/ha, comparativement au témoin (lisier), malgré une plus grande concentration d'atrazine dans l'eau non filtrée pour ces traitements. Après le délai d'une semaine entre l'épandage et la simulation d'une pluie de 11 mm/h sur les mini-parcelles, l'atrazine et le lisier résiduels, de même que leurs produits de dégradation dans les lixiviats de sol filtrés, non-dilués, ont occasionné, au début de la période d'incubation, une toxicité algale s'exprimant par de fortes diminutions de biomasses de 43 et 100% (traitements à l'atrazine) et de 64 et 100% (traitements lisier et atrazine 2 et 4 kg/ha).

Après 3 mois d'incubation, une baisse de concentration de 30% en atrazine survient dans les carottes de sol de presque tous les traitements et parallèlement à cette baisse, on note à la fois l'absence et la présence de toxicité algale dans les lixiviats non dilués par une diminution des rapports Bx/Bt de 0% et 65% (traitement 2 kg/ha d'atrazine), de 25 et 65% (traitement 4 kg/ha d'atrazine), alors que l'on ne note aucune baisse, (traitement lisier et 2 kg/ha d'atrazine) du rapport Bx/Bt et une hausse de biomasse pour le traitement lisier et 4 kg/ha d'atrazine.

Après 7 mois d'incubation, une dégradation presque totale de l'atrazine est notée et ses produits de dégradation au sol n'entraînent aucune toxicité ou baisse de croissance algale pour les lixiviats de chaque traitement.

La matière organique lisier a eu pour effet dans certains échantillons d'adsorber l'atrazine et de la rendre moins biodisponible et toxique aux algues et l'effet toxique de l'atrazine après dilution a été remplacé par un effet auxénique sur la croissance algale dans l'eau de ruissellement. Les pertes considérables de lisier avec l'atrazine par ruissellement ont rendu difficile l'observation d'un effet de stimulation de la dégradation de l'atrazine au sol par le lisier.

Dans la deuxième partie, le potentiel génotoxique des fractions S1 et S9 de plants de maïs soumis en champ, à des doses de lisier et d'atrazine équivalentes aux essais de laboratoire pendant une saison de croissance a été testé pour la première fois à l'aide du S.O.S. Chromotest afin d'étudier si les métabolites formés "in vivo" dans les plants de maïs sont génotoxiques. Tous les extraits ou fractions S1 et S9 de maïs ont été génotoxiques, y compris les témoins (non traités), fournissant l'indication que des substances naturellement présentes chez le maïs sont responsables d'une partie de la génotoxicité mesurée. Cependant, une génotoxicité plus marquée des extraits de plants traités par rapport aux plants non traités corrobore les résultats de Plewa & Gentile, stipulant l'influence du métabolisme des plantes sur la génotoxicité de l'atrazine.

Des facteurs d'induction significativement différents des témoins ont été mesurés avec certains des extraits ayant activé le contrôle positif 4-nitro-o-phenylenediamire (NOP), lors des essais d'activation "in vitro" de l'atrazine commerciale par le système S9 de plants de maïs. Ces résultats indiquent que l'atrazine commerciale est biotransformée en substances secondaires génotoxiques par les enzymes contenus dans la fraction S9. Ce système d'activation de plantes était utilisé pour la première fois avec le SOS Chromotest.

CHAPITRE 1

Introduction

1 INTRODUCTION

1.1 Problématique

L'épandage du fertilisant *lisier de porc* et l'application subséquente de l'herbicide *atrazine* sont pratiques courantes en agriculture pour augmenter la production agricole de diverses cultures et permettre de diminuer les coûts de production. Les impacts toxique et génotoxique sur l'environnement et la santé publique de l'application de ces deux substances ne sont que très peu connus.

Plusieurs millions de mètres cube (5.9) de lisier sont générés annuellement par la production porcine québécoise, particulièrement dans les bassins versants des rivières l'Assomption, Chaudière et Yamaska (Thériault, 1983). Pour permettre la disposition des grandes quantités de lisier produites et recycler à des fins de fertilisation les éléments nutritifs contenus dans celui-ci, on a recourt à l'épandage de cet engrais à la surface des champs, et cela pendant la courte période printanière propice à sa disposition. Les champs reçoivent par ce mode de fertilisation les éléments nutritifs azote et phosphore requis pour la production des plantes.

L'atrazine (2-chloro-4-(ethylamino)-6-(isopropylamino-s-triazine)) du groupe des s-triazines est l'herbicide de base dans la production du maïs. On l'utilise comme herbicide sélectif en pré et post-levée. Son action contrôle les mauvaises herbes en inhibant la photosynthèse par blocage du transport des électrons entre les photosystèmes I et II (Kettle *et al.,* 1987; Hersh et Crumpton, 1989). Le maïs résiste à cette action en dégradant rapidement l'atrazine en produits secondaires relativement inactifs envers la plante mais pouvant présenter un risque pour l'homme ou l'animal par leurs potentiels mutagéniques (Butler et Hoagland,1989; Means *et al.*,1988).

Bien des auteurs ont étudié le potentiel mutagène de l'atrazine. Tous les résultats ont été négatifs (Butler et Hoagland, 1989). Quant à la mutagénicité possible des produits issus de la métabolisation de l'atrazine dans les plantes, elle a été révisée par (Plewa et Gentile, 1976;1982;1984; Gentile et Plewa 1982; Means *et al.*, 1988). Les auteurs rapportent que les plants de maïs par leur activité de biotransformation

agissent comme activateurs métaboliques de l'atrazine. Cette dernière serait une substance promutagène activée par les tissus du maïs en produits mutagènes.

Le lisier ou l'atrazine quittent généralement leur site d'application par la voie du ruissellement et sur les sédiments transportés par l'eau. La quantité appliquée de chacun de ces éléments qui se perd de cette manière a été étudiée séparément (Gangbazo *et al.*,1988: lisier; Rao *et al.*,1983: atrazine). Elle dépend de l'intensité et de la durée de l'événement de pluie, ainsi que du délai entre l'application de lisier ou d'atrazine et de l'événement pluvieux. La quantité de fertilisant ou d'herbicide disponible dans la zone d'application est déterminée par l'étendue des processus de dissipation qui surviennent entre l'application de lisier ou d'atrazine, et l'avènement d'une pluie de ruissellement.

Les processus impliqués dans la dissipation de l'atrazine sont 1) la rétention (adsorption-désorption), 2) la transformation (dégradation chimique et microbienne), 3) le transport par percolation et diffusion , 4) l'écoulement en surface et 5) la volatilisation (Wagenet et Hutson, 1990; Greenland et Hayes, 1981; Schiavon, 1988). Les plantes en croissant, affectent aussi la quantité de fertilisant et d'atrazine disponibles. (Lupi, 1989; Weber, 1970; Walker, 1972).

La présence du lisier à la surface du sol modifie considérablement les conditions de ruissellement et constitue un danger pour les eaux de surface et souterraine (Gangbazo *et al.*,1988). D'autre part, l'épandage du lisier influence également un certain nombre d'autres facteurs comme l'activité, la diversité microbiologique et les caractéristiques physiques, chimiques et biologiques du sol. Parce que les caractéristiques du sol telles le contenu en matière organique et le pH affectent le taux de dégradation des pesticides (Anderson, 1981; Somasundaran *et al.*, 1987), l'application de lisier peut altérer le taux et le mécanisme de dégradation des pesticides.

Les processus environnementaux tels le transport, le devenir, la toxicité du lisier ou de l'atrazine ont été étudiés individuellement. Quelques auteurs (Koeppe et Lichtenstein, 1984; Somasundaran *et al.*, 1987; Lichtenstein et al., 1982) se sont intéressés aux

effets de l'addition de fertilisants organiques fumiers de vache, boues, sur le devenir métabolique et le comportement de plusieurs pesticides, y compris l'atrazine (Doyle *et al.*, 1978) dans les sols agricoles. Ils ont observé des taux de dégradation accrus de pesticides dans les sols amendés avec du fumier de vache, et des boues, pour un certain nombre de pesticides. Doyle *et al.*, (1978) ont démontré que la présence de fumier de vache peut stimuler la dégradation de l'atrazine.

Stratton (1984) s'est intéressé à étudier la toxicité de l'atrazine et de ses principaux produits de dégradation. L'hydroxyatrazine et le diaminoatrazine se sont avérés non toxiques envers des cultures d'algues, alors que l'atrazine dééthylée et déisopropylée présentaient une toxicité, bien que plus faible que le produit mère. Stratton a aussi enregistré des réponses interactives antagonistes et synergiques lorsque l'atrazine se trouvait en présence de chacun de ses sous-produits déalkylés (dééthyl-déisopropyl atrazine).

Peu d'études ont mesuré le danger environnemental et l'effet néfaste que peuvent présenter les taux et le mode d'application de lisier de porc conjointement à l'atrazine, en condition de ruissellement, à l'égard d'organismes cibles et non cibles, de même que le danger pour l'homme et l'animal, associé à la consommation de plantes et à la biotransformation de ces substances par le métabolisme de plantes non-cibles comme le maïs.

Comme les systèmes enzymatiques animaux, les systèmes de plantes peuvent activer des substances initialement sans danger en mutagènes et il convient d'utiliser ces systèmes afin de détecter les substances promutagènes, c'est-à-dire celles qui nécessitent une transformation métabolique afin de présenter un potentiel mutagène ou génotoxique.

Plusieurs systèmes peuvent permettre de détecter ces agents; deux de ces systèmes: un système d'activation *in vivo* et un autre *in vitro* ont été utilisés dans cette étude aux fins de déterminer le potentiel génotoxique de l'atrazine et du lisier.

1.2 Objectifs

Cette étude est divisée en 2 parties. La première a été réalisée en laboratoire sur des mini-parcelles de sol, tandis que l'autre partie s'est déroulée sur des parcelles en champs.

Dans la première partie, on a sélectionné trois bioessais afin d'évaluer les potentiels toxique et génotoxique a) de lixiviatls de sol et d'eaux de ruissellement, après un délai d'une semaine entre l'application de doses communément employées de lisier de porc et d'atrazine, dans des bacs de sol, et la simulation d'une pluie pour obtenir le ruissellement b) de lixiviats de sol après des périodes d'incubation de 3 et 7 mois. Cette étape a permis de vérifier si les processus de dissipation du lisier et de l'atrazine modifient le potentiel toxique et génotoxique de l'eau de ruissellement et du sol agricole sur une profondeur de 10 cm. Les trois bioessais appliqués sont:

- le test algal mesurant le potentiel de fertilité chez l'algue *Selenastrum capricornutum*, autotrophe très sensible à la présence de faibles concentrations d'atrazine;

- le test de toxicité mesurant l'inhibition de l'émission lumineuse chez la bactérie luminescente *Photobacterium phosphoreum,* organisme moins sensible à la présence d'atrazine;

- le SOS Chromotest, mesurant la génotoxicité par l'apparition de coloration suite à une altération de l'ADN chez une bactérie *Escherichia coli* modifiée génétiquement.

Dans la deuxième partie, on a évalué l'effet de la prise en charge de lisier et d'atrazine sur le potentiel génétoxique de plants de maïs. Les objectifs ont été de:

- mesurer directement la génotoxicité, à l'aide du SOS Chromotest sans activation métabolique *in vitro*, de 2 fractions de maïs, les fractions S1 et S9, extraites à partir de plants ayant poussé en plein champ durant une saison de croissance

et ayant été soumis aux mêmes doses d'application de lisier et d'atrazine que pour les bacs de sols. Les fractions recueillies discréminent entre les métabolites formés *in vivo* dans le plants de maïs et permettent de voir l'effet du métabolisme des plants de maïs sur la génotoxicité de l'herbicide;

- mesurer la génotoxicité de l'atrazine commerciale après activation métabolique par l'utilisation d'un système *in vitro*, où une fraction S9 de maïs fournissant les enzymes métaboliques nécessaires à l'activation ou l'interaction avec l'atrazine, est ajoutée en même temps que le produit à tester (atrazine commerciale) et le bio-indicateur bactérien *E.coli* PQ37 employé pour le SOS Chromotest.

C'est la première fois que la génotoxicité de fractions S1 et S9 de maïs est évaluée directement au moyen du SOS Chromotest.

C'est également la première fois que le SOS Chromotest avec ajout de S9 de plantes sert à simuler l'activation métabolique de plantes, et que l'atrazine est activée par ce système.

CHAPITRE 2

Revue de littérature

2 REVUE DE LITTERATURE

2.1 Présence de l'atrazine dans l'environnement aquatique

Les problèmes de pollution causés par le ruissellement des herbicides sur les terres agricoles ont fait l'objet de nombreuses investigations. Différentes approches utilisant des parcelles expérimentales, des modèles de simulation, des systèmes sol-eau de laboratoire et des bassins versants expérimentaux ont permis de développer des modèles mathématiques pouvant prédire le ruissellement d'herbicides.

Wu *et al.* (1983) travaillant sur le ruissellement d'atrazine à partir de bassins versants, rapporte que les concentrations d'atrazine dans l'eau de ruissellement sont maximales l'hiver et au printemps, et que les concentrations retrouvées varient de 0 à 40 μg/L. Durant 3 années d'expérimentation, un maximum de 10 μg/L d'atrazine était déchargé dans les eaux de ruissellement d'hiver: les concentrations maximales étant observées durant les mois de pulvérisation. Les niveaux d'herbicides dans les eaux de ruissellement de larges bassins versants dont l'utilisation du terrain est hétérogène sont beaucoup plus faibles que ceux rapportés pour des parcelles expérimentales de surfaces plus réduites, mettant en évidence le pouvoir de transformation et de dégradation, ainsi que les capacités auto-épurantes des bassins.

Durant la saison estivale, le bassin versant sert de réservoir et l'herbicide s'accumule près des canaux de drainage, ce qui occasionne, lors de pluies d'hiver, de hauts niveaux de concentration. Les conditions de sol sec, durant la saison de pulvérisation, diminuent grandement le ruissellement d'atrazine dont les concentrations sont liées au taux d'écoulement: incidemment peu d'écoulement souterrain se manifeste alors; durant les années pluvieuses, la décharge se fait au moment ou immédiatement après la pulvérisation. Les processus de transport sur les bassins versants sont la percolation en écoulement souterrain et la dissolution en écoulement de surface particulièrement lors de pluies d'averse.

Dans une étude sur les concentrations de triazines, dont l'atrazine, atteignant l'embouchure de rivières entrant dans les Grands Lacs, aucun résidu n'était contenu

dans les solides en suspension, ce qui indiquait que l'atrazine était dissoute dans l'eau ou dégradée plutôt qu'attachée aux solides en suspension transportés (Frank *et al.*, 1979). Des 92 rivières échantillonnées, 77% contenaient de l'atrazine, 52% du desethylatrazine (DEA) et 28% du simazine; leurs concentrations moyennes étaient de 1.6, 0.3 et 0.2 ug/L respectivement. Le rapport triazine/DEA variait entre 10:1 dans l'eau entrant dans le lac Ontario et 2.5:1 pour l'eau entrant dans le lac Huron. Les critères de qualité de l'eau pour un composé organique comme l'atrazine avait été fixé à 630 μg/L pour l'espèce locale *Salmo gairdneri* (LC_{50} = 12.6 mg/L) et à 200 μg/L pour l'espèce d'arthropode *Daphnia magna* plus sensible (LC_{50} = 3.6 mg/L, 48 heures) par l'International Joint Commission (Frank *et al.*, 1979).

Dans une autre étude menée par Roberts *et al.*, (1979), examinant le mouvement des triazines dans un bassin versant du sud-ouest ontarien, les échantillons d'eau ramassés dans 6 endroits sur la rivière Hillman ont démontré qu'en mai, la concentration de résidus d'atrazine se situait entre <0.1 et 1.3 μg/L, alors qu'en juin, et juillet, les concentrations s'élevaient considérablement pour atteindre jusqu'à 34.5 μg/L. En juin, la concentration à l'embouchure était basse alors qu'elle était élevée en amont. En juillet, la concentration à l'embouchure s'élevait mais à un degré moindre qu'en amont. En août, la concentration d'atrazine diminuait dans tout le bassin versant, pour finalement atteindre les niveaux de mai, en septembre et octobre. De novembre à février, les niveaux étaient maintenus très bas. Le DEA excédait rarement 1.0 μg/L et était associé avec les hauts niveaux d'atrazine.

Les concentrations d'atrazine et d'un sous-produit de dégradation, l'atrazine N dééthylée (DEA), ont été mesurées dans 5 rivières drainant la région agricole de Yamaska au Québec (Muir *et al.*, 1978). Leurs concentrations s'étendaient entre .01 et 26.9 μg/L et entre <.01 et 1.34 μg/L d'avril à décembre respectivement. Les niveaux les plus forts d'atrazine ont été observés en juillet, chaque année, coïncidant avec la saison de pulvérisation et les événements pluvieux fréquents et importants. Les concentrations en DEA étaient de 10 à 50% celles de l'atrazine.

Plusieurs auteurs (White *et al.*, 1967; Hall, 1974) ont noté que les pertes d'atrazine par ruissellement pour des bassins versants expérimentaux étaient plus importantes lorsque le ruissellement survenait tôt après l'application d'atrazine.

Les données sur les résidus d'atrazine indiquent que seulement une faible fraction des triazines appliquées se retrouve en rivière. Muir *et al.* (1978) ont estimé les pertes d'atrazine entre 0.1 et 2.9% de l'atrazine estimée avoir été appliquée sur les bassins versants. Wauchope (1978) conclut que, dans la plupart des cas, les pertes totales d'herbicides faiblement absorbés sont généralement inférieures à 0.5% de la quantité appliquée et que les pertes de pesticide après un événement de pluie décroissent d'une façon exponentielle avec le temps, après l'application du pesticide. Des pertes jusqu'à 10% de la quantité appliquée ont cependant été rapportées durant les événements de pluie catastrophique survenant tôt après l'application de pesticide, cela principalement quand le pesticide appliqué est disponible dans la zone mixte située entre environ 0 et 1 cm de profondeur (Rao *et al.*, 1983).

Dans les régions agricoles au nord, une portion majeure des pertes d'atrazine survient en avril et il n'est pas bien démontré que ce soit lié au dégel hivernal où il se produit une inondation des terres cultivées par blocage des fossés par la glace (Muir *et al.*, 1978).

2.2 Toxicité de l'atrazine

Bon nombre d'études se sont penchées sur les effets toxiques de l'herbicide atrazine envers des organismes cibles (mauvaises herbes) et non cibles. En raison du pouvoir inhibiteur très efficace de l'atrazine sur la photosynthèse, bien des organismes autotrophes, dont une large variété de plantes et plusieurs espèces d'algues, sont affectées par cet inhibiteur. L'effet algicide de l'atrazine sur les organismes autotrophes testés se traduit par une gamme de réponses variant largement suivant l'espèce mise en présence (Veber *et al.*, 1981; Stratton, 1984; Virmani *et al.*, 1975). Plusieurs tests de laboratoire ont mesuré les effets directs et les réponses à court terme des algues.

En conditions de laboratoire, Veber *et al.* (1981) observe que des concentrations de l'ordre de 0.25 et 0.5 mg/L, après avoir exercé un effet inhibiteur de croissance chez l'algue *Chlorella vulgaris*, permettent à celle-ci de restaurer sa croissance après quelques jours d'exposition, tandis que des niveaux de concentration plus importants

de 2.5 mg/L ne permettent pas cette réversibilité. Aucune croissance n'est rapportée avec 5 mg/L d'atrazine. D'autres expériences en laboratoire ont fait voir que des concentrations aussi faibles que 1 µg/L peuvent réduire la photosynthèse et la croissance de certaines espèces d'algues (Butler *et al.*, 1975; Larsen *et al.*, 1986; Stratton, 1984).

Des algues vertes isolées de systèmes lotiques naturels contaminés et de systèmes non contaminés puis soumises, en laboratoire, à des concentrations de 0 à 300 µg/L ont démontré une tolérance qui variait selon l'espèce. Pour les algues issues du milieu contaminé, Hersh et Crumpton, (1989) note la présence de génotypes susceptibles pour lesquels les concentrations effectives inhibant 50% de la photosynthèse (EC_{50}, 5 minutes) se situent entre 42 et 125 µg/L comparativement à des EC_{50} allant de 35 - 162 pour les algues du milieu non contaminé, tandis que des isolats résistants présentent des EC_{50} entre 430 et 774 µg/L.

La recherche concernant l'effet des herbicides sur les algues isolées est étendue (Butler, 1977). Quelques études, faisant intervenir non plus une seule espèce sélectionnée mais un microcosme, ont examiné les impacts de la présence d'atrazine sur la productivité et/ou la composition en espèce au niveau de la communauté.

De Noyelles *et al.* (1982) ont mesuré, dans une étude en étangs expérimentaux, non seulement les réponses directement induites par l'atrazine mais également les effets secondaires résultant d'interactions entre les organismes. Se faisant, ils ont inclus les interactions naturelles de compétition et de prédation qui peuvent affecter les réponses d'une communauté planctonique suite à l'exposition toxique. Ils démontrent que des concentrations d'atrazine de 20 ug/L ou 0.02 mg/kg et de 500 µg/L ou 0.5 mg/kg font baisser la croissance phytoplanctonique en peu de jours, et que, des changements successionnels conduisant à l'établissement d'espèces plus résistantes surviennent. Le moment et le degré d'apparition des espèces résistantes dans la communauté planctonique diffère avec le traitement. Aux concentrations de 500 µg/L, il y avait une plus grande biomasse et une plus grande persistance d'espèces résistantes. Ils signalent que le broutage du zooplancton, à

cette concentration, influence ces différences et que le zooplancton est en retour affecté par les espèces résistantes.

Kosinski et Merkle (1984) ont noté en canaux artificiels une inhibition significative de la productivité du périphyton (populations de microorganismes attachées responsables d'une importante photosynthèse en milieu lotique), pour des concentrations de 1.0 à 10.0 mg/kg d'atrazine, ainsi qu'une réduction de biomasse et des changements dans la composition du péryphyton.

Brockway *et al.* (1984) ont évalué la résilience et l'acclimatation de petits microcosmes de laboratoire après augmentation de la concentration d'atrazine et enlèvement de celle-ci. Ces auteurs montrent qu'un traitement de 5 µg/L et de 0.5 µg/L pendant 4 semaines n'a pas donné de résultats différents de ceux du témoin par une marge plus grande que la variation naturelle de 20%, alors qu'un traitement de 50 µg/L a provoqué 30% d'inhibition dans la production d'oxygène. Ces résultats ont aussi indiqué qu'une exposition préalable à l'atrazine n'a pas eu d'impact sur les réponses subséquentes (pas d'acclimatation). Quant à la résilience, elle est immédiate et totale. Après enlèvement d'atrazine, les niveaux d'oxygène produits rejoignent ceux des témoins lorsqu'il n'y a pas eu de dommages permaments causés aux organismes ou décroissance de la population. Aucune résistance ni succession d'espèces n'a été démontré dans cette étude.

Stay *et al.* (1989) font part des effets de l'atrazine sur quatre microcosmes développés à partir de quatre communautés différentes de plancton (Leffler microcosme). La production primaire nette, le rapport de productivité nette/respiration nocturne et le pH ont été les variables les plus sensibles à l'addition d'atrazine. Dans trois des quatre communautés, le plus petit effet de concentration LOEC (lowest observable effect concentration) a été de 100 µg/L. Dans la 4e communauté, le LOEC a été de 200 µg/L. La sensibilité et la justesse de leurs bio-essais ont été évalués en comparant leurs résultats à ceux des bio-essais aigus et chroniques à une espèce d'une part, et à ceux d'étangs expérimentaux exposés à des concentrations similaires d'atrazine, d'autre part. L'étendue de sensibilité notée dans l'expérience de Stay s'est avérée moindre (moins variable) que celle rapportée

par les bio-essais à une espèce utilisant des organismes communs, et semblable à celle rapportée par d'autres microcosmes (étangs expérimentaux).

Les valeurs de EC_{50} rapportées pour les tests aigus d'algues se situent entre 19 µg/L pour *Chlamydomonas reinhardi* et 325 µg/L pour *Chlorella vulgaris*. Pour les tests chroniques, elles se situent entre 120 µg/L pour *Salvelinus fontinalis* et 520 ug/L pour *Pimephales promelas*. Dans tous les microcosmes étudiés, l'activité autotrophe a été réduite lorsque le degré d'exposition a été supérieur à 50 µg/L.

Dans les systèmes aquatiques, l'atrazine ne s'accumule pas dans les niveaux tropiques supérieurs et exerce une action directe relativement peu toxique envers les invertébrés et les poissons (Hersh et Crumpton, 1989). Bien que la toxicité directe envers les animaux est minimale, des effets indirects sur ceux-ci ont été notés sur le zooplancton (De Noyelles *et al.*,1982). Kettle *et al.* (1987) ont démontré que l'atrazine, à la concentration de 20 µg/L, peut indirectement affecter significativement la diète et le succès reproducteur du poisson *Lepomis macrochirus*.

2.3 Toxicité de l'atrazine et de ses produits de dégradation.

L'atrazine se dégrade en sous-produits qui seuls ou en présence simultanée peuvent interagir et altérer la toxicité du mélange. Les effets toxiques de l'atrazine et de quelques-uns de ses produits de dégradation ont été déterminés sur la croissance, la photosynthèse et la capacité à réduire l'acétylène chez 2 espèces d'algues vertes et 3 espèces d'algues bleu vert, les cyanobactéries. Stratton (1984) a démontré que l'atrazine exerce une activité significativement plus inhibitrice sur la photosynthèse que ses produits de dégradation peuvent le faire, en étant 7 à 10 fois plus inhibitrice que le plus efficace produit de dégradation envers les cyanobactéries, et 4 à 6 fois plus inhibitrice envers les algues vertes. Le produit de dégradation le plus toxique est l'atrazine dééthylée, laquelle est 2 à 7 fois plus toxique que l'atrazine déisopropylée. L'hydroxyatrazine et le diaminoatrazine sont relativement non toxiques.

Pour ce qui est des plantes cibles et non cibles, la même séquence de toxicité a été rapportée (Kaufman et Kearney, 1970).

La toxicité de l'atrazine pour les algues en terme de concentration effective qui produit 50% d'inhibition de la photosynthèse ou de la croissance en référence à l'activité d'un témoin, ou EC_{50}, a été mesurée par Stratton (1984). Il fait part de valeurs de EC_{50} entre 0.1 et 0.5 (μg/mL) pour la photosynthèse et entre 0.03 et 5.0 ug/mL pour la croissance. Le sous-produit atrazine dééthylée est le deuxième plus toxique avec des valeurs de EC_{50} entre 0.7 et 4.8 et entre 1.0 et 8.5 ug/mL pour la photosynthèse et la croissance respectivement. Pour l'atrazine déisopropylée, les EC_{50} pour les mêmes fonctions physiologiques vont de 3.6 à 9.3 et de 2.5 à plus de 10 ug/mL respectivement.

Dans le sol, les résidus d'atrazine ont une demi-vie qui va jusqu'à 1 an (Jones *et al.*, 1982) et atteignent une concentration entre 0.1 à 2.4 ug/mL (Stratton, 1984). Dans les systèmes aquatiques, l'atrazine atteint des niveaux de 0.03 ug/mL (Wu, 1981; De Noyelles *et al.*, 1982) et sa demi-vie est de 3 à 12 jours dans la phase aqueuse et de 15 à 20 jours dans les sédiments (Jones *et al.*, 1982). L'atrazine serait ainsi inhibitrice envers les microorganismes non cibles photosynthétiques aux niveaux normalement rencontrés dans l'environnement. L'hydroxyatrazine est le sous-produit retrouvé en plus grande abondance autant dans les sols que dans les systèmes aquatiques. Dans les sols, il représente 5 à 25% de l'atrazine appliquée après plusieurs mois, comparé à 2 à 10% pour les sous-produits déalkylés: déethyl et déisopropylatrazine (Jones *et al.*, 1982). Les niveaux d'hydroxyatrazine ont atteint 0.5 ug/mL dans le sol (Muir *et al.*, 1978), 0.05 ug/mL pour l'atrazine dééthylée et inférieur à 0.01 ug/mL pour l'atrazine déisopropylée (Sirons *et al.*, 1973). Dans les systèmes aquatiques, l'hydroxyatrazine représente jusqu'à 90% de l'atrazine appliquée après plusieurs semaines comparativement à 5 - 15% pour les sous-produits déalkylés (Jones *et al.*, 1982). L'hydroxyatrazine et la déisopropyl-atrazine peuvent persister jusqu'à 5 mois dans le sol, tandis que l'atrazine dééthylée persiste encore plus longtemps (Sirons *et al.*, 1973). L'atrazine dééthylée est plus mobile dans le sol que la molécule mère, alors que les autres produits de dégradations se lessivent à travers le sol à des taux comparables (Muir et Baker, 1978). Les produits de dégradations de l'atrazine pris séparément ne seraient pas présents dans l'environnement à des niveaux inhibiteurs envers les algues (Stratton, 1984). Cependant, parce qu'ils sont présents

simultanément avec la molécule mère dans un système, ils peuvent interagir pour altérer les réponses toxiques.

Stratton (1984) a mis en présence l'atrazine avec les produits de dégradation. Des réponses interactives se sont manifestées avec l'emploi d'un mélange de 2 composés. Lorsque l'atrazine est présente dans le mélange avec un sous-produit déalkylé, une réponse antagoniste survient envers la photosynthèse pendant qu'une interaction synergique est manifestée avec le rendement de croissance. Des combinaisons d'atrazine dééthylée et déisopropylée ont interagi d'une façon antagoniste pour la photosynthèse et additive envers le rendement de croissance.

2.4 Transformation des herbicides dans le sol

Les herbicides appliqués au sol sont dégradés par des transformations photochimiques, chimiques et biologiques et chaque processus se manifeste à des taux différents dans les différentes couches du sol (Rao *et al.*, 1983). Un composé peut être soumis à la photolyse et/ou à l'oxydation dans les couches de surface du sol, alors que les voies dominantes de dégradation dans les couches inférieures sont l'hydrolyse acide et la transformation microbiologique (Lupi, 1989). La dégradation par voie chimique (hydrolyse, déhalogénation) peut conduire à une désactivation mais ce sont les voies faisant intervenir les microorganismes qui conduisent à la dégradation totale qui consiste en une minéralisation en CO_2 et H_2O.

Les pesticides et leurs produits de dégradation sont souvent immobilisés au sol par des liens chimiques avec la matière organique. Ils sont souvent adsorbés, incorporés ou enfermés dans la matière organique ou peuvent être enlevés du sol par déposition dans les lipides des cellules microbiennes qui les digèrent (Torstensson, 1987). Ils forment alors des résidus liés inaccessibles ou non extrayables.

Le taux de dégradation des pesticides tel que suggéré par Torstensson (1987); Erickson et Lee (1989) est fonction de la disponibilité du pesticide envers les microorganismes ou les systèmes enzymatiques pouvant les dégrader, de leur quantité et de leur activité. Certains facteurs cependant agissent comme

modérateurs ou activateurs du taux de décomposition des pesticides. Ces facteurs d'importance sont le contenu en matière organique, le niveau d'humidité, le pH, l'environnement aérobie ou anaérobie et le statut nutritif.

Des changements dans la fertilité du sol, causés par l'addition d'amendements variés dont du fumier, ont été étudiés par Schnürer *et al.* (1985) à l'aide de la biomasse microbienne et son activité. L'estimé de la biomasse microbienne et les mesures de son activité ont démontré une corrélation significative avec la matière organique présente dans les 5 traitements employés. La biomasse la plus importante se trouvait dans la récolte avec fertilisant azoté (80 kg/ha/an) et incorporation de paille (1800 kgC/ha/an), et dans la récolte avec addition de fumier (80 kgN + 1800 kgC/ha/an).

Plusieurs chercheurs (Torstensson, 1987; McClure, 1979) ont essayé d'influencer le taux de dégradation d'herbicides en utilisant différents types d'amendements. Dans la plupart des cas, les fertilisants organiques tels que les fumiers, les boues ou la paille se sont avérés plus efficaces pour augmenter le taux de dégradation des herbicides que l'ont été les fertilisants inorganiques, sans toutefois que cela soit toujours le cas, notamment lorsque les amendements augmentent la capacité d'adsorption du sol envers les herbicides (Torstensson, 1987). Plusieurs types d'effets causés par la présence de ces fertilisants organiques sur la dégradation ont été observés en terme de respiration microbienne, d'évolution du CO_2 marqué au ^{14}carbone et de distribution du ^{14}carbone dans les produits de dégradation.

L'effet du fertilisant organique fumier de vache sur le devenir de l'insecticide carbofuran marqué au ^{14}C (sur l'anneau) a été étudié par Koeppe et Lichtenstein (1984), sous des conditions de ruissellement, dans un microcosme agricole. Des sols fertilisés avec des taux élevés de fumier, soit 50 et 100 tonnes métriques/ha ont démontré une augmentation de dégradation du carbofuran marqué. Il y a eu recouvrement de quantité réduite du ^{14}C dans la phase organique soluble et, parallèlement, une augmentation du $^{14}CO_2$ gazeux, suggérant que les microorganismes ont été impliqués dans la dégradation de l'insecticide en CO_2. Par ailleurs, il y a eu production accrue de résidus liés marqués au ^{14}C (non extrayables) et une prise en charge réduite de carbufuran marqué et de ses produits de dégradation dans le tissu des plantes.

Lichtenstein *et al.* (1982) ont, pour leur part, rapporté aussi une formation plus importante de résidus liés non extrayables marqués, ainsi qu'une augmentation des composés marqués dans la phase soluble-eau, pour des sols traités au fonofos,insecticide organo-phosphoré, marqué au ^{14}C et fertilisés avec des taux élevés de fumier de vache. Il y a aussi eu recouvrement de quantités réduites de fonofos marqué dans la phase organique soluble.

Somasundaram *et al.* (1987) ont déterminé les effets à court et long terme de taux recommandés de fumier de porc sur la persistance et la dégradation de 7 insecticides. Les traitements ont résulté en une augmentation importante du nombre de bactéries et de champignons et cette stimulation a été responsable de la dégradation des insecticides fonofos, terbulos et phorate. La persistence n'a cependant pas toujours été influencée par la présence du fumier, en particulier dans le cas des sols qui ont reçu un traitement au fumier pendant plusieurs années avant l'application d'insecticide. Dans ce dernier cas, la persistance observée ,au lieu d'une dégradation, a été expliquée par le fait que le fumier devait servir de source d'énergie première pour les microorganismes présents, réduisant la probabilité qu'un avantage sélectif se développe pour que les microorganismes utilisent le pesticide comme source d'énergie. Le pourcentage de matière organique plus élevé dans ces sols a augmenté les chances de liaisons rendant moins disponible le pesticide pour la dégradation. Le pH plus bas, à cause du fumier, a pu réduire les taux de dégradation selon Somasundaram *et al.*(1987).

Doyle *et al.* (1978) ont étudié comment les fertilisants organiques tels les boues résiduaires et les fumiers affectent les réactions chimiques associées à la décomposition microbienne de plusieurs pesticides y compris l'atrazine. Les boues ainsi que le fumier de vache ont fait augmenter l'évolution totale du CO_2 pour tous les pesticides, indiquant que les pesticides étudiés n'avaient pas d'effets inhibiteurs sur l'ensemble de l'activité microbiologique mais plutôt exerçaient un effet de stimulation de l'activité. L'évolution du $^{14}CO_2$ pour les sols traités au fumier de vache était égale ou plus grande que celle causée par les boues résiduaires. Des taux plus élevés de dégradation étaient observés avec le fumier et/ou la boue pour un nombre de

pesticides non reliés structurellement. La boue inhibait l'évolution du $^{14}CO_2$ des sols traités avec des pesticides dont la décomposition impliquait une déalkylation, comme avec l'atrazine. Le fumier, contrairement à la boue, stimulait cette réaction. Dans le cas de l'atrazine, le ^{14}C pouvant être extrait était réduit dans les sols traités au fumier. Le 2-chloro-4-amino-6-isopropyl amino-s-triazine (atrazine dééthylée) et le 2-hydroxy-4-éthyl-amino-6-isopropyl amino-s-triazine (hydroxyatrazine) ont été identifiés comme produits de dégradation. La concentration de ces produits ainsi que celle de plusieurs produits additionnels variait avec le type de fertilisant.

2.5 Interaction pesticide - matière organique.

L'étendue d'adsorption d'un pesticide dépend de la nature et des propriétés du produit chimique, du type et de la quantité de matière organique présente et des conditions rencontrées au sol. Une fois adsorbé par la matière organique, un pesticide peut se désorber facilement, avec difficulté ou pas du tout (Borggaard et Streibig, 1988; Schnitzer et Khan, 1978).

L'atrazine est une base extrêmement faible (pKa 1.68) avec une solubilité dans l'eau de 35 $mg.dm^{-3}$ à pH 7, suggérant une adsorption négligeable par simple mécanisme d'échange d'ions pour les sols naturels qui ont un pH entre 4 et 8 et une force ionique dans la solution du sol de 0.01. D'autres mécanismes comme le lien hydrogène et la formation de complexes d'électrons donneur-accepteur permettent d'expliquer l'adsorption observée pour ce composé. L'atrazine, pesticide basique, s'associe rapidement avec l'hydrogène pour former des espèces protonnées qui peuvent se comporter comme ions positifs tout comme les cations organiques. Ceux-ci s'adsorbent via les sites négatifs sur la matière organique (Schnitzer et Khan, 1978). Hayes (1970) a démontré l'importance de la matière organique du sol dans l'adsorption des s-triazines et son rôle dans la réduction de la phytotoxicité et sa contribution à affecter leur mouvement dans le sol. Weber (1970) démontrait que cette adsorption par la matière organique était fonction du pH. Une adsorption maximale des pesticides basiques s'effectue près de leur pKa. Le nombre de molécules protonnées décroît à haut pH et, par le fait même, réduit leur adsorption. Borggaard et Streibig (1988) affirment que l'adsorption de l'atrazine est correlée avec

le contenu de matière organique et que beaucoup plus d'atrazine a été adsorbée par la matière organique que par l'acide humique.

