

Quantification du risque causé par des mélanges de composés toxiques sur les écosystèmes aquatiques à l'échelle d'un bassin-versant

Rapport n° 310 31 0089 - SD 30019400

Auteur : Faggiano Leslie

Etablissement : Université de Toulouse, Laboratoire Evolution et Diversité Biologique (EBD), Université Paul Sabatier – CNRS, 31062 Toulouse Cedex 9.

SOMMAIRE

Liste des figures	3
Liste des tableaux	4
Liste des abréviations	5
1. Contexte et objectifs.....	6
2. Méthodes et résultats	8
2.1. EXPERIENCE ECOTOXICOLOGIQUE SUR UNE ESPECE	8
2.2. OUTIL D'EVALUATION DU RISQUE TOXIQUE D'UN MELANGE DE CONTAMINANTS	9
2.2.1. Description de la méthode.....	9
2.2.1.1. Courbes de distribution de sensibilité des espèces (SSD).....	9
2.2.1.2. Les modèles d'addition des concentrations (CA) et d'indépendance des effets (IE).....	12
2.2.1.3. Calcul de la proportion d'espèce potentiellement affectée par un mélange de contaminants (msPAF)	13
2.2.2. Exemple d'utilisation du msPAF (bassin Adour-Garonne)	14
2.3. CLASSIFICATION DES SITES EN FONCTION DES ASSEMBLAGES DE CONTAMINANTS...	16
2.3.1. Types de données analysées par classification	16
2.3.2. Description de la méthode.....	17
2.3.3. Exemple d'interprétation des résultats obtenus	20
2.4. RESUME DE LA METHODOLOGIE D'EVALUATION DU RISQUE TOXIQUE	21
3. Conclusion générale.....	23
3.1. LIMITATIONS ET INCERTITUDES	23
3.2. AVANTAGES ET PERSPECTIVES.....	25
Annexes	27
Références	29

Liste des figures

Figure 1: Exemple de distribution de valeurs écotoxicologiques concernant le pesticide linuron. Les points représentent des valeurs de LC_{50} ou d' EC_{50} pour 17 espèces aquatiques appartenant à 6 groupes taxonomiques différents (couleurs).....	10
Figure 2: Exemple de courbe de distribution de sensibilité des espèces suivant une distribution log-normale ajustée aux valeurs de toxicité aiguë (LC_{50} / EC_{50} représentées par les points). La flèche bleue indique l'inférence d'une valeur de HC_5 à partir d'un seuil d'espèce à protéger (5 % dans ce cas) tandis que la flèche rouge indique l'extrapolation faites d'une valeur de PAF à partir d'une concentration en toxique dans l'eau.	11
Figure 3: Exemples de courbe de distribution de sensibilité des espèces pour a) un inhibiteur de l'activité acétylcholinestérase (diméthoate) et b) un inhibiteur de l'activité photosynthétique (atrazine).....	12
Figure 4: Distribution spatiale des valeurs de risque toxique généré par la présence de plusieurs pesticides dans les écosystèmes aquatiques du bassin Adour-Garonne en 2006. Les valeurs de risque correspondent à un pourcentage d'espèces potentiellement affectées par un mélange de toxiques (méthodologie msPAF)	15
Figure 5: Schéma représentant les différents résultats obtenus par la méthode SOM à partir des valeurs de risque toxique par modes d'action toxique obtenues pour chaque site d'étude : 1) ordination des sites dans les cellules de la carte SOM ; 2) obtention de clusters à partir des cellules (à l'aide d'une classification hiérarchique) ; 3) représentation des valeurs de msPAF _{CA} modélisées sur la carte SOM (le gris clair représentant de faibles valeurs pour chaque variable tandis que le gris foncé représente de fortes valeurs).	19
Figure 6: (a) Distribution géographique des sites pesticides dans le bassin Adour-Garonne en fonction des clusters obtenus par la méthode SOM. (b) Valeurs moyennes et maximales du risque toxique engendré par des mélanges de pesticides (msPAF _{IE}) calculées pour les sites de chaque cluster.....	20
Figure 7: Schéma représentant les différentes étapes de la méthodologie d'évaluation du risque toxique à large échelle décrite dans ce rapport.	22

Liste des tableaux

<u>Tableau 1</u> :	Exemple de modes d'action toxique (TMoA) pour quelques pesticides	13
<u>Tableau 2</u> :	Listes des pesticides pris en compte dans les calculs de risque toxique en 2006 avec leur mode d'action toxique.....	17
<u>Tableau 3</u> :	Listes des incertitudes liées aux différentes étapes de cette méthodologie d'évaluation du risque écologique engendré par des mélanges de substances toxiques en association avec leurs conséquences probables en termes de sous ou sur estimation du risque écologique calculé.	24

Liste des abréviations

CA : modèle d'addition des concentrations

EC₅₀ : (effect Concentration) dose de toxiques pour laquelle on observe un changement de 50% d'une réponse sublétales spécifique (ex. : réduction de 50 % dans le taux de croissance, réduction de 50 % de l'activité photosynthétique.)

HC₅ : concentration au-dessus de laquelle plus de 5 % des espèces sont exposées à une concentration dépassant leur LC₅₀/EC₅₀

IE : modèle d'indépendance des effets

LC₅₀ : (létales Concentration) dose de toxiques pour laquelle on observe une augmentation de 50 % de la mortalité dans la population

msPAF : (multi-substances potentially affected fraction) indice de toxicité décrivant un pourcentage d'espèces potentiellement affectées par un mélange de toxiques

PAF : (potentially affected fraction) indice de toxicité décrivant un pourcentage d'espèces potentiellement affectées par une substance toxique

SIG : système d'information géographique

SOM : (self organizing map) carte auto-adaptative

SSD : (species sensitivity distribution) courbe de distribution de sensibilité des espèces à un toxique

TMoA : (toxique mode of action) mode d'action toxique

1. Contexte et objectifs

Le risque toxique lié au rejet de substances d'origines naturelles (ex. : métaux lourds) ou de synthèses (ex. : certains pesticides) est un facteur préoccupant de la détérioration de la qualité des écosystèmes aquatiques continentaux. Ces substances présentent, à certaines concentrations dans l'eau, un risque pour la santé publique, pour les organismes aquatiques et pour l'écosystème en général. L'existence d'une multitude de composés toxiques d'origines et de classes chimiques diverses pose le problème d'une stratégie adaptée aux études sur l'évaluation de l'état de santé du milieu naturel.

Pour évaluer le risque toxique dans les cours d'eau, des programmes de prélèvements ont été mis en place par les différentes agences de l'eau françaises pour rechercher la présence de substances toxiques d'origines industrielles, urbaines et agricoles. Plus particulièrement, l'Agence de l'eau Adour-Garonne (AEAG) a mis en place un programme de surveillance sur plus de 130 sites pour pouvoir estimer le risque toxique lié à la présence de pesticides dans les cours d'eau du bassin Adour-Garonne. Avec des valeurs de concentrations mesurées dans l'eau pour environ 120 pesticides sur chacun des sites et cela plusieurs fois par an, la quantité d'informations à traiter est considérable. De plus, la lecture seule de ces données de concentrations ne permet aucune conclusion en termes de risque toxique, car l'effet d'une substance dépend en partie de la dose, mais aussi de la dangerosité/toxicité du composé en question.

La méthode la plus intuitive et la plus souvent utilisée pour l'évaluation du risque toxique dans un contexte de gestion est le calcul d'un quotient par composé toxique, c'est-à-dire le quotient entre la concentration mesurée ou estimée dans les cours d'eau et une valeur de référence pour ce composé obtenue en laboratoire lors de tests écotoxicologiques. Si ce quotient est inférieur à 1 alors, le risque toxique peut être considéré comme négligeable. Néanmoins, même si cette méthodologie permet de passer d'une information de concentration d'un composé dans l'eau à une notion de toxicité, elle ne permet ni l'obtention d'une réponse globale et graduée en terme de risque (la réponse est simplement binaire pour chaque composé) ni l'évaluation de la dangerosité d'un mélange de composés toxiques présents sur un site d'échantillonnage.

Ce rapport a pour objet une description d'une méthodologie intégrée regroupant différents concepts écotoxicologiques et une méthode de classification statistique permettant une évaluation graduée et spatialisée du risque toxique engendré par la présence de plusieurs contaminants à l'échelle d'un bassin-versant. Ainsi, une méthode basée sur des courbes de distribution de sensibilité des espèces (SSD pour «*Species Sensitivity Distribution*») et sur le concept de mélange de composés en écotoxicologie permet l'obtention d'un pourcentage d'espèces potentiellement affectées par un mélange de toxiques (msPAF pour «*multi-substances Potentially Affected Fraction*», Traas et al., 2002). Cet indice de toxicité msPAF permet l'obtention, à partir des données de concentration pour chaque substance toxique, d'une seule valeur de risque par site d'échantillonnage. Pour permettre une meilleure compréhension du risque engendré par la présence de plusieurs pesticides à l'échelle d'un bassin-versant, un couplage de cette méthodologie «msPAF » avec une analyse de classification statistique adaptée à de larges bases de données peut être utilisé. Dans un contexte de gestion de la qualité chimique et écologique des cours d'eau, les résultats d'une telle méthodologie d'évaluation du risque permettent non seulement une description des sites les plus à risques, mais aussi d'évaluer : i) les substances ou classes de substances les plus dangereuses à l'échelle d'un bassin versant par exemple, et ii) les espèces ou groupes taxonomiques les plus à risque dans chaque type de site d'étude.

