

Record Number:

Author, Monographic: Couture, P.

Author Role:

Title, Monographic: Caractérisation écotoxicologique des eaux provenant de quatre dépotoirs d'enfouissement - Section se rapportant aux bio-analyses réalisées avec les algues *Chlamydomonas variabilis* et *Selenastrum capricornutum*

Translated Title:

Reprint Status:

Edition:

Author, Subsidiary:

Author Role:

Place of Publication: Québec

Publisher Name: INRS-Eau

Date of Publication: 1983

Original Publication Date: 22 mars 1983

Volume Identification:

Extent of Work: 26

Packaging Method: pages

Series Editor:

Series Editor Role:

Series Title: INRS-Eau, Rapport de recherche

Series Volume ID: 158

Location/URL:

ISBN: 2-89146-156-8

Notes: Rapport annuel 1982-1983

Abstract: Rapport rédigé pour Environnement Canada
10.00\$

Call Number: R000158

Keywords: rapport/ ok/ dl

Caractérisation écotoxicologique
des eaux provenant de cinq sites
d'enfouissement

Rapport scientifique no 158

Sections se rapportant aux
bio-analyses réalisées avec les algues
Chlamydomonas variabilis et Selenastrum
capricornutum

Pierre COUTURE
INRS-Eau
22 mars 1983

Caractérisation écotoxicologique
des eaux provenant de cinq sites
d'enfouissement

Sections se rapportant aux
bio-analyses réalisées avec les algues
Chlamydomonas variabilis et Selenastrum
capricornutum

Pierre COUTURE
INRS-Eau
22 mars 1983

4. ANALYSE DU SECOND NIVEAU DE PROTECTION ENVIRONNEMENTALE

4.b Toxicité sous-létale à court terme pour le phytoplancton

Les études de toxicité sous-létale à court terme avec algues furent réalisées sur les espèces Chlamydomonas variabilis et Selenastrum capricornutum. Les méthodes utilisées étant sensiblement les mêmes que celles décrites dans un ouvrage antérieur préparé pour Environnement Canada (Van Coillie et al., 1982), nous nous limiterons ici qu'à en rappeler les principales étapes tout en précisant les modifications apportées.

Enrichissement des échantillons

Après avoir ajusté le pH à 7.5, les échantillons sont enrichis selon une méthode semblable à celle pratiquée par Joubert (1980): elle permet d'assurer la présence des macronutriments et des micronutriments à des concentrations suffisantes pour permettre la croissance des organismes.

Ainsi, dès leur arrivée au laboratoire, les échantillons destinés aux bio-analyses sur C. variabilis étaient enrichis avec le milieu 0.12 AAP sans EDTA tel, que modifié par Chiaudani et Vighi (1978) pour les teneurs en Zn, Co et Fe¹.

Pour les bio-essais réalisés sur S. capricornutum, étant donné que certaines mesures nécessitaient un temps d'incubation plus long que 24 heures (voir section 4.e), les échantillons furent, avant enrichissement, filtrés sur une membrane Millipore (HAWP; 0.45 µm), pré-rincée avec 500 mL d'eau ultra-pure (procédé Millipore: Milli Q3RO/Milli-Q₂). Cette étape permet d'enlever les particules en suspension ainsi que les algues indigènes

¹ On trouvera, dans notre rapport antérieur (Van Coillie et al., 1982), les teneurs des différents éléments pour le milieu 1.0 AAP.

pouvant interférer sur les mesures au 8ième jour d'incubation. Cette pratique est mieux adaptée que celle consistant à autoclaver et filtrer (EPA, 1978); en effet, ces deux traitements combinés ont pour conséquence de modifier la toxicité des échantillons (Couture et al., 1982; Joubert, 1981) alors que la filtration seule ne semble pas la modifier (Couture et al., 1982).

Dilution des échantillons

- - - - -

Les bio-essais requièrent différentes dilutions de l'échantillon enrichi. Elles furent effectuées de façon à assurer dans chacune des dilutions une concentration en macronutriments et en micronutriments au moins égale à celle présente dans le milieu 0.12 AAP. Des exemples du mode de dilution apparaissent au tableau 1.