2.6 Génotoxicité

L'implication des pesticides chimiques en agriculture rend nécessaire la détermination de la compatibilité de ces agents avec l'environnement et la santé publique. La présence d'agents environnementaux génotoxiques (qui altèrent le génome) constitue une menace pour la santé publique car il a été démontré que ceux-ci peuvent exercer des effets teratogéniques, précipiter la maladie coronarienne, produire des mutations impliquant les cellules germinales ou causer des mutations menant à la néoplasie (Gentile et Plewa, 1983). Bon nombre de cancers seraient causés par une exposition à des produits chimiques dans l'environnement et on a mis en évidence que la plupart des agents cancérogènes sont aussi mutagènes (Ames, 1979).

Mais encore, plusieurs composés ingérés par les animaux, incluant l'homme, subissent divers changements métaboliques par l'entremise de l'action de systèmes de détoxication dans les microsomes du foie. Suite à des biotransformations subies, des substances initialement sans danger peuvent devenir cancérigènes, et l'inverse peut également se produire et entraîner la détoxication. Si un agent requiert une transformation métabolique avant que se manifeste son potentiel mutagénique et/ou génotoxique, un simple test direct de mutagénicité ou génotoxicité sur des cellules peut être non concluant. C'est pourquoi des efforts ont été faits pour rendre compte de ces transformations catalysées enzymatiquement en incluant des homogénats métaboliquement actifs, de foie principalement, à une suspension de cellules indicatrices (bactéries, levures, autres) et au produit testé pour vérifier la génotoxicité de produits dits activés (Ames *et al.*, 1975; Sandermann, 1988).

Les herbicides dans l'environnement entrent d'abord en contact avec les plantes et de ce fait peuvent être pris en charge et transformés métaboliquement par elles. D'une façon analogue à ce qui s'observe pour le métabolisme animal, des composés inactifs ou promutagènes peuvent alors être activés, c'est-à-dire transformés par

l'action biologique des plantes de façon à former des produits mutagènes ou cancérigènes. Les composés produits par le métabolisme des plantes peuvent cependant différer de ceux issus du métabolisme animal étant donné les voies métaboliques empruntées, différentes (Wilderman et Nazar, 1982). Comme résultat, lorsque des plantes traitées chimiquement sont ingérées par l'homme ou l'animal, il peut y avoir production de produits dangereux qui risquent de ne pas être détectés par les techniques de dépistage courantes qui ne mesurent que l'effet des produits purs.

Notons que l'atrazine a été le premier produit chimique génotoxique identifié auprès de microorganismes suite à une activation par les plantes (Plewa et Gentile, 1976).

2.6.1 Investigations de la génotoxicité de l'atrazine pure

Les résultats des essais microbiens évaluant la génotoxicité de l'atrazine ont été généralement tous négatifs, même après activation avec le système microsomal hépatique (S9 de foie de rat) de mammifère. L'atrazine, en absence du métabolisme de la plante, n'a pas induit de mutations réversibles au locus "his" chez 5 souches de *Salmonella*, n'a pas induit de mutations ponctuelles chez *S. typhimurium* ou le bactériophage T_4 (Singh *et al.*, 1982). L'atrazine n'a pas causé de conversion génique chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* (Singh et al., 1982).

Une activité génotoxique négative a été rapportée pour l'atrazine dans l'essai de conversion génique de *Aspergillus nidulans* avec et sans activation métabolique in vitro (Bertoldi *et al.*, 1980). Lusby *et al.* (1979) présentent un résultat négatif pour 15 des 16 triazines testées, incluant l'atrazine dans *S. typhimurium* avec et sans activation métabolique avec la fraction S9 de foie de rat.

Des effets génotoxiques positifs ont été notés avec 2-hydroxy-4,6-bis (éthylamino)-s-triazine et 2 chloro-4,5-diamino-s-triazine, ce dernier étant un produit de dégradation dans *S. typhimurium* (Butler et Hoagland, 1989).

2.6.2 Investigations de la génotoxicité de produits de dégradation chez la plante

Certains produits de dégradation de l'atrazine chez la plante ont été testés dans un essai mutagénique impliquant 3 souches de *S. typhimurium* (Butler et Hoagland,1989). Il s'agissait de produits de grande pureté, étudiés à diverses concentrations. L'atrazine, l'hydroxyatrazine, le 2-chloro-4-amino-6 isopropylamino-s-triazine (atrazine dééthylée), le 2-chloro-4-amino-6-diamino-s-triazine et le 2-chloro-4-amino-6-éthylamino-s-triazine n'ont montré aucune toxicité et activité mutagénique chez *S. typhimurium*, même à forte concentration.

2.7 Investigation de la génotoxicité après effet métabolique

Diverses approches ont été employées pour étudier l'effet du métabolisme des plantes sur la mutagénicité: A) détermination de la mutagénicité d'un promutagène directement sur une plante ou sa progéniture à laquelle le composé testé est appliqué et où l'emploi d'inhibiteurs métaboliques diminue l'effet mutagénique; B) isolation des métabolites formés in vivo dans les plantes traitées ou dans les cellules des plantes et détection de la mutagénicité au moyen d'essais à court terme ayant comme organisme bioindicateur des bactéries *Salmonella* (test Ames), *E.coli*, des levures ou des cellules de mammifères; C) transformation de promutagène en mutagène dans un système analogue à l'essai de mutagénicité avec fraction S9 de mammifère dans *Salmonella*, dans lequel la fraction S9 est remplacée par un homogénat de cellules de plantes ou par une fraction possédant l'activité enzymatique requise pour l'activation métabolique; D) un système similaire à C) utilisant des cellules intactes en culture de plantes au lieu d'extraits de plantes.

Les approches a et b ont été employées pour étudier l'effet métabolique de plants de maïs sur la mutagénicité lorsque des plants sont traités à l'atrazine.

2.7.1 Approche A

Lors d'essais *in vivo* de plantes, Plewa et Gentile (1976) ont obtenu des fréquences de réversion plus élevées au locus "waxy" des cellules germinales mâles de mutants

de maïs après exposition chronique à l'atrazine. Une augmentation de dommages chromosomiques a été induite dans des cellules mitotiques de plantes *Hordeum* traitées à l'atrazine (Mathias *et al.*, 1989). Butler et Hoagland (1989) font état d'une augmentation de la fréquence d'échanges "sister chromatid" chez le maïs après application d'atrazine.

2.7.2 Approche B

Faisant contraste avec la prépondérance d'effets génotoxiques négatifs trouvés pour l'atrazine testée seule dans les essais microbiens avec et sans activation métabolique *in vitro*, plusieurs effets positifs ont été mesurés avec des s-triazines, activées via le métabolisme des plantes. La métabolisation de l'atrazine dans des cellules de plantes *Nicotiana alata* a donné un produit qui induisait la ségrégation somatique (crossover et nondisjunction) et la mutation chez *Aspergillus nidulans* (Benigni *et al.*, 1979). Plewa et Gentile (1976) ont fait état de la détection d'un agent recombinant dans du maïs développé au stade 3 feuilles en présence d'une formulation d'atrazine (Aatrex 80%). Des essais visant à reproduire, chez la levure, les résultats obtenus par Plewa et Gentile (1976) ont été sans succès dans les laboratoires Ciba-Geigy. Singh *et al.* (1982), utilisant des extraits bruts de plants de maïs traités avec des concentrations variées d'atrazine, démontrent une activité de conversion génique chez *S. cerevisiae* reliée à la concentration employée d'atrazine et à la fraction méthanol 50% recouvrée par fractionnement de l'extrait. Dans cette étude, les cellules de levures exposées à des extraits provenant de plants non traités à l'atrazine ont aussi montré des taux de conversion, cependant moindres, que ceux obtenus à partir de cellules exposées à des extraits de plants traités à l'atrazine. Bakshi *et al.* (1981), en utilisant le test de Ames et celui de la mutation réverse, révèlent également que des extraits de plants de maïs non traités, ainsi que ceux traités, contiennent des agents mutagènes envers *S. typhimurium* souche TA-100. Means *et al.* (1988) contredisent les deux auteurs précédents en démontrant que seulement des extraits de maïs solubles à l'eau, provenant de plants de maïs exposés à l'atrazine, démontrent une activité mutagénique chez *S. typhimurium* souche TA-100, comparativement aux plants témoins qui ne démontrent aucune activité. De plus, après emploi d'atrazine marqué au ^{14}C, ils obtiennent un recouvrement de 89% des produits secondaires de l'atrazine

marqué au ^{14}C associé à une fraction 50% MeOH et cette fraction démontre une activité mutagénique. Cette découverte a fait suggérer à ces chercheurs que les mutagènes obtenus dans la fraction MeOH 50% étaient un ou des produits secondaires d'atrazine, bien que leur identité n'a pas été déterminée.

De plus, dans une étude menée par Mathias *et al.* (1989), les activités génotoxiques de deux formulations d'atrazine, pure et commerciale, ont été testées chez la levure *Schizosaccharomyces pombe* avec et sans activation métabolique *in vivo* par le maïs. Les résultats démontrent une plus grande mutagénicité de la fraction S1, après activation *in vivo* de l'atrazine commerciale par les plantes. Les auteurs ont pensé que des substances présentes dans la formulation commerciale, peuvent être impliquées comme promutagènes. De plus, l'efficacité génotoxique de la fraction chloroplastique a été bien plus importante que la fraction surnageante S1, suggérant une transformation dans cette organelle.

2.8 Les systèmes de métabolisation des substances xénobiotiques chez les plantes

Chez les animaux aussi bien que chez les plantes, la plupart des enzymes qui sont impliquées dans le métabolisme des substances xénobiotiques sont localisées dans le reticulum endoplasmique. Chez les animaux, ces enzymes sont divisées en deux types. Les enzymes de la phase 1 catalysent l'introduction d'un ou plusieurs groupes hydrophiles (OH) dans une molécule lipophile par des réactions d'oxydation, de réduction ou des réactions hydrolytiques; cela rend possible la réaction de la phase II, catalysée par les enzymes de conjugaison, qui donne des produits solubles dans l'eau et excrétables par le corps. Chez les plantes, des réactions d'une phase additionnelle III ont été proposées et sont appelées réactions de conjugaison secondaire. Les produits fabriqués sont des produits secondaires insolubles dans l'eau, habituellement inactifs biologiquement, qui sont déposés dans des compartiments spécifiques des cellules, ou incorporés à une structure cellulaire (Veleminsky et Gichner, 1988).

2.8.1 Métabolisme oxydatif

Les réactions oxydatives de la phase 1 sont les plus fréquentes chez les animaux et les plantes et sont catalysées par les MFO (mixed function oxygenases) lesquelles ont comme fonction d'insérer un atome d'oxygène, à partir de O_2, dans le substrat organique et de réduire le second pour former H_2O. Les MFO utilisent le cytochrome P-450 comme terminal pour l'oxidase. NADPH est la source majeure d'électrons pour réduire le cytochrome P-450 des plantes et des animaux. Le cytochrome P-450 des plantes aurait une spécificité pour les substrats beaucoup plus étroite que le cytochrome P-450 du foie de rat. Plusieurs autres types d'oxydation sont catalysés par le cytochrome P-450 de l'animal alors que chez les plantes ces oxydations seraient médiées par d'autres systèmes. Par exemple, la formation de sulfoxydes ou sulfones dans les plantes serait médiée par l'action de peroxydases ou lipoxygénases. Des peroxydases de plantes seraient impliquées dans l'activation d'un promutagène spécifique des plantes, le NOP-X ou le 4-nitro-o-phenylenidiamine (Sandermann, 1988; Veleminsky et Gichner, 1988).

2.8.2 Réduction, hydrolyse, conjugaison

Il semble que, dans le métabolisme des substances xénobiotiques, les réactions de réduction soient beaucoup moins importantes que les réactions oxydatives. Néanmoins plusieurs types de réactions de réduction qui pourraient être d'importance dans l'activation des promutagènes ont été déterminées dans le métabolisme des substances xénobiotiques par les plantes. Elles incluent la réduction des groupes nitro (Veleminsky et Gichner, 1988).

L'hydrolyse, catalysée par des hydrolases, des estérases, amidases o-alkylhydrolases, représente un mécanisme de dégradation usuel des substances xénobiotiques chez les animaux, microorganismes et les plantes. L'hydrolyse est l'étape déterminante dans la tolérance sélective des plantes envers plusieurs types d'herbicides.

La conjugaison représente la réaction de substrats endogènes avec les produits du métabolisme des substances xénobiotiques formées par les systèmes de la phase 1

(Lamoureux et Rusness, 1986). Chez les plantes, les manifestations les plus usuelles de cette réaction sont la conjugaison avec le glucose, avec le glutathione, les acides aminés, la lignine et les peptines, alors que chez les mammifères, la conjugaison avec les glucoronides et le glutathione est plus usuelle. Les conjuguants persisteraient dans la plante durant des intervalles considérables et seraient compartimentés. Les niveaux des conjuguants seraient très élevés dans les plantes résistantes aux herbicides puisqu'ils seraient emmagasinés (Sandermann, 1988). Finalement, la conjugaison avec le glutathione réduit (GSH) catalysée par les transférases GSH est une importante réaction de détoxication chez les plantes. Le glutathione forme des conjuguants avec plusieurs types de pesticides et ce type de conjugaison joue un rôle dans la toxicité sélective.

2.9 Métabolisme de l'atrazine

La classe des s-triazines est rapidement absorbée dans les plantes et le tissu animal. Dans les plantes, les triazines sont transportées dans toutes les parties de l'organisme. La dégradation et la détoxication se font par hydrolyse, N-dealkylation et conjugaison. Plusieurs investigateurs ont montré que les s-triazines sont converties en composés 2-hydroxy dans une variété de plantes, microorganismes et animaux (Means *et al.*, 1988). Chez le maïs, l'agent actif participant à cette conversion est le 2,4-dihydroxy-8-methoxy-1, 4-benzoxazine-3-one ou un agrégat contenant cette substance. Shimabukuro *et al.* (1982) ont réalisé une série d'études qui montrent une dégradation par N-déalkylation séquentielle des substituants C_4 et C_6 et que les 2-chloro-s-triazines peuvent former des peptides de conjugaison. Means *et al.* (1988) ont identifié deux produits secondaires incluant un gluthatione conjugate et un glutamyl-cystine conjugate et prétendent que d'autres peptides de conjugaison existent chez les plantes supérieures. La conjugaison de l'atrazine avec le glutathione apparaît être le mécanisme de détoxication principal chez les espèces résistantes comme le maïs (Lamoureux et Rusness, 1986).

CHAPITRE 3

Matériel et Méthodes

3 MATERIEL ET METHODES

3.1 Evaluation de la toxicité

3.1.1 Simulation de pluies et prélèvements d'échantillons

Une partie des activités expérimentales ont eu lieu dans le hangar principal de la Station de Recherche du Ministère de l'Agriculture du Canada à Lennoxville où un simulateur de pluie était installé pour reproduire la pluie naturelle sur les 18 mini-parcelles de sol traité selon les neuf combinaisons présentées au tableau 3.1.

Deux séries de neuf boîtes en bois mesurant 30 cm de largeur, 88 cm de longueur, 46 cm de profondeur, terminées par une gouttière ayant 5 cm de largeur, 30 cm de longueur et 5 cm de profondeur, contenaient principalement du sol compacté (type loam sablonneux Coaticook) , étendu par tranches de 10 cm sur 6 cm de pierres concassées. Selon le traitement exigé, étaient ajoutées sur les 2 premières tranches de sol (à 20 cm de profondeur), ou sur la dernière tranche de sol (en surface) ,du lisier de porc au taux communément employé de 150 kg N/ha ainsi que de l'atrazine (en surface) au taux communément employé de 2 kg/ha ou au taux 2 fois plus élevé de 4 kg/ha. Les boîtes, après remplissage étaient recouvertes d'une toile de polytène jusqu'au moment des 2 simulations de pluies provoquant le ruissellement, 5 jours plus tard.

Le délai de 5 jours entre l'épandage et l'avènement d'une pluie avait pour but de réduire les pertes d'éléments nutritifs associés au lisier, dans l'eau de ruissellement. La matière organique conservée au sol influence l'activité biologique de la biomasse microbienne. Celle-ci peut alors utiliser l'atrazine comme source de carbone. La toile servait à minimiser la volatilisation de l'ammoniaque et l'assèchement du sol. Les caractéristiques chimiques et physiques du lisier de porc et du sol utilisés sont décrites aux tableaux 3.2 et 3.3.

Après un délai de 5 jours, une première simulation de pluie d'intensité de 22 mm/h et d'une durée de 90 minutes, sur la première série des neuf boîtes de sol, a permis de

Tableau 3.1: Eaux de ruissellement

Intensité-durée de pluie: 22 mm/h, 90 min

1 Sol	2 Sol Lisier enfoui	3 Sol Lisier surface
4 Sol Atrazine [1]	5 Sol Atrazine [1] Lisier enfoui	6 Sol Atrazine [1] Lisier surface
7 Sol Atrazine [2]	8 Sol Atrazine [2] Lisier enfoui	9 Sol Atrazine [2] Lisier surface

ECHANTILLONS DE SOL

Intensité-durée de pluie: 11 mm/h, 142 min

10 Sol	11 Sol Lisier enfoui	12 Sol Lisier surface
13 Sol Atrazine [1]	14 Sol Atrazine [1] Lisier enfoui	15 Sol Atrazine [1] Lisier surface
16 Sol Atrazine [2]	17 Sol Atrazine [2] Lisier enfoui	18 Sol Atrazine [2] Lisier surface

Atrazine [1] = 2 kg/ha
Atrazine [2] = 4 kg/ha
Lisier = 150 kg N/ha

Tableau 3.2: Caractéristiques du lisier de porcs

Paramètres	Concentration (mg/L)
Matières solides	50 000
Azote total Kjeldahl (NTK)	4 485
Azote ammoniacal ($N\text{-}NH_4$)	3 372
Nitrites et nitrates ($N\text{-}NO_2$; $N\text{-}NO_3$)	8

Tableau 3.3: Caractéristiques du sol

Paramètres	Unités	Valeurs
Granulométrie*		
- sable	%	43,3
- silt	%	28,0
- argile	%	28,7
Densité**	---	1,2
Teneur en eau	% BS	19,8
Teneur en eau capacité au champ	% BS	25,0
Matière organique	% BS	4,1
Carbone organique	% BS	3,1
Azote total Kjeldahl (NTK)	mg/L	----
Azote ammoniacal ($N\text{-}NH_4$)	mg/L	----
Nitrites et nitrates ($N\text{-}NO_2$; $N\text{-}NO_3$)	mg/L	----
Phosphore total (P total)	mg/L	----
Orthophosphate ($P\text{-}PO_4$)	mg/L	----

* Sol naturel, non tamisé
** Densité au champ; sol non remanié

récolter environ 3.5 L d'eau de ruissellement par boîte. Le sol de cette série n'a pas été échantillonné.

Une deuxième simulation de pluie, d'une intensité de 11 mm/h pendant 142 minutes sur la deuxième série de neuf boîtes, a permis de récolter environ 3.5 L d'eau de ruissellement, ainsi que des carottes de sol de 10 cm pour chacun des traitements.

Les pluies simulées devaient dépasser 5 mm/h afin de provoquer le ruissellement et être simulées adéquatement. Elles correspondent à une hauteur de pluie d'environ 26 mm dont la période de retour est de 5 ans pour la période d'épandage entre le 15 avril et le 15 mai, dans la région de Sherbrooke.

Seulement les boîtes de la 2^{e} série ont été recouvertes d'une toile de polytène et sont demeurées entreposées à la température ambiante du hangar pendant 7 mois. Les boîtes ont reçu durant cet intervalle, des arrosages manuels hebdomadaires permettant de maintenir le sol humide et propice à la dégradation.

Trois et sept mois après la simulation des pluies (en mars), en juillet et novembre, des prélèvements de carottes de sol sur 10 cm de profondeur, ont été faits dans chacune des boîtes correspondant aux traitements de la 2^{e} série afin de réaliser le suivi de la concentration résiduelle en atrazine du sol de même que celui de la toxicité et de la génotoxicité (tableau 3.1). Le choix de la période d'incubation a été conditionné par la demi-vie de l'atrazine qui est de plus de 2 mois dans des sols incubés en milieu aérobie.

Quant au choix de la profondeur des prélèvements de carottes de sol, il a été déterminé en fonction du facteur retard. La section 4.4.1 présente les variables qui ont été considérées dans la détermination de la profondeur de prélèvement.

Les échantillons d'eau de ruissellement, ainsi que les carottes de sol recueillis dans des récipients de verre, ont été réfrigérés à 4°C jusqu'à ce que s'effectuent les tests de toxicité et les analyses nécessaires.

3.1.2 Préparation des échantillons pours les tests et analyses

3.1.2.1 Echantillons d'eau de ruissellement

Plusieurs sous-échantillons de volumes différents ont été prélevés des échantillons d'eau de ruisellement initiaux correspondant à chaque traitement:

- un sous-échantillon de 10 mL était réservé aux tests directs de génotoxicité;
- un sous-échantillon de 3 litres a été utilisé pour la procédure d'extraction; liquide-liquide servant à fractionner les composés organiques, les extraire et les concentrer en vue du test de dépistage génotoxique (U.S E.P.A, 1985) section 3.2.15;
- un sous-échantillon de 250 mL devait servir au dosage de l'atrazine, section 3.1.3.1;
- un sous-échantillon de 50 mL devait servir au dosage du carbone organique dissous, section 3.1.3.2;
- un sous-échantillon de 200 mL était filtré sur un filtre millipore de 0,45 μm, ajusté au pH 6,5 à 8, puis soumis aux tests de toxicité: potentiel de fertilité, microtox et aux analyses chimiques des substances inorganiques et organiques contenues dans le filtrat, section 3.1.3.5.

3.1.2.2 Echantillons de sol

Plusieurs sous-échantillons de sol de poids différents, ont été prélevés des échantillons initiaux après que ceux-ci aient été parfaitement homogénéisés au mélangeur électrique après une période de séchage à la température ambiante durant 6 heures:

- un sous-échantillon de 50-100 g était traité selon le protocole de lixiviation de déchets solides employé à Environnement Québec (Joubert 1983), section 3.1.2.3, puis soumis aux tests de potentiel de fertilité, Microtox, et aux analyses des substances organiques et inorganiques contenues dans le filtrat, section 3.1.2.5;

- deux sous-échantillons de 20 g servaient à l'extraction des substances organiques par les méthodes Xu Dutka et Soxhlet décrites en 3.2.16, en prévision du test de génotoxicité;

- un sous-échantillon de 2 g servait aux analyses de l'azote, du carbone et du soufre totaux réalisées par analyseur N-C-S, section 3.1.3.3;

3.1.2.3 Lixiviation des sols

Un échantillon de 50 à 100 g est pesé et placé dans une bouteille de verre recouverte de papier d'aluminium dont le volume équivaut à 2 fois le volume final du mélange. Une quantité d'un mélange préparé d'eau de dilution +N+P ou -N-P (Tableau 3.4), égale à 10 fois le poids de l'échantillon moins le pourcentage d'eau extractible de l'échantillon, est ajoutée dans la bouteille (de l'eau ultra-pure a été ajoutée au lieu de l'eau de dilution enrichie pour lixivier les premiers échantillons de sol récoltés en mars). Celle-ci est agitée de façon continue pendant 24 heures à l'aide d'un agitateur rotatif pouvant tourner entre 3 et 30 rpm.

Le pourcentage d'eau extractible est déterminé en centrifugeant à 1000 g pendant 30 minutes, un sous-échantillon de poids donné, dans des tubes à centrifugation pré-pesés. On repèse le tube après séparation de la phase liquide du solide pour évaluer le volume d'eau extractible, à retrancher du volume d'eau enrichie qui est ajouté lors de la lixiviation.

Le lixiviat est ensuite filtré séquentiellement. La filtration se fait d'abord dans un entonnoir Buchner sur une membrane de microfibres de verre (Whatman 934-AH), puis sur membrane (GFC de 1,2 μm). Le filtrat recueilli est ensuite passé successivemnt sur des filtres millipores de cellulose de 1.2, 0.8, 0.65 et 0.45 μm. Tous les filtres utilisés ont été préalablement rincés avec de l'eau ultra-pure. Le pH de l'échantillon est ramené entre 6,5 et 8,0 avec des solutions diluées de NaOH et HCl (5%) afin de favoriser la croissance des algues et éliminer l'effet du pH.

Tableau 3.4 Composition des milieux de dilution +N+P et -N-P.

Eléments majeurs	+N+P g/L	-N-P g/L
1) Nitrate de sodium, $NaNO_3$	25.500	-
2) Chlorure de magnésium, $MgCl_2$	5.700	5.700
3) Chlorure de calcium, $CaCl_2$	4.410	4.410
4) Solution stock de micro-nutiments	voir ci-après	
5) Sulfate de magnésium, $MgSO_4.2H_2O$	14.700	14.700
6) Phosphate de Potassium, K_2HPO_4	1.044	-
7) Bicarbonate de sodium. $NaHCO_3$	15.000	15.000
Eléments traces	**(Chiaudani et Vighi, 1978)**	
1) H_3BO_3	.18552	.18552
2) $MnCl_2.4H_2O$	.41561	
3) $ZnCl_2$	.333	.333
4) $CaCl_2.6H_2O$	.2824	.2824
5) $Na_2MoO_4.2H_2O$	.726	.726
6) $CuCl_2.2H_2O$	.012	.012
8) $FeSO_4.7H_2O$	.2738	

Le lixiviat filtré est conservé à 4°C et à la noirceur jusqu'au début des tests qui doivent commencer au plus tard, 96 heures après la fin de la période d'agitation. Une partie de l'échantillon filtré sert à l'analyse de l'azote et du phosphore, section 3.1.3.5.

3.1.3 Méthodes d'analyse des échantillons

3.1.3.1 Dosage de l'atrazine

Pour les liquides, il s'agit de verser 250 ml d'eau de ruissellement homogénéisée dans une ampoule à décantation de 1 L et d'extraire par agitation manuelle l'atrazine et les autres composés organiques solubles au moyen du solvant acétate d'éthyl. L'extraction se fait successivement avec 100, 70 et 70 mL d'acétate d'éthyl. Le solvant extrait 3 fois est filtré sur une colonne contenant 10 cm de sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) préalablement purifié à 400°C durant 4 heures et refroidi, de façon à enlever toute trace d'eau. L'extrait est concentré par évaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à obtention d'un volume final d'environ 5 mL. Un volume de 1,5 mL est prélevé et transféré dans les tubes à bouchons de teflon perforables pour être analysé par le Varian G.C. N.P.D.

Pour les sols, il s'agit de peser environ 10 g d'échantillon homogénéisé de carotte de sol dans un tube teflon de 25 mL. Un volume de 15 mL d'acétate d'éthyl est ajouté et le volume est agité pendant 1 heure sur agitateur Eberbach. Les tubes sont centrifugés à 4,700 rpm pendant 12 minutes, et 1,5 mL de surnageant est introduit dans les tubes qui sont analysés par Varian G.C.N.P.D.

Le calcul de la concentration d'atrazine dans l'échantillon est obtenu par l'équation suivante:

$$C_e = H_e/H_s \times C_s \times V_f/Vi$$

où

C_s : Concentration du standard
C_e : Concentration de l'échantillon
H_e : Hauteur du pic de l'échantillon
H_s : Hauteur du pic du standard

V_f : Volume final d'acétate d'éthyl
V_i : Poids du sol ou volume initial d'eau de ruissellement

3.1.3.2 Carbone organique dissous

La méthode utilisée est celle du MENVIQ (1986). Il s'agit d'abord d'enlever le carbone inorganique présent dans l'échantillon d'eau de ruissellement, au moyen d'un pré-traitement. L'échantillon est alors mélangé avec du persulfate de potassium, irradié aux rayons ultra-violet. La décomposition du carbone organique produit un acide carbonique qui est absorbé par une solution d'hydroxyde de sodium. En mesurant la conductivité électrique de cette solution, on peut quantifier dans l'échantillon la concentration en carbone organique dissous par comparaison avec la mesure de conductivité obtenue avec les étalons.

3.1.3.3 Azote, carbone et soufre dans les sols

La méthode employée est celle qu'utilise le laboratoire d'analyse de l'INRS (Carlo Erba Strumentazione, 1986). Les échantillons de sol sont d'abord séchés dans une étuve à 110°C pendant 2 heures. Un échantillon d'environ 5 mg de sol est introduit dans une chambre à combustion dont la température se situe à 1000°C. L'échantillon passe dans une colonne contenant sucessivement du trioxyde de tungstène et du cuivre pour finalement sortir de la colonne sous forme de N_2,CO_2 et SO_2. Un détecteur de conductivité thermique détecte successivement ces gazs qui se sont séparés dans une colonne à chromatographie. Le détecteur produit une courbe qui donne les contenus en azote, carbone et soufre totaux de l'échantillon.

3.1.3.4 Détermination du pH

La mesure du pH des sols été déterminée par l'application de la méthode décrite dans "Principes et techniques d'analyses de sol (Audesse, 1982). La méthode consiste à ajouter 10 mL d'eau déminéralisée à 5 g de sol organique, d'agiter et de laisser reposer 30 minutes en ayant soin d'agiter par intermittance le mélange. Une lecture est faite, au moyen du pH-mètre sur le mélange stabilisé.

3.1.3.5 Dosage de l'azote et du phosphore

Les méthodes de dosage de l'azote et du phosphore sont des techniques modifiées de "Standard Methods, (Apha *et al.*, 1980)".

3.1.4 Potentiel de fertilité

L'essai consiste à déterminer l'inhibition de croissance de l'algue *Selenastrum capricornutum* après 14 jours d'incubation et d'exprimer les résultats sous forme de biomasse en mg/L.

La méthode du potentiel de fertilité est une variante de la méthode de mesure quantitative de la toxicité avec l'algue *Selenastrum capricornutum* (Joubert,1983). Les deux méthodes ont été utilisées. La première, consiste à effectuer en triplicata plusieurs dilutions d'un échantillon dans une solution enrichie +N+P ou -N-P (tableau 3.4) et à peser la biomasse algale produite pour chacune des dilutions après une période d'incubation de 14 jours. La deuxième méthode, au lieu de peser la biomasse algale, établit la valeur de celle-ci pour différentes concentrations, au moyen du décompte cellulaire et d'un facteur de conversion en biomasse (F.C.B) et compare la biomasse ainsi obtenue à la biomasse calculée théoriquement à partir de dosages d'azote , de phosphore et de facteurs de multiplication. Lorsqu'on applique la deuxième méthode, une droite de toxicité est tracée avec les concentrations correspondant aux pourcentages d'inhibition, qui se calculent comme suit: % d'inhibition = 100 - (biomasse mesurée/biomasse théorique x 100).

La concentration de l'eau de dilution est à 100% V/V, pour la méthode du potentiel de fertilité et permet une croissance algale de près de 80 mg/L, alors que dans la méthode conventionnelle, la concentration de l'eau de dilution est de 62.5 % V/V et supporte une biomasse de 50 mg/L.

Le milieu de culture algale est le même pour les 2 méthodes. Il correspond à celui du "test algal assay procedure: Bottle test" mis au point par USEPA (1971,1978). Ce

milieu de culture est obtenu en diluant un ajout de 1 mL de chacune des 7 solutions stock, décrites au tableau 3.5, dans 900 mL d'eau ultra-pure. Le volume est complété à 1 L, et le pH , ajusté à 7.5 avec une solution de NaOH et HCl 0.1N. Le milieu est filtré sur une membrane de 0,45 μm sous un vacuum de moins de 380 mm de mercure et est autoclavé.

Dans un erlenmeyer de 1 L stérile, contenant 200 mL de milieu, est ajouté 2 mL de la culture algale âgée d'une semaine. L'erlenmeyer sert au repiquage de la culture. Dans un autre erlenmeyer de 2 L stérile, contenant 400 mL de milieu de culture, est ajouté 2 mL de culture algale. Cet erlenmeyer sert pour l'inoculation des échantillons. Les cultures sont placées dans une unité d'incubation générant 16 heures de lumière par jour et sont agitées manuellement 2 fois par jour durant 5 jours, pour éviter une carence en CO_2.

Cinq dilutions d'échantillons préparées en triplicata de 25 mL, à des concentrations de 10, 5, 1, 0.5 et 0.1% pour l'eau de ruissellement , et à des concentrations de 100, 50, 10, 5 et 1% pour les lixiviats de sol (à l'exception des échantillons du mois de mars qui n'ont pas été dilués), ont été préparées avec des solutions enrichies +N+P et -N-P décrites au tableau 3.4. Les lixiviats de sol utilisés avaient été préalablement enrichis à l'étape de lixiviation, avec ces mêmes solutions +N+P et -N-P, à l'exception des échantillons du mois de mars.

Les standards ont été préparés en plaçant 25 mL de milieu +N+P dans 9 erlenmeyers de 125 L. Chaque erlenmeyer de 25 mL de solution est inoculé avec 1 mL d'inoculum contenant 25,000 cellules/mL. La concentration cellulaire de départ est de 1000 cellules/mL. Les cultures inoculées sont placées dans des unités d'incubation à 24°C, pendant 14 jours, sous éclairage continu et à une intensité de 4,304 lux, et elles sont agitées 2 fois par jour.

Les algues, après 14 jours d'incubation sont comptées après avoir prélevé 1 mL de la solution d'algues homogénéisée dans 19 mL d'isoton (solution de NaCl et de NaN_3). Un compteur électronique de particules (Coulter Counter) est utilisé pour le décompte.

Tableau 3.5: Composition du milieu de culture algale.

Eléments majeurs	g/L
1) Nitrate de sodium, $NaNO_3$	25.500
2) Chlorure de magnésium, $MgCl_2$	5.700
3) Chlorure de calcium, $CaCl_2$	4.410
4) Solution stock de micro-nutiments	voir ci-après
5) Sulfate de magnésium, $MgSO_4.2H_2O$	14.700
6) Phosphate de Potassium, K_2HPO_4	1.044
7) Bicarbonate de sodium. $NaHCO_3$	15.000
Eléments traces	
1) H_3BO_3	.18552
2) $MnCl_2.4H_2O$	.41561
3) $ZnCl_2$	.00327
4) $FeCl_3.6H_2O$	.16
5) $CaCl_2.6H_2O$	1.428
6) $Na_2MoO_4.2H_2O$	.00726
7) $CuCl_2.2H_2O$	.012
8) $FeSO_4.7H_2O$	.39

milieu de culture: ajout de 1 mL de chaque solution 1 à 7 dans 900 mL d'eau ultra-pure. Compléter à 1000 mL.

Les volumes de chaque triplicata ont été regroupés dans le même erlenmeyer lorsque chacune des 3 valeurs de compte correspondant différait de moins de 15 % de la moyenne. Dans le cas contraire, le volume dont la valeur du compte était la plus éloignée, était éliminé. Un volume de 5 à 10 mL de solution algale était filtré sous vide sur un filtre de type AP, lavé et pré-pesé. Le filtre avec algues était séché au four pendant 2 heures à une température de 70°C. Les filtres étaient ensuite repesés, puis la biomasse algale en mg/L était obtenue en divisant le poids algal par le volume filtré en litre.

3.1.5 Test de toxicité avec bactéries (Microtox)

Ce test utilisant le réactif bactérien (*Photobacterium phosphoreum*) a été appliqué pour déterminer la toxicité aiguë des eaux de ruissellement agricole et de eaux de lixiviation des sols. Ce test consiste à déterminer l'inhibition de l'activité bioluminescente de la bactérie marine *P. phosphoreum* par l'utilisation d'un appareil muni d'un photodétecteur, le Microtox, modèle 2055. Le mécanisme de production de lumière de la bactérie est lié à l'activité métabolique cellulaire, qui en présence de produits toxiques, fera diminuer l'activité luminescente. On établit une courbe dose-réponse à partir de laquelle on détermine la concentration % V/V, produisant 50% de réduction de l'intensité lumineuse (CI50) après une période d'expositon de 5 minutes à 15°C. L'unité toxique permet d'exprimer la CI50 en valeur absolue en divisant la valeur relative de 100% V/V par la valeur de CI50 obtenue. Le protocole ulilisé provient du bureau de normalisation du Québec, Ministère de l'Industrie et du Commerce (1987).

3.2 Evaluation de la génotoxicité

3.2.1 Croissance des plantes

Cette partie des expériences a nécessité la cueillette de plants de maïs fourrager cultivés en champs, à la station expérimentale du Service de Recherche en sol du MAPAQ à St-Lambert sur la rive sud, près de Québec. Des parcelles mesurant 87 m de longueur par environ 27 m de largeur, traitées selon les combinaisons

recherchées, avec de l'atrazine (Aatrex 80 W) au taux de 2 kg/ha, du lisier de porc aux taux de 0 à 317 kg N/ha, ou du fertilisant chimique entre 0 et 180 kg N/ha, ont été sélectionnées pour que soient prélevés, tout au long de la saison de croissance, des plantules et plants de maïs devant être homogénéisés pour la préparation d'extraits S1 et S9.

Champ N°1

Cette parcelle est la parcelle témoin. Elle n'a reçu aucun traitement d'atrazine, seulement du fertilisant au taux de 60 t/ha.

Champ N°2 (Giroux)

L'atrazine AAtrex a été appliquée en post-levée au taux de 2 kg/ha et le lisier de porc aux taux de 50 t/ha (158 kg N/ha et 100 t/ha (317 kg N/ha) pour servir de fertilisant en azote.

Champ N°3 (Côté)

Trois parcelles ont été fertilisées en pré-levée avec du lisier de porc à raison de 0 t/ha, 60 t/ha (190 kg N/ha) et 90 t/ha (285 kg N/ha). Le traitement à l'atrazine dans ces parcelles n'a pas eu lieu en 89 bien qu'en 88 l'atrazine (AAtrex 80W) avait été pulvérisée au taux de 2 kg/ha lorsque le maïs avait atteint 10 cm de hauteur.