La première partie de ce rapport est consacrée à la description de différents concepts en écotoxicologie permettant le calcul de l'indice de toxicité msPAF. Un exemple appliqué aux données pesticides de l'AEAG permet de conclure cette partie tout en mettant en évidence le potentiel d'un tel indice pour la protection de la qualité chimique et écologique des cours d'eau à large échelle. Dans un second temps, une description de la méthode de classification utilisée et un exemple d'interprétation des résultats obtenus permettent de comprendre l'importance d'apporter une telle évaluation du risque spatialisée et intégrée pouvant conduire à orienter les mesures de protection de la qualité de l'eau. Enfin, après un résumé de la méthodologie d'évaluation du risque écologique décrite dans ce rapport, une conclusion en deux parties permet d'appréhender les limitations et les avantages d'une telle méthodologie dans un contexte plus large de gestion du risque toxique à l'échelle d'un bassin-versant.

Objectif: *Description d'une méthodologie d'évaluation du risque écologique permettant l'évaluation et la comparaison du risque toxique engendré par la présence de mélanges de contaminants dans différents cours d'eau.*

2. Méthodes et résultats

2.1. Expérience écotoxicologique sur une espèce

Avant de pouvoir appliquer les différents concepts menant au calcul de l'indice de toxicité msPAF, il est important de bien comprendre avec quel type de données toxicologiques cet indice peut être obtenu.

Des tests de toxicité standardisés permettent d'évaluer l'effet d'une substance toxique ou d'un mélange de toxiques sur une espèce cible (test monospécifique). Lors, de ces tests biologiques, plusieurs individus d'une même espèce, sont placés dans différents aquariums. Certains aquariums sont laissés comme contrôle (pas d'ajout de toxique dans l'eau) tandis que d'autres sont exposés à des doses croissantes de toxiques. Après une période déterminée, les réponses des individus contrôles et des individus exposés sont comparées et une valeur seuil de toxicité peut être calculée. La dose de toxiques pour laquelle on observe une augmentation de 50 % de la mortalité dans la population est appelée LC_{50} . La valeur d' EC_{50} , quant à elle, permet de quantifier les effets sublétaux. On peut ainsi observer une réduction de 50 % dans le taux de croissance ou une réduction de 50 % de la mobilité au sein de la population test comparée aux individus témoins.

D'importantes bases de données, accessibles librement sur internet, renferment les résultats de ces tests toxiques standardisés, classés par substance toxique, par espèce, par durée d'exposition et par type d'impact observé (ex : LC_{50}/EC_{50}) par exemple la base de données ECOTOX (www.epa.gov/ecotox). Il existe plusieurs autres critères que ces LC_{50}/EC_{50} permettant d'évaluer l'effet des substances toxiques sur les organismes aquatiques en fonction par exemple de la période d'exposition. Ainsi, les valeurs d' EC_{50} et de LC_{50} permettent d'évaluer l'effet aigu d'un toxique (c'est-à-dire résultant d'une exposition en général inférieure à 4 jours). Dans un contexte d'évaluation écologique du risque, l'obtention d'une valeur de risque chronique (plusieurs semaines dans certains cas) est plus pertinente, car

elle correspond à une réalité écologique (les organismes sont, dans les cours d'eau, exposés à de faibles doses de toxiques sur une très longue période de temps). Malheureusement, dans ces bases de données toxiques, les tests chroniques sont sous-représentés du fait du coût élevé et de la difficulté de réaliser de telles expériences. Dans ce rapport, uniquement des valeurs d'EC₅₀ et de LC₅₀ ont été utilisées dans les différents exemples et il convient donc de garder en mémoire qu'avec ces valeurs nous ne prendrons en compte que les effets aigus des contaminants.

2.2. Outil d'évaluation du risque toxique d'un mélange de contaminants

2.2.1. Description de la méthode

2.2.1.1. Courbes de distribution de sensibilité des espèces (SSD)

L'étude de ces importantes bases de données a permis de mettre en évidence les différences de sensibilité au risque toxique entre différentes espèces et de décrire cette variation en termes de distribution statistique (Stephan et al., 1985; Van Straalen and Denneman, 1989; Posthuma et al., 2002). Ces SSD sont basées sur le principe que la disparition des espèces les plus sensibles de la communauté aquatique pourra entraîner des effets en cascade sur les différents groupes trophiques, mais aussi sur l'écosystème en général. Il est donc important d'obtenir des valeurs de toxicité pour différentes espèces, mais surtout, différents groupes trophiques représentatifs de l'écosystème aquatique pour construire ces SSD.

Une fois les données écotoxicologiques obtenues pour une substance toxique, elles doivent être classées de la valeur la plus faible (espèce la plus sensible de la communauté) à la valeur la plus élevée afin de leur attribuer une valeur de rang. Ces données peuvent être représentées graphiquement avec les valeurs de concentrations obtenues en laboratoire sur l'axe des abscisses et avec les valeurs de rang de ces concentrations sur l'axe des ordonnées comme montré en Figure 1 (données transformées en logarithme). On observe par exemple que les 4 espèces les plus sensibles au linuron sont des algues (Figure 1, points verts) et les 3 plus résistantes des poissons (Figure 1, points bleus).

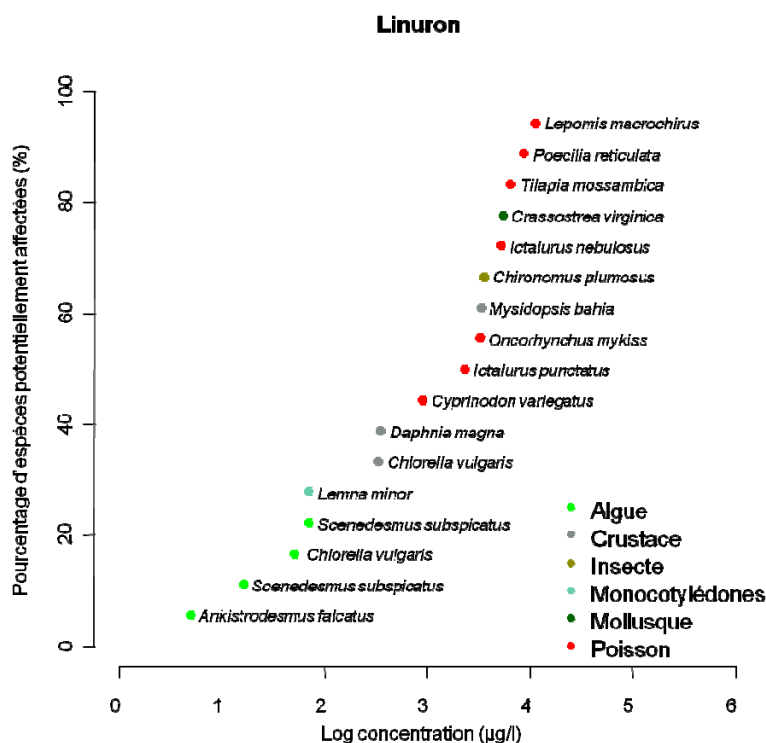


Figure 1: Exemple de distribution de valeurs écotoxicologiques concernant le pesticide linuron. Les points représentent des valeurs de LC_{50} ou d' EC_{50} pour 17 espèces aquatiques appartenant à 6 groupes taxonomiques différents (couleurs).

Il est alors naturel de vouloir ajuster une courbe de distribution à ces données pour pouvoir faire des extrapolations. Différents types de fonction de distribution peuvent être appliqués à ce type de données et dans ce rapport, la fonction log-normale sera appliquée. Dans le contexte de l'évaluation du risque, ces courbes sont le plus souvent utilisées pour l'obtention d'une valeur de HC_5 (concentration au-dessus de laquelle plus de 5 % des espèces sont exposées à une concentration dépassant leur LC_{50}/EC_{50}). Cette valeur peut alors servir de base aux experts pour la mise en place de valeur de référence pour chaque composé permettant de protéger 95 % des espèces de la communauté (Figure 2 : flèche bleue).