Bio-analyses sur C. variabilis

- - - - -

Cette algue est une chlorophycée unicellulaire mobile répandue en eau douce. Le milieu AAP sert de substrat pour cultiver les souches incubées dans les conditions suivantes:

- pH du milieu de culture ajusté à 7.5 en début de culture;
- 12 heures de photopériode;
- 5400 lux;
- 24 °C;
- agitation constante de 110 oscillations/minute.

Seules les cultures en phase exponentielle de croissance servaient d'inoculum lors des tests.

Tableau 1: Mode de dilution des échantillons

A) Pour les tests avec *Chlamydomonas variabilis*

Concentration de l'effluent (% v/v)	Volume de l'échantillon ¹ (mL)	Volume de l'eau de dilution ² (mL)	Volume de l'inoculum ³ (mL)
90	9.0	0	1
50	5.0	4.0	1
10	1.0	8.0	1
5	0.5	8.5	1
0.5	0.05	8.95	1
témoin	0	9.0	1

B) Pour les tests avec *Selenastrum capricornutum*

Concentration de l'effluent (% v/v)	Volume de l'échantillon ¹ (mL)	Volume de l'eau de dilution ² (mL)	Volume de l'inoculum ³ (mL)
36	36	63.0	1
12	12	87.0	1
4	4	95.0	1
1.3	1.3	97.7	1
0.5	0.5	98.5	1
témoin	0	99.0	1

¹ Effluent préalablement enrichi à 0.12 AAP

² Milieu de culture 0.12 AAP

³ Pour *Chlamydomonas variabilis*, la concentration dans le tube à essais est de 500,000 algues/mL

Pour *Selenastrum capricornutum*, la concentration dans la fiole conique est de 10,000 algues/mL

La méthode comprend d'abord un essai préliminaire dans le but de situer la zone utile de concentration et un essai définitif fait à partir de trois replicas par concentration d'effluents. Ces essais sont réalisés en éprouvettes avec des inoculum de 5×10^6 algues/mL; ils requièrent une incubation de 24 heures sous les mêmes conditions que celles décrites précédemment.

La toxicité du produit se détermine à partir du degré d'immobilisation de l'algue ou encore en déterminant le Δ -Fluorescence.

L'immobilisation de l'algue est déterminée au microscope et caractérisée à l'aide d'une cote variant de 0 à 3 (Van Coillie et al., 1982; Lundahl, 1974):

- cote 0: immobilité;
- cote 1: faible mobilité;
- cote 2: mobilité quelque peu amoindrie;
- cote 3: mobilité normale semblable à celle des témoins.

Les cotes obtenues pour les trois replicas d'une concentration donnée sont additionnées et seront utilisées pour le calcul des I_M (voir section: résultats et discussion).

Le Δ -Fluorescence détermine l'augmentation de fluorescence "in vivo" induite par un ajout de 100 μ l d'un herbicide, le DCMU (3-(3,4-dechlorophényle)-1,1-diméthyle-urée; 5.8 mg/100 mL éthanol). L'équation suivante s'applique pour calculer l'augmentation:

$$\Delta\text{-Fluorescence} = F_{\text{DCMU}} - F$$

- où F_{DCMU} = la fluorescence mesurée (Fluorimètre Turner) après un ajout de DCMU;
- F = la fluorescence mesurée sans ajout de DCMU.

Les valeurs de Δ -Fluorescence servent par la suite à déterminer les $I_{\Delta F}$ (voir section: résultats et discussion).

Bio-analyses sur S. capricornutum

Cette algue est aussi une chlorophycée unicellulaire; toutefois, les cellules sont non-mobiles et se retrouvent aussi bien en milieu oligotrophe qu'en milieu eutrophe. Cette espèce s'est déjà avérée un indicateur très sensible pour mettre en évidence l'effet de produits toxiques tant inorganiques qu'organiques (Van Coillie et al., 1982; Couture et al., 1982; Chiaudani et Vighi, 1978).

Le même milieu de culture ainsi que les mêmes conditions expérimentales décrits pour C. variabilis ont été employés pour cultiver la souche. Les bio-analyses comprenaient aussi un essai préliminaire et un essai définitif: les expériences étaient réalisées en triplicata dans des fioles coniques de 500 mL avec un volume de 100 mL de solution sous les mêmes conditions d'incubation que celles décrites précédemment. Le Δ -Fluorescence déterminé après 24 heures permettait d'identifier les concentrations d'effluents ayant des répercussions négatives sur l'état physiologique de l'algue.

