

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ

LUTTE CONTRE L'ONCHOCERCOSE

CONVENTION N° V2 - 181 81

O.M.S. / ORSTOM du 29 - XII - 1972

DATE DE PARUTION

JUIN 1975

**TOXICITE POUR LA FAUNE NON CIBLE
DE QUELQUES FORMULATIONS D'INSECTICIDES
ORGANOPHOSPHORES ET DE LEURS CONSTITUANTS**

C. DEJOUX

J. J. TROUBAT.

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER

CENTRE O.R.S.T.O.M. DE NDJAMÉNA



ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE

Lutte contre l'Onchorcose

TOXICITE POUR LA FAUNE NON
CIBLE DE QUELQUES FORMULATIONS
D'INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES
ET DE LEURS CONSTITUANTS

C. DEJOUX
J. J. TROUBAT

JUIN 1975

Introduction

Les insecticides organophosphorés employés dans la lutte contre les insectes vecteurs de maladies sont très rarement utilisés à l'état pur. Ceux devant être utilisés en milieu aquatique sont généralement peu solubles dans l'eau et pour obtenir un maximum d'efficacité, on leur adjoint un produit solvant, parfois un agent émulsifiant. L'ensemble obtenu constitue une formulation qui peut être employée directement et qui contient un certain pourcentage de produit insecticide pur.

Bien souvent les produits employés comme solvants ont eux mêmes une toxicité notable pour les organismes aquatiques et ajoutent leurs effets nocifs à ceux de l'insecticide. Les effets toxiques peuvent par ailleurs se porter sur des éléments faunistiques différents de ceux que l'on cherche à éliminer. On voit donc tout l'intérêt qu'il y a à connaître la part qui revient à chaque élément d'une formulation afin de pouvoir, si besoin est, diminuer, en modifiant les proportions de ces constituants, son impact toxique sur les organismes du milieu naturel qui ne sont pas visés par les traitements.

I. MATERIEL D'ETUDE

- Insecticides

Les produits à tester dans le cadre de la convention nous ont été aimablement fournis par l'O.M.S. Ces produits sont les suivants :

- 200 ml de la formulation d'Abate 200 CE de Procida
- 20 g d'Abate technique pur
- 200 ml du solvant spécifique de l'Abate
- 50 g de Methoxychlore, produit technique pur - OMS 466
- 50 g de produit technique pur - OMS 1155 - (réf. DOWCO 214)
- 20 g de produit technique pur - OMS 1170

- Organismes

La situation en Afrique du Laboratoire de N'Djaména ne permettait malheureusement pas une expérimentation avec des éléments faunistiques identiques à ceux que l'on rencontre sur les gîtes à Simulium damnosum.

La plus proche rivière où l'on rencontre ce Diptère est en effet située à plus de 500 km au sud du laboratoire, ce qui rendait impossible l'approvisionnement en matériel vivant. Nous avons donc recherché dans le Chari et surtout dans les collections d'eaux temporaires, le matériel à tester. Ceci explique que nos expérimentations portent uniquement sur des organismes d'eaux stagnantes ou quasi-stagnantes.

Par ailleurs, la sécheresse qui sévit depuis plusieurs années dans cette partie de l'Afrique a rendu l'existence des eaux temporaires très éphémère (mares, marigots...) entraînant ainsi des retards dans l'expérimentation, dus à la difficulté de réunir le matériel nécessaire aux tests. Au cours de la saison sèche, nous avons été obligés d'aménager à l'air libre de grands bacs, artificiellement mis en eau. La mise en action chaque soir d'une source lumineuse au-dessus de ces bacs permettait d'attirer et de concentrer dans cette zone le petit nombre d'insectes aquatiques adultes qui volaient encore dans les environs du laboratoire et, dans la mesure où ils venaient pondre dans les bacs, de les utiliser comme géniteurs.

L'eau de ces bacs a toujours été utilisée pour mettre les organismes en observation. Provenant à l'origine de l'adduction urbaine, elle s'était, à l'air libre, rapidement débarrassée de ses éléments chlorés. Une florule puis une faunule s'étant rapidement développées dans les bacs, nous pouvons considérer cette eau comme biologiquement équilibrée et nous avons pu y élever avec succès différents organismes aquatiques.

Les expériences portèrent donc sur les organismes suivants :

- Chironomus pulcher (Diptère, Chironomidae)
- Anisops balcis (Hémiptère, Notonectidae)
- Crocothemis erythraea (Odonate, Libellulidae)
- Un crustacé indéterminé (Anostracé) qui se développe périodiquement dans les mares temporaires à partir d'une forme de résistance qui passe la saison sèche dans la vase exondée.

- Les larves d'un petit Batracien qui se reproduit aux premières pluies ; Bufo regularis.