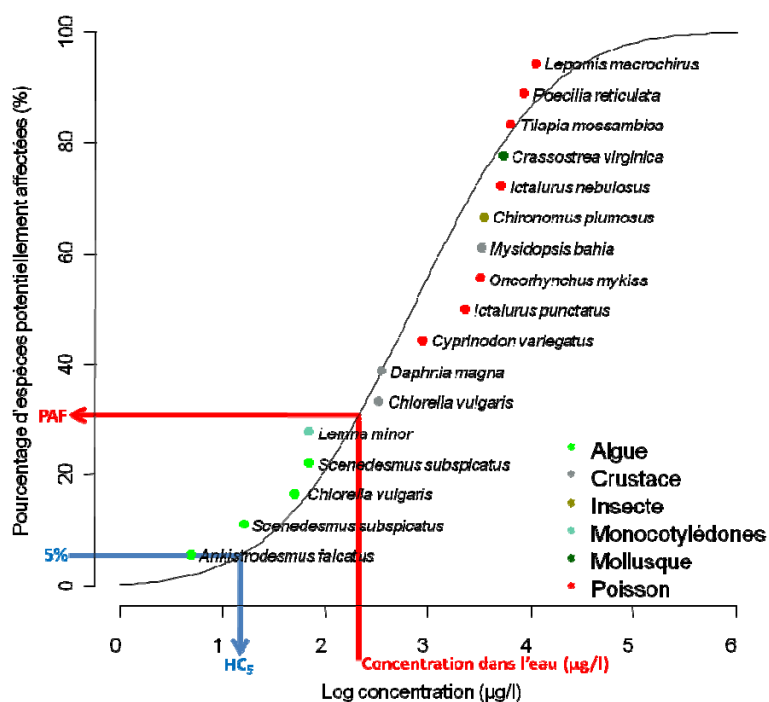


Figure 2: Exemple de courbe de distribution de sensibilité des espèces suivant une distribution log-normale ajustée aux valeurs de toxicité aiguë (LC₅₀/ EC₅₀ représentées par les points). La flèche bleue indique l'inférence d'une valeur de HC₅ à partir d'un seuil d'espèce à protéger (5 % dans ce cas) tandis que la flèche rouge indique l'extrapolation faite d'une valeur de PAF à partir d'une concentration en toxique dans l'eau.

Par analogie, on peut obtenir, à partir d'une valeur de concentration en toxique dans l'eau, une proportion d'espèces pouvant être affectées (PAF) par ce composé (Figure 2 : flèche rouge). Cette valeur de PAF est donc une mesure du risque écologique causé par un toxique à une concentration donnée, sur l'écosystème aquatique (de Zwart, 2002). Ces courbes ont été récemment incorporées au sein des recommandations en terme d'évaluation du risque écologique dans les cours d'eau Européens (de Zwart et al., 2009; Van Sprang et al., 2009) et sont de plus en plus souvent utilisées comme un outil permettant de donner la priorité aux contaminants et aux sites en fonction du risque pour l'écosystème (Knoben et al., 1998; de Zwart, 2005; Chen, 2005; Choi et al., 2009). Néanmoins, les organismes aquatiques sont exposés non à une substance unique, mais à un mélange de toxiques (Von der Ohe and Liess, 2004) et il nous faut donc pouvoir prédire l'effet combiné de ces substances à partir de ces valeurs de PAF par composés.

2.2.1.2. Les modèles d'addition des concentrations (CA) et d'indépendance des effets (IE).

Les effets combinés des contaminants sont fortement influencés par leur mode d'action toxique (TMoA, Escher et al., 2005). Ces TMoA permettent de décrire comment un contaminant va agir ou plus précisément comment il va agir sur une cible spécifique dans un organisme. Ces TMoA permettent donc d'expliquer pourquoi certains organismes sont sensibles à certains toxiques et d'autre non. En Figure 3, on peut comparer les différences de sensibilité entre espèces entre deux toxiques présentant deux modes d'action toxiques différents : un inhibiteur de l'activité acétylcholinestérase (diméthoate, figure 3a) et un inhibiteur de l'activité photosynthétique (atrazine, figure 3b).

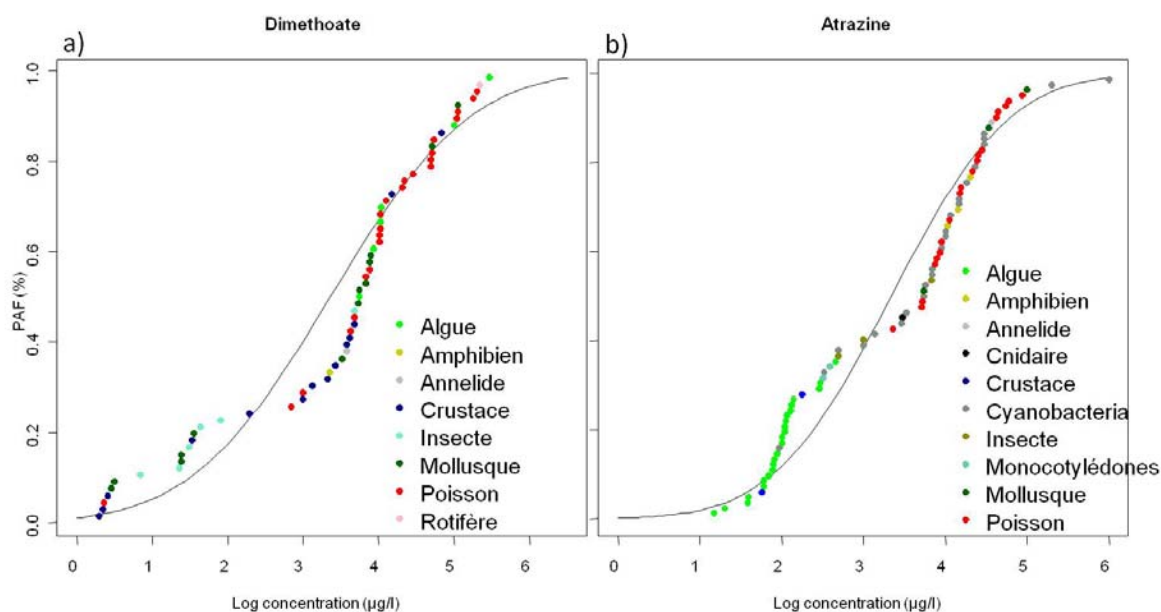


Figure 3: Exemples de courbe de distribution de sensibilité des espèces pour a) un inhibiteur de l'activité acétylcholinestérase (diméthoate) et b) un inhibiteur de l'activité photosynthétique (atrazine).

On observe, par exemple, que les espèces les plus sensibles de l'écosystème aquatique (c'est-à-dire celles situées au début des courbes de distribution) diffèrent entre les deux toxiques. Pour l'atrazine, les espèces les plus sensibles sont presque toutes des algues (points verts) ce qui est logique au vu de l'action inhibitrice sur le photosystème de cette molécule. Les espèces les plus sensibles au diméthoate ont toutes en commun le fait de posséder une enzyme permettant la dégradation d'un

neurotransmetteur (acétylcholine) comme les crustacés, les poissons, les mollusques et les insectes. Le premier pas pour permettre l'évaluation de l'effet toxique de plusieurs contaminants est donc de classer les substances en fonction de leur cible à l'intérieur de l'organisme. Chaque contaminant doit donc être associé à un TMoA comme montré dans le tableau 1.

Tableau 1 : Exemple de modes d'action toxique (TMoA) pour quelques pesticides

Composé	TMoA
atrazine	Inhibiteur de l'activité photosynthétique
carbofurane	Inhibiteur de l'activité de l'acétylcholinestérase
lindane	Neurotoxique de type cyclodiène
metolachlore	Inhibiteur de croissance des graines
triclopyr	Régulateur de croissance des plantes

Les modèles d'addition des concentrations (CA) et d'indépendance des effets (IE) permettent de prédire l'effet d'un mélange pour deux situations différentes (Bliss, 1939). Le modèle CA est utilisé pour un mélange de substances ayant un mode d'action toxique similaire. Les substances agissent sur les mêmes récepteurs augmentant l'effet selon la concentration et le potentiel toxique des composés. De manière très concrète, ce modèle nous permet de simplement additionner les valeurs individuelles de risque toxique (PAF) pour chacune des substances présentes dans un mélange. Ce modèle a démontré d'excellentes qualités prédictives dans le cas de l'évaluation des effets d'un mélange de substances (Altenburger et al., 2000). Dans le cas de deux substances ayant un mode d'action dissimilaire, c'est-à-dire n'agissant pas sur les mêmes récepteurs, le modèle IE est appliqué (Hewlett and Plackett, 1979; Backhaus et al., 2000; Walter et al., 2002). IE assume que les probabilités d'effets de chaque substance sont indépendantes. Ainsi, on additionne les effets dus à chaque substance et l'on y soustrait les effets conjoints.

2.2.1.3. Calcul de la proportion d'espèce potentiellement affectée par un mélange de contaminants (msPAF)

Cet outil s'obtient en combinant la méthodologie SSD avec les concepts de CA et IE. Cette valeur de multi-substance PAF (msPAF) nous permet donc l'obtention d'une valeur de risque (en pourcentage) à partir des valeurs de risque pour chaque composé. Pour des composés possédant un même mode d'action toxique, les valeurs de PAF sont donc additionnées. Par exemple, on obtient une

valeur de $msPAF_{CA}$ pour tous les composés inhibiteurs de l'activité photosynthétique puis une valeur de $msPAF_{CA}$ pour les neurotoxiques puis une autre pour les inhibiteurs de croissance des plantes, etc. Le modèle IE pour des composées aux modes d'action toxique dissimilaires peut alors être appliqué et un $msPAF_{IE}$ final obtenu suivant la formule suivante :

$$msPAF_{IE} = (1 - msPAF_{CA_1}) \times (1 - msPAF_{CA_2}) \times (1 - msPAF_{CA_3}) \dots (1 - msPAF_{CA_n})$$

Ce $msPAF$ permet donc d'évaluer le pourcentage d'espèces potentiellement affectées par un mélange de contaminants à partir des valeurs de concentration de ces substances dans l'eau.