Résultats et discussion

La précision des cotes de mobilité n'a pu être déterminée compte tenu de la technique utilisée. Par contre, les Δ -Fluorescence furent mesurés sur chacun des trois replicas d'une concentration d'effluents; les moyennes arithmétiques avaient des coefficients de variation < 15%. Cette valeur peut être considérée comme acceptable puisqu'il existe une variabilité variant de 10 à 30% pour des mesures intra ou inter-laboratoire relatives à la détermination de biomasse de S. capricornutum en conditions normales (EPA, 1971).

La toxicité des différentes concentrations d'effluents (tableaux 2 et 3) a été calculée à partir des % d'inhibition (I). Que ce soit à l'aide des cotes de mobilité (I_M) ou des valeurs de Δ -Fluorescence ($I_{\Delta F}$), l'inhibition était ainsi déterminée:

$$I = \frac{T - X}{T} \cdot 100$$

où: T = valeur de la mesure (cote de mobilité ou Δ -Fluorescence) dans le milieu de culture témoin;
X = valeur de la mesure (cote de mobilité ou Δ -Fluorescence) pour différentes concentrations d'effluents.

Afin de comparer la toxicité des effluents, on a identifié, pour chaque échantillon, la gamme de concentrations où une inhibition de 50% aurait pu être détectée advenant le choix d'une dilution adéquate de l'effluent. Ainsi, en analysant les données présentées au tableau 2 en fonction des paramètres choisis (I_M ou $I_{\Delta F}$) et mesurés lors des bio-essais avec C. variabilis, on précise pour chaque effluent les gammes de concentrations suivantes:

Sites	Gammes de concentrations (%)	
	$I_M = 50\%$	$I_{\Delta F} = 50\%$
A	5.6 - 10	10 - 18
B	> 90	> 90
C	> 90	> 90
D	10 - 18	10 - 18
E	18 - 32	18 - 32

Tableau 2: Pourcentage d'inhibition de la mobilité (I_M) ou du Δ -Fluorescence ($I_{\Delta F}$) chez Chlamydomonas variabilis

Sites	Concentrations*	I_M	$I_{\Delta F}$	Sites	Concentrations	I_M	$I_{\Delta F}$
A	3.2	0	0	D	5.6	0	0
	5.6	28	12		10.0	33	30
	10.0	61	28		18.0	93	98
	18.0	94	64		32.0	100	100
	32.0	100	100		56.0	100	100
B	0.5	0	0	E	5.6	0	0
	5.0	0	0		10.0	0	24
	10.0	0	0		18.0	44	48
	50.0	33	31		32.0	78	74
	90.0	33	48		56.0	100	98
C	0.5	0	0				
	5.0	0	0				
	10.0	0	8				
	50.0	33	8				
	90.0	33	18				

* Les concentrations sont exprimées en % (v/v).

Ces résultats montrent qu'il existe une bonne correspondance entre les valeurs obtenues à partir des observations microscopiques et celles mesurées en fluorescence. En effet, seul l'effluent A présente une gamme pour $I_M = 50\%$ différente de celle évaluée en considérant les $I_{\Delta F}$. Cependant, compte tenu que les cotes de mobilité restent subjectives puisqu'elles sont déterminées selon l'appréciation d'une observation, et que les valeurs appartiennent à des gammes voisines, il reste difficile d'affirmer que la différence soit significative. Dès lors, en se basant sur les gammes $I_{\Delta F}$, la toxicité des effluents peut être caractérisée selon l'ordre suivant:

$$A \approx D > E > B \approx C$$

La même approche peut être effectuée avec les résultats obtenus à partir des bio-essais avec S. capricornutum où seules des valeurs de $I_{\Delta F}$ furent calculées, cette algue étant non mobile. En considérant les données présentées au tableau 3, les gammes de concentration suivantes sont obtenues pour $I = 50\%$.