Champ N°4

Ce champ a d'abord reçu le 30 mai une première application de prime extra (metolachlor 300 g/L, atrazine 190 g/L, triazines actives connexes 10 g/L) au taux de 8 L/ha suivi d'une seconde application le 28 juin au même taux.
Le fertilisant employé a été un fertilisant chimique à raison de 0 kg N/ha et 180 kg N/ha.

Au cours de la saison de croissance, après 2.5, 3.5, 4.5 et 10 semaines de croissance, les plants de maïs prélevés, ont été transportés dans une glacière jusqu'à la préparation des extraits qui se faisait la même journée que la récolte.

3.2.2 Extraction des plants de maïs

Les plants ont été lavés dans l'eau millipore puis plusieurs échantillons de feuilles ont été pesés, broyés dans l'azote liquide puis rapidement homogénéisés dans un tampon ou de l'eau millipore suivant la fraction à isoler.

3.2.3 Préparation des fractions S9 de plantes ou extraits S9

Le tampon de suspension (0.1 M tris pH 7.4, 1 mM EDTA, 0.6 M mannitol) était ajouté au broyat selon un rapport de 2:1 (v/w), puis l'homogénisation se pratiquait, sous atmosphère d'azote et dans un bain d'azote liquide, à vitesse maximale grâce à un homogénisateur puissant (Polytron), pendant 2 minutes. La suspension résultante était centrifugée à 9 000 g pendant 20 minutes à 4°C. Chaque surnageant était récolté, aliquoté, puis congelé à -80°C sous atmosphère d'azote (Gentile *et al.*, 1985; Gentile et Plewa, 1988).

3.2.4 Préparation de la fraction S1 de plantes ou extrait S1

Le tampon de suspension (de l'eau stérile millipore) était ajouté à l'homogénat selon un rapport 3:1 (v/w). La suspension résultante était centrifugée à 1 000 g pendant 20 minutes à 4°C. Les surnageants étaient aliquotés puis congelés à -80°C (Plewa et Gentile 1976).

3.2.5 Dosage des protéines

La concentration en protéines a été déterminée par dosage selon la méthode de Bradford modifiée par Bio-Rad (Bio-Rad, 1979; Bradford, 1976).

3.2.6 Test du dépistage génotoxique par le S.O.S. Chromotest

Le principe du test est que la plupart des dommages causés à l'ADN chez la bactérie *E. Coli* induisent un nombre de manifestations appelées collectivement la réponse SOS. Les dommages à l'ADN perturbent la réplication de l'ADN, ce qui entraîne la production d'un signal inducteur SOS qui favorise l'activation du produit du gène recA qui, à son tour, permet le clivage du produit du gène lexA répresseur général des gènes SOS. Le système SOS est habituellement inactif sous contrôle du répresseur, puisque les cellules ont développé une fonction d'édition permettant de maintenir une haute fidélité dans la réplication. Au moment où le répresseur est clivé, il s'inactive suite à l'activité protéolitique de recA, et suite à un arrêt de la réplication. Le système de réparation SOS permet alors la poursuite de la réplication à travers les segments endommagés d'ADN et cela au prix de la fidélité de la réplication. Le principe de ce système étant qu'il vaut mieux une survie avec perte d'information que pas de survie du tout. Ce système de réparation inductible, qui prône l'erreur, explique la mutagenèse induite par plusieurs sortes de substances mutagènes (Quillardet *et al.*, 1985; Quillardet et Hofnung, 1985).

Une façon simple de détecter les lésions d'ADN consiste à suivre chez une bactérie modifiée génétiquement (*E. Coli* souche PQ37) l'expression d'un des gènes SOS en le fusionnant au gène structural lacZ, codant pour l'enzyme β-galactosidase. LacZ est mis sous le contrôle du gène SOS sfiA, impliqué dans l'inhibition de la division cellulaire. Quant à la région normale lacZ de la bactérie, elle a été enlevée de façon à ce que l'activité de la β-galactosidase soit strictement dépendante de l'expression du gène sfiA. Il est alors possible de détecter l'expression des gènes SOS en surveillant les niveaux de β-galactosidase dans la souche manipulée pour obtenir une fusion sfiA::lacZ. Une mutation dans le gène uvrA rend la souche déficiente face à son système de réparation par excision, ce qui augmente la réponse lorsque certains agents endommagent l'ADN. Une mutation rfA rend la souche déficiente en lipopolysaccharide, permettant une meilleure diffusion de substances chimiques à l'intérieur de la cellule.

La souche à tester est incubée avec des concentrations croissantes de l'agent à tester. Après un certain temps permettant la synthèse protéique, on mesure l'activité

de la β-galactosidase. La concentration de l'enzyme est déterminée par réaction colorimétrique après ajout d'un réactif chromogénique. Le degré de couleur enregistré, proportionnel à la quantité d'enzyme β-galactosidase formé, fournit une mesure des dommages que subit l'ADN bactérien lors du test.

Il arrive que certains agents testés soient toxiques à de fortes concentrations et inhibent la synthèse protéique et, par là, occasionnent une sous-estimation de l'induction de la β-galactosidase. On dénote ce problème en estimant alors la viabilité des bactéries à partir de la quantité présente d'une enzyme constitutive , la phosphatase alcaline. La présence de cette enzyme périplasmique provoque l'apparition d'une couleur jaune lorsque la culture est viable. Un échantillon est considéré toxique si une faible réaction de la phosphatase alcaline est notée comparativement au témoin.

La réponse génotoxique se présente sous la forme d'une relation dose-réponse. La pente de la relation linéaire de la courbe représente l'indice du potentiel d'induction génotoxique de l'échantillon, soit le "*SOS Induction Potential*", le SOSIP. Le potentiel génotoxique est proportionnel à la valeur de SOSIP, (voir section 3.2.13).

3.2.7 Préparation des échantillons et des microplaques

Tous les essais avec et sans activation ont été pratiqués selon la méthode employée à Environnement Canada avec le SOS Chromotest (Environnement Canada, 1989), excepté que du S9 de plante a été substitué au S9 de foie de rat lors des tests nécessitant une activation in vitro.

Il s'agit d'abord de réhydrater la souche bactérienne lyophilisée avec le milieu nutritif. Il est nécessaire d'ajouter 20 µg/mL d'ampicilline afin d'empêcher d'autres types de bactéries de pousser dans le milieu. La souche PQ37 est résistante à l'ampicilline. La culture réhydratée est placée à 37.0 ± 0.5°C dans un incubateur pendant une période de 4 à 12 heures. L'incubation nocturne de 12 heures, donne une densité bactérienne plus élevée qui doit être diluée au moment de l'essai.

Le SOS Chromotest s'effectue avec 2 microplaques. La première sans activation métabolique (-S9) permet de détecter les génotoxines actives. La deuxième avec activation (+S9) permet d'identifier la présence de pro-mutagènes ou de pro-cancérigènes en simulant le processus d'activation métabolique retrouvé chez les mammifères. L'activation métabolique est réalisé par l'ajout d'un extrait de foie, provenant de rats traités à l'Arochlor 1254, aux bactéries du test.

Tous les échantillons d'eau de ruissellement non concentrés et concentrés, et les échantillons de sols ont été testés à l'aide de ces 2 microplaques. Les échantillons d'extraits de plantes ont été testés à l'aide de la microplaque sans activation et finalement l'atrazine a été testée avec activation *in vitro* par la fraction S9 de plant de maïs, à la place du S9 de foie de rat, afin de simuler l'activité métabolique de plantes plutôt que celle de mammifère. L'activation de l'atrazine avec du S9 de foie de rat est négative.

Trois contrôles positifs ont été incorporés à la procédure: le mutagène 4-nitro-quinoline-N-oxide (4NQO) pour la partie sans activation métabolique, le pro-mutagène 2-amino-anthracène (2AA) pour la partie avec activation métabolique de mammifère, et le 4-nitro-o-phényl-enediamine (NOP) pour la partie avec activation métabolique de plante. On réalise 8 dilutions en série (1:2) des échantillons et des contrôles positifs, dans le diluant diméthyle sulfoxide (DMSO) 10% (v/v) solution saline (NaCl) 0.85% (v/v). Les dilutions des contrôles positifs se font à partir de solutions de départ de 10 ug/mL pour le 4NQO, de 1 mg/mL pour le 2AA, et de 1.6 mg/mL (20 x 10^{-8} M) pour le NOP (Environnement Canada, 1989).

3.2.8 Disposition des échantillons dans la microplaque

Le tableau 3.6 montre la disposition des échantillons dans les micro-plaques. Pour l'essai sans activation métabolique, la micro-plaque 1 est utilisée. Pour l'essai avec activation métabolique, la micro-plaque 2 est utilisée. Les mêmes opérations sont effectuées dans les 2 micro-plaques à l'exception de l'addition des contrôles qui diffèrent à l'étape c:

Tableau 3.6: Disposition des échantillons dans les microplaques.

10 µL/puit

		Colonnes					
		Blanc	Témoin	Courbe standard (contrôles)		Échantillons	
		1	2	3		4 à 12	
				Plaque 1	Plaque 2		
				4NQO (µg/mL)	2AA (µg/mL)	Concentration (%)	Dilution
Rangées	A	solvant DMSO (10%) salin	solvant DMSO (10%) salin	10	100	100	non dilué
	B			5	50	50	1:2
	C			2.5	25	25	1:4
	D			1.25	12.5	12.5	1:8
	E			0.63	6.25	6.25	1:16
	F			0.32	3.22	3.125	1:32
	G			0.16	1.56	1.56	1:64
	H			0.08	0.78	0.78	1:128

a) la colonne 1 sert de blanc et 10 μL de solvant DMSO sont introduits dans chaque puit de cette colonne;

b) la colonne 2 permet d'évaluer le bruit de fond et la viabilité des bactéries; c'est le témoin. On dépose 10 μL de solvant par puit;

c) la colonne 3 sert de contrôle positif. Pour la microplaque 1, 10 μL des solutions diluées de 4NQO sont introduits. Pour la microplaque 2, 10 μL de solutions diluées de NOP sont introduits pour l'activation à l'extrait de plantes tandis que 10 μL de solutions diluées de 2AA sont introduits pour l'activation à l'extrait de foie;

d) les colonnes 4 à 12 servent aux échantillons et 10 μl des dilutions des échantillons sont utilisés dans chaque puit correspondant.

Après la période d'incubation du milieu bactérien, on introduit dans les micro-plaques 1 et 2, 100 μL de milieu nutritif (sans bactéries) dans chaque puit de la colonne 1. Pour la microplaque 2, la même proportion de mélange S9 que pour l'inoculum bactérien est ajouté au bouillon nutritif afin de tenir compte de la turbidité causée par le mélange S9. Pour la microplaque 1, on introduit 100 μL de culture bactérienne dans les puits des colonnes 2 à 12. L'absorbance de la culture doit être comprise entre 0.08 et 0.15 à 600 nm. Pour la microplaque 2 (avec activation), le mélange S9 est ajouté à la culture bactérienne dans une proportion de 25%. Les 2 microplaques sont incubées à une température de 37°C ± 0.5°C pour une période de 2 heures.

Durant l'incubation, les contrôles génotoxiques interagissent avec l'ADN des bactéries et induisent la synthèse de β-galactosidase. Il en est de même pour les échantillons qui s'avèrent génotoxiques. La dernière partie du test consiste à mesurer l'activité génotoxique résultant de ces interactions. Il s'agit de doser simultanément la quantité de β-galactosidase et d'alcaline phosphatase libérées à l'aide des chromogènes ONPG (o-nitrophényle-b-D-galactopyranoside), substrat bleu pour la β-galactosidase, et le PNPP (p-nitrophényle-phosphate-disodium), substrat jaune pour l'alcaline phosphatase, que l'on ajoute à raison de 100 μL/puit après avoir

mélangé les 2 substrats deux à deux. On incube de nouveau à 37°C pour une période de 60 à 90 minutes. Lorsqu'un gradient de couleur apparaît, on mesure la densité optique à 615 nm afin de déterminer l'activité génotoxique et à 405 nm pour déterminer la viabilité bactérienne. Les lectures peuvent s'effectuer aux 15 minutes ou par choix arbitraire d'un temps fixe. On utilise à cette fin le lecteur de microplaque photométrique, le Multiskan(MC).

3.2.9 Calcul et expression des résultats de la méthode en micro-plaques

Il n'a pas été possible d'établir une courbe dose-réponse avec les échantillons d'atrazine testés avec du S9 de plantes bien que plusieurs concentrations montraient des DO_{615} significativement différentes du témoin + 2 écart-types. L'essai a été repris avec des triplicata d'une même concentration et l'activité génotoxique a été mise en évidence au moyen d'une comparaison des moyennes (échantillon vs témoin) à l'aide du test de Student à 5%.

Les sous-sections 3.2.9.1 à 3.2.9.4 sont tirées du protocole expérimental d'Environnement Canada.

3.2.9.1 Correction de la toxicité

La toxicité de certains échantillons peut interférer avec la réponse SOS et perturber la linéarité des résultats. Les lectures de densité optique à 615 nm sont corrigées par le facteur de correction suivant:

$$DO_O / DO_X$$

où

DO_O : Densité optique moyenne à 405 nm de la phosphatase alcaline seule (témoin)

DO_X : Densité optique à 405 nm de la phosphatase alcaline en présence d'une concentration donnée du matériel mis à l'essai.

Ce facteur de correction est multiplié par la valeur de densité optique à 615 nm pour une concentration donnée du matériel mis à l'essai.

3.2.9.2 Correction reliée à l'activité de la phosphatase alcaline

Le filtre à 405 nm ayant un faible pouvoir de résolution, une surestimation des valeurs de densité optique à cette longueur d'onde peut donc se produire due à un empiètement de la coloration bleue sur la jaune. Il est donc nécessaire d'établir une valeur précise de densité optique à 405 nm.

i) Courbe standard

L'empiètement du bleu sur le jaune s'établit à partir d'une courbe standard. Une microplaque à 16 puits fournie par le fabricant Orgenics est utilisée pour établir la courbe standard. Les puits de cette microplaque contiennent des concentrations décroissantes d'un réactif chromogène bleu.

La courbe standard s'établit comme suit:

a) ajouter 100 mL de bouillon nutritif dans chaque puits de la microplaque;
b) lire la densité optique à 615 nm et à 405 nm;
c) établir la relation entre les densités optiques à 405 nm en fonction des densités optiques à 615 nm.

Des essais en laboratoire ont démontré la similarité de la courbe standard après avoir effectué plusieurs replicats de celle-ci. Une courbe standard peut donc être utilisée pour une grande série d'essai de SOS Chromotest(MC) et être vérifiée ponctuellement.

ii) Correction de la valeur de la densité optique à 405 nm

La valeur corrigée de la densité optique à 405 nm pour une concentration donnée de l'échantillon se calcule de la façon suivante:

$$DO_{405} = DO_{405}E - (DO_{615}E \times (DO_{405}C / DO_{615}C))$$

où

DO_{405} : Valeur corrigée de la phosphatase alcaline

$DO_{405}E$: Densité optique à 405 nm de l'échantillon pour une concentration donnée

$DO_{615}E$: Densité optique à 615 nm de l'échantillon pour une concentration donnée

$DO_{615}C$: Densité optique à 615 nm de la courbe standard dont la valeur est la plus rapprochée de la $DO_{615}E$

$DO_{405}C$: Densité optique à 405 nm de la courbe standard correspondant à la $DO_{615}C$

3.2.9.3 Facteur d'induction

Les facteurs d'induction sont déterminés selon la formule suivante:

$$F.I. = \frac{DO_{615}E \ / \ DO_{405}E}{DO_{615}T \ / \ DO_{405}T}$$

où

F.I. : Facteur d'induction

$DO_{615}E$: Densité optique corrigée à 615 nm de l'échantillon pour une concentration donnée

$DO_{405}E$: Densité optique corrigée à 405 nm de l'échantillon pour une concentration donnée

$DO_{615}T$: Densité optique moyenne à 615 nm du témoin

$DO_{405}T$: Densité optique corrigée moyenne à 405 nm du témoin

Les facteurs d'induction normalisent les réponses et permettent la comparaison entre les essais avec ou sans activation et entre les différentes expériences.

3.2.9.4 Expression de l'activité génotoxique

Pour chacun des échantillons, une relation des facteurs d'induction en fonction des concentrations testées peut être tracée. La pente de la portion linéaire de la courbe

multipliée par un facteur de 10 représente l'indice du potentiel d'induction génotoxique de l'échantillon, soit le SOSIP ("*SOS Induction Potential*").

3.2.10 Préparation des échantillons par la méthode Quillardet et Hofnung

Cette méthode (Quillardet et Hofnung, 1985) a été employée pour les tests sans activation des échantillons avec extraits de plants car la méthode par microplaque n'a pas donné des valeurs de DO_{615} plus grandes que le témoin. La souche bactérienne est réhydratée avec le milieu nutritif L (1% Bacto tryptone, 0.5% Bacto yeast extract, 1% NaCl, pH 7.2). 20 μg/L d'ampicilline sont ajoutés juste avant emploi du milieu pour l'expérience.

Le test se fait avec des éprouvettes de 15 mL et des volumes plus gros que ceux utilisés avec les microplaques. Les chromogènes ne sont pas mélangés et la lecture se fait sur les éprouvettes contenant individuellement chaque type de substrat.

Un volume de 0.1 mL de culture nocturne de la souche PQ37 est dilué dans 5 mL de milieu La (milieu L + ampicilline) et la culture est incubée pendant 2 heures environ. On dilue 1 mL de la culture avec 9 mL de milieu L lorsque l'essai ne requiert aucune activation, et avec 9 mL de mélange S9 lorsqu'il y a activation métabolique. Des fractions de 0.6 mL sont distribuées dans des tubes de 15 mL jetables contenant 20 à 40 μl du composé à tester. Une période d'incubation de 2 heures avec agitation est alors requise. Après incubation, deux fractions de 0.3 mL sont réparties dans 2 séries de nouveaux tubes. Une série, X, est utilisée pour l'essai avec la β-galactosidase et l'autre série, Y, pour l'alcaline phosphatase.

3.2.11 Test pour β-galactosidase

Après séparation des fractions en 0.3 ml, 2.7 ml de tampon B (Na_2HPO_4: 16.1 g, $NaH_2PO_4yH_2O$: 5.5 g, KCl: 0.75 g, $MgSO_4y7H_2O$: 0.25 g, SDS: 1 g, b-mercaptoéthanol: 2.7 ml/L d'eau distillée, pH: 7) est ajouté à chacun des tubes de la série X. Ces tubes sont incubés à 37°C, 5-10 minutes. On ajoute 0.6 ml d'une solution de 4 mg/ml ONPG (o-nitrophényl-β-D-galactopyranoside). Le test se termine,

après 10-90 minutes, en ajoutant 2 ml d'une solution de Na_2CO_3 1 M dans chaque tube. La réaction avec ONPG provoque l'apparition d'une couleur jaune et le temps nécessaire au développement de cette couleur doit s'ajuster pour que la densité optique à 420 se situe entre 0.1 et 0.4.

3.2.12 Test pour l'alcaline phosphatase

Ce test s'effectue avec la série de tubes Y. Le protocole utilisé est similaire à celui pour la β-galactosidase excepté que le tampon P ($C_4H_{11}NO_3$: 121 g, SDS: 1 g/L d'eau distillée, pH: 8.8) remplacent le tampon B et que 4 mg/mL de PNPP (p-nitrophényl phosphate) remplacent la solution ONPG. L'essai se termine par l'addition de 1 mL de HCl 2.5 M. La couleur disparaît après cet ajout. Après une attente de 5 minutes, le pH est changé par l'addition de 1 mL de tris(hydroxyméthyl)aminométhane 2 M qui fait également réapparaître une couleur jaune stable.

Les deux substances, témoins positifs (4NQO et NOP) sont employées dans cet essai. Le blanc est constitué de milieu L pour l'expérience avec activation métabolique.

3.2.13 Calcul et expression des résultats de la méthode Quillardet et Hofnung

L'activité enzymatique s'exprime en unités d'enzyme:

$$\frac{1\ 000 \times A_{420}}{t}$$

où

A_{420} : densité optique à 420 nm

t : longueur d'incubation en présence des substrats ONPG et PNPP en minutes.

Le rapport:

$$R = \frac{\text{nombre d'unités de } \beta\text{-galactosidase}}{\text{nombre d'unités d'alcalinephosphatase}} = \frac{A_{420}(b) \times t_P}{A_{420}(P) \times t_b}$$

reflète l'induction du gène sfiA lorsqu'une inhibition de la synthèse protéique survient, où t_P est le temps de réaction de l'alcaline phosphatase et t_b, le temps de réaction de la β-galactosidase.

Pour comparer les résultats obtenus dans différentes expériences, il est utile de normaliser le rapport R(C) d'un composé testé à la concentration C en le divisant par sa valeur à la concentration 0, R(0):

$$T(C) = \frac{R(C)}{R(0)}$$

Le SOSIP est ici encore la pente de la région linéaire d'une courbe dose-réponse. S'il n'y a pas de courbe dose-réponse, l'activité génotoxique peut être mise en évidence au moyen de comparaison de la moyenne des échantillons vs la moyenne des témoins, à l'aide du test de Student, lorsque plusieurs concentrations exhibent des DO_{615} supérieures à celle du témoin.

3.2.14 Composition du mélange d'activation

Méthode en micro-plaque

Sol 1	:	KCl	1.65 mole	50 µL
		$MgCl_2y6H_2$	0.4 mole	
Sol 2	:	tampon tris-HCl	0.2 mole	1250 µL
Sol 3	:	glucose 6-phosphate-monosodique	0.5 mole	25 µL
Sol 4	:	NADP disodique	0.1 mole	50 µL
		eau		
		S9 plante correspondant à 1 2,4 mg		1125 µL
		ou S9 foie de rat		
				2.5 mL

Méthode Quillardet et Hofnung

Sol 1 :	KCl	1.65 M	.2 mL
	$MgCl_26H_2$	0.4 M	
Sol 2 :	tampon tris-HCl	0.44 M	2.5 mL
Sol 3 :	glucose 6-phosphate-monosodique	0.5 M	.05 mL
Sol 4 :	NADP disodique	0.1 M	.15 mL
	eau ou milieu L	┐	6.1 mL
	S9 plante correspondant à 1 2,4 mg	|	1.0 mL
	ou S9 foie de rat	┘	═══
			10.0 mL

3.2.15 Extraction et concentration des liquides

Cette étape permet d'extraire et concentrer les substances organiques des échantillons d'eau de ruissellement afin que le mélange résultant concentré soit soumis au test de génotoxicité.

La méthode utilisée est celle de US EPA (1982; 1985) pour le fractionnement chimique des composées organiques. Cette procédure se nomme extraction acide-base, liquide-liquide. Elle est basée sur les constantes d'acidité (pK_a) de groupements fonctionnels organiques dans la structure moléculaire des composés. Les composés qui demeurent dans la phase organique à bas pH ou bas pK_a sont acides tandis que ceux qui demeurent dans la phase organique à haut pH sont basiques. Les composés qui ne démontrent aucun changement dans la solubilité, à un pH altéré, sont neutres. Le mélange organique complexe peut alors être séparé en fractions acide, basique et neutre en ajustant sélectivement le pH de la phase aqueuse.
Lorsqu'on ajoute un acide inorganique à pH < 2, les bases organiques sont alors protonnées et se solubilisent dans l'eau. Les composés organiques acides insolubles sont alors extractibles à l'aide d'un solvant. Lorsqu'on ajoute une base inorganique pH > 11, les acides organiques sont déprotonnés et les anions ainsi formés se solubilisent dans l'eau. Les composés organiques basiques insolubles sont extractibles au moyen du solvant employé. Le solvant est le chlorure de méthylène

(CH_2Cl_2) qualité pesticide. Comme il est plus dense que l'eau, la phase aqueuse se retrouve sur le dessus.

L'échantillon homogénéisé d'eau de ruissellement (3 L) est versé en deux volumes égaux dans deux ampoules de décantation. Le pH de chaque sous-échantillon est ajusté à 11 à l'aide d'hydroxyde de sodium 10 N. On extrait les composés organiques basiques avec le chlorure de méthylène qui est entrainé vers l'extérieur du ballon de décantation.

On réajuste le pH de la phase aqueuse à 2 avec une solution d'acide sulfurique 1 N. On agite et extrait les composés organiques acides et neutres dans le solvant qui est entraîné à l'extérieur par le bas de l'ampoule de décantation. Les volumes de solvant récoltés sont combinés puis on évapore le volume total au moyen d'un évaporateur rotatif. La température du solvant doit être amenée à 60°C. L'extrait organique obtenu est évaporé jusqu'à assèchement grâce à un petit jet d'azote, puis suspendu immédiatement avec le solvant DMSO qui est celui utilisé dans le test de génotoxicité. Les détails de la méthode figurent sur le schéma expérimental (Figure 3.1).

3.2.16 Extraction et concentration des composés organiques de sols

Préparation des échantillons de sol

200-500 g de sols ont été prélevés au moyen d'une carotte de 10 cm de profondeur, puis placés dans des pots de verre. Après un intervalle de 5 heures, les échantillons ont été placés à 4°C. Chaque échantillon a été séché 6 heures à la température de la pièce, puis a été homogénéisé avec un mélangeur électrique et ensuite réfrigéré à 4°C.

Application de la méthode Soxhlet

La phase initiale d'extraction permet d'enlever et de concentrer les composés organiques des échantillons de sol pour le test subséquent de la génotoxicité.

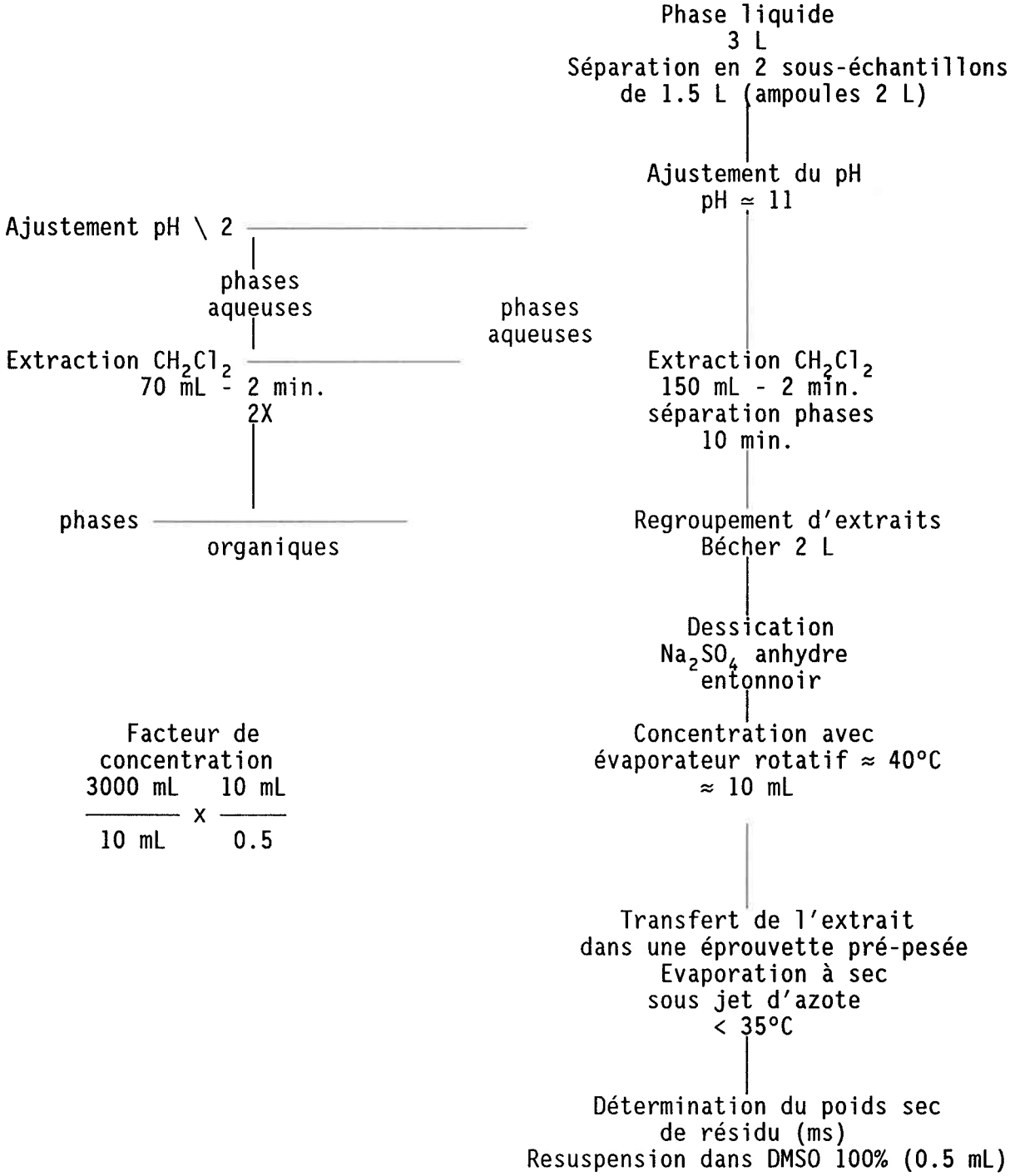
Un mélange de 20 g de sol et 10 g de sulfate de sodium anhydre est placé dans un doigt d'extraction, lequel est colmaté aux deux extrémités de laine de verre.

Lorsque le doigt est placé dans l'extracteur du Soxhlet, le condensateur, faisant circuler l'eau refroidissante, et la fiole contenant le solvant, sont réunis. La chaleur est appliquée de façon à produire six reflux à l'heure pendant 4 heures. De cette façon, l'extraction se complète et on recueille le solvant contenant les substances organiques. L'extrait est refroidi puis filtré sur une colonne de 10 cm contenant du sulfate de sodium, ce qui permet d'éliminer toute trace d'eau. Le solvant est alors évaporé sur un évaporateur rotatif de façon à recueillir un volume final de 1 ml de dichlorométhane. Ce volume est réduit jusqu'à assèchement au moyen d'un jet d'azote, puis l'extrait organique résultant est suspendu dans le solvant DMSO 100% en vue du test de génotoxicité.

Application de la méthode Xu-Dutka

La méthode consiste à réunir 20 g de sol avec un volume égal de 20 mL de DMSO 10%, saline 85%, puis d'agiter fortement pendant 5 minutes et finalement centrifuger à 10 000 rpm durant 20 minutes. Le surnageant est gardé à 4°C en vue du test de génotoxicité.

Figure 3.1
Procédure d'extraction et de concentration des échantillons liquides



CHAPITRE 4

Résultats et Discussion

4 RESULTATS ET DISCUSSION

4.1 Effets de l'atrazine et/ou du lisier de porc sur les eaux de ruissellement et sur les sols

4.1.1 Influence sur la composition de l'eau de ruissellement

Le tableau 4.1 présente les concentrations d'atrazine et de carbone organique dissous mesurées dans l'eau de ruissellement.

Correspondant à une pluie de 22 mm/h (90 minutes), les concentrations en atrazine et en carbone organique dissous (COD) des eaux de ruissellement provenant de sols traités au lisier en surface et à l'atrazine sont les plus élevées; soit 0.607 mg/L d'atrazine et 4.0 mg/L de COD (traitement avec lisier en surface 150 kg N/ha et atrazine 4 kg/ha) puis .15 mg/L d'atrazine et 4.2 mg/L de COD (traitement avec lisier en surface 150 kg N/ha et atrazine 2 kg/ha). Les concentrations d'atrazine des eaux de ruissellement provenant des traitements avec atrazine seule ou atrazine et lisier en profondeur sont en contrepartie, 9 et 6 fois moins élevées, avec .07 mg/L (traitement avec atrazine 4 Kg/ha ou atrazine 4 kg/ha avec lisier en profondeur 150 kg N/ha) et .025 mg/L (traitement avec atrazine 2 kg/ha ou atrazine 2 kg/ha avec lisier en profondeur 150 kg N/ha). Les concentrations en COD des eaux de ruissellement correspondant à ces 2 derniers traitements, sont 2 fois moins élevées avec 2.2 mg/L.

Correspondant à une pluie de 11 mm/hr (142 minutes), les eaux de ruissellement provenant de sols traités au lisier en surface (150 kg N/ha) et à l'atrazine (4 ou 2 kg/ha) démontrent également les plus fortes concentrations d'atrazine et cela encore proportionnellement aux taux initiaux d'atrazine épandus, soit 0.71 mg/L et 0.31 mg/L (traitement lisier en surface et atrazine à des doses de 4 et 2 kg/ha). Le traitement lisier (150 kg N/ha) et atrazine (4 kg/ha) fournit la plus forte concentration de COD, soit 10.27 ppm. Cette fois, les eaux de ruissellement correspondant aux sols traités seulement à l'atrazine ou à l'atrazine et lisier en profondeur présentent des concentrations d'atrazine 24 et 10 fois moins concentrées, soit .03 mg/L (atrazine à des doses de 4 et 2 kg/ha) que les eaux de ruissellement provenant de sols traités au

Tableau 4.1 Dosage d'atrazine µg/mL et de carbone organique dissous échantillons d'eau de ruissellement.

Traitement (boites)	Atrazine mg/L	COD mg/L	Atrazine mg/L	COD mg/L
	pluie 11 mm/h 142 min		pluie 22 mm/h 90 min	
Sol nu	-	2.32	.0001	2.32
Sol + Lisier enfoui (20 cm)	-	1.69	.0003	1.90
Sol + Lisier en surface	-	5.89	.0002	3.90
Sol + Atrazine (2 kg/ha)	.0333	1.69	.0244	2.40
Sol + Lisier enfoui (150 kg/ha) + Atrazine (2 kg/ha)	.0268	1.83	.0270	2.20
Sol + Lisier en surface (150 kg/ha) + Atrazine (2 kg/ha)	*.3130	3.75	*.1480	4.20
Sol + Atrazine (4 kg/ha)	.0301	3.57	.0838	2.23
Sol + Lisier enfoui (20 cm) + Atrazine (4 kg/ha)	.0356	1.80	.0665	2.23
Sol + Lisier en surface + Atrazine (4 kg/ha)	*.7120	10.27	*.6071	4.00

* boîtes avec lisier en surface

lisier en surface et à l'atrazine. Les valeurs de COD se rapprochent du sol témoin avec 1.7 et 1.8 mg/L à l'exception de 3.5 mg/L (atrazine 4 kg/ha).

Lorsqu'on applique du lisier en surface, conjointement à l'atrazine sur des sols, une partie de l'atrazine appliquée est entraînée avec la matière organique dissoute dans le lisier lors du ruissellement, alors que les sols sans lisier en surface retiennent davantage l'atrazine. Gangbazo *et al.* (1988) dans son rapport sur l'effet de la pluie sur les pertes d'azote, suite à l'épandage de lisier de porc, fait état d'un taux d'infiltration qui varie suivant le taux épandu de lisier et également suivant l'intensité d'une pluie. Pour un épandage de lisier de 150 kg N/ha, le taux d'infiltration correspond à 3.4 mm/h comparativement à 12.1 mm/h lorsque le traitement est un sol sans lisier (0 kg N/ha). Des pluies d'intensité 11 mm/h et 22 mm/h produisent des taux d'infiltration de 3.9 mm/h et 6.7 mm/h sur un sol avec lisier en surface tandis qu'un sol de lisier enfoui à 20 cm produit un taux d'infiltration de 9.1 mm/h et 12.1 mm/h respectivement. Lorsqu'il y a interaction taux d'épandage - intensité pluviale, la présence de lisier en surface à raison de 150 kg N/ha réduit le taux d'infiltration de 68% par rapport à des parcelles témoin, c'est-à-dire de 2.03 contre 9.25 mm/h. Gangbazo *et al.* (1988) rapporte également que le taux d'épandage en surface, couplé à l'intensité d'une pluie a un effet sur la concentration et la charge d'azote total kjeldahl (NTK) libérées dans l'eau. Les intensités de pluie de 11 mm/h et de 22 mm/h pour un taux d'épandage de 150 kg N/ha ont pour conséquence de produire une concentration en azote et une charge d'azote de 37.5 mg/L et 7.9 kg N/ha pour 11 mm/h de pluie ainsi que 17.6 mg/L et 3.3 kg N/ha (NTK) pour 22 mm/h de pluie respectivement lorsque les volumes totaux d'eau recueillis sont les mêmes pour les deux types de pluies.

Seulement les eaux de ruissellement correspondant à la pluie de 22 mm/h ont été dosées pour l'azote et utilisées pour les bioessais. Il est, donc, impossible de vérifier si 11 mm/h de pluie pendant 142 minutes libère davantage d'azote. Cependant, les concentrations en COD mesurées pour les deux pluies, suivent cette tendance. Les concentrations en COD dans les eaux provenant de traitement au lisier sont généralement plus importantes après application d'une pluie de 11 mm/h, 142 minutes, qu'après application d'une pluie de 22 mm/h, 90 minutes. Les

concentrations se situent autour de 5.9 contre 3.9 mg/L (traitement avec lisier), de 3.8 contre 4.2 mg/L (traitement avec lisier et 2 kg/ha d'atrazine) et de 10.27 mg/L contre 4.0 mg/L (traitement avec lisier et 4 kg/ha d'atrazine).

Quant à la concentration d'atrazine relâchée des sols avec lisier en surface, elle est légèrement supérieure lors de l'application d'une pluie de 11 mm/h comparativement à une pluie de 22 mm/h, soit 0.31 mg/L contre 0.15 (lisier et 2 kg/ha d'atrazine), 0.71 mg/L contre 0.6 mg/L (lisier plus 4 kg/ha d'atrazine).

Après simulation de pluies, les traitements consistant à appliquer du lisier en surface (150 kg N/ha) conjointement à l'atrazine aux taux respectifs de 4 et 2 kg/ha ont pour effet d'augmenter les pertes de COD et d'atrazine dans l'eau de ruissellement, comparativement aux traitements consistant à appliquer de l'atrazine aux mêmes taux avec lisier enfoui à 20 cm, ou de l'atrazine sans lisier.