2.2.2. Exemple d'utilisation du $msPAF$ (bassin Adour-Garonne)

Les données utilisées pour le calcul du $msPAF$ proviennent de la base de données pesticide de l'Agence de l'eau Adour-Garonne pour l'année 2006. Il est important de noter que seules les valeurs de concentration en toxique supérieures à la limite de quantification ont été retenues pour le calcul du $msPAF$. De plus, pour les sites échantillonnés plusieurs fois dans l'année (l'AEAG a organisé des campagnes en mai, juin, août, octobre et décembre 2006), la valeur maximale pour chaque composé a été sélectionnée pour le calcul du $msPAF$ de manière à obtenir une valeur de risque en explorant le pire cas de figure vis-à-vis de l'exposition en 2006.

En figure 4, on peut observer la distribution spatiale des valeurs de $msPAF$ (pesticide) pour l'année 2006 grâce à une carte SIG (système d'information géographique). Les sites situés en périphérie du bassin présentent, en général, un très faible risque toxique contrairement aux sites situés vers la partie médiane et basse des affluents de la Garonne.

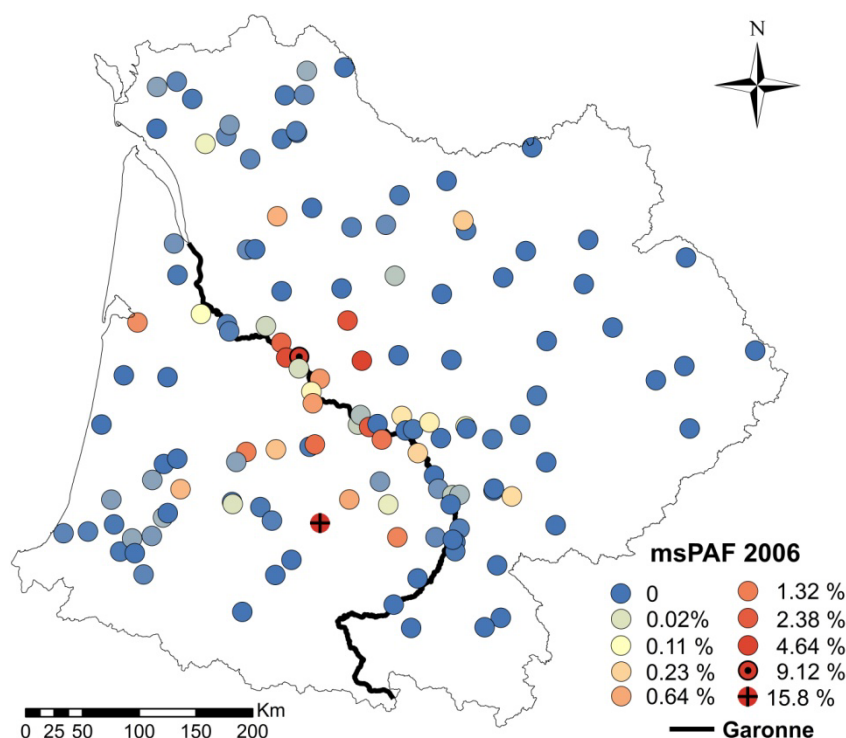


Figure 4: Distribution spatiale des valeurs de risque toxique générées par la présence de plusieurs pesticides dans les écosystèmes aquatiques du bassin Adour-Garonne en 2006. Les valeurs de risque correspondent à un pourcentage d'espèces potentiellement affectées par un mélange de toxiques (méthodologie msPAF)

Il est possible d'analyser les différents résultats obtenus grâce à cette méthodologie pour remonter à partir des valeurs globales de msPAF aux valeurs de concentrations en toxiques dans l'eau grâce aux valeurs intermédiaires de msPAF_{CA} pour chaque mode d'action toxique. On observe que le site le plus à risque à l'échelle du bassin (valeur de msPAF de 15.8%) est situé sur la Baïse (code station AEAG : 109010, voir + figure 4) à plus de 80 km de sa confluence avec la Garonne. Cette valeur élevée de risque s'explique par la présence d'un neurotoxique, le lambda-cyhalothrine, à une concentration de 0.019 µg/L en décembre. Cette valeur de concentration semble peu élevée, mais due à l'extrême toxicité de ce composé, on retrouve une valeur de risque inquiétante. Le second site le plus à risque (valeur de msPAF de 9.12 %) est localisé sur la Trec (code station AEAG : 83300, voir ● figure 4) après sa confluence avec la Canaule. Cette valeur élevée de risque s'explique par la présence d'un inhibiteur de l'activité acétylcholinestérase, le carbofurane, à une concentration de 4.5 µg/l en mai. Pour ces sites, ce sont des valeurs extrêmes de msPAF_{CA} pour deux pesticides hautement toxiques qui ont permis d'identifier rapidement la cause principale de la toxicité. Une telle lecture des

résultats est très couteuse en terme de temps d'analyse, ne permet pas l'identification des sites où ce sont les mélanges de toxiques qui sont responsables de la toxicité prédite et ne permet pas une vision globale des résultats. Pour permettre l'identification des substances ou classes de substances et des groupes taxonomiques les plus à risque à l'échelle du bassin, un couplage de cette méthodologie msPAF avec une méthode de classification statistique peut être réalisé.

Remarques : En annexes 1 (page 27) et 2 (page 28), on peut observer la distribution spatiale des valeurs de msPAF en 2007 et 2008 estimées à partir des bases de données pesticides fournies par l'AEAG en suivant la même méthodologie que celle décrite dans ce rapport pour les données 2006. Il est intéressant de noter l'absence de valeurs de msPAF supérieure au seuil de 5 % d'espèces potentiellement affectées par la présence de pesticides à l'échelle du bassin Adour-Garonne en 2007 et 2008.

2.3. Classification des sites en fonction des assemblages de contaminants

Cette classification doit permettre une meilleure compréhension de la distribution spatiale du risque généré par un mélange de contaminants à large échelle.

2.3.1. Types de données analysées par classification

Les données utilisées en entrée du modèle sont celles obtenues lors du calcul intermédiaire du msPAF: les $msPAF_{CA}$ pour chaque mode d'action toxiques. Dans le tableau 2, on peut observer que dans la base de données pesticides 2006, on obtient la formation de 6 groupes de toxiques différents regroupant 26 pesticides. Il est important de préciser que pour l'application de ce type de méthode statistique, les variables utilisées en entrée du modèle (les 6 $msPAF_{CA}$ dans notre cas d'étude) doivent présenter une certaine variabilité à travers les différents sites d'étude pour permettre l'émergence de structure spatiale à large échelle. Ainsi, les $msPAF_{CA}$ représentés dans moins de 5 % des sites ont été retirés des données analysées par classification. Par exemple, le groupe des neurotoxiques de type pyrethroides, représenté par une seule substance ; le lambda-cyhalothrine, ne présentait qu'une

seule valeur de $msPAF_{CA}$ supérieure à zéro sur les 131 sites étudiés et a donc été retiré des analyses.

Tableau 2: Listes des pesticides pris en compte dans les calculs de risque toxique en 2006 avec leur mode d'action toxique.

Composé	TMoA
Mecoprop	Régulateur de croissance des plantes
Dicamba	Régulateur de croissance des plantes
2,4-D	Régulateur de croissance des plantes
Triclopyr	Régulateur de croissance des plantes
2,4-MCPA	Régulateur de croissance des plantes
Dichlorprop	Régulateur de croissance des plantes
Oxadiazon	Inhibiteur de l'activité protoporphyrinogène oxidase
Bentazone	Inhibiteur de l'activité photosynthétique
Terbuthylazine	Inhibiteur de l'activité photosynthétique
Desethyl-terbuthylazine	Inhibiteur de l'activité photosynthétique
Simazine	Inhibiteur de l'activité photosynthétique
Linuron	Inhibiteur de l'activité photosynthétique
Deisopropyl-atrazine	Inhibiteur de l'activité photosynthétique
Chlortoluron	Inhibiteur de l'activité photosynthétique
Desethyl-atrazine	Inhibiteur de l'activité photosynthétique
Methabenzthiazuron	Inhibiteur de l'activité photosynthétique
Isoproturon	Inhibiteur de l'activité photosynthétique
Diuron	Inhibiteur de l'activité photosynthétique
Atrazine	Inhibiteur de l'activité photosynthétique
Carbofurane	Inhibiteur de l'activité de l'acétylcholinestérase
Alachlore	Inhibiteur de croissance des graines
Dimethenamide	Inhibiteur de croissance des graines
Metazachlore	Inhibiteur de croissance des graines
Acetochlore	Inhibiteur de croissance des graines
Metolachlore	Inhibiteur de croissance des graines
Tebuconazole	Conazole (triazole)

2.3.2. Description de la méthode

La méthode des cartes auto-adaptatives, plus souvent désignée par le terme anglais *self organizing map* (SOM) a été appliquée pour classifier les sites en fonction des valeurs de risque causés par plusieurs contaminants. Cette méthode appartient à une classe de réseau de neurones artificiels (Kohonen, 1982, 2001) et est basée sur un algorithme non-supervisé (c'est-à-dire que s'est au modélisateur à définir le nombre de groupes). Cette méthode de classification est très intéressante en termes de visualisation des résultats, car elle permet d'étudier la répartition de données sur une grille, composée de plusieurs cellules en 2 dimensions (voir Figure 5) tout en préservant leur topologie.