Sites	Gammes de concentrations (%)
	$I_{\Delta F} = 50\%$
A	36 - 99
B	51 - 63
C	69
D	12 - 36
E	12 - 36

La toxicité des échantillons apparaît donc selon l'ordre suivant:

$$D \approx E > B > C$$

Tableau 3: Pourcentage d'inhibition du Δ -Fluorescence ($I_{\Delta F}$) chez Selenastrum capricornutum

Sites	Concentrations*	$I_{\Delta F}$	Sites	Concentrations	$I_{\Delta F}$
A	1.3	0	D	0.1	0
	4.0	0		1.3	0
	12.0	11		4.0	0
	36.0	39		12.0	0
	99.0	60		36.0	55
B	40.0	0	E	1.3	0
	51.0	33		4.0	0
	63.0	58		12.0	21
	79.0	60		36.0	93
	99.0	65		99.0	100
C	48.0	28			
	57.0	46			
	69.0	50			
	83.0	51			
	90.0	-			

* Les concentrations sont exprimées en % (v/v).

- La valeur est rejetée: le coefficient de variation était > 15%.

Quant à A, il demeure moins toxique que D et E mais les valeurs obtenues (36 - 99) ne permettent pas de le discriminer par rapport à B et C. En regroupant au tableau ci-dessous les gammes de concentrations présentées précédemment,

Sites	<u>C. variabilis</u> (%)	<u>S. capricornutum</u> (%)
A	10 - 18	36 - 99
B	> 90	51 - 63
C	> 90	69
D	10 - 18	12 - 36
E	18 - 32	12 - 36

il apparaît que la sensibilité d'une espèce par rapport à l'autre varie en fonction de l'effluent considéré selon l'ordre suivant:

Sites	Sensibilité	
A	<u>C. variabilis</u>	> <u>S. capricornutum</u>
B	"	< "
C	"	< "
D	"	≈ "
E	"	≈ "

Signalons qu'une différence marquée de sensibilité entre ces deux espèces a aussi été mise en évidence pour des effluents industriels (Van Coillie

et al., 1982). Par ailleurs, S. capricornutum demeure plus sensible que C. variabilis pour des effluents peu toxiques (B et C) lesquels s'avèrent vis-à-vis les deux espèces des effluents moins toxiques que D et E.

Il semble donc que la méthode employée ici s'avère adéquate pour comparer la toxicité des effluents entre eux. Toutefois, elle n'est pas assez précise pour déterminer leur CI50. À cette fin, une méthodologie mathématique plus appropriée que celle du programme "Probit" utilisé pour les bio-essais avec poissons mériterait d'être développée; nous avons déjà formulé une telle recommandation (Van Coillie et al., 1982) pour l'utilisation des bio-essais avec algues en écotoxicologie aquatique sous-létale.

Conclusion

- - - - -

Les mesures de toxicité à court terme avec algues ont mis en évidence les aspects suivants:

- 1- la sensibilité du Δ -Fluorescence pour détecter la toxicité des eaux des cinq sites d'enfouissement vis-à-vis S. capricornutum; seuls les échantillons en provenance de trois sites étaient toxiques pour C. variabilis et ceci en considérant aussi bien les mesures de mobilité que celles du Δ -Fluorescence;
- 2- vis-à-vis S. capricornutum et C. variabilis, les échantillons D et E avaient une toxicité plus grande que ceux des sites B et C;
- 3- pour l'ensemble des effluents, on ne peut signaler de constance au niveau de la sensibilité d'une espèce par rapport à l'autre. Toutefois, avec les effluents peu toxiques (B et C), S. capricornutum s'avère plus sensible que C. variabilis; avec les effluents plus toxiques (D et E), la sensibilité des deux espèces est semblable;
- 4- la méthodologie employée s'avère adéquate pour comparer la toxicité des effluents entre eux; elle n'est pas assez précise pour déterminer les CI50.