II. TECHNIQUE D'EXPERIMENTATION

Nous ne nous étendrons pas sur ce point qui a été exposé en détail dans un précédent rapport (DEJOUX-TROUBAT, 1973^{*}), une méthodologie identique ayant été employée. Sur chaque organisme expérimenté, trois tests différents ont été réalisés.

Test I : Action d'une gamme croissante de concentrations agissant pendant 24 heures (0, 1; 0, 2; 0, 3; 0, 4; 0, 5 ppm).

Les mortalités sont notées à l'issue de ces 24 heures.

Test II : Action de différentes concentrations agissant pendant un

temps court : 0,05 ppm/ 10 mn
0,1 ppm/ 10mn
0,25 ppm/ 10 mn
0,25 ppm/ 2 mn
1 ppm/ 30 s
100 ppm/ 15 s

Le choix de ces temps et concentrations est également justifié dans notre rapport cité plus haut.

Test III : Action d'une très forte concentration (100 ppm) agissant jusqu'à traumatisation des organismes puis jusqu'à leur mort.

Cette série de tests a été conduite d'une part avec les formulations complètes, puis avec le produit technique pur, et enfin avec le solvant seul. Dans chaque cas où un des éléments seulement de la formulation était testé, l'élément manquant était remplacé par de l'eau distillée afin de partir de solutions mères ayant les mêmes proportions et de garder la même méthodologie pour les dilutions.

De cette manière, nos résultats peuvent être directement comparés entre eux. Il faut toutefois remarquer que pour les résultats concernant les solvants, les concentrations indiquées ne correspondent pas à celles du solvant mais sont celles d'une formulation dans laquelle le produit actif a été remplacé par de l'eau distillée. En effet, pour l'Abate 200 EC par exemple qui est une solution à 20 % de produit actif, il y a 20 % de produit actif pur et 80 % de solvant. Les concentrations en solvant sont donc 4 fois plus élevées que celles en

* DEJOUX (C.), TROUBAT (J.J.) 1973 - Etude en laboratoire de la toxicité sur la faune non cible de nouveaux insecticides employés en lutte anti-simulies. Rapport ORSTOM, N'Djaména, 15.11.1973 30 pages multigraphiées.

produit pur. Pour déterminer les effets de ces 80 % de solvant, on pourrait partir du solvant pur et tester des concentrations 4 fois plus élevées que celles du produit technique, ce qui reviendrait au même. Nous avons cependant préféré garder les mêmes protocoles de dilution dans les trois cas.

En ce qui concerne les tests conduits avec les produits techniques purs, il est le plus souvent difficile de les mélanger à l'eau dans laquelle ils sont peu ou pas solubles. Dans le cas de l'Abate par exemple qui est un produit huileux ne pouvant pas être directement mélangé à l'eau, nous avons dû utiliser un vibreur à ultra-sons afin d'homogénéiser la solution aqueuse. De plus, c'est seulement avec une solution à 10 % de produit actif que nous avons pu obtenir une émulsion satisfaisante. Il était toutefois nécessaire d'employer rapidement le produit préparé, car au bout d'un certain temps, (plusieurs heures), la fraction huileuse avait tendance à nouveau à s'individualiser et à flotter en surface des récipients utilisés, une partie du produit pur non dilué restant au fond.

III. RESULTAT DES EXPERIMENTATIONS AVEC L'ABATE

A) Action de la formulation complète

Les différentes expérimentations ont porté sur les organismes cités plus haut. Les températures minimale et maximale repérées au cours des expériences ont été notées dans chaque cas. Les résultats obtenus pour les trois séries de tests ont été regroupés dans le tableau 1.

Discussion

Les Odonates testés paraissent assez sensibles à la formulation d'Abate, particulièrement quand l'action est de longue durée. Quelques rares individus seulement résistent à l'action de 0,1 ppm pendant 24 heures. Les Hémiptères sont également des organismes très vulnérables mais nous avons vu que pour eux, la traumatisation entraîne presque immédiatement la mort par noyade et ceci augmente considérablement leur sensibilité aux expositions de longue durée. La diminution des mortalités constatées, en fonction de l'augmentation des concentrations dans les cas d'une exposition de 10 minutes, reste inexpliquée.

Tableau 1 - Toxicité de l'Abate 200 EC Procida, vis à vis de quelques organismes aquatiques non cible.