Plusieurs résultats peuvent être obtenus après application de la méthode SOM sur les données de msPAF_{CA} comme schématisé en Figure 5 :

- **(1)** le classement des 131 sites du bassin Adour-Garonne dans les cellules de la carte SOM en fonction des valeurs de msPAF_{CA} (le nombre de sites dans chacune des cellules de la carte SOM est représenté par des ronds gris) ; les sites présentant des valeurs de msPAF_{CA} similaires seront placés dans la même cellule ou dans une cellule voisine tandis que les sites présentant des valeurs différentes se retrouveront à l'opposé de la carte.
- **(2)** l'obtention de clusters (à l'aide d'une analyse de classification hiérarchique représentée en Figure 5) regroupant cette fois-ci des cellules similaires en terme d'assemblage de contaminant.
- **(3)** la représentation sur la carte, sous forme d'un gradient de gris, des valeurs modélisées pour chaque valeur d'entrée du modèle (représentée par les six valeurs de msPAF_{CA}) dans chaque cellule. Cette représentation permet de mettre en évidence les variables participant le plus à la formation de chacun des clusters. Par exemple, pour les cellules du cluster 4, on observe des valeurs modélisées de risque importantes (gris foncé) pour les inhibiteurs de l'activité de l'acétylcholinestérase (Inh_AcheE) et pour les inhibiteurs de croissance des graines (Inh_Croissance_Gr) indiquant une importante contribution de ces deux TMOA à la formation de ce groupement de sites. De plus, il est important pour l'interprétation des résultats, d'observer les échelles associées à chaque carte de gradient de gris. Par exemple, les modes d'action toxiques conazole et inhibition de l'activité protoporphyrinogène oxydase (Inh_Proto) montrent une très faible contribution à la formation de la carte SOM en général.

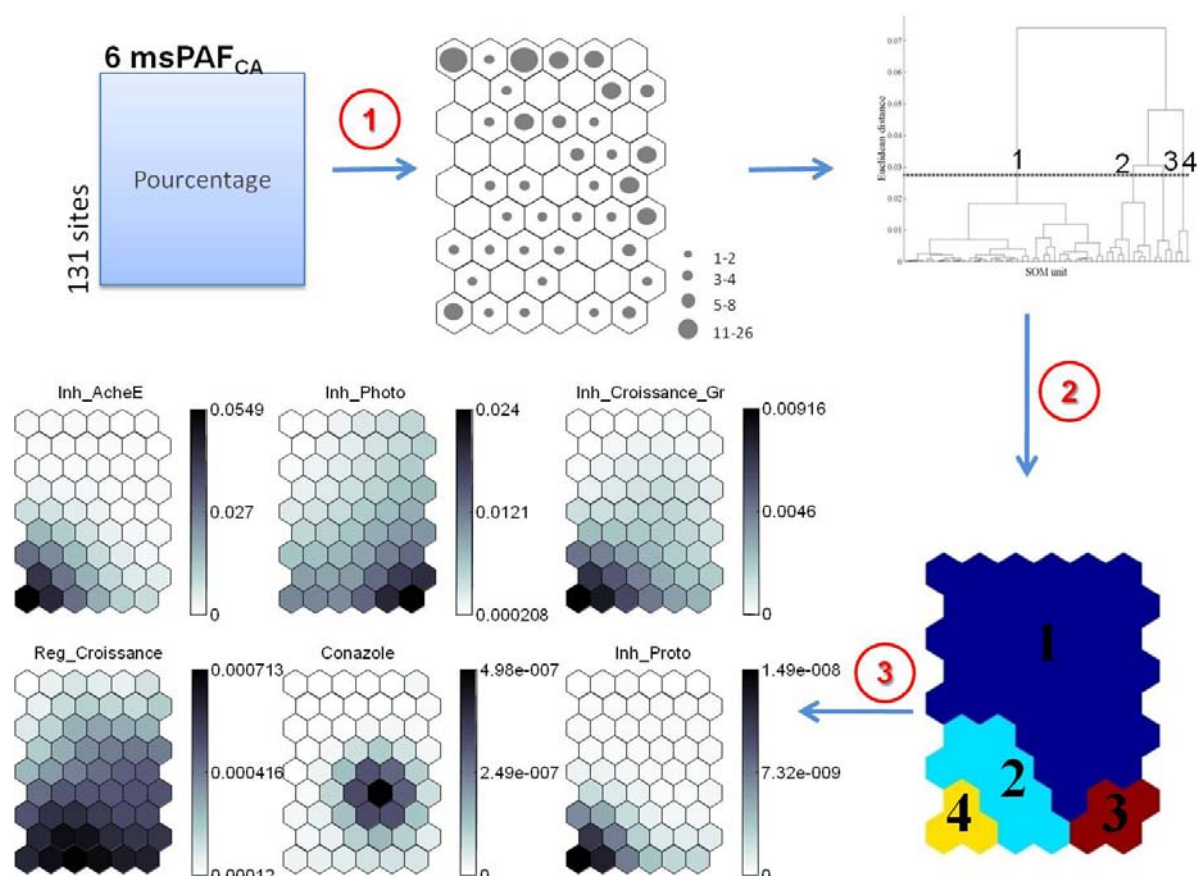


Figure 5: Schéma représentant les différents résultats obtenus par la méthode SOM à partir des valeurs de risque toxique par modes d'action toxique obtenues pour chaque site d'étude : 1) ordination des sites dans les cellules de la carte SOM ; 2) obtention de clusters à partir des cellules (à l'aide d'une classification hiérarchique) ; 3) représentation des valeurs de msPAF_{CA} modélisées sur la carte SOM (le gris clair représentant de faibles valeurs pour chaque variable tandis que le gris foncé représente de fortes valeurs).

Il est alors possible d'observer la distribution spatiale du risque causé par un mélange de contaminants à large échelle à l'aide d'une carte SIG. Cette carte permet de spatialiser les résultats obtenus par la méthode SOM et sert de support à l'interprétation des résultats obtenus par cette méthodologie (voir 2.3.3. Exemple d'interprétation des résultats obtenus). De plus, toujours pour faciliter l'interprétation des résultats, une valeur moyenne et une valeur maximale des msPAF_{IE} des sites appartenant à chaque cluster peuvent être calculées, nous donnant ainsi une indication sur la proportion d'espèces pouvant être affectée par cette multi-contamination dans chaque cluster.

2.3.3. Exemple d'interprétation des résultats obtenus

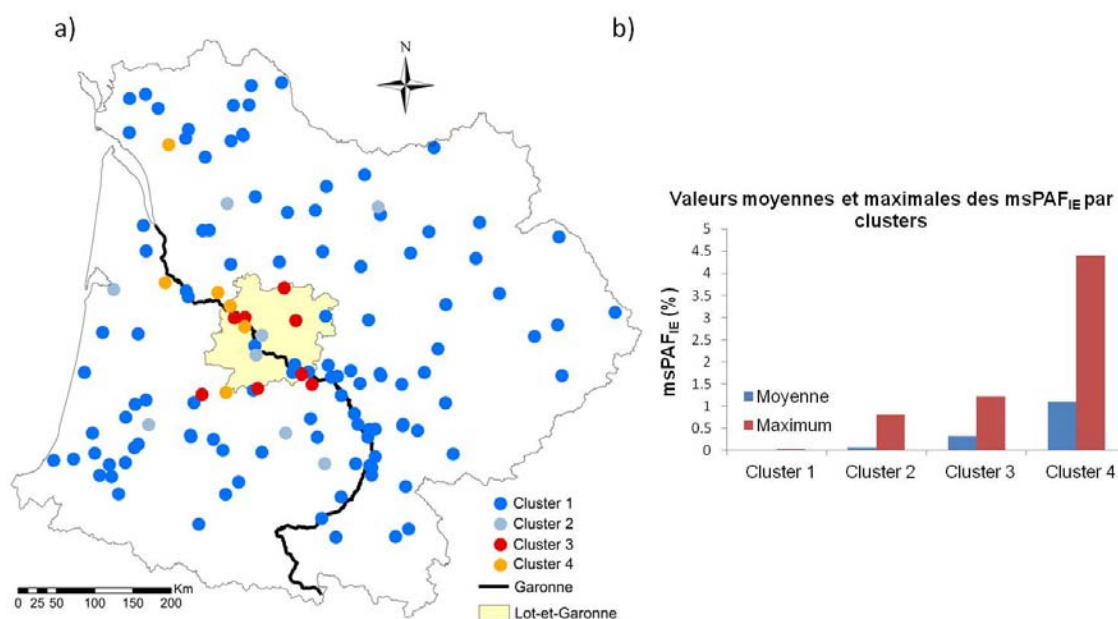


Figure 6: (a) Distribution géographique des sites pesticides dans le bassin Adour-Garonne en fonction des clusters obtenus par la méthode SOM. (b) Valeurs moyennes et maximales du risque toxique engendré par des mélanges de pesticides ($msPAF_{IE}$) calculées pour les sites de chaque cluster.