En conséquence, nous recommandons:

- 1- l'abandon des déterminations de mobilité au profit de celles du Δ -Fluorescence: la mobilité se révèle un paramètre subjectif. En effet, les cotes de mobilité sont déterminées selon l'appréciation d'une observation. Par contre, le Δ -Fluorescence est calculé à partir des mesures de F et F_{DCMU}. Le Δ -Fluorescence nous semble un paramètre d'un intérêt particulier pour détecter la présence de toxicité puisqu'il est associé à l'état physiologique des cellules (Roy et Legendre, 1979);

- 2- la réalisation de bio-analyses uniquement avec S. capricornutum, une espèce beaucoup plus utilisée à l'échelle internationale (EPA, 1979). D'ailleurs cette algue s'est montrée, pour 4 échantillons sur 5, soit plus sensible que C. variabilis, soit également sensible par rapport à cette dernière;
- 3- le développement d'une méthodologie mathématique appropriée aux bio-essais avec algues pour déterminer les CI50 ainsi que nous l'avons déjà suggéré antérieurement (Van Coillie et al., 1982).

4.e Toxicité sous-létale à moyen terme pour le phytoplancton

Cette section de l'étude fut réalisée à partir de bio-essais avec l'algue S. capricornutum. Les méthodes utilisées ont été détaillées précédemment pour la filtration, l'enrichissement et le mode de dilution des effluents (section 4.b); la concentration de l'inoculum était la même (1×10^4 cellules/mL) et le temps d'incubation fut porté à 8 jours pour satisfaire les exigences requises afin d'obtenir une mesure de toxicité sous-létale à moyen terme. On n'apporta aucune autre modification aux conditions d'incubation décrites antérieurement. Mentionnons, enfin, que chacune des concentrations d'effluents fut testée en triplicata.

La toxicité des échantillons fut déterminée à partir des mesures de dénombrement et des déterminations des Δ -Fluorescence au 8ième jour d'incubation.

Dénombrement

- - - - -

La méthodologie appliquée découle de celle utilisée par Joubert (1980) et Couture et al. (1981) pour des effluents. Le niveau de toxicité des échantillons se détermine selon deux approches.

La première consiste à comparer, par rapport au témoin, les teneurs en cellules obtenues aux diverses concentrations d'effluents: le dénombrement s'effectue à l'aide d'un compteur électronique de particule (Coulter Counter, Modèle TA, cellule de 70 μ m). La toxicité des échantillons est calculée à partir des % d'inhibition (I_0) par rapport à l'échantillon témoin (voir calcul de I , section 4.b: résultats et discussion).

La seconde permet de tenir compte de la teneur initiale (avant l'enrichissement) en substances nutritives de l'effluent. Ainsi, par exemple, au cours de bio-essais sur des effluents peu toxiques, il peut s'avérer que les échantillons riches en azote et en phosphore présentent, pour des dilutions plus fortes, une diminution du nombre de cellules par rapport au témoin; cette baisse pourrait être attribuable à une diminution des teneurs en nutriments dans l'échantillon d'eau.

Pour tenir compte de cette éventualité, la toxicité de l'échantillon est déterminée (1) en calculant la biomasse d'algues pouvant théoriquement se développer en fonction des teneurs en azote ou en phosphore et (2) en comparant cette dernière valeur avec la valeur déterminée à partir du dénombrement. Dans le présent cas, l'inhibition (I_B) sera ainsi calculée:

$$I_B = \frac{B_C - B}{B}$$

- où: B_C = biomasse d'algues calculée (mg/L) à partir des teneurs en azote inorganique ou en phosphore inorganique¹ selon que l'un ou l'autre soit l'élément contrôlant la croissance (EPA, 1978);
 B = biomasse mesurée (mg/L) au 8ième jour d'incubation².

¹ Les teneurs en azote inorganique ($\text{NH}_3 + \text{NO}_3 + \text{NO}_2$) et en phosphore total inorganique (ortho - P + poly - P) furent déterminées selon le procédé Technicon sur les échantillons enrichis.

² La biomasse mesurée (B) s'obtient en utilisant l'expression suivante:
 $B = \text{Dénombrement (cell/L)} \times 1.45 \times 10^{-8}$ (mg/cellules).

Δ -Fluorescence

On procéda comme à la section 4.b pour déterminer l'augmentation de fluorescence induite par le DCMU. Signalons ici que cette mesure tient compte de la couleur de l'échantillon, de la concentration des cellules et de leur état physiologique.