<u>TEST I</u>	Concentrations					Témoins	Limites de Température
	0,1ppm	0,2	0,3	0,4	0,5		
Organismes testés	Pourcentages de mortalité						
<u>Crocothemis erythraea</u>	98	100	100	100	100	8	22°2-27°5
<u>Chironomus pulcher</u>	47,4	49,9	58,3	56,6	78,3	14	29° -30°
<u>Anisops balcis</u>	100	100	100	100	100	4,5	28°5-30°
<u>Bufo regularis</u>	0	0	0	0	0	0	28° -30°
Anostracé sp.	100	100	100	100	100	0	29°1-30°6

<u>TEST II</u>	Concentrations						Témoins	Limites de température
	0,05ppm 10 mn	0,1ppm 10 mn	0,25ppm 10 mn	0,25ppm 2 mn	1 ppm 30 s	100ppm 15 s		
Organismes testés	Pourcentages de mortalité							
<u>Crocothemis erythraea</u>	0	4,2	22,8	15,7	32,8	22,5	0	20° -21°4
<u>Chironomus pulcher</u>	20,8	17,2	22,5	26	20,2	60	26,4	29° -30°
<u>Anisops balcis</u>	25	10	6,6	20	23	77,3	13,3	28°2-29°
<u>Bufo regularis</u>	0	0	0	0	0	0	0	24° -25°3
Anostracé sp.	0	5	16,6	0	5	40	0	28°5-29°

<u>TEST III</u>	temps moyen de traumatisation	temps moyen de mortalité	température de la solution insecticide
<u>Crocothemis erythraea</u>	5 mn 40 s	32 mn 25 s	23°2 - 23°8
<u>Chironomus pulcher</u>	4 mn 45 s	55 mn	25°5 - 26°5
<u>Anisops balcis</u>	2 mn 56 s	30 mn 30 s	26° - 26°5
<u>Bufo regularis</u>	1 mn 39 s	53 mn 07 s	29° - 30°7
Anostracé sp.	1 mn 07 s	5 mn 50 s	28°5 - 29°

A côté d'un groupe non affecté, les Batraciens, il faut placer les Chironomides avec toutefois certaines restrictions. Un Batracien ou un Odonate traumatisé retrouve lentement un rythme d'activité normal quand on le replace dans un milieu non contaminé (moyennant cependant que la traumatisation ne soit pas de trop longue durée). Les Chironomides par contre semblent passer un cap irréversible au moment même où apparaît la traumatisation. Nous avons observé le phénomène en réalisant le test III. Avant d'être plongées dans la solution toxique, les larves sont actives, recherchent leur nourriture et ont des mouvements ondulatoires fréquents. Une fois plongées dans la solution contaminée, elles continuent un temps très court à se déplacer, puis apparaissent des mouvements désordonnés avec détentes brutales. L'état de traumatisation survient peu de temps après et se traduit par un repli du corps sur lui-même, les segments ayant tendance à se resserrer les uns sur les autres, puis la larve s'enroule sur elle-même et s'immobilise, l'abdomen apparaissant comme gonflé. La mort ne survient pas immédiatement et les larves peuvent vivre encore assez longtemps (plusieurs heures) cependant, elles ne survivent jamais à la traumatisation et ne retrouvent pas leur rythme normal d'activité quand on les replonge dans un milieu non contaminé.

Il est donc évident que de noter les seules mortalités vraies, amène une sous-estimation des effets toxiques de la formulation. Dans le milieu naturel, et si leur éthologie était semblable à celle de S. damnosum, tous les individus traumatisés se décrocheraient de leur support.

Les Anostracés réagissent de manière très nette à la formulation complète et ne survivent pas à l'action du toxique pendant 24 heures (test I). Ils sont par contre très sensibles aux fortes concentrations et 100 ppm agissant 15 s. entraînent 40 % de mortalité. Si l'on maintient cette concentration jusqu'à la mort, celle-ci survient au bout de 5 à 6 minutes.

B) Action du produit technique pur

Nous avons repris les mêmes expérimentations et avons dressé le tableau 2 dans lequel sont consignées les valeurs moyennes des pourcentages de mortalité constatés.

Tableau 2 - Toxicité de l'Abate technique pur vis à vis de quelques organismes non cible.

<u>TEST I</u>	Concentrations					Témoins	Limites de température
	0,1ppm	0,2	0,3	0,4	0,5		
Organismes testés	Pourcentages de mortalité.						
<u>Crocothemis erythraea</u>	52	80	88	84	100	4	23°2-25°
<u>Chironomus pulcher</u>	42	40	48	48	46	24	25°5-26°5
<u>Anisops balcis</u>	100	100	100	100	100	8	23° -29°
<u>Bufo regularis</u>	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0	28° -30°
<u>Anostracé sp.</u>	0	0	26,6	33,3	46,5	0	29°5-31°

<u>TEST II</u>	Concentrations						Témoins	Limites de température de la solution.
	0,05 10 mn	0,1 10 mn	0,25 10 mn	0,25 2 mn	1 30 s	100 15 s		
Organismes testés	Pourcentages de mortalité							
<u>Crocothemis erythraea</u>	10	13,3	30	20	15	20	13,3	23°5-25°4
<u>Chironomus pulcher</u>	21,2	21,6	18,6	17	19,1	12,5	16	26°5-28°
<u>Anisops balcis</u>	83,4	100	88,3	81,2	81,4	100	17,7	27° -29°
<u>Bufo regularis</u>	0	0	0	0	0	0	0	23° -26°
<u>Anostracé sp.</u>	0	0	0	0	0	0	0	29° -30°