Les rapports de concentrations d'atrazine dans l'eau correspondant à ces traitements (lisier en surface et atrazine/atrazine et lisier en profondeur ou lisier en surface et atrazine/atrazine) sont de 24 et 10 (pour 4 et 2 kg/ha d'atrazine) après une pluie d'intensité 11 mm/h sur une période de 142 minutes, et de 9 et 6, après une pluie d'intensité 22 mm/h sur une période de 90 minutes.

Pour des volumes d'eau recueillis comparables, la pluie de 11 mm/h sur une période de 142 minutes semble moins favoriser l'infiltration et produire davantage de perte d'atrazine et de COD comparativement à la pluie de 22 mm/h sur une période de 90 minutes.

Des résultats exprimés en unité de masse (volumes recueillis x concentration) plutôt qu'en concentration, permettraient de mieux démontrer les différences liées à l'intensité et à la durée de pluie ainsi qu'à la présence de lisier en surface sur les pertes d'atrazine et le COD dans l'eau de ruissellement.

4.1.2 Toxicité des eaux de ruissellement obtenue au moyen d'un bio-essai avec l'algue Selenastrum capricornutum

Le tableau 4.2 présente la moyenne des biomasses algales obtenues pour chacune des dilutions d'échantillons d'eau de ruissellement correspondant à chaque traitement, pour une pluie de 22 mm/h. Les dilutions d'échantillons ont été de 10x, 20x, 100x, 200x et 1000x la concentration initiale. Trois et dix triplicata d'échantillons, respectivement, ont servi au calcul de la moyenne des biomasses pour le contrôle (milieu AAP) et le traitement sol témoin; deux triplicata d'échantillons ont permis d'établir la moyenne des biomasses correspondant aux autres traitements.

Le milieu ayant servi à faire les dilutions d'échantillons contenait une quantité connue d'éléments nutritifs essentiels à la croissance algale dont de l'azote et du phosphore de façon à pouvoir distinguer entre les effets liés à une carence en éléments essentiels de ceux associés à la présence d'atrazine.

La toxicité des eaux de ruissellement correspondant à chaque traitement se traduit par le rapport moyen Bx/Bt, calculé à partir de la somme des rapports biomasse algale mesurée pour chaque échantillon correspondant à un traitement sur la biomasse algale des échantillons de contrôle, divisée par le nombre d'échantillons par traitement. Le tableau 4.2, ainsi que les figures 4.1 et 4.2 présentent ces rapports moyens pour chaque dilution d'échantillon. Le rapport Bx/Bt du contrôle est de 1.

Les sols, non traités au lisier (fig. 4.1) avec ou sans atrazine produisent des eaux de ruissellement toxiques envers les algues, à la plus petite dilution 10x. Aux dilutions subséquentes 20x, 100x 200x et 1000x, les eaux de ruissellement sont non-toxiques et les rapports Bx/Bt se rapprochent de la valeur un du contrôle.

Le rapport Bx/Bt correspondant au traitement sol témoin affiche la valeur 0.39 alors que les traitements à l'atrazine aux taux de 2 et 4 kg/ha produisent des rapports Bx/Bt de 0.045 et 0.085 respectivement.

Tableau 4.2:

a) Moyennes des biomasses algales (Bx) des échantillons d'eau de ruissellement (mg/L)

+N+P

	Dilutions					Contrôle
	10X	20X	100X	200X	1000X	
Sol témoin	36.5	93.4	102.3	92	94	96
Sol + Atrazine (2 kg/ha)	5.25	108.0	108	112	112	114
Sol + Atrazine (4 kg/ha)	8.25	96	105	108	100	99
Sol + Lisier (150 kg/ha)	112.0	148	114	112	118	114
Sol + Lisier (150 kg/ha) + Atrazine (2 kg/ha)	92	128	122	104	102	99
Sol + Lisier (150 kg/ha) + Atrazine (4 kg/ha)	43	132	113	94	100	99

b) Biomasses mesurées (Bx)/Biomasse contrôle (Bt) des eaux de ruissellement

+N+P

	Dilutions					Contrôle
	10X	20X	100X	200X	1000X	
Sol témoin	.39	.98	.99	.97	.99	1
Sol + Atrazine (2 kg/ha)	.045	.95	.95	.98	.98	1
Sol + Atrazine (4 kg/ha)	.085	.98	1.08	1.1	1.02	1
Sol + Lisier (150 kg/ha)	1.05	1.53	1.0	.98	1.04	1
Sol + Lisier (150 kg/ha) + Atrazine (2 kg/ha)	.9	1.3	1.24	1.06	1.04	1
Sol + Lisier (150 kg/ha) + Atrazine (4 kg/ha)	.44	1.34	1.15	.96	1.02	1

Le test t de student (comparaison de moyennes) démontre que ces deux dernières valeurs sont significativement différentes de celle correspondant au sol témoin, et correspondent à des chutes de croissance algale de 34.5 et 30.5%, par rapport au sol témoin, démontrant l'effet toxique de l'atrazine (tableau 4.2 a). La toxicité de l'eau du sol témoin, pourrait être attribuable au fait que certaines substances du sol libérées dans l'eau de ruissellement peuvent se complexer aux éléments nutritifs essentiels aux algues les rendant moins biodisponibles.

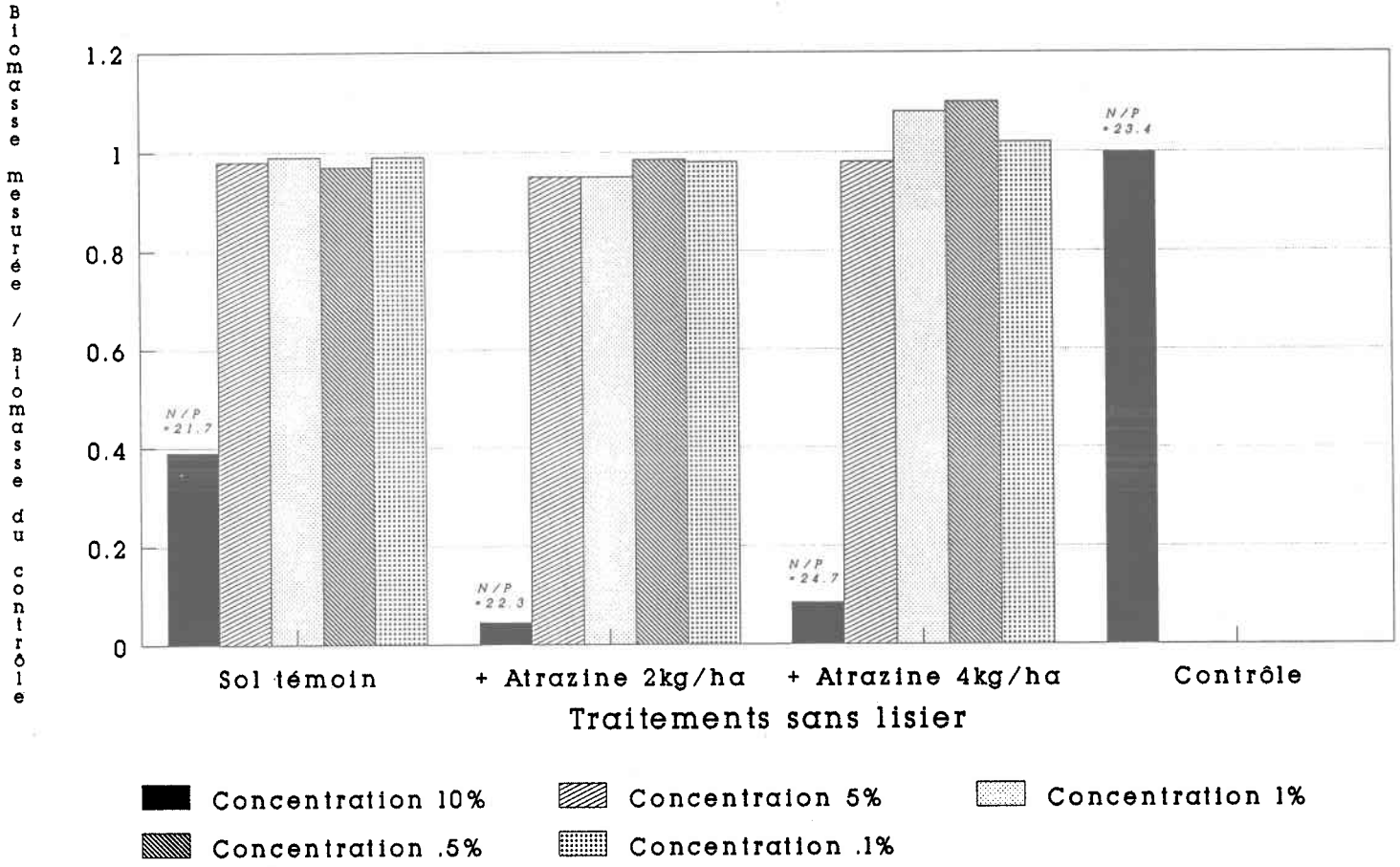
La toxicité démontrée dans les 2 autres cas n'est, cependant, pas proportionnelle à la concentration d'atrazine mesurée dans l'eau de ruissellement pour une pluie de 22 mm/h durant 90 minutes (tableau 4.1). A la dilution 10x, les concentrations d'atrazine mesurées dans l'eau de ruissellement pour les traitements d'atrazine aux taux de 2 et 4 kg/ha sont de 0.0025 et 0.008 mg/L respectivement. La concentration mesurée n'est pas de toute évidence, la concentration de substances toxiques biodisponibles.

Les eaux de ruissellement provenant des traitements avec lisier (fig. 4.2b) présentent un profil des rapports Bx/Bt différent de celui des eaux de ruissellement provenant de traitements sans lisier. La présence de lisier, surtout lorsqu'il est épandu en surface, fournit un apport supplémentaire d'éléments nutritifs en NH_3 et $O\text{-}PO_4$ (tableau 4.3). La concentration d'orthophosphate $O\text{-}PO_4$ libérée dans l'eau semble favoriser la croissance algale et fait diminuer les rapport N/P qui passent de 22 ou 24 (cas sans lisier) à 8 (cas avec lisier dilution 10X), si bien que l'azote devient le facteur limitant de la croissance algale sans affecter la croissance (fig.4.2).

Seule, l'eau de ruissellement correspondant au traitement (lisier et 4 kg/ha d'atrazine) démontre une toxicité apparente, à la dilution 10x, avec un rapport Bx/Bt de 0.44. Ce rapport constitue une baisse de 56% par rapport à celui de l'eau de ruissellement correspondant au lisier seulement. On a enregistré 0.06 mg/l d'atrazine comme concentration dans l'eau correspondant à ce traitement à une dilution 10x. L'eau de ruissellement correspondant au traitement (lisier et 2 kg/ha d'atrazine), pour laquelle on a mesuré 0.015 mg/L d'atrazine occasionne une baisse du rapport Bx/Bt de 10% seulement.

Figure 4.1

Biomasses mesurées / Biomasse contrôle des eaux de ruissellement



Pluie simulée: 22 mm/h, 90 minutes

Tableau 4.3: Evolution des éléments nutritifs dans les échantillons d'eau de ruissellement avec ajout de N et P, mars, pluie de 22mm/h

(Eaux de ruissellement) (+N+P) Mars Pluie 22 mm/heure

Échantillons	NO_2+NO_3	Témoin + $NO_2+NO_3+NH_3$ 10X	NH_3	$O\text{-}PO_4$	Témoin + $O\text{-}PO_4$ 10X	N_t	$NO_2+NO_3+NH_3/O\text{-}PO_4$
Sol	4.0	4.03	.02	.125	.18	4.0	22.4
Sol + Lisier enfoui	4.0	4.03	.02	.100	.18	4.0	22.4
Sol + Atrazine 2 kg/ha	3.9	4.03	.02	.120	.18	3.9	22.4
Sol + Atrazine 2 kg/ha + Lisier enfoui	3.9	4.03	.02	.100	.18	3.9	22.4
Sol + Atrazine 4 kg/ha +	4.0	4.03	.02	.130	.16	4.0	24.7
Sol + Atrazine 4 kg/ha + Lisier enfoui	4.0	4.03	.02	.130	.16	3.9	24.7
Sol + Lisier en surface	3.9	4.42	.44	.420	.56	4.4	7.8
Sol + Atrazine 2 kg/ha + Lisier en surface	4.0	4.48	.42	.530	.58	4.7	7.8
Sol + Atrazine 4 kg/ha + Lisier en surface	3.9	4.42	.35	.440	.53	4.3	8.5

Tableau 4.3: Evolution des éléments nutritifs dans les lixiviats de sol avec ajout de N et P, juillet, pluie de 11mm/h (suite)

(Lixiviats de sol) **(+N+P)** Novembre Pluie 11 mm/heure

Échantillons	NO_2+NO_3	Témoin + $NO_2+NO_3+NH_3$ 10X	NH_3	O-PO_4	Témoin + O-PO_4 10X	N_t	P_t	$NO_2+NO_3+NH_3$/O-PO_4
Sol	7.6 7.7	7.65 7.48	.02 .04	.010 .010	.167 .178	8.7 8.3	.025 .040	46.0 42.0
Sol + Lisier enfoui	8.2 8.3	8.41 7.87	.03 .03	.015 .010	.175 .178	9.2 8.9	.025 .045	48.0 44.0
Sol + Atrazine 2 kg/ha	7.6 7.8	7.70 7.07	.04 .05	.010 .010	.167 .179	8.9 8.2	.010 .050	46.3 39.5
Sol + Atrazine 2 kg/ha + Lisier enfoui	8.5 8.5	8.60 8.94	.02 .02	.015 .015	.180 .188	9.1 8.7	.035 .040	47.8 47.5
Sol + Atrazine 4 kg/ha	7.5 7.8	7.41 7.60	.02 .02	.015 .015	.175 .188	8.4 8.2	.035 .045	42.3 40.6
Sol + Atrazine 4 kg/ha + Lisier enfoui	7.9 8.5	8.14 8.26	.03 .03	.010 .015	.177 .179	9.0 8.9	.025 .050	45.9 46.1
Sol + Lisier en surface	12.0 12.9	12.34 13.10	.02 .04	.010 .015	.172 .183	13.6 14.0	.025 .040	71.7 71.6
Sol + Atrazine 2 kg/ha + Lisier en surface	10.5 12.0 10.7	10.64 12.34 10.94	.02 .02 .02	.015 .020 .015	.172 .193 .188	11.9 12.2 10.8	.035 .045 .040	61.8 63.9 58.1
Sol + Atrazine 4 kg/ha + Lisier en surface	11.7 11.1 11.6	11.60 11.60 11.30	.03 .02 .02	.015 .010 .015	.172 .177 .188	13.2 12.2 12.1	.040 .025 .045	67.6 65.0 62.9

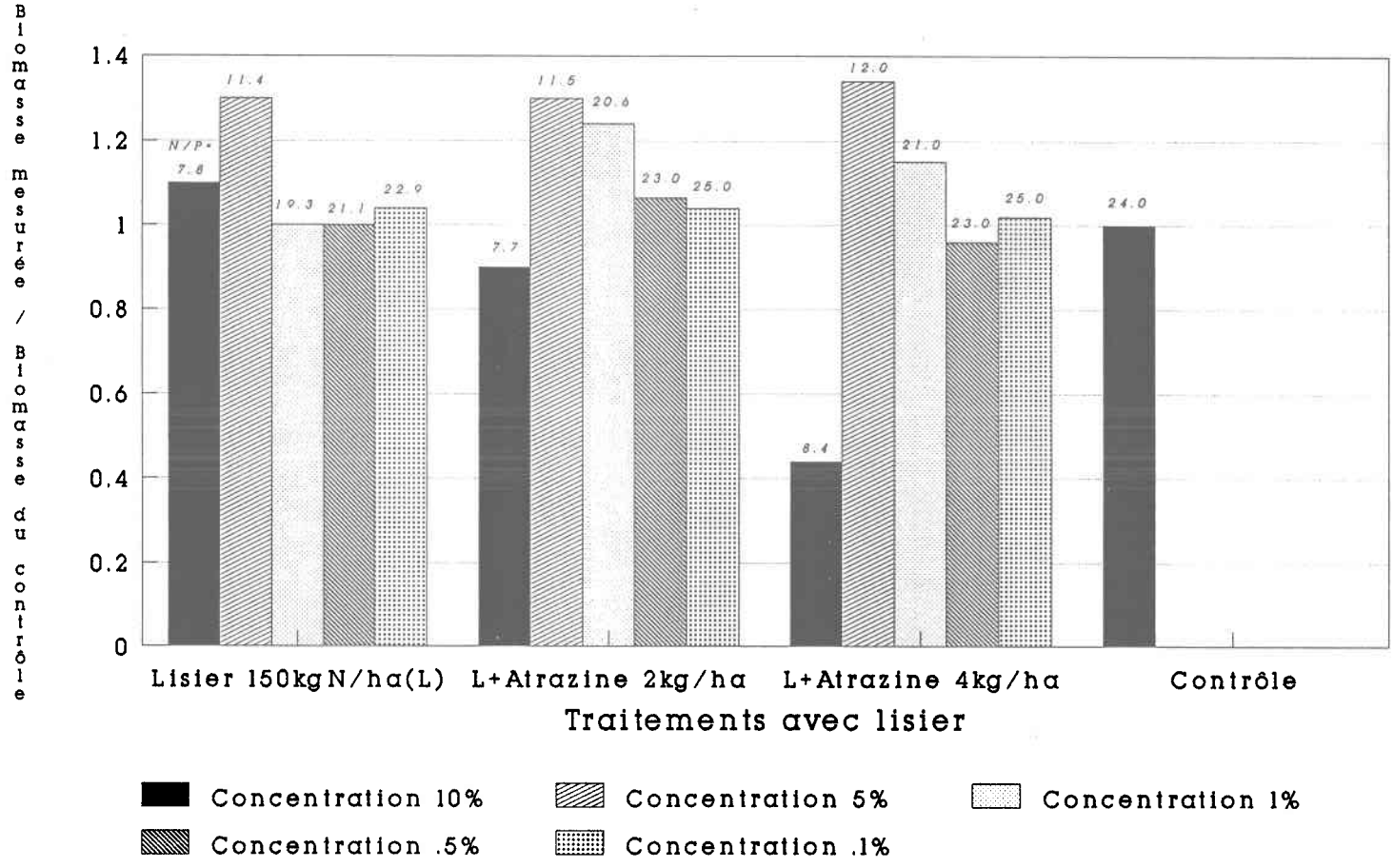
Tableau 4.3: Evolution des éléments nutritifs dans les lixiviats de sol avec ajout de N et P, novembre, pluie de 11mm/h (suite)

(Lixiviats de sol) (+N+P) Juillet Pluie 11 mm/heure

Échantillons	NO_2+NO_3	Témoin + $NO_2+NO_3+NH_3$ 10X	NH_3	O-PO_4	Témoin + O-PO_4 10X	N_t	P_t	$NO_2+NO_3+NH_3$/O-PO_4
Sol	5.0	5.83	.05	.020	.165	6.0	.080	35.3
Sol + Lisier enfoui	6.3	6.74	.06	.020	.165	6.8	.095	40.8
Sol + Atrazine 2 kg/ha	5.0	5.24	.02	.020	.130	5.6	.080	40.3
Sol + Atrazine 2 kg/ha + Lisier enfoui	6.5	7.24	.02	.020	.130	6.8	.055	55.7
Sol + Atrazine 4 kg/ha	5.4	5.67	.02	.020	.130	6.0	.065	43.6
Sol + Atrazine 4 kg/ha + Lisier enfoui	6.0	7.34	.02	.015	.130	6.9	.075	56.4
Sol + Lisier en surface	11.5	12.35	.06	.020	.130	11.8	.080	95.0
Sol + Atrazine 2 kg/ha + Lisier en surface	12.2	13.45	.07	.010	.135	12.8	.075	99.6
Sol + Atrazine 4 kg/ha + Lisier en surface	11.5	12.84	.03	.020	.135	11.8	.065	95.1

Figure 4.2

Biomasses mesurées / Biomasse contrôle des eaux de ruissellement



Pluie simulée: 22 mm/h, 90 minutes

Lorsqu'on compare ces résultats aux concentrations d'atrazine, ci-haut mentionnées, de 0.0025 à 0.008 mg/L, qui occasionnent des baisses de 34.5 et 30.5% du rapport Bx/Bt pour les traitements sans lisier, on constate un manque de constance et de proportionnalité dans les résultats, attribuable sans doute au fait que la concentration d'atrazine biodisponible ayant réagit avec les algues ne correspond pas à celle qui a été mesurée dans l'eau de ruissellement.

La concentration d'atrazine mesurée a été obtenue suite à une extraction des parties liquide et particulaire de l'eau de ruissellement par le solvant organique acétate d'éthyl, avant l'étape de filtration de l'eau de ruissellement.

Ce sont, cependant, des échantillons d'eau de ruissellement filtrés, qui ont été mis en contact avec l'algue *S. capricornutum* et pour lesquels, des biomasses ont été mesurées. L'étape de filtration, parce qu'elle retient les particules en suspension qui peuvent adsorber l'atrazine, met les algues en présence d'une concentration d'atrazine sans doute plus faible que celle que l'on mesure avant la filtration et cela particulièrement lorsqu'il y a du lisier.

Les diminutions de croissance algale relativement peu élevées dans les cas d'eaux de ruissellement provenant de sols traités au lisier en surface et à l'atrazine, pour lesquels l'eau de ruissellement non filtrée est plus concentrée en atrazine comparativement à ceux traités à l'atrazine sans lisier (fig.4.2 et 4.1), démontrent que le lisier non seulement entraîne l'atrazine dans l'eau de ruissellement, mais également, qu'il cause un effet tampon et agit comme un facteur antagoniste vis-à-vis la toxicité de l'atrazine. Le lisier constitue une source organique adsorbante qui rend l'atrazine moins biodisponible.

Schnitzer et Khan (1978) démontrent que l'étendue d'adsorption d'un pesticide dépend de sa nature et ses propriétés, du type et de la quantité de matière organique présente et de l'environnement fourni. Une fois adsorbé par la surface de la matière organique, le pesticide peut être désorbé facilement, avec difficulté, ou pas du tout.

De plus, la présence d'éléments nutritifs apportés par le lisier dans l'eau de ruissellement, occasionne un effet stimulateur de la croissance algale qui rend difficile

la comparaison des valeurs Bx/Bt résultant des traitements avec lisier avec celles résultant de traitements sans lisier et un plan expérimental mieux développé permettrait de contrôler ce facteur.

Des évaluations de concentration d'atrazine de la phase particulaire de l'eau de ruissellement, ainsi que la phase liquide après filtration auraient permis de mieux associer la réponse algale à la concentration d'atrazine biodisponible.

Les dilutions subséquentes 20x et 1000x, correspondant à chacun des traitements avec lisier, donnent des rapports Bx/Bt plus grands que 1, démontrant l'effet stimulant ou auxénique sur les algues des éléments nutritifs tels $O\text{-}PO_4$, relâchés par le lisier dans l'eau de ruissellement.

La toxicité d'échantillons d'eau de percolation ayant reçu du lisier est souvent remplacée par un effet stimulateur, comme l'ont constaté Papineau (1984) et Cloutier *et al.* (1983). Ils rapportent qu'à de faibles concentrations, moins que 100 mg/L, le lisier de porc encourage la croissance de l'algue *S. capricornutum*, comparativement au milieu de contrôle AAP, bien qu'une forte concentration peut avoir un effet toxique.

Les concentrations d'atrazine causant une toxicité entre 0.0025 et 0.06 mg/L dans l'eau de ruissellement sont, cependant, en accord avec celles de la littérature. Buttler (1977) et Stratton (1984) font état de concentrations de 0.001 mg/L pouvant réduire la photosynthèse et la croissance de certaines espèces d'algues. De Noyelles *et al.* (1982) ont démontré que des concentrations d'atrazine de 0.02 et de 0.5 mg/L abaissent la croissance phytoplanctonique en peu de jours dans des étangs expérimentaux. Stratton (1984) fait part d'une toxicité exprimée par des EC_{50} entre 0.1 et 0,5 mg/L pour la photosynthèse et entre 0.03 et 5.0 mg/L pour la croissance.

Il aurait été intéressant de vérifier si des produits de dégradation de l'atrazine ont le temps de se former par transformation chimique et bactérienne. L'analyse de ces produits n'a pu se faire. Jones *et al.* (1982) ont noté que l'hydroxyatrazine dans les systèmes aquatiques représentent 90% de l'atrazine appliquée après quelques semaines, comparativement à 5-10% des sous-produits déalkylés. L'hydroxyatrazine

est, cependant, non toxique lorsqu'il n'interagit pas avec d'autres produits de dégradation (Stratton, 1984).

4.1.3 Toxicité des eaux de ruissellement par la méthode avec la bactérie bioluminescente *Photobacterium phosphorum*

Aucun effet toxique n'a été mesuré à partir des échantillons d'eau de ruissellement correspondant aux neuf traitements par la méthode avec la bactérie bioluminescente. La bactérie *P. phosphorum* n'est pas affectée par la présence des substances inorganiques et organiques incluant l'atrazine et ses produits de dégradation contenus dans l'eau de ruissellement après simulation d'une pluie de 22 mm/h favorisant le ruissellement sur les 9 bacs de sol traités.

4.1.4 Effets auxiniques et toxiques de lixiviats de sol

4.1.4.1 Migration de l'atrazine et prélèvement d'échantillons

L'atrazine appliquée au sol migre différentiellement. Le taux de carbone organique du sol ou matière organique influence cette migration. Le facteur retard (R) déterminé dans des sols contenant 1% et 5% de carbone organique permet d'évaluer la vitesse de transmission de l'eau par rapport à la vitesse de soluté (atrazine). $R = 1 + \sigma_b/\theta K_D$ où rho (σ_b) représente la densité apparente sèche du sol de 1.5 g/cm^3, teta (θ) représente la porosité qui est le volume de vide du sol: 0.3 - 0.4 et K_D étant un coefficient de distribution qui équivaut à K_{OC} X f_{oc} (coefficient de distribution du carbone organique (173 L/kg) x la fraction du carbone organique (CO) retrouvée dans les sols). R est estimé à 7.5 lorsque CO = 1% et à 32.0 lorsque CO = 5%. L'eau s'écoule, donc, plus vite que le soluté atrazine dans le sol lorsque CO = 5% ou lorsqu'il y a du lisier en surface comparativement à un sol sans lisier.

La migration verticale de l'atrazine dans les mini-parcelles suite à une pluie de 11 mm/h durant 142 minutes, a été estimée à 2 cm pour les mini-parcelles avec lisier en surface et à moins de 7 cm pour celles avec lisier enfoui et celles sans lisier. Cela a conduit à établir la profondeur de prélèvement des carottes de sol à 10 cm dans

chacune des mini-parcelles pour lesquelles des prélèvements ont été faits après simulation de la pluie 1 semaine, 4 et 8 mois après épandage c'est-à-dire en mars, juillet et novembre. Ces carottes de sol ont été homogénéisées, dosées et testées pour évaluer leur potentiel toxique et génotoxique.

Les mini-parcelles dont le mode d'épandage du lisier était l'enfouissement à 20 cm, ont été échantillonnées, mais les échantillons prélevés à 10 cm n'étaient pas différents de ceux provenant des mini-parcelles sans lisier. L'atrazine n'ayant pas migré jusqu'à la zone où se trouvait le lisier.

4.1.4.2 Variation des échantillons dans le temps

Après la pluie occasionnant la perte d'éléments nutritifs et d'atrazine dans l'eau de ruissellement en mars, on constate que les échantillons de sols traités au lisier en surface et à l'atrazine ont une concentration en atrazine plus faible que ceux provenant de sols traités à l'atrazine ou à l'atrazine avec lisier enfoui. Les sols traités avec du lisier en surface au taux de 150 kg N/ha et à l'atrazine aux taux de 2 et 4 Kg/ha ont des concentrations d'atrazine de 0.34 et 0.24 mg/L dans les 10 premiers cm de surface comparativement aux sols sans lisier ou avec lisier enfoui qui, aux mêmes taux d'atrazine, présentent des concentrations de 0.6 et 1.25 mg/L d'atrazine. Ces concentrations résultantes d'atrazine au sol, après ruissellement, sont liées aux taux d'infiltration moins importants dans les sols avec lisier comparativement à ceux de sols sans lisier, ainsi qu'aux taux initiaux d'atrazine épandus (tableaux 4.5 et 4.1).

Gangbazo *et al.* (1988) a, par ailleurs, démontré que pour différents taux d'épandage de lisier et différentes intensités de pluie, le taux d'infiltration de l'eau dans les sols varie selon la présence ou l'absence de lisier et selon l'intensité de pluie. La présence de 150 kg N/ha de lisier couplée à une intensité donnée de 11 mm/h de pluie, réduit le taux d'infiltration à 2.03 mm/h par rapport à des parcelles témoins sans lisier qui observent un taux de 9.25 mm/h.

Le tableau 4.5 démontre qu'une diminution de la concentration d'atrazine s'amorce entre mars et juillet, période où l'on note environ 30% de perte d'atrazine dans les 10 premiers cm de sol pour chacun des traitements.

Aucune perte d'atrazine n'est cependant mesurée dans les sols correspondant au traitement avec lisier et 4 kg/ha d'atrazine, où l'on retrouvait la plus faible concentration d'atrazine sur 10 cm, en raison de la perte de lisier et d'atrazine par ruissellement.

Pour ce qui est des éléments nutritifs, on enregistre en mars, des concentrations en nitrites et nitrates de 2.6 mg/L, et en ammoniaque de 0.4 mg/L dans les lixiviats de ce dernier traitement (tableau 4.4) comparativement aux concentrations respectives autour de 1.0 mg/l et 0.02 mg/L pour les lixiviats de sols correspondant aux traitements sans lisier ou lisier enfoui (20 cm). Cela indique que du lisier reste présent dans les 10 cm de sol. Le sol qui contient le plus de lisier après ruissellement est celui qui correspond au traitement lisier et atrazine 2 kg/ha, où l'on retrouve 5.5 mg/L d'azote total, et 1.4 mg/L de NH_3 dans le lixiviat du sol comparativement à celui du sol traité au lisier seulement qui enregistre 3.3 mg/L d'azote total et 0.43 mg/L d'ammoniaque. (Voir aussi tableau 4.1).

Le tableau 4.6, en mars, indique également que le sol sur 10 cm correspondant au traitement lisier et 2 kg/ha d'atrazine présente les % de carbone et d'azote totaux les plus élevés, soit 2.7 et 3% respectivement, comparativement à 1.6 et 1.5% pour le sol traité au lisier seulement, et à 1.1 et 1.2% pour le sol traité au lisier avec 4 kg/ha d'atrazine.

Après 3 mois (en juillet), l'ammoniaque (NH_3) s'est nitrifié en nitrites et nitrates (NO_2-NO_3) démontrant qu'une activité microbienne s'effectue (tableau 4.4). Les pertes d'atrazine qui semblent s'égaler d'un traitement à l'autre et même l'absence de perte d'atrazine (traitement lisier et atrazine 4 kg/ha) (tableau 4.5) peuvent s'expliquer par le fait que la matière organique qui reste après ruissellement dans les mini-parcelles traitées au lisier ne semble pas constituer un substrat à rendement bio-énergétique suffisant pour former l'énergie de croissance et de maintenance bactérienne qui

permettrait de favoriser davantage la dégradation d'atrazine par rapport aux mini-parcelles sans lisier. Les concentrations d'atrazine, après 3 mois, pour les traitements sans lisier sont proportionnelles à la concentration initiale d'atrazine appliquée. La disparition du composé en sous-produits dépend de la cinétique de la réaction. Les réactions d'ordre > 1 donnent après un temps t, des concentrations finales qui sont proportionnelles aux concentrations initiales.

La période de 3 mois d'incubation sans autres prélèvements est également trop longue pour voir l'effet de la matière organique sur la dégradation de l'atrazine. Des prélèvements après les premières semaines d'incubation auraient sans doute démontré des différences.

L'absence de perte d'atrazine après 3 mois (traitement lisier et 4 kg/ha d'atrazine) peut s'expliquer par l'effet d'adsorption que peut avoir la matière organique contenue dans le lisier sur l'atrazine, empêchant que l'atrazine ne soit disponible aux micro-organismes pouvant la dégrader.

La matière organique du lisier semble servir comme première source d'énergie pour la population bactérienne existante, voir tableau 4.4 (nitrification de l'ammoniaque en azote sous forme de nitrite-nitrate) réduisant la probabilité qu'un avantage sélectif se développe pour que les bactéries utilisent la faible concentration d'atrazine comme source d'énergie.

L'emploi de fumier favorisant l'augmentation de la biomasse et de l'activité biologique a pu stimuler le taux de dégradation d'herbicide et provoquer une diminution plus rapide des concentrations d'atrazine par rapport à des sols sans amendement lors des expériences réalisées par Doyle *et al.*, (1981). Il faut mentionner que ces chercheurs avaient utilisé des doses très importantes de fumier (15 fois plus grandes que celles généralement recommandées) et n'ont étudié que les effets à courts termes, après 60 jours. Les doses de fumier employées étaient de 0,50, 100 tonnes métriques/ha.

Tableau 4.4: Evolution des éléments nutritifs dans les échantillons d'eau de ruissellement sans ajout de N et P, mars, pluie de 22 mm/h

(Eaux de ruissellement) (-N-P) Mars Pluie 22 mm/heure

Échantillons	NO_2+NO_3	Témoin + $NO_2+NO_3+NH_3$ 10X	NH_3	O-PO_4	N_t	$NO_2+NO_3+NH_3$ / O-PO_4
Sol	.02	.04	.02	.010	.05	4.00
Sol + Lisier enfoui	.02	.04	.02	.010	.05	4.00
Sol + Atrazine 2 kg/ha	.02	.04	.02	.010	.14	4.00
Sol + Atrazine 2 kg/ha + Lisier enfoui	.02	.04	.02	.010	.03	4.00
Sol + Atrazine 4 kg/ha	.02	.04	.02	.010	.04	4.00
Sol + Atrazine 4 kg/ha + Lisier enfoui	.02	.04	.02	.010	.06	4.00
Sol + Lisier en surface	.02	.43	.41	.395	.48	1.09
Sol + Atrazine 2 kg/ha + Lisier en surface	.02	.49	.47	.430	.56	1.14
Sol + Atrazine 4 kg/ha + Lisier en surface	.02	.43	.41	.370	.48	1.16

Tableau 4.4: Evolution des éléments nutritifs dans les lixiviats de sol sans ajout de N et P, mars, pluie de 11mm/h (suite)

(Lixiviats de sol) (-N-P) Mars Pluie 11 mm/heure

Échantillons	NO_2+NO_3	Témoin + $NO_2+NO_3+NH_3$ 10X	NH_3	O-PO_4	N_t	P_t	$NO_2+NO_3+NH_3$ / O-PO_4
Sol	0.90	0.92	0.02	.015	1.8	.065	61.33
Sol + Lisier enfoui	1.16	1.18	0.02	.010	1.9	.035	118.00
Sol + Atrazine 2 kg/ha	1.60	1.62	0.02	.010	2.4	.020	162.00
Sol + Atrazine 2 kg/ha + Lisier enfoui	1.06	1.08	0.02	.010	1.8	.045	108.00
Sol + Atrazine 4 kg/ha	1.09	1.11	0.02	.010	2.3	.045	111.00
Sol + Atrazine 4 kg/ha + Lisier enfoui	1.11	1.13	0.02	.010	1.9	.025	113.00
Sol + Lisier en surface	1.70	2.13	0.43	.010	3.3	.040	213.00
Sol + Atrazine 2 kg/ha + Lisier en surface	2.30	3.70	1.40	.025	5.5	.025	148.00
Sol + Atrazine 4 kg/ha + Lisier en surface	2.60	3.00	0.40	.010	2.6	.045	300.00

Tableau 4.4: Evolution des éléments nutritifs dans les lixiviats de sol sans ajout de N et P, juillet, pluie de 11mm/h (suite)

(Lixiviats de sol) (-N-P) Juillet Pluie 11 mm/heure

Échantillons	NO_2+NO_3	Témoin + $NO_2+NO_3+NH_3$ 10X	NH_3	O-PO_4	N_t	P_t	$NO_2+NO_3+NH_3$ / O-PO_4
Sol	1.70	1.71	0.02	.010	2.2	.070	171
Sol + Lisier enfoui	2.60	2.62	0.02	.010	3.3	.045	262
Sol + Atrazine 2 kg/ha	1.30	1.32	0.02	.010	1.6	.070	132
Sol + Atrazine 2 kg/ha + Lisier enfoui	3.30	3.32	0.02	.010	3.5	.055	332
Sol + Atrazine 4 kg/ha	1.73	1.75	0.02	.010	3.6	.060	175
Sol + Atrazine 4 kg/ha + Lisier enfoui	3.40	3.42	0.02	.010	3.9	.045	342
Sol + Lisier en surface	8.40	8.43	0.03	.010	8.8	.065	843
Sol + Atrazine 2 kg/ha + Lisier en surface	9.50	9.52	0.03	.015	9.6	.055	635
Sol + Atrazine 4 kg/ha + Lisier en surface	8.90	8.92	0.02	.015	9.1	.055	594

Tableau 4.4: Evolution des éléments nutritifs dans les lixiviats de sol sans ajout de N et P, novembre, pluie de 11mm/h (suite)

(Lixiviats de sol) (-N-P) Novembre Pluie 11 mm/heure

Échantillons	NO_2+NO_3	NH_3	$O\text{-}PO_4$	N_t	P_t	$NO_2+NO_3+NH_3$ / $O\text{-}PO_4$
Sol	3.6 3.5	.03 .06	.010 .010	5.0 4.6	.025 .045	363 356
Sol + Lisier enfoui	4.4 3.9	.02 .05	.010 .010	5.3 4.4	.030 .050	442 395
Sol + Atrazine 2 kg/ha	3.7 3.1	.02 .04	.010 .010	4.7 3.4	.015 .035	372 314
Sol + Atrazine 2 kg/ha + Lisier enfoui	4.6 4.9	.02 .02	.015 .015	5.3 5.0	.035 .045	308 328
Sol + Atrazine 4 kg/ha	3.4 3.6	.02 .02	.010 .015	4.3 3.8	.035 .065	342 241
Sol + Atrazine 4 kg/ha + Lisier enfoui	4.1 4.3	.02 .03	.010 .010	5.1 5.0	.045 .055	412 433
Sol + Lisier en surface	8.3 9.1	.02 .08	.015 .015	9.7 9.8	.030 .060	554 612
Sol + Atrazine 2 kg/ha + Lisier en surface	6.6 8.3 6.9	.02 .02 .02	.015 .020 .015	8.0 8.3 7.2	.040 .055 .035	441 416 461
Sol + Atrazine 4 kg/ha + Lisier en surface	7.6 7.6 7.8	.02 .02 .02	.015 .010 .015	9.0 8.8 8.0	.025 .035 .040	508 762 521

Tableau 4.5: Dosage de l'herbicide Atrazine dans les 10 premiers cm de sol (mg/L) en mars, juillet, novembre

Traitement des bacs	Concentration Mars (moyenne)	Perte entre Mars Juillet (%)	Concentration Juillet (moyenne)	Perte entre Juillet Nov. (%)	Concentration Novembre (moyenne)
Sol	-	-	-	-	-
Sol + Atrazine 2 kg/ha	.60	32	.41	85	.06
Sol + Atrazine 4 kg/ha	1.25	30	.87	94 71	.05 .25
Sol + Lisier	-	-	-	-	-
Sol + Lisier + Atrazine 2 kg/ha	.34	29.4	.24	92 58	.02 .1
Sol + Lisier + Atrazine 4 kg/ha	.24	0	.25	94	.014

Tableau 4.6: Calcul des concentrations moyennes d'azote (N), de carbone (C) et de soufre (S) en pourcentage sur des échantillons de sol prélevés sur une profondeur de 10 cm après ruissellement

Traitement	Mars			Juillet			
	masse (g)	% C	% N	masse (g)	% C	% N	% S
Sol	10	.89	.89	10	.76	.77	0
Sol + Atrazine 2kg/ha	10	.96	.92	10	.96	.91	0
Sol + Atrazine 4kg/ha	10	1.25	1.2	10	1.12	1.1	0
Sol + Lisier 150kgN/ha	10	1.6	1.5	10	1.32	1.45	0
Sol + Lisier 150kgN/ha Atrazine 2kg/ha	10	2.7	3.0	10	.92	.98	0
Sol + Lisier 150kgN/ha Atrazine 4kg/ha	10	1.1	1.2	10	1.27	1.3	0

* Ces valeurs sont moindres que celles qui auraient été obtenues à partir d'une carotte de 0 à 2-3 cm, dans les sols avec lisier, profondeur où se situe l'interaction lisier-atrazine

Des facteurs variés autres que la concentration d'atrazine, le contenu en matière organique ou l'adsorption auraient pu influencer les taux de dégradation; mais ces facteurs ont été maintenus équivalents pour chaque traitement. La température de l'entrepôt du ministère de l'Agriculture a varié entre 10°C à l'automne et au printemps et 25°C, à l'été, pour suivre les changements saisonniers (le taux de dégradation est optimal entre 10 et 30°C). Le taux d'humidité a été maintenu entre 24 et 27% par des arrosages périodiques. Les bacs ont été recouverts d'une toile pour empêcher la volatilisation de l'ammoniaque et cela peut avoir favorisé la dégradation anaérobie au détriment de la dégradation aérobie. Les conditions aérobies seraient supérieures aux conditions anaérobies pour favoriser la dégradation (Erickson et Lee, 1989; Torstensson, 1987).