Les sites appartenant au cluster 1 (109 sites) et au cluster 2 (8 sites) et qui représente 84 % des sites d'étude sont caractérisés par des valeurs très faibles de risque (moyenne des $msPAF_{IE}$ = 0.004 % pour le cluster 1 et de 0.064 % pour le cluster 2, voir Figure 6b) et sont principalement localisés à la périphérie du bassin Adour-Garonne.

Les sites du cluster 3 (6 sites) et du cluster 4 (8 sites) sont principalement observés dans les parties médianes et basses de la Garonne. Avec une valeur moyenne de $msPAF_{IE}$ de 0.328 % et une valeur maximale de 1.22 %, les sites du cluster 3 présentent un faible risque toxique. La contribution importante du mode d'action toxique inhibition de l'activité photosynthétique pour ce cluster indique que se sont les producteurs primaires qui seront le plus exposés à ce risque dans ces sites. Les sites du cluster 4 avec une valeur moyenne de $msPAF_{IE}$ de 1.09 % et une valeur maximale à 4.41 % présentent les valeurs de risque les plus élevées de l'étude. Avec une contribution importante des TMoA : inhibiteur de l'activité de l'acétylcholinestérase (Inh_AcheE) et inhibiteur de croissance des graines (Inh_Croissance_Gr) pour la formation de ce cluster, les producteurs primaires, les

invertébrés aquatiques et les poissons sont exposés à un risque toxique non négligeable.

De manière générale, on peut aussi observer en Figure 6A, une contamination par les pesticides relativement importante et localisée dans le département du Lot-et-Garonne. En effet, sur 13 sites prélevés dans ce département, 3 appartiennent au cluster 1, 2 au cluster 2, 2 au cluster 3 et 5 au cluster 4 qui n'en compte pourtant que 8 à l'échelle du bassin Adour-Garonne. Ce risque toxique localisé, causé par des mélanges de pesticides dans cette région peut s'expliquer par les pratiques agricoles. En effet, en 2006, 49 % des ventes de produits agricoles de cette région provenaient des fruits et des vignes et 30 % de la production de céréales. (EUROSTAT, 2007). Ces types de cultures entraînent l'utilisation d'herbicides pour le contrôle des mauvaises herbes, mais aussi d'insecticides, très toxiques dans les milieux aquatiques, pour la protection des arbres fruitiers et les vignes. L'importante toxicité induite par ces mélanges de composés peut donc, en partie, s'expliquer par une agriculture diversifiée entraînant le rejet de plusieurs types de contaminants.

2.4. Résumé de la méthodologie d'évaluation du risque toxique

Cette méthodologie d'évaluation du risque toxique, en intégrant plusieurs concepts écotoxicologiques et des méthodes statistiques, permet l'obtention à partir de valeurs de concentrations en substances toxiques dans l'eau de plusieurs résultats complémentaires (voir Figure 7).

Dans un premier temps, l'observation de la distribution spatiale de la proportion d'espèces potentiellement affectée par plusieurs substances ($msPAF_{IE}$) permet d'obtenir une estimation claire et concise sur le statut d'un bassin versant vis-à-vis de la pollution toxique. Par exemple, l'application de la méthodologie msPAF aux données pesticides 2006 a permis une lecture globale de la structure spatiale du risque toxique à l'échelle du bassin Adour-Garonne avec un risque très faible à la périphérie du bassin et un risque faible à modéré pour les parties médianes et basses de la Garonne. De plus, cette méthodologie permet d'identifier les substances possédant un potentiel toxique très important pour les organismes

aquatiques, et ce, même à faible concentration comme le lambda-cyhalothrine et le carbofurane dans notre cas d'étude.

Dans un second temps, une combinaison de cette méthodologie avec une méthode de classification permet l'obtention d'informations plus précises sur la distribution spatiale du risque toxique à large échelle. L'évaluation des types de substances les plus dangereuses et des groupes d'espèces les plus à risque dans chaque site d'étude permet d'identifier les sites les plus vulnérables à l'échelle d'un bassin versant. Par exemple, 14 sites (appartenant aux clusters 3 et 4) sur les 131 sites étudiés dans le cas d'étude développé dans ce rapport présentent un risque toxique causé par plusieurs pesticides non négligeable pour l'année 2006.

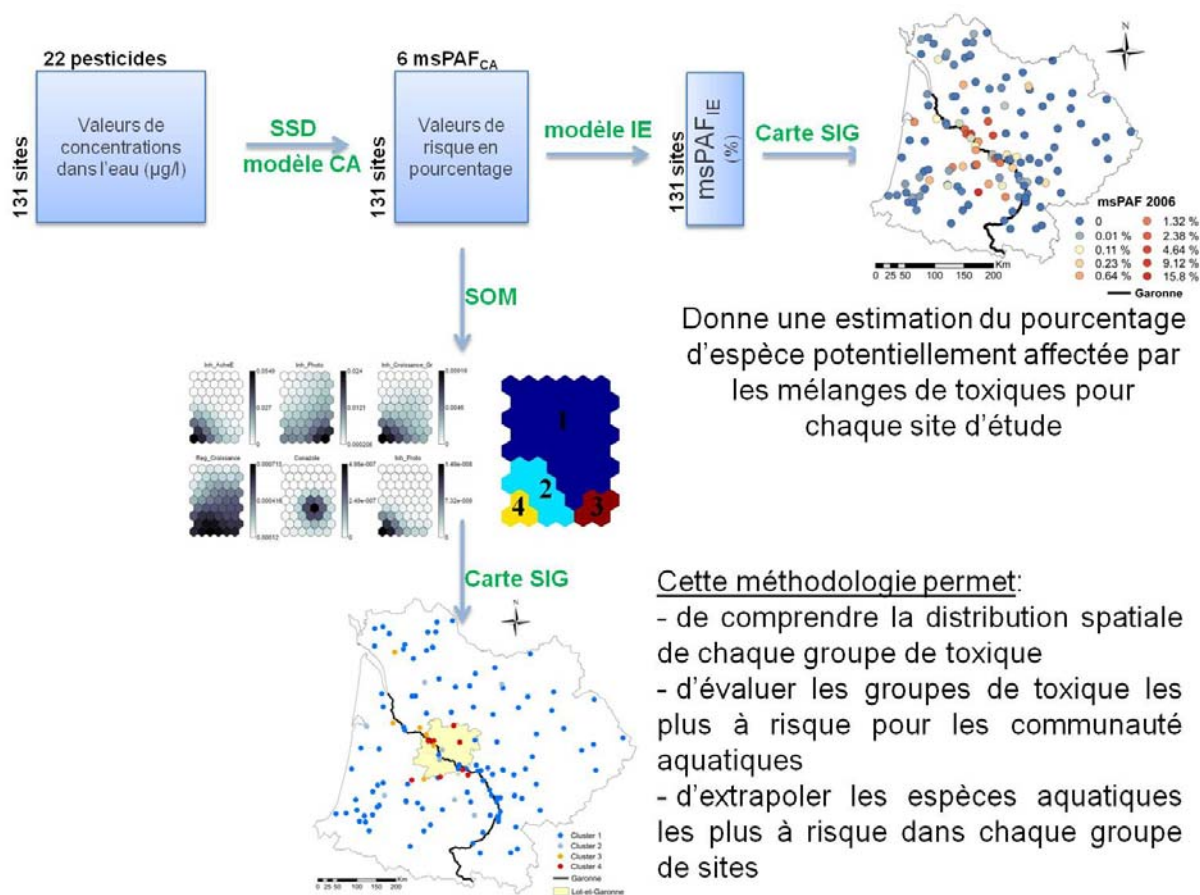


Figure 7: Schéma représentant les différentes étapes de la méthodologie d'évaluation du risque toxique à large échelle décrite dans ce rapport.

3. Conclusion générale

3.1. Limitations et incertitudes

Il existe trois grands groupes d'incertitudes liées aux différentes étapes de ce type d'analyse d'évaluation du risque écologique : la caractérisation de l'exposition, la caractérisation des effets des substances toxiques sur les organismes aquatiques et la caractérisation du risque écologique (voir le tableau 3).

La première source d'incertitudes concerne la caractérisation de l'exposition des communautés aquatiques. En effet, les données de concentration en substances obtenues à partir des échantillons d'eau récoltés sur les sites ne permettent d'obtenir qu'une estimation de l'exposition réelle des communautés. Par exemple, les analyses chimiques réalisées ne permettent de doser que les composés recherchés. De plus, un échantillonnage ponctuel (une fois par mois par exemple) ne peut pas garantir que les pics pour tous les contaminants soient détectés dans les analyses. Pour ces deux exemples, il est probable que le risque toxique réel auquel sont exposés les organismes aquatiques soit sous-évalué par cette méthodologie. Le risque toxique réel a aussi pu être surestimé. D'une part, les données d'exposition utilisée pour le calcul du risque correspondent aux valeurs maximales pour toutes les substances au cours d'une année présupposant ainsi une cooccurrence temporelle des contaminants qui ne correspond pas à la réalité. D'autre part, dans cette méthode, la concentration en toxique dans l'eau est considérée comme totalement disponible pour le biota. Ainsi, les phénomènes physico-chimiques de dégradation/transformation des contaminants dans les rivières au cours du temps ainsi que les phénomènes d'association de ces toxiques aux particules en suspension (les rendant ainsi non assimilables par les espèces) peuvent entraîner une baisse significative du pouvoir toxique d'une substance.