<u>TEST III</u>	Temps moyen de traumatisation	temps moyen de mortalité	température de la solution insecticide
<u>Crocothemis erythraea</u>	1 à 2 heures	5 heures	26°3 - 27°
<u>Chironomus pulcher</u>	2 à 4 heures	6 à 8 heures	27°4 - 28°3
<u>Anisops balcis</u>	2 heures	3 à 4 heures	28°5 - 29°
<u>Bufo regularis</u>	Sans effets notables sur	24 heures	27° - 28°5
<u>Anostracé sp.</u>	1 heure	2 heures	

Discussion

Les Chironomides semblent beaucoup moins sensibles au produit pur qu'à la formulation complète, particulièrement pour des expositions de courte durée où les pourcentages de mortalité sont du même ordre de grandeur que les témoins, donc non significatifs. Exposés 24 heures, ils réagissent toutefois et les mortalités constatées, non significativement différentes d'une concentration à l'autre, sont cependant près de deux fois supérieures à celles des témoins.

En ce qui concerne les Odonates et le premier test, mis à part les concentrations extrêmes nettement différentes, les concentrations 0,2 à 0,4 ppm provoquent des mortalités semblables de l'ordre de 85 %. Bien que plus faibles que dans le cas où la formulation complète est employée, les mortalités n'en restent donc pas moins très élevées. Dans le test II, seules les fortes concentrations ont une action mais elle est relativement légère dans l'ensemble, si l'on tient compte que les témoins, pour des raisons inconnues, ont accusé des mortalités également élevées. Le test III confirme enfin la moindre toxicité du produit technique pour ce groupe et la mort ne survient qu'après plusieurs heures de passage dans la solution à 100 ppm.

Si les Batraciens ne réagissent pratiquement pas, les Anisops par contre sont fortement affectés, tant par les expositions de longue durée que par les courtes expositions et leur niveau de mortalité est bien supérieur à ce qu'il était dans le cas de la formulation complète. Il est toutefois nécessaire d'attirer l'attention sur le fait que même après action des ultra-sons, l'Abate technique ne se mélange pas parfaitement à l'eau et tend à constituer une émulsion huileuse qui, au bout d'un certain temps, flotte en surface des récipients d'expérimentation. Bien que le produit technique seul ait une action certaine sur les Anisops, il est évident que s'y ajoute un effet d'asphyxie de ces organismes à respiration aérienne, dû à la stagnation d'une couche huileuse de surface.

Les Anostracés enfin sont modérément affectés puisqu'une exposition à 0,5 ppm pendant 24 heures donne un taux de mortalité inférieur à la DL 50 et que le test II ne donne aucune mortalité. Il faut toutefois signaler que les concentrations les plus fortes traumatisent certains individus, ce qui laisse à penser que le produit technique a cependant un faible effet nocif pour de courtes expositions.

Tableau 3 - Toxicité du solvant spécifique de l'Abate 200 CE Procida vis à vis de quelques organismes non cible.

<u>TEST I</u>	Concentrations					Témoins	Limites de températures
	0,1ppm	0,2	0,3	0,4	0,5		
Organismes testés	Pourcentages de mortalité						
<u>Crocothemis erythraea</u>	6	4	4	8	4	2	18°8-20°2
<u>Chironomus pulcher</u>	44	50,6	39,3	58,6	54,3	16	28°5-29°5
<u>Anisops balcis</u>	11,7	9,9	12,5	13,2	23,6	10	21°8-23°
<u>Bufo regularis</u>	0	0	0	0	0	0	23° -26°
Anostracé sp.	100	100	100	100	100	0	25° -28°4

<u>TEST II</u>	Concentrations						Témoins	Limites de températures
	0,50ppm 10 mn	0,1 10 mn	0,25 10 mn	0,25 2 mn	1 30 s	100 15 s		
Organismes récoltés	Pourcentages de mortalité							
<u>Crocothemis erythraea</u>	0	0	5,7	0	6,2	0	6	20°2-21°4
<u>Chironomus pulcher</u>	10	30	20	25	30	100	10	27°5-28°5
<u>Anisops balcis</u>	27,5	22,5	5,0	25	15,5	28,8	17,5	22° -22°5
<u>Bufo regularis</u>	0	0	0	0	0	0	0	23° -26°
Anostracé sp.	0	0	5	0	0	97	0	28°1-29°

<u>TEST III</u>	temps moyen de traumatisation	temps moyen de mortalité	Limites de températures
<u>Crocothemis erythraea</u>	6 mn 27 s	48 mn 45 s	20°4 - 21°
<u>Chironomus pulcher</u>	2 mn 45 s	18 mn 14 s	28° - 29°
<u>Anisops balcis</u>	5 mn 50 s	52 mn 44 s	28° - 28°8
<u>Bufo regularis</u>	1 mn 20 s	27 mn 05 s	23° - 24°
Anostracé sp.	1 mn 40 s	5 mn 22 s	25° - 25°5

C) Action du solvant seul

Le solvant étant miscible à l'eau sans difficultés, les expérimentations ont été plus aisées à mettre en oeuvre et les résultats obtenus ont été regroupés dans le tableau 3.