L'adsorption des pesticides basiques comme l'atrazine par la matière organique est dépendante du pH. L'adsorption maximale survient près du pKa de l'atrazine, c'est-à-dire à 2 ou en condition acide. Les valeurs de pH les plus faibles étaient de 5.1 et correspondaient aux traitements avec lisier, comparativement aux autres pH qui étaient ? 5.4 (Schnitzer et Khan, 1978). Le plus faible pH enregistré pour les sols avec lisier pourrait favoriser l'adsorption de l'atrazine au début de la période d'incubation.

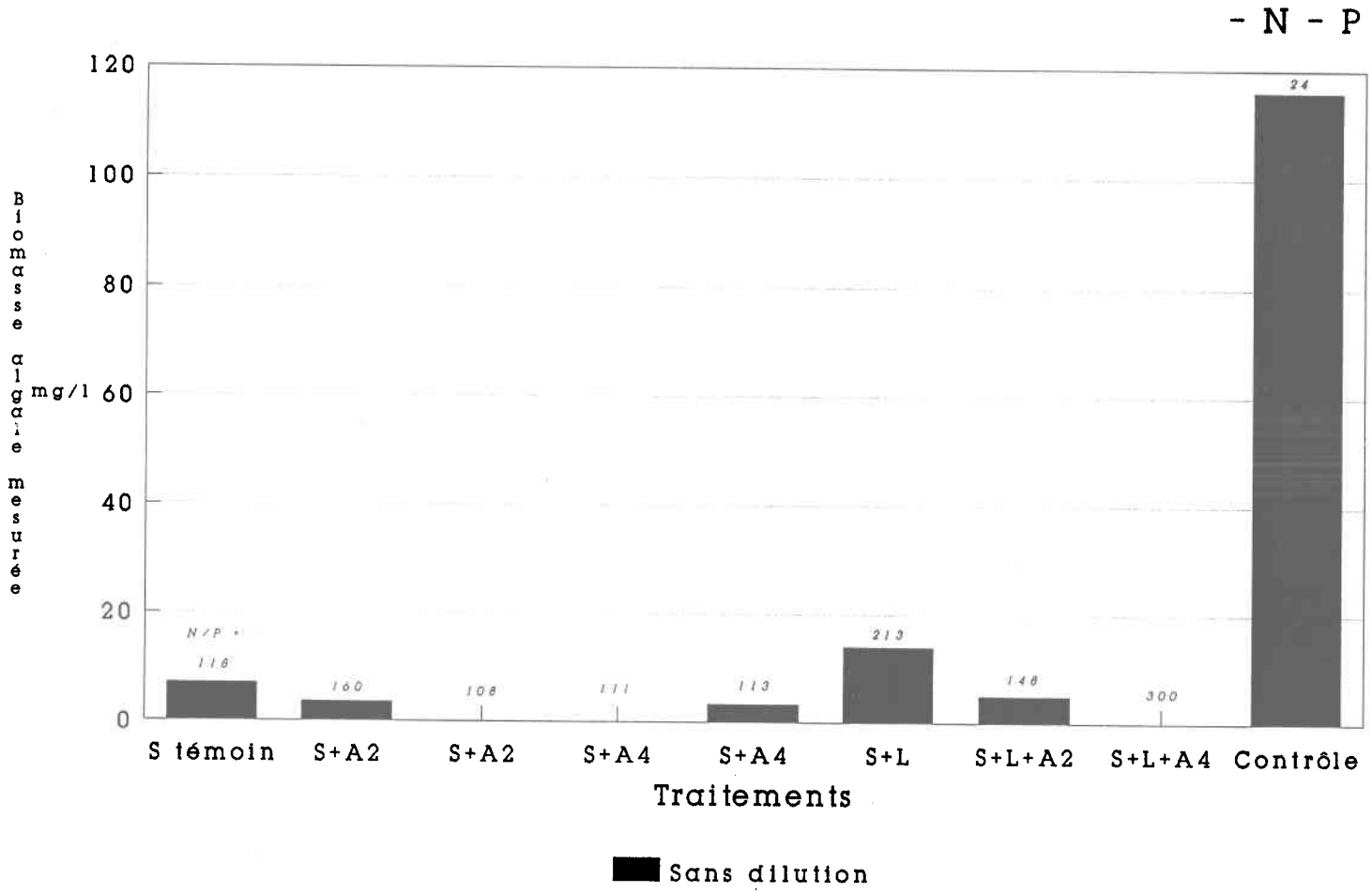
Après 7 mois d'incubation, en novembre, on enregistre des concentrations en atrazine très réduites pour tous les traitements (tableau 4.5).

4.1.4.3 Potentiel de fertilité

Les biomasses algales présentées à la figure 4.3 (mars) ont été mesurées à partir d'échantillons de lixiviats de sol filtrés, non dilués, correspondant aux carottes de sol prélevées, sur 10 cm, après simulation d'une pluie de 11 mm/h durant 142 minutes, une semaine après avoir reçu les traitements de lisier et/ou d'atrazine. Les échantillons de carottes de sol homogénéisés de mars avaient été lixiviés dans l'eau ultra-pure alors que ceux correspondant aux prélèvements ultérieurs de juillet et novembre ont été lixiviés dans une solution AAP 100%, enrichie en éléments essentiels ainsi qu'avec de l'azote et du phosphore (+N +P). Les carottes de juillet et novembre ont également été lixiviées dans une solution AAP 100% enrichie en éléments essentiels mais dépourvue d'azote et de phosphore (-N -P).

Figure 4.3

Biomasses algales mesurées (mg/L) des lixiviats de sol (mars)



S= sol; L= lisier 150kgN/ha
A2= atrazine 2kg/ha; A4= atrazine 4kg/ha
Pluie simulée: 11 mm/h, 142 min

En mars, les analyses démontrent que l'absence d'éléments essentiels dans l'eau de lixiviation pourrait être responsable du faible potentiel de fertilité dans tous les échantillons et qu'une lixiviation dans une solution enrichie en éléments essentiels et en N et P devrait permettre de mieux discerner l'effet toxique dû à la présence d'atrazine des effets dus aux manques d'éléments essentiels et nutritifs.

Les biomasses algales pour les lixiviats de sol du mois de mars, ne sont pas exprimées par rapport aux biomasses du contrôle, c'est-à-dire sous forme de rapport Bx/Bt, car le milieu de lixiviation non-dilué (eau pure) sans ajout d'éléments essentiels soumis au test algal pour ces lixiviats est différent du milieu enrichi AAP 100% (+N +P) avec ajout d'éléments essentiels dans lequel les algues du contrôle ont été placées.

Le lixiviat du sol témoin présente une toxicité exprimée par une biomasse moyenne qui n'atteint que 7 mg/L, comparativement au contrôle qui démontre une biomasse moyenne de 116 mg/L. Les lixiviats de sol traitement avec 2 kg/ha d'atrazine affichent des biomasses de 4 mg/L et 0 mg/L, qui représentent une augmentation de toxicité de 43 et 100% par rapport au sol témoin. Les lixiviats provenant du traitement avec 4 kg/ha d'atrazine affichent approximativement les mêmes biomasses, soit de 4.0 et 0 mg/L.

Les concentrations moyennes d'atrazine mesurées après ruissellement dans les carottes de sol homogénéisées, correspondant aux traitements de 2 et 4 kg/ha d'atrazine, sont de 0.6 mg/L et 1.25 mg/L, et doivent être considérées avec prudence pour établir une corrélation avec les biomasses mesurées, puisque ces concentrations ne correspondent pas à celles qui sont présentes dans les lixiviats de sol filtrés soumis au test algal. Le lixiviat filtré n'a pas été dosé pour l'atrazine.

Le lixiviat de sol correspondant au traitement avec lisier en surface provoque un effet mineur de croissance algale comparativement au sol témoin, avec une biomasse de 14 mg/L, biomasse qui demeure bien en deçà de celle du contrôle qui est de 116 mg/L. Lorsqu'on regarde les valeurs en éléments nutritifs mesurées dans le lixiviat de sol (tableau 4.4, mars) pour ce traitement: 0.43 mg/L en NH_3, 1.7 mg/L en NO_2 et

NO_3, 0.01 mg/L seulement de O-PO_4, on constate que la concentration en O-PO_4 est limitante mais équivalente dans tous les traitements, sauf pour le traitement avec lisier en surface et 2 kg/ha d'atrazine qui est de 0.025 mg/L. Le rapport N/P > 15 indique également que O-PO_4 constitue le facteur limitant de la croissance algale.

Papineau (1984) a émis l'hypothèse que la matière organique présente dans le sol et migrant dans l'eau de percolation de sols traités au lisier est responsable des baisses de biomasses algales. Elle agirait comme agent de complexation, rendant moins disponibles les éléments nutritifs essentiels tel le phosphore.

Après avoir irradié la matière organique présente dans les échantillons d'eau de percolation, elle notait une augmentation importante de croissance algale.

Le même phénomène peut expliquer la faible biomasse liée au traitement lisier, mais il apparaît également après ruissellement que le phosphore inorganique qui est ici homogénéisé sur 10 cm de carotte apparaît être à faible concentration dans le lixiviat et constituerait le facteur limitant de la croissance algale.

Les lixiviats de sol provenant de traitements au lisier avec 2 kg/ha et 4 kg/ha d'atrazine présentent des biomasses algales de 5 et 0 mg/L respectivement établissant des augmentations de toxicité de 64 et 100%, par rapport au lixiviat avec lisier. Les concentrations moyennes d'atrazine mesurées après ruissellement dans les carottes de sol homogénéisées correspondant à ces deux traitements ont été de 0.34 mg/L et de 0.24 mg/L. Ces concentrations, plus faibles que celles correspondant aux traitements avec les mêmes doses d'atrazine mais sans lisier, sont la résultante de l'entraînement de l'atrazine par le lisier dans l'eau de ruissellement. Encore une fois, il n'est pas probant de correler ces concentrations aux biomasses mesurées, puisqu'elles ne correspondent probablement pas à celles qui sont présentes dans les lixiviats filtrés soumis au test algal.

La différence de toxicité entre 5 et 0 mg/L peut être attribuable à la concentration en élément nutritif O-OP_4 qui est de 0.025 mg/L (traitement lisier et 2 kg/ha d'atrazine) comparativement à 0.01 mg/L (traitement lisier et 4 kg/ha d'atrazine). Le tableau 4.1

indique, pour une pluie de 11 mm/h, que la perte d'éléments nutritifs par ruissellement (COD de 3.8 mg/L) est moins considérable pour le traitement lisier et 2 kg/ha d'atrazine que celle du COD de 10.27 mg/L mesurée pour le traitement lisier et 4 kg/ha d'atrazine; ce qui peut expliquer l'augmentation de biomasse dans le premier cas, par rapport au deuxième pour des concentrations en atrazine dans la colonne de sol relativement semblables.

La toxicité inhérente aux échantillons témoins (sol seul) ne semble pas provenir de substances inorganiques liées à la présence de métaux traces puisque un test de toxicité conventionnel dans un milieu AAP 100% a été fait avec l'addition du produit chélateur EDTA qui, en formant des complexes avec les substances inorganiques, n'a pas réussi à réduire cette toxicité. Cette toxicité reste présente en juillet et novembre, même après ajout d'éléments essentiels et de (+N+P) au milieu de lixiviation et de dilution. Cette addition vise à combler toute carence en éléments nutritifs essentiels qui pourraient être responsable des diminutions de biomasses.

Aucune dilution n'a été faite sur les premiers lixiviats de sol (mars). Les résultats de ces dilutions avec du milieu enrichi auraient pu mettre en évidence les différences toxiques que peuvent occasionner les différences de concentration d'atrazine et ses produits de dégradation retrouvées dans les échantillons traités différemment et auraient pu mettre également en évidence la dilution du mélange qui n'occasionne plus de toxicité.

D'une façon globale, on constate que la pluie de 11 mm/h durant 142 minutes, sur les bacs de sol, a occasionné des changements dans les concentrations initiales propres à chaque traitement et que la présence d'atrazine résiduelle, ou de ses produits de dégradation, occasionne une toxicité exprimée par des biomasses plus faibles que celles des témoins (sol seul, ou sol avec lisier). La présence du lisier en surface avec l'atrazine en condition de ruissellement favorise la perte d'éléments nutritifs contenus dans le lisier ainsi que celle de l'atrazine.

La figure 4.4 démontre l'effet d'inhibition de croissance algale occasionnée par la présence d'atrazine résiduelle et ses produits de dégradation dans les lixiviats de sol

après simulation d'une pluie de 11 mm/hr, par rapport aux témoins, aux dilutions 0 et 50x et 100x. Les dilutions subséquentes ne sont pas présentées car les rapports Bx/Bt rejoignent ceux des contrôles AAP.

Le tableau 4.7 présente les biomasses mesurées d'échantillons de lixiviats de sol filtrés, par rapport aux biomasses contrôle, (Bx/Bt), pour les prélèvements de sol effectués au début juillet et novembre, c'est-à-dire 3 et 7 mois après épandage de lisier et/ou atrazine, et simulation d'une pluie de 11 mm/h. La lixiviation et les dilutions d'échantillons dans un milieu enrichi (N+P) permet d'exprimer les résultats sous forme de rapport Bx/Bt, d'augmenter les concentrations parfois faibles du facteur limitant phosphore des échantillons, de régulariser les rapports N/P entre eux, de combler, s'il y a lieu, les carences en éléments essentiels des échantillons et de mieux mettre en évidence l'effet toxique de l'atrazine.

Sols traités à l'atrazine en absence de lisier en surface: à la concentration moyenne d'atrazine de 0.4 mg/L, mesurée dans la colonne de sol de 10 cm, pour le traitement (atrazine 2 kg/ha), (tableau 4.7), correspondent des rapports Bx/Bt de 0.2 (sans dilution) et de 0.79 (dilution 50x), ainsi que des rapports de 0.07 (sans dilution) et de 0.12 (dilution 50x), comparativement au témoin, sol seul, dont les rapports Bx/Bt sont de 0.2 (sans dilution) et 0.9 (dilution 50x). Ces valeurs signifient qu'une baisse de croissance algale due à l'atrazine et ses produits de dégradation est presque inexistante dans un cas, 0% (sans dilution et dilution 50x), dans l'autre cas, des baisses de 65% (sans dilution) et de 86.5% (dilution 50x) sont enregistrées.

A la concentration moyenne d'atrazine de 0.87 mg/L, mesurée dans la colonne de sol de 10 cm, pour le traitement d'atrazine au taux de 4 kg/ha (tableau 4.7), correspondent des rapports Bx/Bt de 0.15 (sans dilution) et 0.75 (dilution 50x) dans un cas, puis de 0.08 (sans dilution) et 0.59 (dilution 50x) dans l'autre cas, ce qui représente une baisse de croissance algale peu apparente dans le premier cas, 25%, (sans dilution) et 16% (dilution 50x), puis une baisse plus marquée dans le second cas, 60% (sans dilution) et 34% (dilution 50x). L'atrazine, bien que présente en plus grande concentration (2 fois plus) dans ces carottes de sol semble s'adsorber aux particules de sol. Dans ces conditions, la concentration d'atrazine sous forme soluble

Tableau 4.7: Biomasses algales mesurées (échantillons sol) / Biomasse contrôle (milieu AAP + algues) en juillet et novembre

+ N + P (addition d'éléments essentiels)

	Bx / Bt Juillet					Bx / Bt Novembre				
Concentration	100 %	50 %	10 %	5 %	1 %	100 %	50 %	10 %	5 %	1 %
Traitement	SANS LISIER									
Sol	.2	.89	1.21	.98	1.06	.08	.76	1.1	1.1	1.06
						.07	.75	1.1	1.1	1.06
	.2	.89	1.13	1.06	.96	.12	.77	14	1.0	.73
						.08	.744	1.1	1.17	.87
Sol + Atrazine 2kg/ha	.2	.79	1.1	.96	.9	.07	.78	1.06	.8	1.0
						.09	.80	1.2	1.1	1.14
	.07	.12	.86	.88	.86	.09	.75	1.1	.94	.61
						.07	.78	.8	.86	.92
Sol + Atrazine 4kg/ha	.08	.59	1.1	1.0	1.02	.09	.76	.87	1.04	.94
						.09	.77	1.03	-	1.03
	.15	.75	1.1	.9	.94	.08	.79	1.08	1.04	.97
						.1	.89	1.12	1.03	1.08
	AVEC LISIER									
Sol + Lisier 150kgN/ha	.11	.66	.86	1.0	.88	.074	.67	1.15	1.19	1.06
						.16	.76	1.15	1.06	1.08
						.13	.77	1.16	-	-
Sol + Lisier 150kgN/ha + Atrazine 2kg/ha	.13	.19	1.02	1.04	.94	.13	.39	.94	.76	1.04
						.15	.77	.87	1.0	.94
						.08	.7	.91	1.02	.86
Sol + Lisier 150kgN/ha + Atrazine 4kg/ha	.48	.96	1.12	1.24	1.04	.15	.78	1.147	1.14	1.08
						.08	.74	.97	1.08	1.08
						.15	.77	1.02	.97	.82

et biodisponible dans le lixiviat est alors faible. Cela peut expliquer la faible toxicité du 1er cas, puis la situation inverse, une adsorption moins importante qui favorise la forme soluble, serait responsable de la toxicité plus importante dans le second cas. Les produits secondaires de dégradation de l'atrazine n'ont pas été mesurés, mais ils pourraient contribuer à la toxicité des lixiviats.

Sols traités à l'atrazine en présence de lisier: quatre mois après le ruissellement survenu en mars, ces sols présentent une concentration en ammoniaque, NH_3, redevenue semblable au témoin, tandis qu'une hausse des concentrations en nitrites et nitrates est observée par rapport à celle du mois de mars. L'ammoniaque, présent au mois de mars, s'est nitrifié et explique cette hausse. La concentration en $O\text{-}PO_4$ est demeurée semblable au témoin (tableau 4.4).

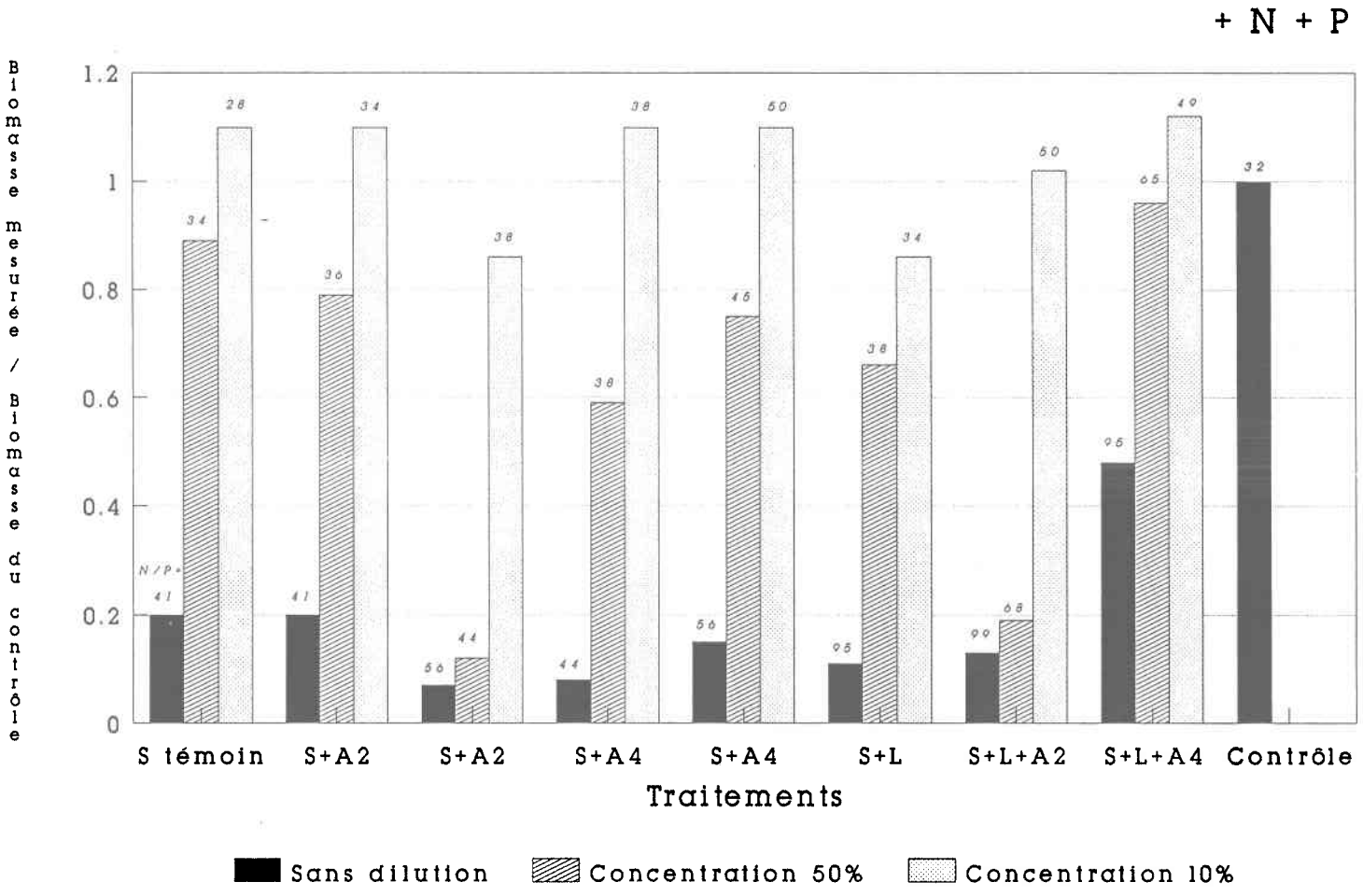
Ces composantes dans le lixiviat de sol correspondant au traitement avec lisier semblent inhiber légèrement la croissance algale aux dilutions représentées (figure 4.4). On observe un rapport Bx/Bt de 0.11 comparativement à celui de 0.2 du témoin. Le rapport N/P plus élevé occasionne peut-être cette diminution.

Ces mêmes composantes, en présence d'atrazine ou ses produits de dégradation solubilisés dans le lixiviat de sol pour le traitement (lisier et 2 kg/ha d'atrazine) n'occasionnent aucune baisse de croissance algale 0% dans le milieu non dilué, soit un rapport Bx/Bt de 0.13, mais occasionnent une baisse de 71% à la 2e dilution soit 0.19 (dilution 50x) relativement aux rapports 0.11 et 0.66 mesurés pour le traitement témoin lisier. La concentration moyenne d'atrazine observée dans les carottes de sol, correspondant à ce traitement est de 0.24 mg/L comparativement à 0.34 mg/L au mois de mars. Une baisse de 30% a eu lieu.

Les composantes résiduelles de lisier, d'atrazine et ses produits de dégradation correspondant au traitement (lisier et 4 kg/ha d'atrazine) occasionnent une hausse de croissance algale exprimée par un rapport Bx/Bt de 0.48 (sans dilution) et 0.96 (dilution 50x). Une concentration d'atrazine de 0.26 mg/L est observée dans les carottes de sol correspondant à ce traitement comparativement à 0.24 mg/L obtenu en mars. Aucune baisse de concentration n'a eu lieu.

Figure 4.4

Biomasses mesurées / Biomasse contrôle des lixiviats de sol (juillet)



S= sol; L= lisier 150kgN/ha
A2= atrazine 2kg/ha; A4= atrazine 4kg/ha
Pluie simulée: 11 mm/h, 142 minutes

Il semble que l'atrazine ait pu s'adsorber aux particules de sol ou à la matière organique et qu'après lixiviation et filtration, elle soit non soluble ou non-biodisponible dans le lixiviat soumis au test algal. Le tableau 4.3 indique que la concentration en O-PO_4 pour ce traitement (+N +P) est semblable à celle des autres traitements, soit 0.02 mg/L. L'augmentation de croissance algale est sans doute due à une plus grande biodisponibilité des éléments nutritifs comme O-PO_4 aux algues, et une absence de biodisponibilité de l'atrazine aux algues.

De juillet à novembre, une baisse importante des concentrations d'atrazine se manifeste dans chacun des traitements (tableau 4.5). Dans les sols dont le traitement consistait à ajouter 2 kg/ha d'atrazine, une baisse de 84% de la concentration d'atrazine est enregistrée en novembre par rapport en juillet, pour représenter 0.06 mg/L. Les rapports Bx/Bt (tableau 4.7) notés pour le lixiviat de ce traitement se situent à 0.07 et 0.09 (sans dilution). Ces rapports sont équivalents à ceux du témoin (sol seul) dont le rapport Bx/Bt moyen est de 0.087 avec un intervalle de confiance à 95% de 0.052 et 0.122. Dans les sols dont le traitement consistait à ajouter de l'atrazine au taux de 4 kg/ha, la dissipation de la concentration d'atrazine par rapport à juillet se situe autour de 94% et 71% avec des valeurs enregistrées d'atrazine de 0.05 mg/L et de 0.25 mg/L. Les rapports Bx/Bt pour les lixiviats de ces sols varient suivant les mêmes valeurs que le témoin. Les rapports Bx/Bt sont 0.09, 0.08 et 0.1 pour ces échantillons. Quant aux sols issus du traitement avec lisier et atrazine au taux de 2 kg/ha, ils présentent des baisses de concentration d'atrazine de 58% avec 0.1 mg/L d'atrazine ou de 92% avec 0.02 mg/L d'atrazine. Les rapports ne sont pas significativement différents du témoin (sol + lisier) avec des rapports Bx/Bt de 0.08, 0.13 et 0.15 comparativement à 0.08, 0.13 et 0.16 (témoin lisier). D'après le test d'égalité des moyennes "t" de student, les rapports Bx/Bt des sols (lisier et 4 kg/ha d'atrazine) sont également non significativement différents du témoin (lisier). Toutefois, tous les échantillons testés non dilués demeurent cependant toxiques par rapport au contrôle AAP (Bx/Bt =1, voir figure 4.5).

Après 7 mois d'incubation dans les sols, la majeure partie de l'atrazine qui reste après ruissellement est soit liée de façon qu'elle ne peut plus se désadsorber, donc, on ne peut l'extraire ou la doser, soit qu'elle a formé plusieurs types de produits de

dégradation qui ne semblent pas contribuer, avec l'atrazine qui reste, à produire une toxicité apparente. L'atrazine non extrayable qui demeure dans les fractions d'acide fulvique, humique ou autres après extraction séquentielle avec des solvants ("bounds residues") est à ce moment non disponible aux algues lorsqu'elle se lie irréversiblement à la matière organique.

L'atrazine ou ses résidus liés pourraient également être rendus inaccessibles par leur prise en charge par les cellules microbiennes qui les déposeraient dans leurs constituants lipidiques (Torstensson, 1987).

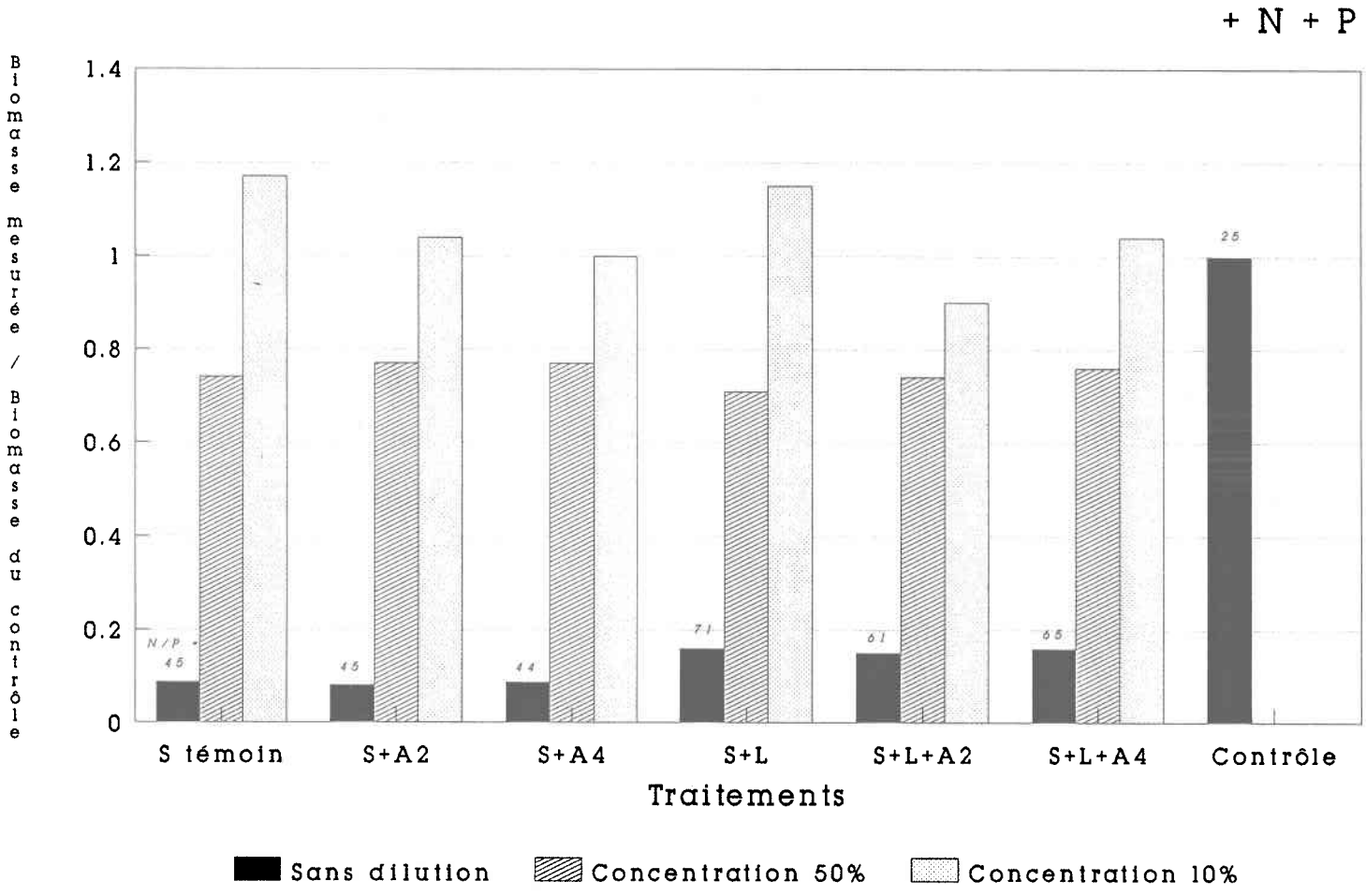
Les éléments nutritifs contenus dans les sols présentent les mêmes concentrations d'un traitement à l'autre, à l'exception des nitrites et nitrates qui demeurent élevés dans les sols traités initialement au lisier. Les rapports N/P sont, donc, toujours plus élevés que pour les autres traitements.

Les concentrations mentionnées d'atrazine dans les échantillons de carottes de sol homogénéisés peuvent ne pas correspondre à la concentration dissoute biodisponible qui a réagi avec les algues à partir des lixiviats de sols filtrés. En effet, le dosage d'atrazine effectué sur les échantillons de carottes de sol homogénéisées enregistre la portion d'atrazine en solution et celle qui s'est désorbée des particules après agitation d'une heure à l'aide du solvant (acétate d'éthyl.).

Ce sont des lixiviats de sol filtrés qui ont été mis en contact avec les algues, afin de calculer les biomasses algales, et ces lixiviats filtrés n'ont pas été dosés. Pour obtenir ces lixiviats, le sol homogénéisé est agité, par rotation, dans le solvant, eau, durant 24 heures. Le lixiviat résultant, contenant, l'atrazine soluble et celle qui s'est désorbée des particules de sol par agitation, dans l'eau, ainsi que ses produits de dégradation est filtré puis soumis au test algal. Il est impossible de correler les résultats obtenus de croissance algale avec les concentrations mesurées dans les carottes de sol. D'ailleurs, les produits de dégradation de l'atrazine ont pu également contribuer à la diminution des biomasses dans certains cas.

Figure 4.5

Biomasses mesurées / Biomasse contrôle des lixiviats de sol (novembre)



S= sol; L= lisier 150kg N/ha
A2= atrazine 2kg/ha; A4= atrazine 4kg/ha
Pluie simulée: 11 mm/h, 142 minutes

Il aurait fallu mesurer les concentrations d'atrazine et ses produits de dégradation dans les lixiviats de sol filtrés pour pouvoir établir quelles sont les concentrations responsables de la toxicité envers les algues.

Une partie de l'atrazine mesurée dans les carottes de sol ne passe jamais en solution lors de la lixiviation et reste adsorbée aux particules de sol ou à la matière organique.

La pluie de ruissellement appliquée une semaine après épandage de lisier et/ou d'atrazine a beaucoup modifié les concentrations initiales de matière organique apportées par le lisier ainsi que celles d'atrazine au sol, de sorte que l'effet espéré de stimulation de la dégradation de l'atrazine par le lisier, n'a pas semblé se faire sentir. L'effet d'adsorption qu'a pu exercer la matière organique sur l'atrazine n'a pas été exprimé de façon évidente.

4.1.4.4 Mesures de toxicité avec la bactérie *Photobacterium phosphoreum*

Des mesures de toxicité aiguë, sur les lixiviats de sol correspondant aux neuf combinaisons de traitements des sols, après un délai d'une semaine entre l'application de lisier de porc et d'atrazine et une pluie occasionnant le ruissellement, par la mesure des pourcentages d'inhibition de luminescence de la bactérie *P. phosphoreum* ont été négatives. Les lixiviats de sol, correspondant aux mêmes sols traités et mis en incubation à la température ambiante pendant 3 mois, ont donné les pourcentages d'inhibition de luminescence figurant au tableau 4.8. Curieusement, ce sont les lixiviats correspondant aux échantillons témoins (sol nu, sol avec lisier enfoui, sol avec lisier en surface) qui démontrent une toxicité avec des valeurs d'unités toxiques de 1.6, 1.6 et 1.5. Après une période d'incubation de 3 mois favorisant la dégradation du lisier de porc et de l'atrazine, on se serait plutôt attendu à mesurer un effet toxique dans les lixiviats correspondant aux sols traités à l'atrazine ou à l'atrazine et/ou lisier de porc. Seul le lixiviat du sol traité à l'atrazine n'est pas significativement différent des témoins. Il est difficile d'expliquer la raison de la mesure de toxicité dans les lixiviats de sol témoins après 3 mois d'incubation, alors qu'ils ne présentaient pas de toxicité lors des mesures après ruissellement. Les produits de dégradation toxiques formés à partir d'une substance présente dans le sol témoin sous une forme non toxique au début de l'expérience, peuvent expliquer le résultat de toxicité inattendue.