Résultats et discussion

Les mesures de dénombrement et les déterminations de Δ -Fluorescence sur chaque triplicata d'une même dilution présentaient des coefficients de variation < 15% par rapport à leur moyenne. Pour limiter la présentation des données, nous nous en tiendrons qu'à présenter les valeurs des gammes de concentrations où une inhibition de 50% aurait pu être détectée advenant le choix d'une dilution adéquate de l'effluent; d'ailleurs, nous avons vérifié précédemment (section 4.b) l'aptitude de cette méthode à comparer la toxicité des échantillons entre eux. L'ensemble des valeurs peut donc être résumé de cette façon:

Sites	Gammes de concentration (%)		
	$I_D = 50\%$	$I_B = 50\%$	$I_{\Delta F} = 50\%$
A	4 - 12	4 - 12	4 - 12
B	< 30	< 30	< 30
C	48	48	57 - 69
D	< 0.15	< 0.15	0.45 - 1.35
E	4 - 12	4 - 12	4 - 12

Que l'on considère n'importe lequel des paramètres ($I_D = 50\%$; $I_B = 50\%$; $I_{\Delta F} = 50\%$), la toxicité des échantillons apparaît selon l'ordre suivant:

$$D > E \approx A > C$$

Quant à B, sa toxicité est plus faible que C mais on ne peut le discriminer par rapport à A, D et E. Il nous fut impossible de reprendre les bio-analyses sur B à cause d'un manque d'échantillon. Par ailleurs, les gammes de concentrations pour A, B et E sont les mêmes, quel que soit le paramètre considéré (I_D , I_B ou $I_{\Delta F}$); toutefois, elles varient chez les effluents C et D, où elles sont plus élevées pour $I_{\Delta F}$ que pour I_D et I_B . Dans ce dernier cas, les différences pourraient être liées au manque de justesse des mesures effectuées au compteur électronique; à cet effet, une étude de Rehnberg et al. (1982) effectuée à l'aide de bio-essais (*S. capricornutum*) sur un herbicide a clairement montré les limitations de cette technique par rapport à des déterminations de chlorophylle-a active ou de fluorescence.

Si on compare nos résultats avec ceux discutés précédemment (section 4.b) et déterminés à partir des Δ -Fluorescence sur *S. capricornutum* après 24 h (voir tableau ci-dessous):

Sites	Gamme de concentrations (%) pour $I_{\Delta F} = 50\%$	
	24 heures	8 jours
A	36 - 99	4 - 12
B	51 - 63	< 30
C	69	57 - 69
D	12 - 36	0.45 - 1.35
E	12 - 36	4 - 12

on constate que le temps d'incubation a peu d'effet au niveau de la pondération des effluents selon l'importance de leur toxicité, la plus forte étant D alors que la plus faible reste C. De plus, E demeure plus toxique que les échantillons A, B et C. Quant à ces trois derniers, bien qu'on ne puisse affirmer (à cause du manque de précision en A: 36-99 et B: < 30) que leur ordre reste le même après 24 heures et après 8 jours, les valeurs obtenues suggèrent la séquence suivante: $A > B > C$.

De plus, en comparant les deux séries de valeurs, on observe que la sensibilité de l'algue augmente avec son temps de contact vis-à-vis l'effluent: les gammes de concentrations pour $I = 50\%$ ont significativement diminuées au 8ième jour pour 4 effluents sur 5¹. D'autres auteurs ont déjà observés des changements (diminution ou augmentation) de la toxicité en fonction de la durée de l'incubation (Van Coillie et al., 1982; Joubert, 1981; Chiaudani et Vighi, 1978). Il semblerait, par exemple, que les algues, au cours de leur développement, peuvent modifier la spéciation des métaux en excréant des métabolites qui, en complexant ces métaux, viendraient diminuer leur toxicité (Rai et al., 1981); d'autre part, la biodégradation ainsi que la dégradation photochimique et le temps de pénétration du toxique à travers la membrane sont d'autres facteurs capables d'influencer la mesure de toxicité d'un échantillon vis-à-vis les algues. Rai et al. (1981) ont d'ailleurs présenté une excellente revue de plusieurs facteurs environnementaux pouvant affecter la toxicité des métaux.