Tableau 3 : Listes des incertitudes liées aux différentes étapes de cette méthodologie d'évaluation du risque écologique engendré par des mélanges de substances toxiques en association avec leurs conséquences probables en termes de sous ou sur estimation du risque écologique calculé.

	sous-estimation	surestimation
Caractérisation de l'exposition • seules les substances recherchées sont dosées • échantillonnage ponctuel • valeurs de concentrations maximales sélectionnées • biodisponibilité des toxiques	× ×	× ×
Caractérisation du risque toxique • qualité et quantité des données toxiques • données de toxicité aiguë vs chronique	× ×	×
Évaluation du risque écologique • seuil de 5 % pour la protection des espèces aquatiques • pas de prise en compte des effets des toxiques sur les interactions trophiques	? ×	?

La seconde source d'incertitudes concerne la caractérisation du risque basé sur les données écotoxicologiques (EC_{50}/LC_{50}) servant à construire les courbes de sensibilité des espèces (SSD). Il est en effet primordial de s'assurer d'une bonne qualité et quantité de données de ce type pour réaliser une telle estimation du risque toxique. Par exemple, pour construire une SSD pour une substance, il est recommandé de posséder des valeurs de toxicité pour au moins 10 espèces différentes (Solomon et al., 1996 ; Wheeler et al., 2002) appartenant de préférence à des groupes taxonomiques différents (algues, insectes, mollusques, poissons, etc.). Ce problème de la disponibilité des données est aussi lisible concernant le choix de l'utilisation de données de toxicité aiguë pour l'évaluation du risque comme montrée dans le cas d'étude. En ne prenant pas en compte les effets chroniques probables sur la croissance, le développement et la reproduction, le risque toxique pour les organismes et les populations aquatiques est probablement sous-évalué par cette méthodologie.

Enfin, quelques incertitudes persistent concernant les conclusions d'une telle étude d'évaluation du risque écologique. Le choix d'un seuil de protection laissant 5 % des espèces potentiellement à risque dans les communautés aquatiques est très discutable du point de vue de la conservation de la biodiversité dans les écosystèmes aquatiques continentaux. De plus, il est difficile de savoir si ce seuil garantit l'intégrité structurelle et fonctionnelle des communautés aquatiques.

L'absence de prise en compte des effets des toxiques sur les interactions trophiques comme les interactions proie-prédateur, peut aussi être une source d'incertitude pouvant amener à une sous-estimation du risque réel auquel sont soumis les organismes aquatiques.

3.2. Avantages et perspectives

En donnant une estimation claire et spatialisée du risque écologique engendré par l'exposition des communautés aquatiques à des mélanges de contaminants, cette méthodologie permet en premier lieu d'identifier les sites les plus à risque à l'échelle d'un bassin-versant. Elle permet d'autre part d'identifier les composés ou groupes de composés présentant les valeurs de risque toxique les plus importantes à l'échelle d'un bassin-versant. Cette information permet ensuite une description des groupes taxonomiques particulièrement exposés à chaque type de pollution pouvant mener à orienter les mesures de conservation des organismes aquatiques dans les cours d'eau étudiés. Pour plus de détails concernant les aspects méthodologiques, les références bibliographiques et les conclusions de cette méthode d'évaluation du risque, un article scientifique publié dans la revue « Science of the Total Environments » (Faggiano et al., 2010) est disponible. De plus, un résumé de cet article scientifique a été écrit et publié par l'Université de Bristol (Angleterre) dans une revue de la commission Européenne : « Science for Environment Policy: European Commission DG Environment » (voir les références bibliographiques pour obtenir le lien internet de ce résumé).

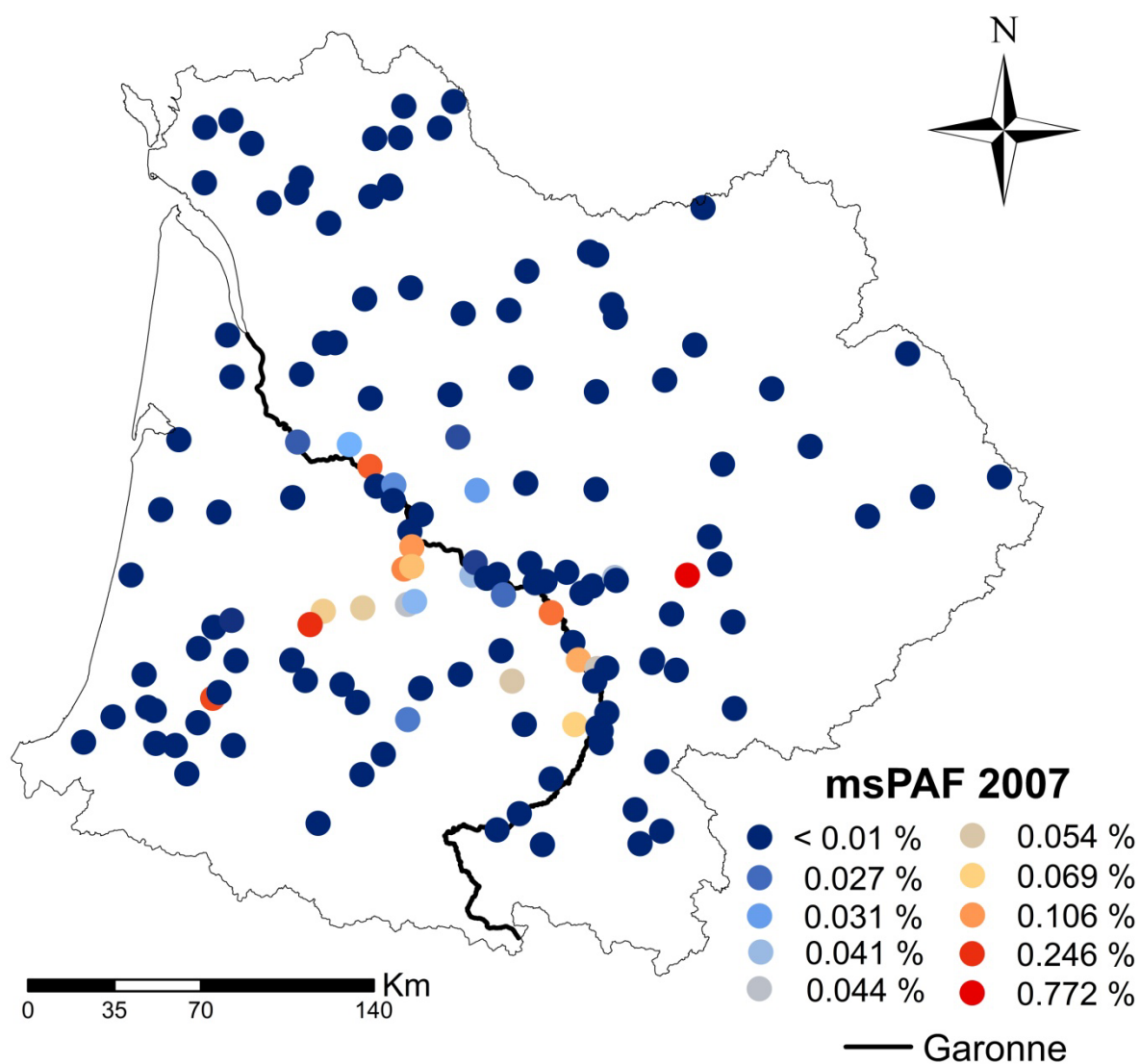
L'un des principaux avantages de cette méthodologie réside dans sa possibilité d'application à tout type de pollution toxique. Dans ce rapport, l'exemple d'application concerne la pollution engendrée par les pratiques agricoles, mais cet outil est aussi applicable à des pollutions de types industrielles (ex : métaux lourds) et domestiques (ex : substance pharmaceutique, produits d'entretien ménager, etc.). L'application de cet outil à un ensemble plus complet de données de concentration en substances toxiques permettrait de générer un constat global et spatialisé sur le risque toxique à l'échelle d'un bassin versant.

Il est aussi important de noter que cette méthodologie est adaptée à l'analyse des campagnes de surveillance de la qualité de l'eau et ne constitue qu'une évaluation du risque toxique réel auquel sont exposés les organismes aquatiques.