Tableau 4.8: Mesure de toxicité des lixiviats de juillet au moyen du Microtox

	CI-50		Unités toxiques		Pente	
Sol nu	63	61	1.6	1.6	3.1	2.0
Sol + lisier enfoui	68	61	1.5	1.6	---	3.0
Sol + lisier surface	--	65	---	1.53	---	2.49
Sol + atrazine 2 kg/ha	60	60	1.7	1.7	3.9	2.8
Atrazine 2 kg/ha + lisier enfoui	--	--	---	---	---	---
Atrazine 2 kg/ha + lisier surface	--	--	---	---	---	---
Atrazine 4 kg/ha	--	--	---	---	---	---
Atrazine 4 kg/ha + lisier enfoui	--	--	---	---	---	---
Atrazine 4 kg/ha + lisier surface	--	--	---	---	---	---

CHAPITRE 5

Génotoxicité de l'atrazine

5 GENOTOXICITE DE L'ATRAZINE

5.1 Génotoxicité de l'atrazine sans activation in vitro

L'investigation s'est faite à partir de plants de maïs cultivés en champs du début de la croissance jusqu'à maturité. Le maïs provient de parcelles de terrain non traitées à l'atrazine et de parcelles traitées au taux de 2 kg/ha d'atrazine avec du fertilisant organique lisier de porc entre 0 et 100 t/ha ou du fertilisant chimique azoté,à raison de 56 t/ha.

Des extraits de plants de maïs sélectionnés durant le mois de juillet après 2.5, 3.5 et 4.5 semaines de croissance, et durant le mois de septembre pour représenter l'étape de maturité, ont été testés directement, sans activation métabolique, au moyen du S.O.S. Chromotest utilisant la souche bactérienne *E.coli* PQ37, selon la méthode réalisée en microplaques par Environnement Canada (1989) et selon la méthode en éprouvettes développée initialement par les auteurs de ce test, Quillardet et Hofnung (1985). Le tableau 5.1 regroupe les résultats des facteurs d'induction des fractions S1 de maïs calculés selon la méthode d'Environnement Canada ainsi que leurs contenus en protéines.

Le tableau 5.2 regroupe les facteurs d'induction des fractions S9 calculés et réalisés selon la méthode Quillardet et Hofnung.

L'évaluation du potentiel génotoxique par comparaison des pentes des courbes exprimant une relation des facteurs d'induction en fonction des concentrations des extraits testés n'a pu se faire en raison d'une incapacité à mesurer une relation dose-réponse avec la méthode en micro-plaques, alors que seulement certains échantillons évalués avec la méthode en éprouvettes présentent une relation dose réponse explicite.

Un test d'égalité des moyennes de Student comparant les moyennes des valeurs de l'activité ß-galactosidase entre chaque groupe d'échantillons et leurs témoins bactériens pour une même concentration figure aux tableaux 5.1 et 5.2.

Tableau 5.1: Evaluation comparative de l'activité génotoxique des surnageants fraction S1 de plant de maïs (St-Lambert) dans un sol contenant de l'atrazine

Champs de maïs fourrager	Contenu en protéines (μg/10μl)		facteur d'induction (DO620 éch. / DO620 tém.) (-S9) moyenne de 8 échantillons					
	14/07	29/07	3 sem. 1/2 14/07			5 sem. 1/2 29/07		
Atrazine 2kg/ha + Lisier 50t/ha	7.1	17.5	1.31	R	+	1.66	R	+
Atrazine 2kg/ha + Lisier 100t/ha	9	13	1.3	R	+	1.77	R	+
Atrazine 2kg/ha + Fertilisant 0t/ha	5.5	15.4	1.04	A	-	1.91	R	+
Atrazine 2kg/ha + Fertilisant 56t/ha	4.4	15.4	1.3	R	+	1.98	R	+
Atrazine 2 kg/ha + Fertilisant 0t/ha maïs sucré	6.3	16.3	1.24	R	-	1.8	R	+

-S9: sans activation métabolique

Test d'égalité des moyennes ($\alpha = 0.05$):

R: hypothèse H_0 rejettée, donc l'activité génotoxique est +

A: hypothèse H_0 acceptée, donc l'activité génotoxique est -

Tableau 5.2: Evaluation comparative des facteurs d'induction de la fraction S9 de plants de maïs (Méthode Quillardet et Hofnung)

Traitement Champs	Facteurs d'induction 40 µl/tube d'extrait selon l'âge du plant																		
	2 sem.½			3 sem.½			4 sem.½					5 sem.½				12 sem.½			
Essai N°	2	4	5	3	4	5	1	2	3	4	5	2	3	4	5	1	2	4	5
TÉMOIN Atrazine 0kg/ha Lisier 60t/ha						1.5	1.5				1.8					1.9		2.0 1.24	2.4
Atrazine 2kg/ha Lisier 0t/ha (champs Côté)	1.9	2.3	3.3			-	1.43	1.3		1.7		1.46		1.7			1.83	1.6 1.2	2.3
Atrazine 2kg/ha Lisier 60t/ha (champs Côté)		2.4	2.2			-	2.3	2.11		2.3		3.0		2.8				1.5	
Atrazine 2kg/ha Lisier 50t/ha (champs Giroux)		-	-	1.36	1.7										1.6			1.6	
Atrazine 2kg/ha Lisier 100t/ha (champs Giroux)		-	-	1.3	1.7										1.4			-	
Atrazine 2kg/ha Fertilis. chim. 180kg/ha = 56t/ha		-	-	1.89 1.5		1.8 1.5			1.3				1.3 1.2		1.5 1.6			-	

Les valeurs de densite optique $(DO)_{405}$, mesurant la viabilité bactérienne à l'aide du photomètre Multiskan (méthode Environnement Canada), ont été pour les échantillons testés égales ou supérieures à celles du témoin, après une heure de réaction avec le chromogène et cela après soustraction des valeurs de DO initiales (0 min. après réaction) de celles correspondant aux DO finales (x min. après réaction). Cette soustraction pour toutes les DO mesurées est nécessaire afin d'éliminer l'effet de coloration de départ des échantillons d'extraits de plantes.

Des valeurs de DO_{405} plus grandes ou égales aux valeurs de témoins bactériens signifient qu'aucune toxicité n'est présente pour les concentrations testées d'échantillons (10 uL/puit). Cepandant, ces valeurs mesurées après 1 heure de réaction chromogénique ont été plus grandes que la valeur maximale admise DO_{405} = 2.0, au-delà de laquelle la linéarité de la réponse change. Ces valeurs supérieures à 2 s'expliquent en raison de la coloration intrinsèque de l'échantillon qui s'ajoute à celle provenant de la réaction avec le chromogène. C'est pourquoi les valeurs de DO_{405} n'ont pas été considérées dans le calcul des facteurs d'induction des fractions S1 comme le faisait l'ancienne méthode de calcul employée à Environnement Canada. Les facteurs d'induction au tableau 5.1 s'expriment par le rapport DO_{620} échantillon / DO_{620} témoin. Une comparaison des facteurs obtenus pour les DO_{620} est possible même sans valeur de DO_{405} car les échantillons testés proviennent d'une même séance de tests.

5.1.1 Potentiel génotoxique de la fraction S1

L'évaluation du potentiel génotoxique à l'aide du test t de Student de comparaison (échantillons/témoin) des moyennes de l'activité ß-galactosidase DO_{620}, indique que tous les extraits de la fraction S1 testés (tableau 5.1) présentent une génotoxicité significativement positive, à l'exception des échantillons du 14 juillet 1989 provenant de parcelles n'ayant reçu aucun fertilisant. Tous les échantillons S1 du 14 juillet ont un contenu en protéines plus faible que ceux du 29 juillet. Le 14 juillet, un volume plus important de tampon a été employé pour l'homogénisation des tissus (eau millipore = 5 V/W, comparativement à 2 V/W pour les fractions S1 des dates de prélèvements ultérieurs) occasionnant une dilution du contenu en protéines et incidemment des

facteurs d'induction plus faibles. Tous ces échantillons proviennent de sols ayant été traités à l'atrazine. Les résultats d'extraits S1 de sol sans atrazine (témoin) ne sont pas disponibles par la méthode utilisée à Environnement Canada. Par la méthode en éprouvettes, ils ont donné des facteurs d'induction de 1.16 et 1.3 le 14 juillet; ils sont donc eux aussi légèrement génotoxiques.

Peu de variation des facteurs d'induction entre les différents traitements est notée (traitement avec fertilisation organique versus traitement avec fertilisants chimiques).

5.1.2 Potentiel génotoxique de la fraction S9

L'évaluation de la génotoxicité directe pour les fractions S9 a été déterminée selon la méthode utilisée à Environnement Canada (micro-plaques) et celle de Quillardet et Hofnung (1985). Seulement les résultats obtenus par la méthode Quillardet et Hofnung (éprouvettes) sont présentés au tableau 5.2.

Durant l'expérimentation avec la méthode utilisée à Environnement Canada, une interférence, autre que celle causée par une toxicité, est survenue dans le petit volume circonscrit par la micro-plaque, faisant que la DO_{620} exprimant l'activité ß-galactosidase des échantillons testés démontrait, une activité anormalement plus faible que celle du témoin. Cette interférence ne s'est pas reproduite en utilisant le plus grand volume de réaction requis par la méthode Quillardet et Hofnung en éprouvettes.

D'autre part, des valeurs de DO_{405} dépassant la valeur maximale admise étaient enregistrées fréquemment et cela tôt après le début de la réaction lors de l'application du test en micro-plaques. L'utilisation d'un plus grand volume de réaction en éprouvette a permis d'enregistrer des DO_{405} d'échantillons colorés qui n'allaient pas au-delà des valeurs maximales admises pour ce test. Avec la méthode en éprouvette, l'utilisation d'une étape de centrifugation peut se faire plus facilement pour éliminer la coloration des échantillons avant d'ajouter le chromogène.

Le tableau 5.2 indique que tous les extraits de fraction S9 des échantillons testés sont génotoxiques, même ceux provenant des parcelles témoins n'ayant reçu aucun

traitement à l'atrazine. La moyenne de triplicata, pour une même concentration (40 uL d'extrait) à chaque date de prélèvement du maïs, est significativement différente de celle des témoins bactériens (40 uL de réactif tris-EDTA-mannitol correspondants). Pour mieux tenir compte de la variabilité des réponses d'un test à l'autre, les valeurs des facteurs d'induction obtenues à partir des tests exécutés à la même date sont regroupés dans les colonnes 1,2,3,4,5, et les valeurs d'une même colonne sont comparées entre elles d'une date de prélèvement à une autre pour un même champ ou d'un champ à l'autre pour une même date.

La génotoxicité présente dans les extraits de plants qui n'ont pas été en contact avec l'atrazine (Ot/ha atrazine + lisier) fournit l'indication que des substances naturellement présentes (endogènes) dans le maïs sont responsables de la génotoxicité notée dans ces échantillons. Une variation de génotoxicité dans ces extraits cependant s'établit au cours de la saison pour finalement atteindre un niveau de 2.4 (essai no 5), comme si les substances mutagènes naturelles n'étaient pas présentes au début de la croissance et se formaient en cours de croissance particulièrement lorsque le plant est parvenu à maturité. Rappelons que le contenu en protéines des échantillons à maturité est plus élevé par uL comparativement à celui des échantillons de la 2e, 3e et 4e semaines et peut occasionner des valeurs de facteurs d'induction proportionnelles au contenu en protéines.

Lorsqu'on compare les valeurs de génotoxicité du champ témoin (0 kg/ha atrazine et lisier) avec celles du champ Côté (2kg/ha d'atrazine et lisier), une différence significative entre les valeurs positives de génotoxicité est observée à la 4.5 ième semaine de croissance. Les valeurs correspondant au champ traité à l'atrazine et au lisier sont plus élevées (essai no 1). Malheureusement, aucun échantillon n'a été prélevé à la 2.5 ième semaine de croissance dans le champ témoin avec fertilisant sans atrazine pour pouvoir voir si la génotoxicité d'extraits sans atrazine est semblable ou inexistante comparativement aux extraits avec atrazine, comme l'avaient été les échantillons témoins de 2 semaines (3 feuilles) de Plewa et Gentile (1976) et ceux de Means *et al.* (1988). Leurs plantules avaient poussé dans de la vermiculite et sans fertilisant et présentaient une génotoxicité seulement dans les plantules traitées.

La génotoxicité positive dans tous les extraits de maïs, même ceux provenant de plants cultivés sans atrazine, est en accord avec celle de Bakshi *et al.* (1981) qui ont analysé des extraits solubles dans l'eau (S1) de plants de maïs, cultivés en sols traités et non traités à l'atrazine, pour leur activité mutagénique au moyen du test de Ames. Ces auteurs rapportent que les extraits de plants non traités, aussi bien que ceux traités à l'atrazine, contiennent des substances mutagènes pour *S. typhimurium* TA-100. Cependant la différence entre les valeurs obtenues n'est pas significative, alors qu'ici elle l'est pour le champ Côté et ne l'est pas pour le champ Giroux.

Sumner *et al.* (1984) arrivent au même résultat que Bakshi *et al.* (1981) après analyse par le test de Ames d'extraits S1 de plants de maïs, cultivés en champs avec fertilisants chimiques, sans atrazine et avec atrazine. La présence d'histidine dans tous leurs extraits produisait une réponse (background) qui apparaissait être une réponse pseudo-mutagénique. Les auteurs ont alors analysé plus longuement les échantillons à l'aide de techniques alternatives afin de prouver que les résultats positifs, n'étaient pas dus à la contamination à l'histidine (l'histidine produit un effet nutritionnel qui augmente la fréquence de réversion). Bien que leurs extraits sélectionnés après 30 jours de croissance, présentaient une génotoxicité plus élevée que ceux à maturité, il n'y avait pas de différence significative entre les échantillons traités et non traités à l'atrazine. Il n'y avait à partir de ces résultats aucune indication que l'atrazine était convertie ou dégradée par les plants de maïs en agents mutagènes solubles dans l'eau.

L'absence de différence entre la génotoxicité des extraits témoins sans atrazine mais avec lisier et celle d'extraits traités à l'atrazine avec lisier du champ Giroux (après 3.5 semaines de croissance) corrobore les résultats de Bakshi *et al. (1981)* et Sumner *et al.* (1984). Tandis que la présence d'une différence significative après 4.5 semaines de croissance pour les extraits (sans atrazine et avec lisier) et ceux avec atrazine plus lisier (champ Côté) donne à penser que, à la génotoxicité de base provenant de substances naturellement présentes chez le maïs, peut s'ajouter une génotoxicité issue de la biotransformation de l'atrazine par la plante.

Ces résultats diffèrent de ceux de Plewa et Gentile (1976) ainsi que de ceux de Means *et al.*(1988) qui ont trouvé une activité mutagénique seulement dans les extraits de plants de maïs traités à l'atrazine et pas dans les plants témoins non traités, signifiant par cette différence la possibilité que l'herbicide atrazine soit activée par les tissus du maïs *in vivo* en produits mutagènes. La nature de la transformation mutagénique dans les plantes leur est cependant inconnue. Les extraits examinés dans les expériences de Plewa et Gentile (1976) et de Means *et al.*(1988) provenaient de plantules de maïs, traitées ou non à l'atrazine sans fertilisant, de la germination au stade 3 feuilles et cultivées en pots dans la vermiculite.

La procédure d'extraction employée par Plewa et Gentile (1976) a été utilisée dans les expériences décrites ci-haut, excepté que l'étape de lyophilisation a été omise.

Singh *et al.*(1982) et Means *et al.*(1988) ont soumis leurs extraits de maïs à une analyse par HPLC (high pressure liquid chromatography) et ont découvert respectivement qu'une activité convertogénique chez l'organisme bioindicateur *Saccharomices cerevisiae* (levure) et mutagénique chez *S. typhimurium* (bactérie) s'observait pour la fraction éluée dans le méthanol 50% (Singh *et al.*, 1982) et méthanol eau 50/50 (Means *et al.*, 1988). Means *et al.* (1988) n'ont pas observé de mutagénicité dans aucune des fractions F1, F2, F3, F4 recueillies par HPLC après analyse des extraits de plantules témoins non traitées, alors que les fractions F2 et F3, correspondant à la fraction 50% méthanol (Singh *et al.*, 1982), étaient mutagéniques pour les extraits provenant de plants traités à l'atrazine.

Singh *et al.* (1982) contrairement à Means *et al.*(1988) ont observé un faible niveau d'activité convertogénique dans la fraction méthanol (HPLC) pour les plantules non traitées à l'atrazine et un plus fort niveau pour les plantules traitées.

Means *et al.*(1988) rapportent également que 89% des produits métaboliques issus de ^{14}C atrazine, chromatographiables au HPLC, se retrouvent dans la fraction F3, suggérant un lien entre un produit métabolique marqué mais non identifié et une activité mutagénique. Pour ces expériences utilisant l'atrazine marquée au ^{14}C, il est à remarquer que des racines de plantules au stade 3 feuilles ont été suspendues dans

une solution d'eau contenant l'atrazine marquée et que les plantules ont été incubées pendant 4, 24 et 48 heures. Walker (1972) a démontré qu'un tel système permet d'accumuler l'atrazine davantage dans les plantules que lorsque les plantules croissent dans des sols traités à l'atrazine (voir plus loin).

Buttler et Hoagland(1989) ont examiné la mutagénicité (test de Ames) des principaux produits métaboliques de l'atrazine afin d'identifier le composé métabolique mutagénique issu de l'atrazine suggéré par Plewa et Gentile (1976) et Means *et al.*(1988) (fraction F3). L'atrazine, l'hydroxyatrazine, le 2-chloro-4-amino-6-(isopropylamines)-s-triazine, le 2-chlro-4-amino-6-diamino-s-triazine et le 2-chloro-4-amino-6-(ethylamino)-s-triazine se sont avérés non mutagéniques.

La mutagénicité issue de la fraction F_3 dans l'expérience de Means *et al.*(1988) pourrait être attribuable au "glutathione conjugate", autre produit métabolique de l'atrazine qui n'a pas été évalué, ou encore à l'additivité ou au synergisme de plusieurs produits de dégradation de l'atrazine se retrouvant dans cette fraction du maïs.

Sumner *et al.*(1984) expliquent la différence surprenante de mutagénicité entre les plants traités (positifs) et non traités (négatifs) de Plewa et Gentile (1976) par le fait que les plants utilisés dans leur étude sont très jeunes et cultivés sans apport de nutriments. Les laboratoires CIBA-GEIGY ont observé que le traitement à l'atrazine produisait des plants plus vigoureux avec un contenu en protéines et en acides aminés plus élevé que ceux non traités. Les plants non traités et sans nutriments peuvent être incapables de produire les mutagènes endogènes rencontrés dans les plants traités plus vigoureux.

Vers les 4.5 ième et 5.5 ième semaines de croissance, soient le 21 juillet et le 27 juillet, une différence significative entre les extraits provenant de sols traités à l'atrazine (1 an avant culture) sans ajout de fertilisant et ceux provenant de sols traités à l'atrazine avec ajout de fertilisant organique lisier (champ Côté) laisse croire que la fertilisation est responsable de l'augmentation de la génotoxicité. Les plants manifestent à ces dates une différence de hauteur. Les plants fertilisés plus hauts signifient qu'ils

profitent de l'apport N et P. Les génotoxines naturelles peuvent profiter de l'apport N et P.

Au début de la croissance (le 7 juillet, soit à la deuxième semaine environ), il ne semble pas y avoir de différence dans la génotoxicité des échantillons non fertilisés traités à l'atrazine du champ Côté et ceux fertilisés et traités à l'atrazine. A cette date, les éléments nutritifs contenus dans le lisier n'ont peut-être pas encore migré jusqu'à la zone racinaire, tandis que l'atrazine, malgré qu'elle migre lentement et puisqu'elle a été appliquée 1 an avant la culture, semble avoir atteint la zone racinaire puisqu'aucune trace de mauvaises herbes n'a été notée dans la parcelle (ce qui signifie que l'atrazine a agit par inhibition de leur croissance). Les plantes à cette date sont d'égale hauteur avec 4 ou 5 feuilles même celles ayant reçu du fertilisant lisier. On note déjà une forte génotoxicité de départ dans les deux types d'échantillons. Peut-être y-a-t-il en début de croissance un ou des produits mutagènes très vite formés par les voies métaboliques de jeunes plants cultivés dans l'atrazine, puisqu'il est établi que des produits métaboliques se forment relativement tôt durant la dégradation métabolique de l'atrazine et sont continuellement transformés en résidus solubles et insolubles dans l'eau. L'absence d'extraits à la 2.5 ième semaine dans le champ témoin empêche de vérifier cette idée. Si on avait obtenu pour le champ témoin à 2 semaines de croissance, une valeur faible ou nulle de génotoxicité, on pourrait alors corroborer les résultats de Means *et al.* et Plewa et Gentile (1976) pour le début de croissance.

Les valeurs moyennes des facteurs d'induction, obtenues lors d'un même test (essai no 4), pour le champ Côté avec atrazine et lisier, varient de 2.4 (2.5 ième semaine) à 2.3 (4.5 ième semaine) puis à 2.8 (5.5 ième semaine) pour finalement diminuer à 1.5 lorsque les plants sont à maturité. Il est possible que les produits mutagènes intrinsèques présents dans le maïs apparaissent en plus forte concentration grâce à la poussée de croissance qu'apporte le fertilisant à un stade plus avancé de croissance (5.5 ième semaine) pour finalement diminuer lorsque la plante ne croît plus.

Une contradiction se présente lorsqu'on compare les valeurs de génotoxicité réflétées par les facteurs d'induction du champ Côté (2 kg/ha atrazine, 1 an avant culture + 60

t/ha lisier, l'année de la culture) avec les valeurs du champ Giroux (2 kg/ha atrazine l'année de la culture + 50 ou 100 t/ha de lisier). La génotoxicité est manifestement plus élevée dans le champ Côté par rapport au témoin alors que les valeurs du champ Giroux représentent le même ordre de grandeur que le champ témoin (0 kg/ha atrazine + fertilisant). Le champ Côté expose des valeurs 2.3 significativement plus grandes que le témoin 1.5 (sans atrazine avec fertilisant) et cela laisse supposer que c'est la présence d'atrazine qui provoque la génotoxicité. L'absence de différence de génotoxicité par contre entre le champ témoin 1.5 et le champ Giroux 1.3 et 1.7 donne à penser que les produits endogènes naturels provoquent la génotoxicité. Il est possible que, dans le champ Giroux, l'atrazine appliquée, l'année de la culture, n'ait pas migré jusqu'à la zone racinaire et n'ait pas été prise en charge par le maïs. En champ, plusieurs processus peuvent limiter le taux d'accumulation d'atrazine: (1) perte par volatilisation ou photodécomposition, (2) perte par lessivage, (3) adsorption par le sol qui constitue un système tampon (l'adsorption est correlée avec le contenu en matière organique, donc le lisier peut adsorber l'atrazine), (4) l'herbicide peut se décomposer au sol par l'action microbiologique, si bien que les produits de dégradations n'exercent pas le même effet que l'atrazine et peuvent conduire à différentes voies de prise en charge, (5) les conditions environnementales affectent les taux de transpiration qui à leur tour affectent la prise en charge (la translocation de l'atrazine est directement proportionnelle à la transpiration) et (6) influence de la distribution verticale de l'atrazine. Il est également possible qu'une partie seulement des racines se trouvent dans la zone où se trouve l'herbicide. L'herbicide sera pris en charge par la plante seulement quand une prise en charge de l'eau peut se faire, là où se situe l'herbicide car les concentrations d'atrazine dans les feuilles de plants sont directement proportionnelles aux concentrations d'atrazine dans la solution du sol (Walker, 1972). En considérant ces divers facteurs, Walker (1972) a démontré que des plantes poussant en sols ne peuvent enlever que quelques ug d'herbicide du sol, ce qui représente approximativement 8% de la quantité totale présente. Dans la même étude, les concentrations d'atrazine dans du blé poussant dans une solution nutritive avec herbicide, étaient proportionnelles aux concentrations de l'herbicide en solution et il y avait un plus grand taux d'accumulation dans les feuilles des plants ayant poussé dans la solution nutritive comparativement à ceux poussés dans un sol.

Il se peut que les plantules ayant poussé dans de la vermiculite (Plewa et Gentile, 1976) aient été plus en mesure d'absorber l'atrazine en solution. La mutagénicité mesurée dans les extraits traités à l'atrazine récoltés dès le début de la croisance (2 semaines) par Plewa et Gentile (1976) serait alors la résultante de l'action des tissus *in vivo* qui activent l'atrazine en produits mutagènes. En champ, la prise en charge est minime et plusieurs facteurs favorisent l'apparition de mutagènes endogènes (e.g. toxines, flavonoïdes (aflatoxine)). Il devient très difficile de départager ou de voir le phénomène d'activation de l'atrazine en produits mutagènes par l'action des tissus de la plante lorsque des substances naturelles mutagènes sont aussi présentes.

Une baisse dans les valeurs génotoxiques des échantillons de plants matures a été mesurée par Sumner *et al.*(1984),et le même phénomène apparaît galement pour le champ Côté, alors que le champ témoin expose des valeurs plus grandes qu'au début de la croissance.

Le maïs renferme un composé, le 2,4 dihydroxy-7-méthoxy-1, 4 (2H)-benzoxazin-3(4H)-1, aussi retrouvé chez d'autres plantes, qui a démontré une mutagénicité envers *S.typhimurium* dans le test de Ames (Hashimoto *et al.*, 1979). Ce composé appelé benzoxazinone catalyse la dégradation de l'atrazine dans les plantes en hydroxyatrazine (l'hydroxyatrazine ne peut être produit dans le métabolisme des mammifères alors que c'est une voie de dégradation très active chez le maïs) (Benigni *et al.*,1979). La concentration de ce composé, altérée par le traitement à l'atrazine pourrait interférer avec le S.O.S. Chromotest et occasionner une augmentation de la génotoxicité lorsque les procédures d'extraction ne sont pas assez spécifiques pour entraîner son élimination. Dans ce cas, la génotoxicité ne serait pas due à un produit de dégradation de l'atrazine, mais à une augmentation des substances génotoxiques endogènes en réponse à l'atrazine.

5.2 Génotoxicité de l'atrazine après activation in vitro par un système S9 de plantes de maïs

Généralement les bio-essais in vitro déterminant la mutagénicité ont démontré que l'atrazine seule n'est pas mutagène, même lorsqu'elle est mise en présence du

système activateur microsomal hépatique mammalien S9 (Kappas, 1988). L'atrazine commerciale ne présente pas de génotoxicité dans le SOS Chromotest.

Dans la présente étude, on a mis l'atrazine commerciale en présence d'un système activateur S9 de plantes. Cette fraction est le surnageant recueilli après centrifugation à 9000 g des homogénats de maïs récoltés entre le début de la croissance et la maturité. Les fractions S9, du maïs à maturité, ont surtout été employées comme système d'activation.

5.2.1 Concentration de S9 testée

Comme le contenu en protéines (paramètre de standardisation du système d'activation de mammifère) du surnageant S9 de plante était significativement plus petit que celui observé avec le surnageant S9 de foie de rat (maïs: 1.5 et 3.5 mg/mL de protéines contre foie de rat: 40 mg/mL), il a fallu augmenter le volume de S9 de plantes dans la préparation du mélange S9 afin d'approcher davantage la concentration normalement employée dans le système d'activation métabolique de mammifère. Entre 0.5 et 3 mg de S9, c'est-à-dire jusqu'à 2250 μL d'extrait de plantes de maïs prélevés, après 2 semaines de croissance, et à maturité, ont été ajoutés au mélange d'activation au lieu de 8 mg de S9 foie ou 200 μL dans 2050 μL H_2O. 250 μL d'extrait S14 de plantes avaient été employés pour égaliser la concentration retrouvée en protéines dans 40 μL de S9 de foie dans une étude où Wilderman et Nazar (1982) ont utilisé le test de Ames pour réaliser une activation métabolique par des plantes.

5.2.2 Choix du contrôle positif

Afin de vérifier si la fraction S9 de plantes, soumise au test, possédait des enzymes actifs pour l'activation métabolique, le 4-nitro-o-phenylenediamine communément appelé NOP a été utilisé comme contrôle positif. Wilderman et Nazar (1982) ont démontré que les facteurs tels le contenu en protéines, la présence d'enzymes catalase et peroxidase ne peuvent être utilisés directement pour sélectionner les homogénats souhaitables pour l'activation puisqu'aucune corrélation n'a pu être établie entre le niveau d'activation des diverses espèces végétales étudiées et chacun

de ces facteurs. Cependant ils sont utiles pour permettre la standardisation des extraits. La catalase n'a pas été démontrée responsable de l'activation d'aucun promutagène de plante tandis que les peroxidases l'ont été.

NOP-X n'est pas mutagénique en soi et n'est pas activé par le S9 hépatique de mammifère (Gentile et Plewa, 1988). L'activation de NOP par du S9 de plantes (pois et tabac) permet de constater la présence de peroxidases actives (Gentile et Plewa, 1988). Comme les peroxidases sont parmi les plus importantes enzymes responsables du métabolisme oxydatif dans les plantes, et que, ce sont des enzymes stables et abondantes dans la plupart des homogénats de plantes, l'activation de NOP par le S9 préparé a été le moyen employé pour contrôler la qualité des homogénats prélevés et signifier que les enzymes peroxidases étaient présentes et actives.

L'évaluation de l'induction du promutagène atrazine commercial en présence de S9 de maïs récolté à maturité (septembre) a été faite selon la méthode en micro-plaques (tableau 5.3). Des concentrations diluées 1:2 d'atrazine à partir d'une solution de 80 mg/L ou 40 mg/L ont été ajoutées au test avec activation in vitro. Des concentrations d'atrazine supérieures à 100 mg/L semblaient occasionner une toxicité chez la bactérie E.coli lorsque ces concentrations étaient ajoutées avec le système activateur S9. Sans système activateur S9, elles n'étaient pas toxiques.

5.2.3 Induction de l'atrazine

Les extraits de maïs à maturité (septembre) constituant le système activateur *in vitro*, dont le contenu en protéines se situe à 3 ou 4 mg de protéines, ont activé le contrôle positif NOP (tableau 5.3). Des facteurs d'induction variant de 2.0, 1.6 et 2.1 sont enregistrés dans les échantillons avec NOP et 4 mg d'extrait S9 du champ Giroux (lisier 100 t/ha + 2kg/ha atrazine), 3 mg d'extrait S9 du champ Côté (lisier 60 t/ha + 2 kg/ha atrazine, 1 an avant culture) et 3 mg d'extrait S9 du champ témoin (fertilisant sans atrazine) respectivement.

Tableau 5.3: Evaluation de l'induction du promutagène *atrazine* en présence de fraction S9 de plant de maïs

Traitement du champs (19/09)	S9 (mg de protéines)	facteur d'induction pour *atrazine*			facteur d'induction pour NOP		
Maïs + Lisier 100t/ha Atrazine (+)	4	1.9	R	+	2.0	R	+
Maïs + Lisier 60t/ha Atrazine (+)	3 1	1.5 1.8	R R	+ +	1.6	R	+
Maïs + Fertilisant Atrazine (-)	3 1	1.2 0.99	A	- -	2.1	R	+

+S9: avec activation métabolique de plante

Test d'égalité des moyennes ($\alpha = 0.05$):

R: hypothèse H_0 rejettée, donc l'activité génotoxique est +

A: hypothèse H_0 acceptée, donc l'activité génotoxique est -

Quant aux valeurs de facteurs d'induction enregistrées après ajout d'atrazine diluée 1:2, au système S9 activateur, elles n'ont pas varié proportionnellement à la concentration d'atrazine ajoutée. Aucune droite de régression n'a pu être tracée faute d'obtenir une relation claire dose-réponse entre la quantité d'atrazine ajoutée et le degré d'activation exprimé sous forme de facteur d'induction. Les facteurs d'induction représentés au tableau 5.3 sont ceux enregistrés après ajout de 10 uL en triplicata d'une concentration de 40 mg/L d'atrazine au système activateur S9 de plants de maïs provenant de différents champs. Des facteurs d'induction significativement différents des témoins de 1.9, 1.5 et 1.8 sont notés pour l'atrazine mise en contact avec 4, 3 et 1 mg d'extrait S9 de maïs traitées à l'atrazine 2 kg/ha (l'année de la culture) et au lisier 100 t/ha (champ Giroux) ainsi qu'à l'atrazine 2 kg/ha (1 an avant la culture) et au lisier 60 t/ha (champ Côté). Les facteurs d'induction de 1.2 et 0.99 correspondant à 3 et 1 mg d'extrait S9 de maïs traité sans atrazine et avec fertilisant ne sont pas significativement différents du témoin. D'autres extraits S9, récoltés en juillet, ont été mis en contact avec l'atrazine et NOP, mais n'ont pas activé ceux-ci. Notons que ces extraits ont été décongelés par mégarde, puis recongelés, ce qui peut avoir occasionné une perte d'activité enzymatique.

Des fractions S9 récoltées à 2 semaines de croissance et correspondant au traitement atrazine 2 kg/ha (1 an avant la culture) et lisier 60t/ha pour activer l'atrazine commerciale par la méthode en éprouvettes. Les facteurs d'inductions notés à la suite de l'ajout du contrôle positif NOP, ont été plus élevés que ceux correspondant aux extraits récoltés en fin de saion (septembre); 3.2 comparativement à 1.8, cependant aucune activation de l'atrazine n'a été enregistrée.

A la lumière de ces résultat, et de l'absence d'une courbe dose-réponse, il n'apparaît pas évident que l'atrazine soit activée à la suite d'une transformation métabolique (*in vitro*) liée à la présence d'enzymes, en composés génotoxiques. La génotoxicité positive de l'atrazine en présence des extraits S9 des champs Giroux et Côté, peut être le résultat de la formation d'un composé génotoxique lié à la présence de l'atrazine. Les résultats positifs obtenus dans le test *in vivo* et les résultats très souvent négatifs obtenus dans le test *in vitro*, indiquent peut-être une faiblesse dans la méthode d'obtention d'un extrait de plante contenant les enzymes appropriés. Les

extraits utilisés, sont très peu purifiés et une activation véritable pourrait possiblement survenir et être démontrée plus clairement à la suite d'une optimisation des conditions préparatoires à l'essai. L'incapacité de la fraction S9 à activer l'atrazine peut être causée par l'absence d'un ensemble approprié d'enzyme d'activation, autres que des peroxidases, par leur inactivation durant la procédure d'extraction, ou par leurs faibles concentrations (une concentration qui peut être suffisante pour l'activation *in vivo*, mais insuffisante lorsque diluée durant l'extraction), par la dépendance de leur activité envers des organes spécifiques, des cellules spécifiques ou une étape spécifique de développement de la plante. Wilderman et Nazar (1982) ont indiqué que contrairement aux mammifères qui possèdent un foie, les plantes ne contiennent pas d'organes uniques où sont concentrés les mécanismes de défense métabolique. Un nombre d'études ont indiqué qu'il y avait un taux métabolique généralement plus élevé dans les semis, particulièrement dans les régions méristématiques en croissance. L'utilisation de fraction de jeunes semis fraîchement germés, ou de cellules spécialisées de jeune semis, aurait pu changer les résultats.

5.3 Génotoxicité de l'eau de ruissellement

L'analyse génotoxique par le SOS Chromotest (en micro-plaques) a été réalisée sur tous les échantillons d'eau de ruissellement non concentrés, et concentrés par la méthode d'extraction liquide-liquide permettant d'extraire et de concentrer les substances organiques contenues dans l'eau de ruissellement.

5.3.1 Echantillons d'eau de ruissellement brute

L'analyse génotoxique sans activation et avec activation *in vitro* par la fraction S9 de foie de rat, des échantillons d'eau de ruissellement brute est présentée en annexe 1. La mesure de génotoxicité, exprimée par les facteurs d'induction, pour tous les échantillons, n'a pas dépassé les valeurs de 1.1 et 1.2, aux concentrations mesurées, ce qui indique une absence de génotoxicité. Seuls les contrôles positifs 4NQO et 2AA ont permis de mesurer une relation dose-réponse explicite.

Cette analyse fournit la preuve qu'après ruissellement, les substances organiques et inorganiques entraînées dans l'eau, pouvant résulter de la dégradation chimique ou

microbiologique, après traitement au lisier et à l'atrazine, ne présentent pas de danger environnemental pour l'humain aux concentrations appliquées.

5.3.2 Echantillons d'eau de ruissellement concentrée

Les échantillons d'eau de ruissellement concentrée et diluée dans le DMSO, n'ont pas présenté de valeurs de facteurs d'induction significativement différentes des témoins, même après activation par le S9 de foie de rat (annexe 2). Les substances organiques concentrées et dégradées ne présentent pas de danger environnemental pour l'humain, au stade de dégradation évalué après ruissellement.

5.4 Génotoxicité des sols

L'analyse génotoxique avec et sans activation, d'échantillons de sol préparés par la méthode Soxhlet et Xu Dutka, a été réalisée après la récolte de carottes de 10 cm, une semaine après application de lisier de porc et d'atrazine et suite à une pluie de 11 mm/h, 142 minutes, sur les bacs de sol. L'analyse génotoxique a été répétée sur des échantillons correspondant aux mêmes traitements, après 3 mois d'incubation.

5.4.1 Résultats d'extraction par la méthode Soxhlet

Les échantillons de sol extraits par la méthode Soxhlet, n'ont pas démontré de potentiel génotoxique avec ou sans activation in vitro. Les mêmes résultats ont été enregistrés pour les échantillons extraits après 3 mois d'incubation. (annexe 3).

5.4.2 Résultats d'extraction par la méthode Xu Dutka

Les échantillons de sol extraits par la méthode Xu Dutka, n'ont pas démontré de potentiel génotoxique après activation ou sans activation in vitro (annexe 4).