Les modifications de sensibilité en cours de croissance étant liées à différents facteurs extrinsèques et intrinsèques au métabolisme des algues, il nous apparaît essentiel de bien différencier, lors d'études écotoxicologiques avec algues, entre la toxicité sous-létale à court terme et celle à moyen terme. En conséquence, la caractérisation de la toxicité d'un échantillon devrait effectivement couvrir ces deux aspects.

¹ Seul l'échantillon le moins toxique (C) ne présente pas cet effet.

Conclusion

- - - - -

Les déterminations de toxicité sous-létale à moyen terme avec algues ont montré que:

- 1- l'échantillon D présente la plus forte toxicité, quel que soit le paramètre considéré (I_D , I_B ou $I_{\Delta F}$) alors que C est le moins toxique;
- 2- les gammes de concentrations de A, B et E sont les mêmes, quelle que soit la méthode, alors qu'elles varient pour C et D: ces différences pourraient être liées au manque de justesse des déterminations au compteur électronique;
- 3- le temps d'incubation a peu d'effet sur la pondération des effluents selon l'importance de leur toxicité: par contre, il augmente la toxicité de 4 effluents (A, B, D, E).

Nous recommandons que:

- 1- les déterminations de Δ -Fluorescence soient dorénavant intégrées aux mesures de toxicité lors des bio-essais avec algues;
- 2- la caractérisation de la toxicité d'un échantillon doit nécessairement comporter des déterminations reflétant, d'une part, la toxicité sous-létale à court terme et, d'autre part, celle à moyen terme.

5. ANALYSE DE TROISIÈME NIVEAU DE PROTECTION ENVIRONNEMENTALE (mécanismes cellulaires et environnementaux)

5.e Dégradabilité et toxicité ultérieure

5.e.2 Phytoplancton

Après dégradation biologique, la toxicité des effluents pour les algues fut ré-évaluée à partir de bio-essais avec S. capricornutum, selon les mêmes conditions que celles décrites à la section 4.e. Les résultats ont été traités de la même façon que précédemment (sections 4.b et e) et les valeurs obtenues pour les gammes de concentrations sont rassemblées ci-après:

Sites	Gamme de concentration (%)		
	$I_D = 50\%$	$I_B = 50\%$	$I_{\Delta F} = 50\%$
A	7 - 15	7 - 15	7 - 15
B	> 99	40 - 80	> 99
C	> 99	20 - 40	> 99
D	30 - 60	10 - 20	30 - 60
E	10 - 20	10 - 20	10 - 20

Des différences significatives apparaissent entre les gammes de concentrations pour $I_B = 50\%$ et celles pour $I_D = 50\%$ ou $I_{\Delta F} = 50\%$. Ces variations pourraient être attribuables au manque de justesse des valeurs de phosphore total inorganique, ce qui entraînerait une surestimation de la biomasse calculée (B_C) et par le fait même une surestimation de la toxicité. D'ailleurs, les travaux de White et Payne (1980) et de White et al. (1981) montrent bien comment les déterminations de phosphore selon la technique de

"Technicon" peuvent surestimer les concentrations biodisponibles de cet élément pour les algues. À cet effet, nous avons déjà mentionné l'occurrence d'une telle situation lors d'une étude effectuée sur des eaux de surface avec S. capricornutum.

Ainsi, compte tenu du manque de justesse des valeurs B_c et des déterminations effectuées au compteur électronique (voir section 4.e), il apparaît que les gammes de concentrations obtenues à partir des valeurs de Δ -Fluorescence soient davantage représentatives de la toxicité des effluents. Ceux-ci peuvent donc être classés selon l'ordre suivant par rapport à leur toxicité:

$$A \approx E > D > B \approx C$$

Par rapport à l'ordre établi selon les tests avant la dégradation biologique (section 4.e: $D > E \approx A > C$), seul l'effluent C garde la même place par rapport aux autres en demeurant le moins toxique. Par ailleurs, suite au traitement biologique, la toxicité a diminué (B, C et D) ou est demeurée la même (A et E) comme le montrent les données suivantes:

Sites	Gammes de concentrations (%) pour $I_{\Delta F} = 50\%$	
	Avant dégradation	Après dégradation
A	4 - 12	7 - 15
B	< 30	> 99
C	57 - 69	> 99
D	0.45 - 1.35	30 - 60
E	4 - 12	10 - 20

Conclusion

Les bio-essais effectués pour déterminer la toxicité des effluents après bio-dégradation ont révélé que:

- 1- le traitement biologique n'avait pas d'effets significatifs au niveau des effluents A et E alors qu'il diminuait significativement la toxicité de B, C et D;
- 2- en considérant les travaux de divers auteurs, il semble que le paramètre $I_{\Delta F}$ serait plus adéquat pour déterminer la toxicité d'un échantillon: le manque de justesse des teneurs en phosphore inorganique affecte la fiabilité des valeurs I_B .