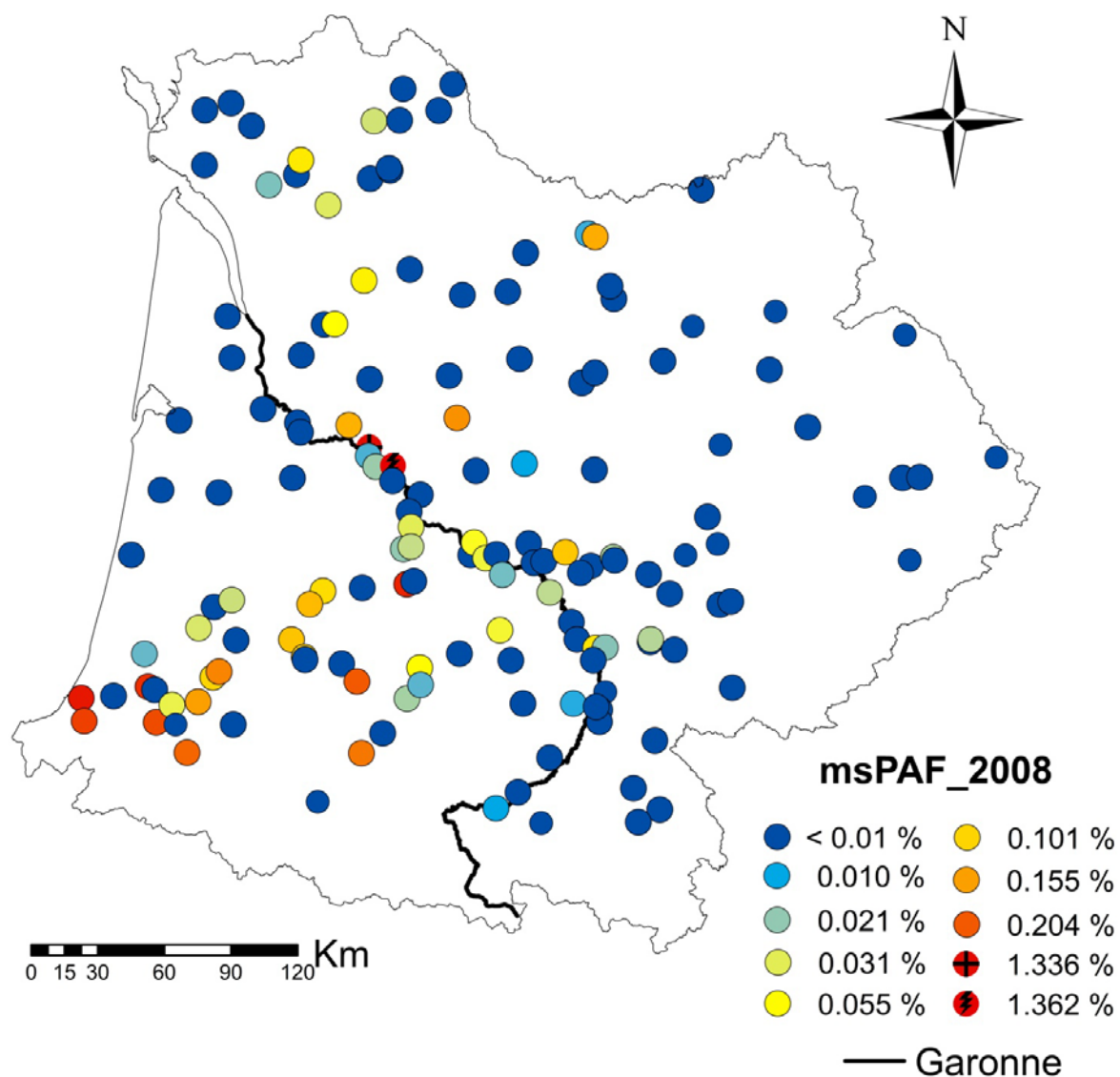
De fait, elle doit permettre d'orienter les efforts des gestionnaires vers des études sur site plus poussées qui pourront établir une causalité entre l'exposition à des mélanges de toxiques et différents impacts sur les organismes, les populations ou les communautés aquatiques.

Annexes

Annexe 1 : Distribution spatiale des valeurs de risque toxique générées par la présence de plusieurs pesticides dans les écosystèmes aquatiques du bassin Adour-Garonne en 2007. Les valeurs de risque correspondent à un pourcentage d'espèces potentiellement affectées par un mélange de toxiques (méthodologie msPAF)



Annexe 2 : *Distribution spatiale des valeurs de risque toxique généré par la présence de plusieurs pesticides dans les écosystèmes aquatiques du bassin Adour-Garonne en 2008. Les valeurs de risque correspondent à un pourcentage d'espèces potentiellement affectées par un mélange de toxiques (méthodologie msPAF).*



Références

- Altenburger, R., T. Backhaus, W. Boedeker, M. Faust, M. Scholze and L.H. Grimme. 2000. Predictability of the toxicity of multiple chemical mixtures to *vibrio fischeri*: mixtures composed of similarly acting chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19: 2341-2347.
- Backhaus, T., R. Altenburger, W. Boedeker, M. Faust, M. Scholze, and L.H. Grimme. 2000. Predictability of the toxicity of a multiple mixture of dissimilarly acting chemicals to *vibrio fischeri*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19: 2348-2356.
- Bliss, C.I. 1939. The toxicity of poisons applied jointly. *Annals of Applied Biology* 26: 585-615.
- Chen, C.S. 2005. Ecological risk assessment for aquatic species exposed to contaminants in Keelung River, Taiwan. *Chemosphere* 61: 1142-1158.
- Choi, K.W., J.H. Lee, K.W. Kwok, K.M. Leung. 2009. Integrated stochastic environmental risk assessment of the harbour area treatment scheme (HATS) in Hong Kong. *Environmental Science and Technology* 43: 3705-3711.
- de Zwart, D. 2002. Observed regularities in species sensitivity distributions for aquatic species. Pages 133-154 in L. Posthuma, G. W. Suter, and T. P. Traas, editors. *Species sensitivity distributions in ecotoxicology*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA.
- de Zwart, D. 2005. Ecological effects of pesticide use in the Netherlands: modeled and observed effects in the field ditch. *Integrated Environmental Assessment and Management* 1: 123-134.
- de Zwart, D., L. Posthuma, M. Gevrey, P.C. von der Ohe, and E. de Deckere. 2009. Diagnosis of ecosystem impairment in a multiple-stress context-how to formulate effective river basin management plans. *Integrated Environmental Assessment and Management* 5: 38-49.
- Escher, B.I., N. Bramaz, R.I.L. Eggen, and M. Richter. 2005. In vitro assessment of modes of toxic action of pharmaceuticals in aquatic life. *Environmental Science and Technology* 39: 3090-3100.
- European Commission DG Environment: Science for Environment Policy. Edited by The University of the West of England (Bristol). 2010. Combined method successfully assesses pesticide risk. Issue 196.
<http://ec.europa.eu/environment/integration/research/newsalert/pdf/196na1.pdf>
- Eurostat. European Commission. 2007. The use of plant protection products in the European Union.
- Faggiano L, D. de Zwart, E. García-Berthou, S. Lek and M. Gevrey. Patterning ecological risk for pesticide contamination at the basin scale. 2010. *Science of the Total Environment* 408: 2319-2326.
- Hewlett, P.S., and R.L. Plackett. 1979. *The Interpretation of quantal responses in biology*. Edward Arnold, London, UK.

- Kohonen, T. 1982. Self-organized formation of topologically correct feature maps. *Biological Cybernetics* 43: 59-69.
- Kohonen, T. 2001. *Self-Organizing Maps*. Springer, Berlin.
- Knoben, R.A.E., M.A. Beek, A.M. Durand. 1998. Application of species sensitivity distributions as ecological risk assessment tool for water management. *Journal of Hazardous Materials* 61: 203-207.
- Posthuma, L., T.P. Traas, and G.W. Suter II. 2002. General introduction to species sensitivity distributions. Pages 3-10 in L. Posthuma, G.W. Suter, II, and T.P. Traas, editors. *Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA.
- Solomon, K.R., D.B. Baker, R.P. Richards, K.R. Dixon, S.J. Klaine, T.W. La Point, R.J. Kendall, C.P. Weisskopf, J.M. Giddings, J.P. Giesy, L.W. Hall, and W.M. Williams. 1996. Ecological risk assessment of atrazin in North American surface waters. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15: 31-76.
- Stephan, C.E., D.I. Mount, D.J. Hansen, J.H. Gentile, G.A. Chapman, and W.A. Brungs. 1985. Guidelines for deriving numerical national water quality criteria for the protection of aquatic organisms and their uses. PB 85-227049, United States EPA ORD ERL, Duluth MN.
- Traas, T.P., D. Van de Meent, L. Posthuma, T. Hamers, B.J. Kater, D. de Zwart, and T. Aldenberg. 2002. The potentially affected fraction as a measure of ecological risk. Pages 315-344 in L. Posthuma, G.W. Suter, II, and T.P. Traas, editors. *Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA.
- Van Sprang, P.A., F.A.M. Verdonck, F. Van Assche, L. Regoli, and K.A.C. De Schamphelaere. 2009. Environmental risk assessment of zinc in European freshwaters: A critical appraisal. *Science of the Total Environment* 407: 5373-5391.
- Van Straalen, N.M., and C.A.J. Denneman. 1989. Ecotoxicological evaluation of soil quality criteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 18: 241-249.
- Von der Ohe, P.C, and M. Liess. 2004. Relative sensitivity distribution of aquatic invertebrates to organic and metal compounds. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23: 150-156.
- Walter, H., F. Consolaro, P. Gramatica, M. Scholze, and R. Altenburger. 2002. Mixture toxicity of priority pollutants at no observed effect concentrations (NOECs). *Ecotoxicology* 11: 299-310.
- Wheeler, J.R., E.P.M. Grist, K.M.Y. Leung, D. Morritt, and M. Crane. 2002. Species sensitivity distributions: data and model choice. *Marine Pollution Bulletin* 45:192-197.