Les résultats négatifs mesurés pour les échantillons extraits après 3 mois d'incubation, démontrent que même lorsque des processus de dissipation, comme la dégradation chimique ou microbiologique surviennent et dégradent la molécule mère

d'atrazine en composés secondaires, l'atrazine en présence de ses produits de dégradation et ceux du lisier n'occasionnent pas de génotoxicité apparente. L'hydrolyse alcaline ou acide, entraînant la formation d'hydroxyatrazine, la déalkylation qui enlève le groupe éthyl ou le groupe isopropyl (sources d'énergie disponible pour les microorganismes après phosphorylation oxydative), la déalkylation de l'hydroxyatrazine, la déamination et le clivage de l'anneau (voies possibles de dégradation dans le sol), ne semblent pas entraîner la formation de métabolites génotoxiques.

CHAPITRE 6

Sommaire et conclusion

6 SOMMAIRE ET CONCLUSION

L'étude temporelle du potentiel toxique et génotoxique d'un microcosme agricole, eaux de ruissellement- sols- plants de maïs, après application conjointe de fertilisant lisier de porc et de l'herbicide atrazine, en condition de ruissellement, a été réalisée en 2 parties par l'utilisation des bioessais Microtox et Potentiel de fertilité, évaluant la toxicité, et le SOS Chromotest évaluant la génotoxicité.

Dans la première partie réalisée en laboratoire, neuf mini-parcelles de sol ont été incubées durant 7 mois, après applications combinées de lisier au taux de 150 Kg N/ha (en surface et enfoui) et/ou d'atrazine aux taux de 2 et 4 Kg/ha. Une semaine après épandage, deux pluies ont été simulées pour provoquer le ruissellement. Les processus de dissipation du lisier et de l'atrazine se sont traduits par des pertes importantes d'atrazine, entraînées dans l'eau de ruissellement, particulièrement lorsqu'il y a application conjointe de lisier et d'atrazine à la surface du sol. La présence de lisier en surface au taux de 150 Kg N/ha conjointement à l'atrazine au taux de 2 et 4 Kg/ha a modifié les conditions d'écoulement et fait accroître de 6 et 9 fois les pertes d'atrazine par rapport au sol traité seulement à l'atrazine ou au sol traité au lisier enfoui et atrazine, lorsque l'intensité-durée de pluie appliquée a été de 22 mm/h durant 90 minutes. Les pertes d'atrazine ont été 10 et 24 fois plus importantes en comparaison des mêmes traitements, après une pluie d'intensité-durée de 11 mm/h, 142 minutes. Lorsque le lisier est enfoui à 20 cm, les pertes d'atrazine correspondent à celles du traitement avec atrazine sans lisier et sont moins importantes car l'absence de lisier en surface a pour effet d'augmenter le taux d'infiltration des substances.

Des trois bioessais qui ont servi à mesurer le potentiel toxique et génotoxique des eaux de ruissellement et des lixiviats de sol sur une période de 7 mois, seul le bio-essai mesurant le potentiel de fertilité avec l'algue *S. capricornutum* a été concluant. Les bactéries *P. phosphoreum* du bioessai Microtox ont été insensibles à la présence de concentrations d'atrazine et ses produits de dégradation, de même que les bactéries *E. coli* mesurant la génotoxicité par le S.O.S. Chromotest.
Une semaine après épandage, la pluie de 22 mm/h sur les mini-parcelles traitées à l'atrazine a occasionné pour les eaux de ruissellement filtrées et diluées 10x

(traitements 2 et 4 Kg/ha d'atrazine), une toxicité significativement différente de l'eau du témoin (non traité). Des baisses des rapports biomasse mesurée/biomasse du contrôle (Bx/Bt) de 34.5 et 30.5% ont été observées. Les eaux de ruissellement provenant du traitement lisier et atrazine (2 et 4 Kg/ha) produisaient des baisses de rapports Bx/Bt de 10 et 56% comparativement au témoin (lisier). L'absence d'une toxicité plus marquée pour l'eau de ruissellement correspondant aux traitements lisier et atrazine pour lesquels des concentrations plus élevées d'atrazine ont été mesurées dans l'eau non filtrée, signifie que les particules de lisier dans l'eau de ruissellement auraient la capacité d'adsorber ou de réagir avec l'atrazine pour la rendre moins biodisponible et moins toxique aux algues. Les dilutions subséquentes ont été non toxiques alors que le phosphate inorganique a exercé un effet auxénique sur la croissance algale.

Au début de la période d'incubation, l'atrazine et le lisier résiduels non rejetés par ruissellement, de même que leurs produits de dégradation formés au cours du délai entre l'épandage et la simulation de la pluie de 11 mm/hr, dans les lixiviats de sols, filtrés, non dilués ont occasionné une toxicité algale représentée par de fortes diminutions de biomasses. Des baisses de 43 et 100% (traitement à l'atrazine) et de 64 et 100% (traitements au lisier et atrazine 2 et 4 Kg/ha) ont été mesurées.

Après 3 mois d'incubation, l'atrazine et ses produits de dégradation favorisent encore l'inhibition de croissance algale dans les lixiviats de sol, malgré une baisse d'environ 30% dans les concentrations en atrazine des carottes de sol pour chaque traitement.

Parallèlement à cette baisse, on note à la fois l'absence et la présence de toxicité algale par des diminutions des rapports Bx/Bt de 0 et 65% (lixiviats non dilués), de 0 et 86.5% (lixiviats dilués 50x) pour les traitements 2 Kg/ha d'atrazine. Des baisses de rapports Bx/Bt de seulement 25 et 60% (lixiviats non dilués), de 16 et 34% (lixiviats dilués 50X) pour les traitements 4 Kg/ha d'atrazine sont mesurées, malgré la présence 2 fois plus importante d'atrazine dans les carottes de sol pour ce traitement.

Quant aux lixiviats de sol (traitements lisier et atrazine 2 Kg/ha), des baisses de 0% (lixiviat non dilué) et de 71% (lixiviat 50x dilué) dans les rapports Bx/Bt, ainsi qu'une hausse de biomasse (traitement lisier et atrazine 4 Kg/ha) ont été mesurées.

Dans les échantillons avec lisier, la matière organique a eu pour effet d'adsorber l'atrazine et la rendre moins biodisponible aux algues vraisemblablement.

L'absence de toxicité, malgré la présence d'atrazine, dans certains échantillons de sol sans lisier, laisse supposer que la matière organique contenue dans le sol sans lisier, adsorbe également l'atrazine et l'empêche d'exercer une toxicité.

Sept mois après épandage et ruissellement, les baisses de concentrations majeures dans tous les traitements et l'absence de toxicité notée dans les lixiviats, indiquent que l'atrazine résiduelle est adsorbée et non biodisponible et que les produits de dégradation de l'atrazine ainsi que les résidus liés irréversiblement à la matière organique ne contribuent pas à produire une toxicité ni même une génotoxicité.

Les pertes de lisier et d'atrazine lors du ruissellement rendent difficile l'observation d'un effet de stimulation de la dégradation d'atrazine par le lisier. Pour pouvoir observer un effet, d'autres études pourraient être faites: des prélèvements d'échantillons de sols prélevés immédiatement après épandage et avant ruissellement et tôt au début de la période d'incubation qui suit le ruissellement, de même que des essais d'épandage de lisier et d'atrazine, en absence de conditions de ruissellement, avec analyse des produits secondaires formés, permettraient de voir si les doses normalement utilisées de lisier, favorisent la dégradation de l'atrazine lorsqu'il n'y a pas de pertes par ruissellement. Le lisier aurait plutôt tendance à adsorber l'atrazine qu'à favoriser sa dégradation.

Dans la deuxième partie, le potentiel génotoxique des fractions S1 et S9 de plants de maïs soumis en champs, à des doses de lisier et d'atrazine équivalentes aux essais de laboratoire pendant une saison de croissance a été testé à l'aide du S.O.S. Chromotest afin d'étudier si les métabolites formés "in vivo" dans les plants de maïs sont génotoxiques. Tous les extraits ou fractions S1 et S9 de maïs ont été génotoxiques, y compris les témoins (non traités), fournissant l'indication que des substances naturellement présentes chez le maïs sont responsables d'une partie de la génotoxicité mesurée. Cependant, une génotoxicité plus marquée des extraits de

plants traités par rapport aux plants non traités corrobore les résultats de Plewa & Gentile, stipulant l'influence du métabolisme des plantes sur la génotoxicité de l'atrazine. L'utilisation d'extraits de plants cultivés en champs permet difficilement de départager l'effet génotoxique de constituants naturels de l'influence du métabolisme du maïs sur l'atrazine étant donné les processus variés qui influencent le taux d'accumulation de l'atrazine par la plante.

Un autre essai d'activation, cette fois "in vitro", de l'atrazine commerciale avec le système S9 de plants de maïs a été réalisé afin de déterminer si l'atrazine est biotransformée en substances secondaires génotoxiques par les enzymes contenus dans la fraction S9. Des facteurs d'induction significativement différents des témoins ont été mesurés avec certains des extraits ayant activé le contrôle positif 4-nitro-o-phenylenediamire (NOP), cependant, plusieurs autres extraits ont été négatifs. Ces résultats ont indiqué une faiblesse dans la méthode d'obtention d'un extrait de plante contenant les enzymes appropriées et en concentration suffisante.

L'analyse des substances promutagènes à l'aide des essais in vivo de plantes ne représente seulement qu'une des approches servant à évaluer l'activation métabolique des promutagènes chez les plantes.

Il faut mentionner que sans information additionnelle au sujet de l'activation des promutagènes in vitro, sans extraction et caractérisation des produits mutagènes ou génotoxiques provenant de plantes exposées à des promutagènes, sans inhibition de la mutagenèse dans les essais in vivo de plantes par des inhibiteurs spécifiques de l'activation et sans connaissance de l'enzymologie des systèmes d'activation de plantes, l'activité mutagène ou génotoxique des promutagènes dans les essais in vivo de plantes ne peut être interprétée définitivement comme une évidence de leurs activations métaboliques endogènes. Il existe la possibilité qu'un promutagène soit transformé sans que n'intervienne le système enzymatique ou que le promutagène induise des effets génétiques sans être activé. Des recherches à venir sont nécessaires.

Dans notre étude, seules les fractions S1 et S9 ont été analysées, bien que d'autres fractions auraient pu recueillir des métabolites génotoxiques puisque ceux-ci peuvent être emmagasinés dans des organelles dont le contenu n'est pas récupéré dans les fractions utilisées.

Les processus de dégradation chimiques et biologiques, au sol, produiraient, après un certain temps, des produits secondaires d'atrazine qui ne sont aucunement génotoxiques, alors que les transformations biochimiques de l'atrazine qui s'opèrent, dans la plante de maïs suite à l'utilisation de voies métaboliques différentes, conduiraient à la production de composés génotoxiques en quantité variable suivant le degré de maturité de la plante.

REFERENCES

7 REFERENCES

AMES, B.N., F.D. LEE et W.E. DURSTON (1973). An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 70: 782-786.

AMES, B.N., W.E. DURSTON, E. YAMASAKI et F.D. LEE (1973). Carcinogens and mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 70: 2281-2285.

AMES, B.N., J. McCANN et E. YAMASAKI (1975). Methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. Mut. Res., 31: 347-363.

AMES, B.N. (1979). Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. Science, 204: 587.

ANDERSON, J.P.E. (1981). Soil moisture and the rates of biodegradation of diallate and triallate. Soil Biol. Biochem., 13: 155-161.

APHA-AWWA-WPCF (1980). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 15th edition. American Public Health Association, American Water Work Association Water Pollution Control Federation, New York. 1134 pp.

AUDESSE, P. (1982). Principes et techniques d'analyses de sol. Laboratoire du Service de recherche en sols, Section Chimie et Fertilité. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, 8 p.

BAKSHI, K.S., D.J. BRUSICK et D.D. SUMNER (1981). Mutagenic activity of corn plants grown in untreated and atrazine (AATREX) treated soil. Environ. Mutagenesis, 3: 302.

BENIGNI, R., M. BIGNAMI, I. CAMONI et A. CARERE (1979). A new in vitro method for testing plant metabolism in mutagenicity studies. J. Toxicol. Environ. Health, 5: 809-819.

BERTOLDI, M., M. GRISELLI, M. GIOVANNETTI et R. BARALE (1980). Mutagenicity of pesticides evaluated by means of gene conversion in Saccharomyces cerevisiae and in Aspergillus nidulans. Environmental Mutagenesis, 2: 359-370.

BIO-RAD (1979). Bio-Rad Protein Assay, Bulletin 1069, February 1979. Bio-Rad Laboratories.

BORGGAARD, O.K. et J.C. STREIBIG (1988). Atrazine adsorption by some soil samples in relation to their constituents. Acta Agric. Scand., 38: 293-301.

BRADFORD, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem., 72, 248-254.

BROCKWAY, D.L., P.D. SMITH et F.E. STANCILL (1984). Fate and effects of atrazine in small aquatic microcosms. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 32: 245-253.

BUREAU DE NORMALISATION DU QUÉBEC (1987). Détermination de la toxicité, méthode avec la bactérie bioluminescente *Photobacterium phosphoreum*. Ministère de l'Industrie et du Commerce, NQ 3600-205, 24 p.

BUTLER, M.A. et R.E. HOAGLAND (1989). Genotoxicity assesment of atrazine and some major metabolites in the Ames test. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 43: 797-804.

BUTLER, G.L., T.R. DEASON et J.C. O'KELLY (1975). The effects of atrazine, 2,4-D, Methoxychlor, carbaryl and diazinon on the growth of planktonic algae. Br. Phycol. J., 10: 371-376.

BUTLER, G.L. (1977). Algae and pesticides. Residue Rev., 66: 19-62.

BUTLER, G.L., T.R. DEASON et J.C. O'KELLY (1975). The effects of atrazine, 2,4-D, methoxychlor, carbaryl and diazinon on the growth of planktonic algae. Br. Phycol. J., 10:371-376.

CARLO ERBA STRUMENTAZIONE (1986). Nitrogen analyser 1500. Instruction manual.

CHIAUDANI, G. et M. VIGHI (1978). The use of *Selenastrum capricornutum* batch culture in toxicity studies. Verh. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol., 21: 316-329.

CLOUTIER, C., S.A. VISSER et H. ANTOUN (1983). Etude de quelques propriétés chimiques et microbiologiques du lisier de porcs sous forme brute et compostée en vue de pouvoir évaluer son potentiel fertilisant. Rapport pour le Conseil de recherche et services agricoles du Québec, 107 p.

DE NOYELLES, F., W.D. KETTLE et D.E. SINN (1982). The responses of plankton communities in experimental ponds to atrazine, the most heavily used pesticide in the United States. Ecology, 63: 1285-1293.

DOYLE, R.C., D.D. KAUFMAN et G.W. BURT (1978). Effect of dairy manure and sewage sludge on ^{14}C-pesticide degradation in soil. J. Agric. Food Chem., 26: 987-989.

DOYLE, R.C., D.D. KAUFMAN, G.W. BURT et L. DOUGLASS (1981). Degradation of cis-permethrin in soil amended with sewage sludge or dairy manure. J. Aric. Food Chem., 29: 412-414.

ENVIRONNEMENT CANADA (1989). Protocole de détermination de la génotoxicité (S.O.S. Chromotest). Conservation et Protection, Longueuil, février 1989, 24 p.

ERICKSON, L.E. et K.H. LEE (1989). Degradation of atrazine and related s-triazines. Critical Reviews in Environmental Control, 19: 1-14.

FRANK, R., G.J. SIRONS, R.L. THOMAS et K. McMILLAN (1979). Triazine residue in suspended solids (1974-1976) and water (1977) from the mouths of canadian streams flowing into the Great Lakes. J. Great Lakes Res., 5: 131-138.

GANGBAZO, G., D. CLUIS, D. COUILLARD et A.P. PESANT (1988). Effet de la pluie sur les pertes d'azote suite à l'épandage du lisier de porcs au printemps. Ministère de l'Environnement du Québec, 21 p.

GENTILE, J.M. et M.J.PLEWA (1982). Plant dependant mutation assays. Dans: Fleck, R.A.,Hollander A.(eds): "Genetic Toxicology: An Agricultural Perspective" New York: Plenum Press, p.327-352.

GENTILE, J.M. et M.J. PLEWA (1983). The maize-microbe bioassay. A unique approach to environmental mutagenesis. Dans: Kobler, A.R., Wong, T.K., Grant, L.D., DeWoskin, R.S., Hughes, T.J. (eds): "In vitro toxicity testing of environmental agents. Part A: Survey of test systems", New York: Plenum Press, p. 151-166.

GENTILE, J.M., G.J. GENTILE, S. TOWNSEND et M.J. PLEWA (1985). In vitro enhancement of the mutagenecity of 4-nitro-o-phenylene diamine by Plant S-9. Environ. Mutagenesis, 7: 73-85.

GENTILE, J.M. et M.J. PLEWA (1988). The use of cell-free system in plant activation studies. Mut. Res., 197: 173-182.

GREENLAND, D.J. et M.H.B. HAYES (1981). The Chemistry of Soil Processes. John Wiley & Sons Ltd, 670 p.

HALL, J.K. (1974). Erosional losses of s-triazine herbicides. J. Environ. Qual., 3: 174.

HASHIMOTO, Y., K. SHUDO, T. OKAMOTO, Y. TAKAHASHI et T. SUGIMURA (1979). Mutagenicities of 4-hydroxy-1, 4-benzoxazinones naturally occuring in maize plants and of related compounds. Mut.Res., 66: 191-194.

HAYES, M.H.B. (1970). Adsorption of triazine herbicides on soil organic matter, including a short review on soil organic matter chemistry. Residue Rev., 32: 131-174.

HERSH, C.M. et W.G. CRUMPTON (1989). Atrazine tolerance of algae isolated from two agricultural streams. Environ. Toxicol. and Chem., 8: 327-332.

JONES, T.W., W.M. KEMP, J.C. STEVENSON et J.C. MEANS (1982). Degradation of atrazine in estuarine water/sediment systems and soils. J. Environ. Quality, 11: 632.

JOUBERT, G. (1983). Méthode détaillée pour la mesure quantitative de la toxicité avec l'algue *Selenastrum capricornutum*. Ministère de l'Environnement du Québec, 29 p.

KAPPAS, A. (1988). On the mutagenic and recombinogenic activity of certain herbicides in *Salmonella typhimurium* and in *Aspergillus nidulans*. Mut.Res., 204: 615-621.

KAUFMAN, D.D. et P.C. KEARNEY (1970). Microbial degradation of s-triazine herbicides. Residue Rev., 32: 235.

KETTLE, W.D., F. DE NOYELLES, B.D. HEACOCK et A.M. KADOUM (1987). Diet and reproductive success of bluegill recovered from experimental ponds treated with atrazine. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 38: 47-52.

KOEPPE, M.K. et E.P. LICHTENSTEIN (1984). Effects of organic fertilizers on the fate of ^{14}C carbofuran in an agro-microcosm under soil run-off conditions. J. Econ. Entomol., 77: 1116-1122.

KOSINSKI, R.J. et M.G. MERKLE (1984). The effect of four terrestrial herbicides on the productivity of artificial stream algal communities. J. Environ. Qual., 13: 75-82.

LAMOUREUX, G.L. et D.G. RUSNESS (1986). Xenobiotic conjugation in higher plants, Dans: G.D. Paulson, J. Caldwell, D.H. Hutson and J.J. Menn (Eds.), Xenobiotic Conjugation Chemistry, ACS Symp. Ser. 229, American Chemical Society, Washington, D.C., p. 62-105.

LARSEN, D.P., F. DE NOYELLES, J.F. STAY etT. SHIROYAMA (1986). Comparisons of single-species, microcosm an experimental ponds to atrazine exposure. Environ. Toxicol. Chem., 5:179-190.

LICHTENSTEIN, E.P., T.T. LIANG et M.K. KOEPPE (1982). Effects of fertilizers, captafol, and atrazine on the fate and translocation of ^{14}C fonofos and ^{14}C parathion in a soil-plant microcosm. J. Agric. Food. Chem., 30: 871-878.

LUPI, C. (1989). Modelling behaviour of pollutants in soil for risk assessment purposes. Dans: NATO Challenges Mod. Soc., 12: 89-110.

LUSBY, A.F., Z. SIMMONS et P.M. McGUIRE (1979). Variation in mutagenicity of s-triazine compounds tested on four Salmonella strains. Environ. Mutagenesis, 1: 287-290.

MARON, D.M. et B.N. AMES (1983). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mut.Res., 113: 173-215.

MATHIAS, M., J. GILOT-DELHALLE et J. MOUTSCHEN (1989). Mutagenicity of atrazine in *Schizosaccharomyces* pombe lindner with and without metabolic activation by maïze. Environ. Experim. Bot., 29: 237-240.

McCLURE, G.W. (1979). Accelerated degradation of herbicides in soil. Contr. Boycc. Thompson Inst., 24: 235-240.

MEANS, J.C., M.J. PLEWA et J.M. GENTILLE (1988). Assessment of the mutagenicity of fraction S1 from s-triazine-tested *Zea mays*. Mut.Res., 197: 325-336.

MENVIQ (1986). Détermination du carbone organique dissous dans les eaux. Méthode conductivimétrique automatisée. MENVIQ. 86.01/303-C 2.1. Ministère de l'Environnement du Québec, Québec, 11 p.

MUIR, D.C.G., J.Y. YOO et B.E. BAKER (1978). Residues of atrazine and N-deethylated atrazine in water from five agricultural watersheds in Québec. Arch. Environm. Contam. Toxicol., 7: 221-235.

MUIR, D.C.G. et B.E. BAKER (1978). The disappearance and movement of three triazine herbicides and several of their degradation products in soil under field conditions. Weed Res., 18: 111.

PAPINEAU, M. (1984). Evaluation de l'effet de l'épandage du lisier de proc sur la qualité des eaux de drainage à l'aide de bio-essais avec l'algue *Selenastrum capricornutum*. Mémoire de maîtrise, INRS-Eau, Québec, 102 p.

PLEWA, M.J. et J.M. GENTILE (1976). Mutagenicity of atrazine: a maize-microbe bioassay. Mut.Res., 136: 223-242.

PLEWA, M.J. et J.M. GENTILE (1982). The activation of chemical mutagens by green plants. Dans: A. Hollander, F.J. de Serres, (eds): "Chemical Mutagens, Principles and Methods for their Detection". New York, Plenum Press, VII: 401-420.

PLEWA, M.J., E.D. WAGNER, G.J. GENTILE et J.M. GENTILE (1984). An evaluation of genotoxic properties of herbicides following plant and animal activation. Mut.Res., 136: 233-245.

QUILLARDET, P., C. DE BELLECOMBE et J.M. GENTILE (1985). The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: validation study with 83 compounds, Mut. Res., 147:79-95.

QUILLARDET, P. et M. HOFNUNG (1985). The S.O.S. Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures. Mut. Res., 147: 65-78.

RAO, P.S.C., P. NKEDI-KIZZA, J.M. DAVIDSON et L.T. Ou (1983). Retention and transformations of pesticides in relation to non-point source pollution from croplands. Dans: Agricultural Management and Water Quality, F.W. Schaller, et G.W. Wiley (eds.), Iowa State Univ. Press, Iowa, p.127-140.

ROBERTS, G.C., G.J. SIRONS, R. FRANK et H.E. COLLINS (1979). Triazine residues in a watershed in southwestern Ontario. J. Great Lakes Res., 5: 246-255.

SANDERMAN, H. (1988). Mutagenic activation of xenobiotics by plant enzymes. Mut.Res., 197: 183-194.

SCHIAVON, M. (1988). Studies of the leaching of atrazine, of its chlorinated derivatives and of hydroxyatrazine from soil using ^{14}C ring-Labeled compounds under outdoor conditions. Ecotoxicol. Environ. Savety, 15: 46-54.

SCHIMABUKURO, R.H., G.L. LAMOUREUX et D.S. FREAR (1982). Pesticide metabolism in plants reactions and mechanisms Dans: F. Matsumura and C.R. Krishna Murti (Eds). Biodegradation of Pesticides. Plenum, New York, p. 21-66.

SCHNITZER, M. et S.U. KHAN (1978). Soil organic matter. Elsevier Scientific Publishing Company, New-York, 171 p.

SCHNÜRER, J., M. CLARHOLM et T. ROSSWALL (1985). Microbial biomass and activity in an agricultural soil with different organic matter contents. Soil Biol. Biochem., 17: 611-618.

SINGH, I., A.F. LUSBY et P.M. McGUIRE (1982). Mutagenicity of HPLC fractions from extracts of aatrex-treated corn. Environmental Mutagenesis, 4: 45-53.

SIRONS, G.J., R. FRANK et T. SAWYER (1973). Residues of atrazine, cyanazine, and their phototoxic metabolites in a clay loam soil. J. Agric. Food Chem., 21: 1016.

SOMASUNDARAM, L., K.D. RACKE et J.R. COATS (1987). Effect of manuring on the persistance and degradation of soil insecticides. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 39: 579-586.

STAY, F.S., A. KATKO, C.M. ROHM, M.A. FIX et D.P. LARSEN (1989). The effects of atrazine on microcosms developed from four natural plankton communities. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 18: 866-875.

STRATTON, G.W. (1984). Effects of the herbicide atrazine and its degradation products, alone and in combination on phototrophic microorganisms. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 13: 35-42.

SUMNER, D.D., J.E. CASSIDY, I.M. SZOLICS et G.J. MARCO (1984). Evaluation of the mutagenic potential of corn (*zea* mays) grown in untreated and atrazine (aatrex) treated soil in the field. Drug and chemical toxicology, 7: 243-257.

THERIAULT, ? (1983). Inventaire du cheptel québécois. Dans: Manuel de gestion agricole des fumiers. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec. Québec: 21-24.

TORSTENSSON, N.T.L. (1987). Microbial decomposition of herbicides in soil. Prog. Pestic. Biochem. Toxicol., 6: 249-270.

U.S.EPA (1971). Algal Assay Procedures: Bottle Test. National Eutrophication Research Program, Pacific Northwest Environmental Research Lab., Corvallis, Oregon, 82 p.

U.S.EPA (1978). The *Selenastrum capricornutum* Printz algal assay bottle test. Experimental Design, Application and Data Interpretation Protocol, EPA-600-19-78-018. Corvallis Environmental Research Laboratory, Office of Research and Development, Corvallis, Oregon, 120p.

U.S. EPA (1982). Test methods for evaluating solid waste: Physical/Chemical methods. 2nd ed., U.S. EPA, SW-846-July.

U.S. EPA (1985). Guidelines for preparing environmental and waste samples for mutagenicity (Ames) testing: Interim procedures and Panel Meeting Proceedings. EPA/600/4-85/058, Las Vegas, Nevada, 89114, 255 p.

VEBER, K., J. ZAHRADNIK, I. BREYL et F. KREDL (1981). Toxic effect and accumulation of atrazine in algae. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 27: 872-876.

VELEMINSKY, J. et T. GICHNER (1988). Mutagenic activity of promutagens in plants: indirect evidence of their activation. Mutation Research, 197: 221-242.

VIRMANI, M., J.O. EVANS et R.I. LYNN (1975). Preliminary studies of the effects of s-triazine, carbonate, urea, karbutilate herbicides on growth of fresh water algae. Chemosphere, 2: 65-71.

WAGENET, R.J. et J.L. HUTSON (1990). Pesticide management and pollution control in crop productions systems. Dans: Colloque sur la conservation de l'eau, CPVQ, p. 219-234.

WALKER, A. (1972). Availability of atrazine to plants in different soils. Pestic. Sci., 3: 139-148.

WAUCHOPE, R.D. (1978). The pesticide content of surface water draining from agricultural fields: a review. J. Environ. Qual., 7: 459-472.

WEBER, J.B. (1970). Mechanisms of adsorption of s-triazines by clay colloids and factors affecting plant availability. Residue Rev., 32: 93-130.

WILDERMAN, A.G. et R.N. NAZAR (1982). Significance of plant metabolism in the mutagenicity and toxicity of pesticides. Can. J. Genet. Cytol., 24: 437-449.

WHITE, A.W., A.P. BARNETT, B.G. WRIGHT et J.H. HOLLADAY (1967). Atrazine losses from follow land caused by runoff and erosion. Environ. Sci. Technol. 1: 740.

WU, T.L., D.L. CORRELL et H.E.H. REMENAPP (1983). Herbicide runoff from experimental watersheds. J. Environ. Qual., 12: 330-336.

WU, T.L. (1981). Atrazine residues in estuarine water and the aerial deposition of atrazine into Rhode River Maryland. Water Air Soil Pollut., 15: 173-184.

XU, H., B.J. DUTKA et K.K. KWAN (1987). Genotoxicity studies on sediments using a modified SOS chromotest. Tox. Ass., 2: 79-87.

Annexe 1a

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p13. 1
FICHIER DO-620: p13. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 3

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL NU

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	2.008	.697	.967
2	14.5	1.892	.687	1.011
3	9.1	1.748	.644	1.026
4	4.6	1.712	.619	1.007
5	2.3	1.612	.574	.992
6	1.2	1.567	.559	.994
7	.6	1.537	.546	.99
8	.3	1.513	.555	1.022

Moyenne temoin (620) = 0.558 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.558 - 2 E.T. = 1.406 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p13. 1
FICHIER DO-620: p13. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 4

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL NU

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.961	.686	.976
2	14.5	1.892	.676	.997
3	9.1	1.801	.659	1.021
4	4.6	1.712	.617	1.006
5	2.3	1.595	.571	.999
6	1.2	1.573	.545	.967
7	.6	1.553	.55	.989
8	.3	1.515	.55	1.013

Moyenne temoin (620) = 0.558 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.558 - 2 E.T. = 1.406 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p13. 1
FICHIER DO-620: p13. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 5

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, LISIER ENFOUI 150 kg N/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.969	.691	.979
2	14.5	1.884	.684	1.013
3	9.1	1.803	.661	1.023
4	4.6	1.797	.647	1.005
5	2.3	1.622	.585	1.006
6	1.2	1.58	.553	.977
7	.6	1.533	.544	.991
8	.3	1.525	.551	1.009

Moyenne temoin (620) = 0.558 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.558 - 2 E.T. = 1.406 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p13. 1
FICHIER DO-620: p13. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 6

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, LISIER ENFOUI 150 kg N/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.992	.692	.969
2	14.5	1.894	.679	1
3	9.1	1.826	.671	1.025
4	4.6	1.764	.625	.989
5	2.3	1.635	.581	.992
6	1.2	1.591	.562	.986
7	.6	1.542	.545	.986
8	.3	1.551	.55	.99

Moyenne temoin (620) = 0.558 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.558 - 2 E.T. = 1.406 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p13. 1
FICHIER DO-620: p13. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 7

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, LISIER EN SURFACE 150 kg N/ah

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.995	.695	.972
2	14.5	1.896	.677	.996
3	9.1	1.836	.673	1.023
4	4.6	1.735	.613	.986
5	2.3	1.639	.59	1.005
6	1.2	1.584	.559	.985
7	.6	1.557	.546	.979
8	.3	1.548	.554	.999

Moyenne temoin (620) = 0.558 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.558 - 2 E.T. = 1.406 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p13. 1
FICHIER DO-620: p13. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 8

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, LISIER EN SURFACE 150 kg N/ah

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.955	.692	.988
2	14.5	1.915	.681	.992
3	9.1	1.843	.676	1.023
4	4.6	1.787	.633	.988
5	2.3	1.647	.588	.996
6	1.2	1.586	.555	.976
7	.6	1.539	.549	.996
8	.3	1.534	.555	1.01

Moyenne temoin (620) = 0.558 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.558 - 2 E.T. = 1.406 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p13. 1
FICHIER DO-620: p13. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 9

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	2.011	.705	.978
2	14.5	1.853	.659	.993
3	9.1	1.834	.674	1.026
4	4.6	1.727	.614	.992
5	2.3	1.615	.583	1.008
6	1.2	1.584	.563	.992
7	.6	1.554	.559	1.004
8	.3	1.53	.556	1.015

Moyenne temoin (620) = 0.558 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.558 - 2 E.T. = 1.406 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p13. 1
FICHIER DO-620: p13. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 10

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.975	.702	.992
2	14.5	1.849	.668	1.008
3	9.1	1.817	.659	1.012
4	4.6	1.703	.611	1.001
5	2.3	1.611	.576	.998
6	1.2	1.567	.545	.971
7	.6	1.53	.534	.974
8	.3	-.021	-1.869	249.045

Moyenne temoin (620) = 0.558 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.558 - 2 E.T. = 1.406 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p13. 1
FICHIER DO-620: p13. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

DESCRIPTION :

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.932	.663	.958
2	14.5	1.869	.673	1.005
3	9.1	1.765	.65	1.028
4	4.6	1.661	.603	1.013
5	2.3	1.554	.57	1.025
6	1.2	1.592	.55	.964
7	.6	1.537	.576	1.047
8	.3	1.56	.555	.992

Moyenne temoin (620) = 0.558 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.558 - 2, E.T. = 1.406 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p13. 1
FICHIER DO-620: p13. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 12

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.946	.679	.974
2	14.5	1.909	.684	1
3	9.1	1.766	.65	1.027
4	4.6	1.71	.616	1.005
5	2.3	1.627	.577	.99
6	1.2	1.626	.568	.975
7	.6	1.586	.558	.982
8	.3	1.553	.561	1.009

Moyenne temoin (620) = 0.558 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.558 - 2 E.T. = 1.406 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 20 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p13. 1
FICHIER DO-620: p13. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 3

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	2.008	.697	.967
2	14.5	1.892	.687	1.011
3	9.1	1.748	.644	1.026
4	4.6	1.712	.619	1.007
5	2.3	1.612	.574	.992
6	1.2	1.567	.559	.994
7	.6	1.537	.546	.99
8	.3	1.513	.555	1.022

Moyenne temoin (620) = 0.558 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.558 - 2,E.T. = 1.406 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p14. 1
FICHIER DO-620: p14. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 3

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.959	.687	.984
2	14.5	1.864	.651	.978
3	9.1	1.752	.64	1.023
4	4.6	1.664	.595	1.001
5	2.3	1.622	.585	1.012
6	1.2	1.693	.576	.953
7	.6	1.531	.573	1.048
8	.3	1.462	.564	1.082

Moyenne temoin (620) = 0.563 + 2 E.T. = 0.576 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.579 - 2,E.T. = 1.486 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p14. 1
FICHIER DO-620: p14. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 4

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.939	.681	.984
2	14.5	1.912	.667	.978
3	9.1	1.815	.674	1.041
4	4.6	1.7	.605	.997
5	2.3	1.607	.579	1.009
6	1.2	1.6	.571	1
7	.6	1.554	.562	1.015
8	.3	1.49	.561	1.056

Moyenne temoin (620) = 0.563 + 2 E.T. = 0.576 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.579 - 2 E.T. = 1.486 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p14. 1
FICHIER DO-620: p14. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 5

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.932	.672	.975
2	14.5	1.827	.656	1.006
3	9.1	1.824	.656	1.008
4	4.6	1.718	.61	.997
5	2.3	1.654	.577	.978
6	1.2	1.578	.575	1.022
7	.6	1.555	.559	1.008
8	.3	1.504	.569	1.062

Moyenne temoin (620) = 0.563 + 2 E.T. = 0.576 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.579 - 2 E.T. = 1.486 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 9.1 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p14. 1
FICHIER DO-620: p14. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 6

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.939	.677	.978
2	14.5	1.839	.649	.989
3	9.1	1.839	.674	1.029
4	4.6	1.78	.621	.978
5	2.3	1.647	.585	.997
6	1.2	1.626	.575	.991
7	.6	1.637	.549	.94
8	.3	1.471	.575	1.096

Moyenne temoin (620) = 0.563 + 2 E.T. = 0.576 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.579 - 2 E.T. = 1.486 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 20 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p14. 1
FICHIER DO-620: p14. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 7

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.931	.672	.975
2	14.5	1.87	.658	.986
3	9.1	1.837	.643	.981
4	4.6	1.813	.626	.968
5	2.3	1.605	.567	.992
6	1.2	1.641	.579	.989
7	.6	1.552	.556	1.005
8	.3	1.504	.565	1.054

Moyenne temoin (620) = 0.563 + 2 E.T. = 0.576 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.579 - 2 E.T. = 1.486 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p14. 1
FICHIER DO-620: p14. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 8

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.95	.682	.98
2	14.5	1.858	.659	.994
3	9.1	1.791	.656	1.028
4	4.6	1.78	.622	.979
5	2.3	1.645	.577	.985
6	1.2	1.637	.572	.979
7	.6	1.565	.563	1.01
8	.3	1.471	.581	1.108

Moyenne temoin (620) = 0.563 + 2 E.T. = 0.576 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.579 - 2 E.T. = 1.486 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p14. 1
FICHIER DO-620: p14. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 9

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.948	.684	.985
2	14.5	1.856	.678	1.024
3	9.1	1.856	.684	1.033
4	4.6	1.726	.608	.987
5	2.3	1.66	.59	.996
6	1.2	1.622	.572	.99
7	.6	1.578	.569	1.011
8	.3	1.481	.575	1.09

Moyenne temoin (620) = 0.563 + 2 E.T. = 0.576 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.579 - 2·E.T. = 1.486 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p14. 1
FICHIER DO-620: p14. 2

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 10

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.978	.692	.98
2	14.5	1.86	.664	1.002
3	9.1	1.802	.661	1.029
4	4.6	1.692	.602	.997
5	2.3	1.644	.571	.973
6	1.2	1.609	.58	1.01
7	.6	1.598	.567	.994
8	.3	1.5	.569	1.063

Moyenne temoin (620) = 0.563 + 2 E.T. = 0.576 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.579 - 2 E.T. = 1.486 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 20 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

Annexe 1b

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p16. 1
FICHIER DO-620: p16. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 3

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL NU

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	2.005	.965	1.025
2	14.5	1.944	.954	1.045
3	9.1	1.93	.899	.992
4	4.6	1.922	.868	.962
5	2.3	1.85	.837	.964
6	1.2	1.796	.864	1.025
7	.6	1.765	.823	.993
8	.3	1.718	.845	1.048