Nous recommandons que les déterminations de Δ -Fluorescence soient dorénavant intégrées aux mesures de toxicité lors des bio-essais avec algues.

RÉFÉRENCES

CHIAUDANI, G. et VIGHI, M. (1978).

The use of Selenastrum capricornutum batch cultures in toxicity studies. Mitt. Internat. Verein Limnol., 21: 316-329.

COUTURE, P., COUILLARD, D. et CROTEAU, G. (1981).

Un test biologique pour caractériser la toxicité des eaux usées. Environ. Pollut. Ser. B, 2: 217-222.

COUTURE, P., VAN COILLIE, R., CAMPBELL, P.G.C. et THELLEN, C. (1982).

Le phytoplancton, un réactif biologique sensible pour détecter rapidement la présence de toxiques. In: Leclerc, H. et Dive, D. (eds). Les tests de toxicité aiguë en milieu aquatique. Éditions INSERM, Paris, 1982, pp. 255-272.

EPA (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY) (1971).

Final report provisional algal assay procedures. Sanitary Engineering Research Laboratory and School of Public Health, University of California, SERL Report no. 71-6, 211 p.

EPA (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY) (1978).

The Selenastrum capricornutum Printz algal assay bottle test: experimental design application, and data interpretation protocol. U.S. Environmental Protection Agency, Oregon, Report no. EPA-600/9 78-018, 125 p.

EPA (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY) (1979).

Bibliography of literature pertaining to the genus Selenastrum. U.S. Environmental Protection Agency, Oregon, EPA-600/9-79-021, 192 p.

JOUBERT, G. (1980).

A bioassay application for quantitative toxicity measurements, using the green algae Selenastrum capricornutum. Water Res., 14: 1759-1763.

JOUBERT, G. (1981).

Étude comparative des réactions à la toxicité entre la truite (Salmo gairdneri) et quatre autres intégrateurs biologiques sur trente-six cas de bio-essais statiques. In: Bermingham, N. et al. (eds). Compte rendu des communications du septième atelier annuel sur la toxicité aquatique: 5-7 novembre 1980. Rapp. tech. can. sci. halieut. no. 990, pp. 251-264.

LUNDHAL, P. (1974).

Contribution à l'étude de la pollution des eaux par les substances toxiques; propriétés biologiques de quelques agents de surface anioniques. Thèse de docteur ingénieur, Université de Paris VI, France, 184 p.

RAI, L.C., GAUR, J.P. et KUMAR, H.D. (1981).

Phycology and heavy metal pollution. Biol. Rev., 56: 99-151.

REHNBERG, B.G., SCHULTZ, D.A. et RASCHKE, R.L. (1982).

Limitations of electronic particule counting in reference to algal assays. J. Wat. Pollut. Control Fed., 54: 181-186.

ROY, S. et LEGENDRE, L. (1979).

DCMU-Enhanced fluorescence as an index of photosynthetic activity in phytoplankton. Marine Biol., 55: 93-101.

VAN COILLIE, R., COUTURE, P., SCHOENERT, R. et THELLEN, C. (1982).

Mise au point d'une évaluation rapide de la toxicité originale des effluents et de leurs composantes à l'aide d'algues. INRS-Eau, Québec, rapport scientifique no 148, 130 p.

WHITE, E. et PAYNE, G. (1980).

Distribution and biological availability of reactive high molecular weight phosphorus in natural waters in New-Zealand. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 37: 664-669.

WHITE, E., PAYNE, G. et PICKMERE, S. (1981).

Orthophosphate and its flux in lake waters. Can. J. Fish. Aquat. Sci.,
38: 1215-1219.