Discussion

Si l'on en juge par les pourcentages de mortalité, le solvant semblerait avoir une très légère action sur les Odonates. Cependant, dans le test II par exemple, une exposition de 30 s dans une solution à 1 ppm provoque une mortalité de 6,2 % alors que 100 ppm agissant 15 s ne tuent aucun organisme et que les témoins par contre accusent une mortalité de 6 %. Ceci nous laisse à penser que ces valeurs ne sont pas significatives et nous préférons pencher en faveur d'une inefficacité du solvant dans les limites de l'expérimentation. L'action prolongée de très fortes concentrations est par contre nettement toxique et la mort survient en un peu moins d'une heure.

Pour les Chironomides, les mortalités diffèrent significativement de celles des témoins dans le cas d'expositions de longue durée, bien que restant du même ordre de grandeur quelles que soient les concentrations employées. Pour les courtes expositions, il apparaît une légère action du solvant, sauf pour la forte concentration qui est très toxique. Ceci est par ailleurs confirmé par le test III pour lequel la traumatisation apparaît extrêmement vite, de même que la mortalité.

Les Anisops sont peu sensibles d'une manière générale aux expositions de longue durée et l'on retrouve curieusement le même phénomène que pour la formulation complète en ce qui concerne l'action de la gamme 0,05 ; 0,1 ; 0,25 agissant 10 minutes. Les mortalités, à nouveau et de manière inexplicable, décroissent avec l'augmentation de la teneur en solvant.

Les Batraciens ne réagissent aucunement au cours des test I et II, mais par contre, sont très sensibles aux fortes doses de solvant et la mort survient peu de temps après une traumatisation elle-même très rapide.

Les Anostracés enfin ne survivent pas aux expositions de longue durée. Très sensibles à l'action des fortes concentrations, ils supportent par contre les doses habituellement employées pour les épandages.

IV. CONCLUSION CONCERNANT L'ABATE

Une fois de plus, nous sommes en présence de très grandes variations dans les résultats en fonction des organismes testés et il est bien difficile d'exprimer des conclusions qui soient valables pour tous les groupes. Dans les lignes suivantes, nous nous efforcerons cependant de faire le point, pour chacun des organismes testés, de la toxicité de la formulation d'Abate 200 CE Procida et de ses constituants.

A) Crocothemis erythraea (Odonate)

L'action de la formulation complète est nettement la plus meurtrière, puis vient celle du produit technique et enfin celle du solvant. Pour ce dernier cependant, l'emploi de très fortes concentrations entraîne une mortalité dont la rapidité se situe entre celles provoquées par la formulation complète et le produit technique pur.

Nous avons tenté pour les tests I et II de rechercher les pourcentages moyens de mortalité. Pour obtenir ces pourcentages, nous avons d'abord soustrait de l'action de chaque concentration le taux de mortalité des témoins que nous considérons comme une mortalité fixe au cours des expériences, liée aux conditions mêmes de l'expérimentation (température, manutentions, confinement)...

Bien que pouvant être considéré comme arbitraire, cela nous permet dans une certaine mesure de tenir compte de l'impact de l'expérimentation. Nous avons ensuite pris la moyenne des valeurs ainsi obtenues pour avoir une valeur unique dont la signification est relative et permet de comparer les effets A, B et C (A = action de la formulation complète ; B = action du produit technique seul ; C = action du solvant seul).

Il apparaît ainsi pour Crocothemis erythraea les valeurs suivantes :

	A	B	C
TEST I	91,6 %	78,8 %	3,6 %
TEST II	16,3 %	5,3 %	0,03 %

B) Chironomus pulcher (Diptère)

La différence d'action est beaucoup moins nette et si l'on effectue un calcul identique au précédent, on obtient les valeurs suivantes :

	A	B	C
TEST I	44,1 %	19,8 %	33,3 %
TEST II	5,6 %	2,9 %	25,8 %

La toxicité du solvant pour cet organisme apparaît très nettement même si la formulation demeure plus meurtrière dans le cas d'une longue exposition. D'une manière générale, le produit technique seul semble peu actif.

C) Anisops balcis (Hémiptère)

Les résultats obtenus pour cet insecte sont très intéressants et le tableau ci-après peut aisément être interprété.