Moyenne temoin (620) = 0.828 + 2 E.T. = 0.876 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.765 - 2 E.T. = 1.626 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 20 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p16. 1
FICHIER DO-620: p16. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 4

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL NU

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.997	.975	1.041
2	14.5	1.944	.955	1.047
3	9.1	1.915	.929	1.034
4	4.6	1.931	.872	.963
5	2.3	1.823	.842	.985
6	1.2	1.789	.886	1.056
7	.6	1.765	.85	1.026
8	.3	1.741	.845	1.035

Moyenne temoin (620) = 0.828 + 2 E.T. = 0.876 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 20 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p16. 1
FICHIER DO-620: p16. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 5

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, LISIER ENFOUI 150 kg N/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	2.012	.993	1.052
2	14.5	1.953	.963	1.051
3	9.1	1.963	.96	1.042
4	4.6	1.949	.865	.946
5	2.3	1.914	.855	.952
6	1.2	1.802	.815	.964
7	.6	1.808	.831	.98
8	.3	1.707	.852	1.064

Moyenne temoin (620) = 0.828 + 2 E.T. = 0.876 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 20 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p16. 1
FICHIER DO-620: p16. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 6

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, LISIER ENFOUI 150 kg N/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	2.027	1.004	1.056
2	14.5	1.994	.971	1.038
3	9.1	1.979	.961	1.035
4	4.6	1.991	.87	.931
5	2.3	1.923	.9	.998
6	1.2	1.86	.846	.969
7	.6	1.772	.81	.974
8	.3	1.727	.842	1.039

Moyenne temoin (620) = 0.828 + 2 E.T. = 0.876 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 20 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p16. 1
FICHIER DO-620: p16. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 7

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, LISIER EN SURFACE 150 kg N/ah

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	2.019	.994	1.049
2	14.5	1.986	.98	1.051
3	9.1	1.979	.952	1.025
4	4.6	1.967	.878	.951
5	2.3	1.894	.894	1.006
6	1.2	1.869	.874	.996
7	.6	1.791	.829	.986
8	.3	1.743	.837	1.024

Moyenne temoin (620) = 0.828 + 2 E.T. = 0.876 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 20 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p16. 1
FICHIER DO-620: p16. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 8

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, LISIER EN SURFACE 150 kg N/ah

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.991	.992	1.062
2	14.5	1.98	.965	1.039
3	9.1	1.938	.956	1.051
4	4.6	1.968	.908	.983
5	2.3	1.897	.88	.989
6	1.2	1.848	.867	1
7	.6	1.756	.811	.984
8	.3	1.734	.835	1.026

Moyenne temoin (620) = 0.828 + 2 E.T. = 0.876 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p16. 1
FICHIER DO-620: p16. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 9

DESCRIPTION : . EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	2.021	.96	1.012
2	14.5	1.914	.965	1.074
3	9.1	1.964	.942	1.022
4	4.6	1.902	.861	.965
5	2.3	1.879	.859	.974
6	1.2	1.805	.835	.986
7	.6	1.764	.809	.978
8	.3	1.723	.845	1.045

Moyenne temoin (620) = 0.828 + 2 E.T. = 0.876 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p16. 1
FICHIER DO-620: p16. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 10

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	2.013	.94	.995
2	14.5	1.976	.973	1.049
3	9.1	1.926	.922	1.02
4	4.6	1.906	.874	.977
5	2.3	1.858	.854	.98
6	1.2	1.839	.849	.984
7	.6	1.809	.843	.993
8	.3	1.779	.824	.987

Moyenne temoin (620) = 0.828 + 2 E.T. = 0.876 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique > 20 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p16. 1
FICHIER DO-620: p16. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 11

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.986	.991	1.064
2	14.5	1.953	.962	1.05
3	9.1	1.917	.912	1.014
4	4.6	1.889	.863	.974
5	2.3	1.882	.89	1.008
6	1.2	1.843	.864	.999
7	.6	1.79	.838	.998
8	.3	1.761	.821	.994

Moyenne temoin (620) = 0.828 + 2 E.T. = 0.876 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 20 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p16. 1
FICHIER DO-620: p16. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 12

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	2.004	.991	1.054
2	14.5	2.014	.987	1.044
3	9.1	1.97	.964	1.043
4	4.6	1.915	.878	.977
5	2.3	1.915	.883	.983
6	1.2	1.846	.849	.98
7	.6	1.819	.837	.981
8	.3	1.791	.822	.978

Moyenne temoin (620) = 0.828 + 2 E.T. = 0.876 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique > 20 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p17. 1
FICHIER DO-620: p17. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 3

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC. (%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	2.014	.96	1.022
2	14.5	1.965	.959	1.046
3	9.1	1.925	.931	1.037
4	4.6	1.872	.865	.99
5	2.3	1.84	.847	.987
6	1.2	1.783	.851	1.023
7	.6	1.656	.875	1.134
8	.3	1.715	.857	1.072

Moyenne temoin (620) = 0.822 + 2 E.T. = 0.860 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p17. 1
FICHIER DO-620: p17. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 4

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.972	.978	1.064
2	14.5	1.933	.941	1.045
3	9.1	1.908	.955	1.074
4	4.6	1.902	.931	1.051
5	2.3	1.818	.847	1
6	1.2	1.783	.847	1.02
7	.6	1.723	.868	1.082
8	.3	1.699	.84	1.062

Moyenne temoin (620) = 0.822 + 2 E.T. = 0.860 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p17. 1
FICHIER DO-620: p17. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 5

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	2.005	.984	1.053
2	14.5	1.945	.956	1.055
3	9.1	1.935	.949	1.052
4	4.6	1.916	.866	.97
5	2.3	1.891	.89	1.01
6	1.2	1.803	.869	1.034
7	.6	1.69	.851	1.081
8	.3	1.7	.857	1.082

Moyenne temoin (620) = 0.822 + 2 E.T. = 0.860 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p17. 1
FICHIER DO-620: p17. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 6

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.985	.963	1.041
2	14.5	1.941	.955	1.056
3	9.1	1.917	.952	1.066
4	4.6	1.921	.898	1.003
5	2.3	1.88	.868	.991
6	1.2	1.786	.866	1.04
7	.6	1.648	.855	1.114
8	.3	1.752	.847	1.038

Moyenne temoin (620) = 0.822 + 2 E.T. = 0.860 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p17. 1
FICHIER DO-620: p17. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 7

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.994	.972	1.046
2	14.5	1.944	.94	1.037
3	9.1	1.912	.929	1.043
4	4.6	1.907	.883	.994
5	2.3	1.91	.895	1.005
6	1.2	1.784	.845	1.016
7	.6	1.657	.862	1.118
8	.3	1.723	.86	1.072

Moyenne temoin (620) = 0.822 + 2 E.T. = 0.860 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p17. 1
FICHIER DO-620: p17. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 8

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC. (%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.953	.965	1.06
2	14.5	1.944	.945	1.043
3	9.1	1.916	.948	1.062
4	4.6	1.923	.885	.988
5	2.3	1.901	.863	.974
6	1.2	1.787	.866	1.04
7	.6	1.669	.892	1.147
8	.3	1.72	.823	1.027

Moyenne temoin (620) = 0.822 + 2 E.T. = 0.860 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p17. 1
FICHIER DO-620: p17. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 9

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC. (%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	1.997	1.002	1.077
2	14.5	1.91	.958	1.076
3	9.1	1.899	.948	1.071
4	4.6	1.864	.921	1.06
5	2.3	1.852	.841	.974
6	1.2	1.79	.887	1.063
7	.6	1.678	.867	1.11
8	.3	1.702	.871	1.098

Moyenne temoin (620) = 0.822 + 2 E.T. = 0.860 ----> N = 6

Seuil minimal genotoxique > 20 %v/v

Seuil minimal toxique = 14.5 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p17. 1
FICHIER DO-620: p17. 2

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 10

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT BRUTE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	20	2.009	1.009	1.077
2	14.5	1.919	.947	1.058
3	9.1	1.905	.964	1.085
4	4.6	1.896	.856	.968
5	2.3	1.825	.853	1.002
6	1.2	1.772	.848	1.026
7	.6	1.667	.894	1.15
8	.3	1.738	.853	1.053

Moyenne temoin (620) = 0.822 + 2 E.T. = 0.860 ----> N = 6

Annexe 2a

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p36. 1
FICHIER DO-620: p36. 4

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-11-1989

COLONNE # 5

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL NU

No.	CONC. (%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	5280	1.212	.365	1.021
2	3920	1.183	.394	1.127
3	1980	1.236	.398	1.091
4	990	1.264	.379	1.015
5	495	1.306	.375	.973
6	250	1.284	.374	.987
7	125	1.245	.375	1.021
8	63	1.241	.389	1.06

Moyenne temoin (620) = 0.376 + 2 E.T. = 0.400 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.273 - 2 E.T. = 1.152 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 5280 %v/v

Seuil minimal toxique = 250 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p36. 1
FICHIER DO-620: p36. 4

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-11-1989

COLONNE # 6

DESCRIPTION :EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL, LISIER ENFOUI 150 kg N/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	17460	1.187	.382	1.088
2	11760	1.182	.403	1.154
3	5940	1.282	.4	1.057
4	2970	1.276	.383	1.017
5	1485	1.289	.387	1.017
6	743	1.287	.369	.971
7	371	1.237	.375	1.028
8	186	1.285	.383	1.01

Moyenne temoin (620) = 0.376 + 2 E.T. = 0.400 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.273 - 2 E.T. = 1.152 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 17460 %v/v

Seuil minimal toxique = 5940 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p36. 1
FICHIER DO-620: p36. 4

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-11-1989

COLONNE # 7

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL, LISIER EN SURFACE 150 kg N/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	5820	1.208	.366	1.027
2	3920	1.202	.391	1.102
3	1980	1.222	.396	1.097
4	990	1.25	.375	1.016
5	495	1.26	.371	.997
6	250	1.339	.384	.972
7	125	1.242	.358	.975
8	63	1.367	.402	.996

Moyenne temoin (620) = 0.376 + 2 E.T. = 0.400 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.273 - 2 E.T. = 1.152 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 5820 %v/v

Seuil minimal toxique = 250 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p25. 2
FICHIER DO-620: p25. 5

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 7

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	12480	1.037	.257	1.002
2	8400	1.066	.281	1.067
3	4240	1.015	.295	1.177
4	2120	1.013	.279	1.116
5	1010	.983	.269	1.106
6	500	.973	.266	1.107
7	250	1.013	.26	1.037
8	125	1.027	.276	1.09

Moyenne temoin (620) = 0.258 + 2 E.T. = 0.272 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.043 - 2 E.T. = 0.964 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 12480 %v/v

Seuil minimal toxique = 250 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p25. 2
FICHIER DO-620: p25. 5

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 8

DESCRIPTION :EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	29130	.984	.248	1.022
2	19600	1.041	.274	1.063
3	9900	1.109	.266	.971
4	4450	1.01	.278	1.114
5	2225	.992	.262	1.069
6	1110	1.107	.255	.933
7	550	1.019	.251	.996
8	275	1.027	.271	1.068

Moyenne temoin (620) = 0.258 + 2 E.T. = 0.272 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.043 - 2 E.T. = 0.964 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 29130 %v/v

Seuil minimal toxique = 1110 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p25. 2
FICHIER DO-620: p25. 5

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 9

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	43650	.96	.277	1.169
2	29400	.954	.289	1.226
3	14850	1.011	.274	1.098
4	7425	.988	.281	1.15
5	3710	1.123	.25	.901
6	1850	.969	.266	1.111
7	925	1.013	.264	1.054
8	460	1.015	.264	1.054

Moyenne temoin (620) = 0.258 + 2 E.T. = 0.272 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.043 - 2 E.T. = 0.964 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 43650 %v/v

Seuil minimal toxique = 925 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p25. 2
FICHIER DO-620: p25. 5

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 10

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	87300	.935	.266	1.15
2	58800	.934	.275	1.191
3	29700	.992	.278	1.134
4	14850	1.045	.262	1.016
5	7425	.986	.259	1.064
6	3710	.967	.262	1.097
7	1850	1.002	.258	1.044
8	925	1.021	.265	1.049

Moyenne temoin (620) = 0.258 + 2 E.T. = 0.272 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.043 - 2 E.T. = 0.964 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 87300 %v/v

Seuil minimal toxique = 1850 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p25. 2
FICHIER DO-620: p25. 5

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE #: 11

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	43650	1.01	.283	1.133
2	29400	.994	.278	1.131
3	14850	1.003	.281	1.134
4	7425	1.042	.274	1.065
5	3710	.983	.258	1.061
6	1850	1.012	.258	1.03
7	925	1.015	.258	1.028
8	460	1.045	.263	1.02

Moyenne temoin (620) = 0.258 + 2 E.T. = 0.272 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.043 - 2 E.T. = 0.964 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 43650 %v/v

Seuil minimal toxique = 925 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p25. 2
FICHIER DO-620: p25. 5

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 12

DESCRIPTION :EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	12480	1.055	.259	.994
2	8400	1.096	.28	1.034
3	4240	1.036	.284	1.109
4	2120	1.136	.3	1.069
5	1010	1.09	.266	.988
6	500	1.058	.262	1.003
7	250	1.08	.262	.983
8	125	1.119	.277	1.003

Moyenne temoin (620) = 0.258 + 2 E.T. = 0.272 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.043 - 2 E.T. = 0.964 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 12480 %v/v

Seuil minimal toxique = 12480 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p39. 7
FICHIER DO-620: p39. 10

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 5

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL NU

No.	CONC. (%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	5280	1.374	.534	.9
2	3920	1.405	.595	.98
3	1980	1.429	.571	.925
4	990	1.508	.61	.936
5	495	1.464	.604	.955
6	250	1.413	.617	1.011
7	125	1.445	.623	.998
8	63	1.421	.654	1.065

Moyenne temoin (620) = 0.624 + 2 E.T. = 0.651 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.444 - 2'E.T. = 1.316 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 5280 %v/v

Seuil minimal toxique = 495 %v/v

Rem. Regression impossible car moins de 2 points dont DO620 > DO620 du temoin, et/ou dose reponse inchoerente.

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p39. 7
FICHIER DO-620: p39. 10

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 6

DESCRIPTION :EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL, LISIER ENFOUI 150 kg N/h

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	17460	1.36	.553	.942
2	11760	1.389	.591	.984
3	5940	1.477	.579	.907
4	2970	1.512	.62	.949
5	1485	1.474	.599	.941
6	743	1.442	.606	.973
7	371	1.437	.623	1.004
8	186	1.427	.644	1.044

Moyenne temoin (620) = 0.624 + 2 E.T. = 0.651 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.444 - 2 E.T. = 1.316 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 17460 %v/v

Seuil minimal toxique = 1485 %v/v

Rem. Regression impossible car moins de 2 points dont DO620 > DO620 du temoin, et/ou dose reponse inchoerente.

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p39. 7
FICHIER DO-620: p39. 10

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 7

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL, LISIER EN SURFACE 150 kg N/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	5820	1.35	.538	.922
2	3920	1.431	.555	.898
3	1980	1.365	.564	.956
4	990	1.521	.618	.941
5	495	1.469	.59	.93
6	250	1.444	.604	.968
7	125	1.449	.618	.987
8	63	1.431	.643	1.04

Moyenne temoin (620) = 0.624 + 2 E.T. = 0.651 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.444 - 2' E.T. = 1.316 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 5820 %v/v

Seuil minimal toxique = 990 %v/v

Rem. Regression impossible car moins de 2 points dont DO620 > DO620 du temoin, et/ou dose reponse inchoerente.

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P28. 8
FICHIER DO-620: P28. 11

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 7

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	12480	1.477	.518	.947
2	8400	1.521	.559	.993
3	4240	1.605	.592	.996
4	2120	1.592	.59	1.001
5	1010	1.584	.58	.989
6	500	1.63	.599	.992
7	250	1.582	.599	1.022
8	125	1.517	.594	1.058

Moyenne temoin (620) = 0.584 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.579 - 2 E.T. = 1.434 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 12480 %v/v

Seuil minimal toxique = 4240 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P28. 8
FICHIER DO-620: P28. 11

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 8

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC. (%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	29130	1.497	.573	1.035
2	19600	1.487	.589	1.071
3	9900	1.595	.62	1.051
4	4450	1.627	.603	1.002
5	2225	1.636	.608	1.005
6	1110	1.699	.642	1.022
7	550	1.55	.576	1.006
8	275	1.516	.576	1.026

Moyenne temoin (620) = 0.584 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.579 - 2 E.T. = 1.434 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 29130, %v/v

Seuil minimal toxique = 4450 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P28. 8
FICHIER DO-620: P28. 11

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 9

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC. (%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	43650	1.4	.637	1.231
2	29400	1.496	.645	1.166
3	14850	1.55	.611	1.066
4	7425	1.572	.601	1.034
5	3710	1.59	.592	1.006
6	1850	1.589	.601	1.022
7	925	1.568	.591	1.019
8	460	1.517	.601	1.072

Moyenne temoin (620) = 0.584 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.579 - 2 E.T. = 1.434 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 43650, %v/v

Seuil minimal toxique = 1850 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P28. 8
FICHIER DO-620: P28. 11

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 10

DESCRIPTION : EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	87300	1.458	.595	1.105
2	58800	1.447	.621	1.159
3	29700	1.549	.605	1.057
4	14850	1.591	.6	1.019
5	7425	1.598	.595	1.007
6	3710	1.586	.588	1.002
7	1850	1.575	.597	1.026
8	925	1.542	.6	1.052

Moyenne temoin (620) = 0.584 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.579 - 2 E.T. = 1.434 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 87300 %v/v

Seuil minimal toxique = 7425 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P28. 8
FICHIER DO-620: P28. 11

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 11

DESCRIPTION EAU DE RUISSELLEMENT CONCENTREE SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC. (%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	43650	1.495	.598	1.082
2	29400	1.49	.622	1.129
3	14850	1.563	.606	1.048
4	7425	1.554	.597	1.039
5	3710	1.625	.609	1.013
6	1850	1.572	.599	1.03
7	925	1.568	.591	1.019
8	460	1.556	.582	1.012

Moyenne temoin (620) = 0.584 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.579 - 2 E.T. = 1.434 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 43650 %v/v

Seuil minimal toxique = 925 %v/v

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

Annexe 3a

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p37. 2
FICHIER DO-620: p37. 5

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-11-1989

COLONNE # 3

DESCRIPTION : SOXHLET SOL NU

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.162	.4	1.181
2	2	1.18	.4	1.163
3	1	1.207	.387	1.101
4	.5	1.276	.369	.994
5	.25	1.355	.379	.96
6	.125	1.242	.382	1.056
7	.063	1.313	.383	1.001
8	.032	1.253	.386	1.057

Moyenne temoin (620) = 0.374 + 2 E.T. = 0.395 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.284 - 2 E.T. = 1.175 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = .125 uL

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p37. 2
FICHIER DO-620: p37. 5

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-11-1989

COLONNE # 4

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, LISIER ENFOUI 150 kg N/ha

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.186	.367	1.062
2	2	1.244	.386	1.066
3	1	1.259	.382	1.041
4	.5	1.289	.376	1.002
5	.25	1.317	.365	.952
6	.025	1.22	.389	1.096
7	.063	1.292	.375	.998
8	.32	1.222	.382	1.075

Moyenne temoin (620) = 0.374 + 2 E.T. = 0.395 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.284 - 2 E.T. = 1.175 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = .25 uL

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p37. 2
FICHIER DO-620: p37. 5

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-11-1989

COLONNE # 5

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, LISIER EN SURFACE 150 kg N/ah

No.	CONC.(ul)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.212	.373	1.058
2	2	1.171	.393	1.152
3	1	1.25	.37	1.017
4	.5	1.302	.379	1
5	.25	1.306	.38	1
6	.125	1.242	.377	1.044
7	.063	1.292	.394	1.048
8	.032	1.22	.388	1.093

Moyenne temoin (620) = 0.374 + 2 E.T. = 0.395 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.284 - 2 E.T. = 1.175 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 ul

Seuil minimal toxique = .25 ul

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p37. 2
FICHIER DO-620: p37. 5

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-11-1989

COLONNE # 6

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, ATRAZINE 2 kg/ha

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.184	.374	1.086
2	2	1.21	.387	1.1
3	1	1.246	.383	1.057
4	.5	1.29	.366	.975
5	.25	1.32	.369	.96
6	.125	1.223	.385	1.083
7	.063	1.274	.379	1.021
8	.032	1.222	.385	1.081

Moyenne temoin (620) = 0.374 + 2 E.T. = 0.395 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.284 - 2 E.T. = 1.175 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = .125 uL

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p37. 2
FICHIER DO-620: p37. 5

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-11-1989

COLONNE # 7

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.151	.383	1.142
2	2	1.211	.392	1.112
3	1	1.311	.367	.962
4	.5	1.307	.376	.988
5	.25	1.285	.369	.986
6	.125	1.284	.373	.998
7	.063	1.3	.381	1.007
8	.032	1.218	.386	1.088

Moyenne temoin (620) = 0.374 + 2 E.T. = 0.395 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.284 - 2 E.T. = 1.175 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = 1 uL

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p37. 2
FICHIER DO-620: p37. 5

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-11-1989

COLONNE # 8

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.18	.369	1.073
2	2	1.239	.386	1.069
3	1	1.19	.383	1.105
4	.5	1.285	.366	.979
5	.25	1.267	.377	1.022
6	.125	1.264	.375	1.018
7	.063	1.316	.373	.974
8	.032	1.246	.379	1.045

Moyenne temoin (620) = 0.374 + 2 E.T. = 0.395 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.284 - 2 E.T. = 1.175 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = .125 uL

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p37. 2
FICHIER DO-620: p37. 5

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-11-1989

COLONNE # 9

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, ATRAZINE 4 kg/ha

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.201	.384	1.098
2	2	1.229	.4	1.117
3	1	1.261	.379	1.032
4	.5	1.265	.378	1.025
5	.25	1.363	.369	.93
6	.125	1.253	.377	1.033
7	.063	1.362	.386	.974
8	.032	1.23	.381	1.064

Moyenne temoin (620) = 0.374 + 2 E.T. = 0.395 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.284 - 2 E.T. = 1.175 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = .125 uL

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p37. 2
FICHIER DO-620: p37. 5

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-11-1989

COLONNE # 10

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.126	.355	1.082
2	2	1.214	.372	1.054
3	1	1.243	.37	1.022
4	.5	1.267	.371	1.006
5	.25	1.297	.365	.967
6	.125	1.247	.375	1.032
7	.062	1.298	.382	1.011
8	.032	1.224	.385	1.081

Moyenne temoin (620) = 0.374 + 2 E.T. = 0.395 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.284 - 2 E.T. = 1.175 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = .125 uL

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p37. 2
FICHIER DO-620: p37. 5

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-11-1989

COLONNE # 11

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.143	.367	1.104
2	2	1.156	.388	1.151
3	1	1.236	.375	1.041
4	.5	1.282	.372	.995
5	.25	1.26	.367	1.001
6	.125	1.234	.379	1.054
7	.063	1.296	.38	1.007
8	.032	1.231	.383	1.069

Moyenne temoin (620) = 0.374 + 2 E.T. = 0.395 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.284 - 2 E.T. = 1.175 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = .063 uL

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p40. 8
FICHIER DO-620: p40. 11

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 3

DESCRIPTION : SOXHLET SOL NU

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.354	.594	1.005
2	2	1.364	.596	1.001
3	1	1.437	.62	.988
4	.5	1.464	.631	.988
5	.25	1.467	.626	.979
6	.125	1.444	.628	.997
7	.063	1.461	.645	1.012
8	.032	1.434	.654	1.045

Moyenne temoin (620) = 0.641 + 2 E.T. = 0.687 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.470 - 2'E.T. = 1.323 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = .032 uL

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p40. 8
FICHIER DO-620: p40. 11

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 4

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, LISIER ENFOUI 150 kg N/ha

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.405	.576	.94
2	2	1.423	.601	.968
3	1	1.452	.612	.967
4	.5	1.475	.625	.972
5	.25	1.446	.619	.982
6	.025	1.486	.637	.983
7	.063	1.465	.64	1.002
8	.32	1.453	.645	1.019

Moyenne temoin (620) = 0.641 + 2 E.T. = 0.687 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.470 - 2 E.T. = 1.323 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = .025 uL

Rem. Regression impossible car moins de 2 points dont DO620 > DO620 du temoin, et/ou dose reponse inchoerente.

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p40. 8
FICHIER DO-620: p40. 11

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 5

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, LISIER EN SURFACE 150 kg N/ah

No.	CONC.(ul)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.341	.573	.98
2	2	1.423	.625	1.007
3	1	1.484	.611	.945
4	.5	1.491	.63	.969
5	.25	1.497	.639	.979
6	.125	1.46	.639	1.003
7	.063	1.462	.647	1.015
8	.032	1.444	.658	1.044

Moyenne temoin (620) = 0.641 + 2 E.T. = 0.687 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.470 - 2 E.T. = 1.323 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 ul

Seuil minimal toxique = .25 ul

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p40. 8
FICHIER DO-620: p40. 11

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 6

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, ATRAZINE 2 kg/ha

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.327	.563	.972
2	2	1.401	.602	.985
3	1	1.474	.624	.971
4	.5	1.502	.64	.977
5	.25	1.482	.618	.957
6	.125	1.503	.659	1.005
7	.063	1.45	.647	1.023
8	.032	1.438	.652	1.04

Moyenne temoin (620) = 0.641 + 2 E.T. = 0.687 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.470 - 2 E.T. = 1.323 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = .5 uL

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p40. 8
FICHIER DO-620: p40. 11

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 7

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.286	.577	1.03
2	2	1.39	.624	1.029
3	1	1.456	.628	.989
4	.5	1.501	.634	.969
5	.25	1.484	.63	.974
6	.125	1.452	.637	1.005
7	.063	1.464	.648	1.014
8	.032	1.442	.655	1.042

Moyenne temoin (620) = 0.641 + 2 E.T. = 0.687 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.470 - 2 E.T. = 1.323 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = .125 uL

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p40. 8
FICHIER DO-620: p40. 11

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 8

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.324	.577	1.001
2	2	1.405	.596	.973
3	1	1.43	.613	.983
4	.5	1.521	.638	.962
5	.25	1.496	.64	.981
6	.125	1.485	.644	.995
7	.063	1.468	.646	1.009
8	.032	1.426	.654	1.052

Moyenne temoin (620) = 0.641 + 2 E.T. = 0.687 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.470 - 2 E.T. = 1.323 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = .25 uL

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p40. 8
FICHIER DO-620: p40. 11

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 9

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, ATRAZINE 4 kg/ha

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.379	.581	.966
2	2	1.424	.621	1.001
3	1	1.473	.623	.97
4	.5	1.507	.648	.986
5	.25	1.508	.635	.966
6	.125	1.495	.649	.996
7	.063	1.474	.643	1
8	.032	1.42	.653	1.055

Moyenne temoin (620) = 0.641 + 2 E.T. = 0.687 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.470 - 2·E.T. = 1.323 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = 1 uL

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p40. 8
FICHIER DO-620: p40. 11

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 10

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.35	.564	.958
2	2	1.357	.597	1.009
3	1	1.436	.626	.999
4	.5	1.478	.629	.976
5	.25	1.447	.621	.985
6	.125	1.463	.637	.999
7	.062	1.493	.658	1.011
8	.032	1.444	.652	1.035

Moyenne temoin (620) = 0.641 + 2 E.T. = 0.687 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.470 - 2 E.T. = 1.323 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = .125 uL

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

* Chromotest *

FICHIER DO-405: p40. 8
FICHIER DO-620: p40. 11

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 11

DESCRIPTION : SOXHLET SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(uL)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	3	1.336	.544	.933
2	2	1.394	.599	.985
3	1	1.437	.617	.985
4	.5	1.46	.627	.985
5	.25	1.448	.621	.983
6	.125	1.484	.647	1
7	.063	1.471	.649	1.012
8	.032	1.466	.649	1.015

Moyenne temoin (620) = 0.641 + 2 E.T. = 0.687 ----> N = 8

Moyenne temoin (405) = 1.470 - 2 E.T. = 1.323 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 3 uL

Seuil minimal toxique = .125 uL

Rem. Dose reponse incoherente, regression non justifiee.
Rapporter facteur d'induction > 1.1

Annexe 4

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P28. 8
FICHIER DO-620: P28. 11

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 12

DESCRIPTION XU DUTKA SOL NU

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	12480	1.516	.528	.94
2	8400	1.573	.566	.972
3	4240	1.583	.584	.996
4	2120	1.648	.606	.993
5	1010	1.67	.612	.989
6	500	1.66	.61	.993
7	250	1.645	.617	1.013
8	125	1.624	.611	1.016

Moyenne temoin (620) = 0.584 + 2 E.T. = 0.598 ----> N = 6

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P26. 3
FICHIER DO-620: P26. 6

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 4

DESCRIPTION : XU DUTKA SOL, LISIER EN SURFACE 150 kg N/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	9.1	1.054	.291	1.098
2	4.6	.973	.28	1.144
3	2.3	.982	.273	1.105
4	1.2	1.067	.261	.973
5	.6	1.004	.249	.986
6	.3	1.09	.248	.905
7	.15	.992	.252	1.01
8	.08	1.019	.258	1.008

Moyenne temoin (620) = 0.257 + 2 E.T. = 0.276 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.020 - 2 E.T. = 0.922 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 9.1 %v/v

Seuil minimal toxique = .6 %v/v

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P29. 9
FICHIER DO-620: P29. 12

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 4

DESCRIPTION : XU DUTKA SOL, LISIER EN SURFACE 150 kg N/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	9.1	1.653	.597	.998
2	4.6	1.635	.6	1.013
3	2.3	1.58	.583	1.019
4	1.2	1.628	.606	1.028
5	.6	1.585	.559	.974
6	.3	1.663	.567	.942
7	.15	1.546	.575	1.027
8	.08	1.616	.586	1.001

Moyenne temoin (620) = 0.571 + 2 E.T. = 0.618 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.577 - 2 E.T. = 1.444 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 9.1 %v/v

Seuil minimal toxique = 9.1 %v/v

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P26. 3
FICHIER DO-620: P26. 6

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 5

DESCRIPTION : XU DUTKA SOL, ATRAZINE 2 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	9.1	1.029	.266	1.028
2	4.6	.981	.268	1.087
3	2.3	.944	.284	1.193
4	1.2	.938	.286	1.211
5	.6	.933	.258	1.1
6	.3	.969	.256	1.05
7	.15	1.001	.253	1.003
8	.08	1.005	.272	1.077

Moyenne temoin (620) = 0.257 + 2 E.T. = 0.276 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.020 - 2 E.T. = 0.922 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 9.1 %v/v

Seuil minimal toxique = .15 %v/v

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P29. 9
FICHIER DO-620: P29. 12

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 5

DESCRIPTION : XU DUTKA SOL, ATRAZINE 2 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	9.1	1.651	.594	.994
2	4.6	1.577	.577	1.01
3	2.3	1.614	.6	1.026
4	1.2	1.638	.595	1.003
5	.6	1.606	.567	.975
6	.3	1.558	.566	1.003
7	.15	1.58	.569	.995
8	.08	1.565	.574	1.013

Moyenne temoin (620) = 0.571 + 2 E.T. = 0.618 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.577 - 2 E.T. = 1.444 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 9.1 %v/v

Seuil minimal toxique = 4.6 %v/v

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P26. 3
FICHIER DO-620: P26. 6

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 6

DESCRIPTION : XU DUTKA SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	9.1	1.057	.275	1.035
2	4.6	1.005	.265	1.049
3	2.3	.971	.27	1.105
4	1.2	1.094	.286	1.039
5	.6	.971	.253	1.034
6	.3	.981	.25	1.013
7	.15	1.004	.251	.995
8	.08	1.02	.259	1.01

Moyenne temoin (620) = 0.257 + 2 E.T. = 0.276 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.020 - 2 E.T. = 0.922 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 9.1 %v/v

Seuil minimal toxique = .6 %v/v

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P29. 9
FICHIER DO-620: P29. 12

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 6

DESCRIPTION : XU DUTKA SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	9.1	1.707	.621	1.005
2	4.6	1.605	.593	1.02
3	2.3	1.619	.582	.993
4	1.2	1.599	.568	.981
5	.6	1.622	.555	.945
6	.3	1.617	.588	1.004
7	.15	1.576	.567	.994
8	.08	1.55	.574	1.022

Moyenne temoin (620) = 0.571 + 2 E.T. = 0.618 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.577 - 2 E.T. = 1.444 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 9.1 %v/v

Seuil minimal toxique = 4.6 %v/v

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P26. 3
FICHIER DO-620: P26. 6

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 7

DESCRIPTION : XU DUTKA SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	9.1	1.086	.276	1.011
2	4.6	1.007	.269	1.059
3	2.3	1.044	.271	1.032
4	1.2	1.079	.272	1.002
5	.6	.952	.261	1.087
6	.3	.973	.255	1.041
7	.15	.98	.253	1.026
8	.08	1.021	.268	1.044

Moyenne temoin (620) = 0.257 + 2 E.T. = 0.276 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.020 - 2 E.T. = 0.922 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 9.1 %v/v

Seuil minimal toxique = 1.2 %v/v

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P29. 9
FICHIER DO-620: P29. 12

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 7

DESCRIPTION : XU DUTKA SOL, ATRAZINE 2 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	9.1	1.647	.581	.974
2	4.6	1.634	.586	.99
3	2.3	1.603	.593	1.022
4	1.2	1.665	.602	.998
5	.6	1.597	.564	.975
6	.3	1.596	.577	.998
7	.15	1.587	.575	1.001
8	.08	1.594	.581	1.007

Moyenne temoin (620) = 0.571 + 2 E.T. = 0.618 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.577 - 2 E.T. = 1.444 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 9.1 %v/v

Seuil minimal toxique > 9.1 %v/v

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P26. 3
FICHIER DO-620: P26. 6

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 8

DESCRIPTION : XU DUTKA SOL, ATRAZINE 4 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	9.1	1.06	.267	1.002
2	4.6	1.058	.269	1.012
3	2.3	.994	.269	1.076
4	1.2	1.074	.275	1.019
5	.6	.963	.259	1.067
6	.3	.976	.249	1.014
7	.15	.971	.257	1.05
8	.08	1.019	.26	1.012

Moyenne temoin (620) = 0.257 + 2 E.T. = 0.276 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.020 - 2 E.T. = 0.922 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 9.1 %v/v

Seuil minimal toxique = .6 %v/v

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P29. 9
FICHIER DO-620: P29. 12

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 8

DESCRIPTION : XU DUTKA SOL, ATRAZINE 4 kg/ha

No.	CONC. (%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	9.1	1.625	.574	.976
2	4.6	1.587	.568	.989
3	2.3	1.605	.588	1.012
4	1.2	1.636	.584	.986
5	.6	1.582	.569	.994
6	.3	1.565	.563	.994
7	.15	1.555	.573	1.017
8	.08	1.556	.577	1.025

Moyenne temoin (620) = 0.571 + 2 E.T. = 0.618 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.577 - 2 E.T. = 1.444 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 9.1 %v/v

Seuil minimal toxique = 2.3 %v/v

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P26. 3
FICHIER DO-620: P26. 6

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 9

DESCRIPTION : XU DUTKA SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	9.1	1.065	.269	1.005
2	4.6	1.034	.267	1.027
3	2.3	1.061	.272	1.019
4	1.2	.984	.259	1.047
5	.6	.983	.261	1.054
6	.3	.985	.251	1.011
7	.15	1.053	.253	.956
8	.08	1.039	.262	1.004

Moyenne temoin (620) = 0.257 + 2 E.T. = 0.276 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.020 - 2 E.T. = 0.922 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 9.1 %v/v

Seuil minimal toxique = 2.3 %v/v

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P29. 9
FICHIER DO-620: P29. 12

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 9

DESCRIPTION : XU DUTKA SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER ENFOUI 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	9.1	1.681	.598	.983
2	4.6	1.606	.608	1.045
3	2.3	1.623	.583	.992
4	1.2	1.582	.576	1.006
5	.6	1.58	.557	.974
6	.3	1.55	.571	1.017
7	.15	1.573	.569	1
8	.08	1.646	.62	1.04

Moyenne temoin (620) = 0.571 + 2 E.T. = 0.618 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.577 - 2 E.T. = 1.444 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 9.1 %v/v

Seuil minimal toxique = 4.6 %v/v

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P26. 3
FICHIER DO-620: P26. 6

RESULTATS : SANS ACTIVATION (-S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 10

DESCRIPTION : XU DUTKA SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	9.1	1.108	.283	1.016
2	4.6	1.084	.276	1.013
3	2.3	1.008	.268	1.057
4	1.2	1.063	.29	1.085
5	.6	.958	.256	1.062
6	.3	.97	.247	1.013
7	.15	.995	.253	1.009
8	.08	1.015	.257	1.005

Moyenne temoin (620) = 0.257 + 2 E.T. = 0.276 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.020 - 2 E.T. = 0.922 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 9.1 %v/v

Seuil minimal toxique = .6 %v/v

* Chromotest *

FICHIER DO-405: P29. 9
FICHIER DO-620: P29. 12

RESULTATS : AVEC ACTIVATION (+S9) DATE: 05-12-1989

COLONNE # 10

DESCRIPTION : XU DUTKA SOL, ATRAZINE 4 kg/ha, LISIER EN SURFACE 150 kg/ha

No.	CONC.(%v/v)	DO-405 *	DO-620 **	F.I.
1	9.1	1.702	.598	.971
2	4.6	1.627	.584	.992
3	2.3	1.603	.586	1.009
4	1.2	1.624	.571	.971
5	.6	1.615	.565	.966
6	.3	1.593	.576	.999
7	.15	1.657	.566	.943
8	.08	1.557	.572	1.015

Moyenne temoin (620) = 0.571 + 2 E.T. = 0.618 ----> N = 6

Moyenne temoin (405) = 1.577 - 2 E.T. = 1.444 ----> N = 8

Seuil minimal genotoxique > 9.1 %v/v

Seuil minimal toxique = 9.1 %v/v