	A	B	C
TEST I	95,5 %	92 %	4,2 %
TEST II	15,4 %	70,5 %	5,6 %

Il apparaît tout d'abord que la formulation complète, si elle entraîne une mort presque totale pour une exposition de longue durée, est par contre faiblement nocive pour des actions courtes (A). Par contre, le produit technique employé pur provoque dans les deux cas une mortalité très élevée. S'il n'est pas exclu qu'il existe une action directe du produit, l'observation du déroulement des expériences nous permet de penser que l'action physique de l'insecticide joue un rôle très important. D'une part, la concentration en surface du produit technique sous forme d'une couche de gouttelettes huileuses limite les échanges gazeux entre l'eau et l'air. Les Anisops sont alors très agités et traversent fréquemment la couche huileuse pour venir respirer en surface. Il est alors fort probable que des modifications de la tension superficielle aient lieu au niveau des téguments des insectes qui s'épuisent rapidement et meurent, retenus en surface par la couche huileuse ou bien littéralement emprisonnés à la face inférieure de cette même couche.

Les pourcentages de mortalité enregistrés dans le cas d'une action du solvant seul sont très faibles et l'on peut pratiquement conclure à sa non toxicité vis-à-vis de ces insectes.

D) Bufo regularis (Batracien)

Les expérimentations ont presque toutes donné le même résultat, n'entraînant pratiquement aucune mortalité.

	A	B	C
TEST I	0 %	0,4 %	0 %
TEST II	0 %	0 %	0 %

Ceci confirme la grande résistance des Batraciens à court terme. Il faut toutefois remarquer que le très léger pourcentage de mortalité constaté dans le cas de l'action du produit technique pur pendant 24 heures a de fortes chances d'être un artefact. Il traduit à notre avis l'action néfaste des gouttelettes huileuses concentrées en surface et la limitation des échanges d'oxygène qu'elles provoquent. Ce phénomène est donc à rapprocher de celui que nous venons de voir pour les Anisops.

E) Anostracés (Crustacés inférieurs)

D'une manière très nette, le solvant semble avoir une action toxique sur ces organismes, aussi marquée que celle de la formulation complète.

	A	B	C
TEST I	100 %	21,3 %	100 %
TEST II	13,3 %	0 %	20,4 %

L'action du produit technique pur est modérée, dans le cas d'expositions de longue durée uniquement.

D'une manière générale, on peut dire que chaque organisme étudié représente un cas particulier en ce qui concerne ses réactions aux différentes actions de l'Abate et de ses constituants. La toxicité de la formulation complète n'est presque jamais égale à la somme des toxicités du produit technique et du solvant. Elle est souvent moindre, ce qui implique que la liaison solvant - produit technique diminue la toxicité intrinsèque de chacun des constituants mais donne cependant une solution dont la toxicité finale est supérieure à celle des constituants pris séparément.

Etant donné les difficultés que nous avons eues pour mélanger le produit technique pur à l'eau, certains résultats doivent être analysés avec précaution. Les mortalités peuvent être augmentées pour certains organismes à respiration aérienne du fait de la concentration du produit en surface sous forme de gouttelettes huileuses. Ce même phénomène peut par contre diminuer la toxicité réelle du produit pur pour d'autres types d'organismes qui demeurent au fond des récipients d'expérimentation, se trouvant de la sorte éloignés d'un contact direct avec l'insecticide.

Le résultat le plus intéressant concerne la toxicité du solvant. Deux groupes d'organismes y sont sensibles (Chironomides et Anostracés) même dans le cas où les expositions au toxique sont de faible durée.

Il apparaît donc, en définitive, que selon la façon dont on fera varier les proportions des constituants de la formulation d'Abate, on atteindra, ou au contraire on protégera certains groupes d'organismes non cible plutôt que d'autres. Devant le peu de connaissances que nous avons actuellement des équilibres faunistiques des écosystèmes traités, il est cependant prématuré de désigner les organismes dont la disparition ou même une forte diminution de densité, affecterait le moins le milieu naturel.

IV. RESULTATS DES EXPERIMENTATIONS AVEC OMS 1155, OMS 1170, OMS 466

Les solvants utilisés par les fabricants pour la constitution des formulations ne nous ont malheureusement pas été communiqués. En conséquence, nous avons réalisé les tests en utilisant deux solvants généralement employés, l'Ethanol et l'Acétone. Ces deux produits ne nous donnèrent pas satisfaction car quand on mélange soit l'OMS 1155 avec de l'acétone ou de l'éthanol, soit l'OMS 466 avec de l'acétone afin d'obtenir des solutions mères à 20 % de produit actif, les cristaux se dissolvent convenablement et rapidement, mais se réindividualisent partiellement dès que l'on effectue des dilutions.

L'OMS 466 ne se dissout absolument pas dans l'éthanol et les cristaux restent entiers même après 15 jours de mise en place dans le solvant. Le même phénomène se produit pratiquement avec l'OMS 1170 et l'acétone. Le produit technique huileux se regroupe au fond des béchers même après des essais d'homogénéisation aux ultra-sons, le solvant restant en surface. Seul l'OMS 1170 et l'alcool donnent un mélange stable.

Il est évident que dans de telles conditions, la signification des résultats des tests est très douteuse. Dans les lignes suivantes, nous exposerons toutefois les résultats obtenus en essayant de les critiquer objectivement en fonction de nos observations du comportement des produits testés.

A) Action des solvants seuls

Les solvants testés sont l'éthanol et l'acétone purs commercialisés par le Laboratoire Prolabo. Les tests ont été conduits sur les organismes suivants : larves de Batraciens (Bufo regularis), larves d'Odonates (Crocothemis

erythraea), larves de Chironomides (Chironomus pulcher), adultes d'Hémiptères (Anisops balcis).

1) Action de concentrations normales

Nous entendons par concentrations normales, des concentrations qui se rencontrent fréquemment au cours d'épandages. La même gamme et les mêmes temps que ceux utilisés pour l'Abate ont à nouveau été testés.

Que ce soit pour l'éthanol ou pour l'acétone, aucun effet apparent n'a été décelé chez les organismes testés pendant une mise en observation de 24 heures après passage dans les solutions. Seuls quelques Chironomides sont morts dans les expériences avec l'acétone, mais le pourcentage de mortalité étant du même ordre que celui des témoins, il n'est pas possible de conclure à une action toxique du produit.

2) Actions d'une très forte concentration

En prolongeant l'action d'une concentration de 100 ppm jusqu'à la mort, la traumatisation de Bufo regularis apparaît au bout de 21 mn en moyenne dans l'acétone et 35 mn dans l'éthanol. La mortalité survient dans les heures suivantes très certainement par asphyxie. Les chironomides, par contre, semblent peu affectés et la traumatisation des larves n'apparaît qu'après plusieurs heures. Odonate et Hémiptère ont une sensibilité intermédiaire aux deux précédents organismes. La traumatisation apparaissant au bout d'une heure environ et la mort au bout de 2 heures, cela pour les deux solvants.

B) Action des produits techniques seuls

Malgré de nombreux essais de mise en solution des produits techniques purs dans l'eau, nous ne sommes pas parvenus à un résultat satisfaisant. Les produits cristallisés OMS 1155 et OMS 466 ont été finement broyés, puis longuement agités en contact avec de l'eau sans succès, la dissolution est peut-être de 10 à 15 %. Par ailleurs, nous ne pouvons déterminer si la fraction du produit qui passe ainsi en solution est une fraction toxique active ou non. Le même problème se pose avec l'OMS 1170 et l'utilisation d'ultra-sons qui nous avait donné un bon résultat dans le cas de l'Abate est ici sans effets.

Nous avons tenté quelques expériences en utilisant les solutions obtenues à partir des cristaux pulvérisés mais, devant l'impossibilité de réaliser des tests identiques, donc d'interpréter les résultats, les expériences ont été abandonnées.

C) Action des formulations "reconstituées"

Comme nous l'avons dit dans l'introduction du chapitre IV, les difficultés pour mélanger les produits purs soit à l'acétone, soit à l'eau ont été très grandes. Afin de pouvoir comparer l'efficacité des formulations ainsi reconstituées, nous reprendrons, tout d'abord, sous une forme condensée (cf. tableau 4), les résultats obtenus en 1973, en testant les formulations complètes telles qu'elles nous avaient été délivrées par les fabricants.

1) Action de l'OMS 1155 + Acétone

Les résultats obtenus (cf. tableau 5) sont identiques pour les larves de Batraciens qui sont, d'une manière générale, très résistantes. Anisops balcis est apparemment peu sensible, alors que nous avons trouvé une mortalité de 17 % avec la formulation commercialisée. Pour les deux organismes restants (Odonate et Chironomide), des mortalités plus élevées ont été obtenues avec cette série de tests qu'avec ceux effectués en 1973. Il est à remarquer, toutefois, que la solution OMS 1155 + acétone reste stable plusieurs heures avant que les cristaux ne se réindividualisent, de sorte que l'expérimentation, sur l'action de faible durée, peut être considérée comme valable.

L'étude de l'action absolue d'une concentration à 100 ppm a donné les résultats consignés dans le tableau 6.

Les temps de mortalité sont beaucoup plus longs que ceux obtenus en 1973 avec la formulation commercialisée, ce qui, finalement, tend à montrer que la formulation OMS 1155 + acétone est moins nocive.

2) Action de l'OMS 1155 + éthanol

Les résultats obtenus (cf. tableau 7) sont très proches des précédents, aucune action n'étant décelée chez les Batraciens et les Hémiptères, alors que Odonates et Chironomides accusent une certaine mortalité, principalement le dernier groupe.

Tableau 4 - Action des insecticides QMS 1155 - QMS 466 - QMS 1170
 Résultats exprimés en % de mortalités après 24 heures
 de mise en observation

(*) - Dans tous les tableaux, pour ne pas répéter les concentrations et les durées d'exposition, nous avons adopté la nomenclature suivante : A = 0,05 ppm/10mn - B = 0,1 ppm/10mn - C = 0,25 ppm/10mn - D = 0,25 ppm/2mn - E = 1 ppm/30s
 T = témoins.

	QMS 1155					QMS 466					QMS 1170				
	A(*)	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
<u>Bufo regularis</u>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<u>Crocothemis erythraea</u>	0%	3,3%	23,3%	10%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<u>Chironomus pulcher</u>	3,3%	6,6%	10%	3,3%	10%	3,3%	3,3%	0%	3,3%	0%	10%	13,3%	20%	10%	30%
<u>Anisops balcis</u>	0%	3,3%	17%	0%	0%	10%	33,3%	73,3%	33,3%	33,3%	14,4%	16,5%	33,3%	33,3%	57%

Tableau 5 - Action du mélange QMS 1155 et acétone

	A	B	C	D	E	T	Température d'expérimentation
<u>Bufo regularis</u>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	25°5 - 25°8
<u>Crocothemis erythraea</u>	20%	0%	20%	20%	60%	0%	21° - 23°5
<u>Chironomus pulcher</u>	10%	20%	40%	30%	10%	0%	19°5 - 21°5
<u>Anisops balcis</u>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	18° - 20°

Tableau 8 - Action d'une forte concentration d'OMS 1155 + éthanol.

	temps de traumatisation	temps de mortalité
<u>Bufo regularis</u>	12' 33"	37' 38"
<u>Crocothemis erythraea</u>	41' 30"	95' 17"
<u>Chironomus pulcher</u>	8 à 9 heures	plus de 12 heures
<u>Anisops balcis</u>	-	-

Tableau 9 - Action de l'OMS 1170 + acétone

	A	B	C	D	E	T	température d'expérimentation
<u>Bufo regularis</u>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	21° - 23°2
<u>Crocothemis erythraea</u>	10%	0%	20%	0%	20%	10%	19° - 22°4
<u>Chironomus pulcher</u>	0%	10%	0%	0%	20%	0%	20° - 22°
<u>Anisops balcis</u>	0%	0%	20%	0%	10%	10%	22° - 25°1

L'action d'une très forte concentration (100 ppm) agissant jusqu'à la mort, a donné les résultats consignés au tableau 8.

A cette concentration, le mélange avec l'éthanol est légèrement plus toxique que le mélange avec l'acétone, sauf pour les Chironomides qui paraissent plus résistants.

3) Action de l'OMS 1170 + acétone

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 9.

L'action toxique du mélange, si elle existe, est extrêmement faible pour Crocothemis et Chironomus, tout au moins pour les basses concentrations. Seule l'action de 1 ppm, 30 secondes, provoque une légère mortalité. Pour Anisops, cette dernière ne diffère pratiquement pas de celle des témoins et nous pouvons conclure, comme pour Bufo regularis, à une absence de toxicité de la formulation dans les conditions d'expérience. Si l'on compare ces résultats avec ceux de la troisième colonne du tableau 1, l'effet toxique de "notre" formulation est bien moindre, très certainement, parce qu'une grande partie du principe actif n'est pas passée en solution.

L'action de 100 ppm est bien entendu plus nette, mais les résultats sont du même type. Pour Chironomus pulcher, par exemple, la mortalité ne survient guère avant 3 heures à 3 heures et demi. Pour Bufo regularis, l'effet est plus sensible et la traumatisation a lieu après une exposition de 17 minutes en moyenne. Crocothemis et Anisops ont une sensibilité voisine et leur mortalité survient après une quinzaine de minutes.

4) Action de l'OMS 1170 + éthanol

Comme nous l'avons déjà dit, c'est la formulation qui, physiquement semblait la plus stable, les cristaux ne se reformant pas au moment des dilutions.

Aucun effet apparent n'a été observé sur les larves de Bufo regularis, par contre, des effets notables l'ont été sur les autres groupes (cf tableau 10).

Odonate et Hémiptère sont particulièrement touchés alors que Chironomus pulcher accuse une faible mortalité seulement. En ce qui concerne Crocothemis, ces résultats diffèrent notablement de ceux obtenus avec la formulation commercialisée pour laquelle seule une concentration de 1 ppm agissant 30"

Tableau 10 - Toxicité du mélange OMS 1170 + éthanol

	A	B	C	D	E	T	température d'expérimentation
<u>Crocothemis erythraea</u>	20%	60%	40%	0%	20%	0%	18° - 19°5
<u>Chironomus pulcher</u>	0%	20%	10%	0%	0%	0%	21°5-22°
<u>Anisops balcis</u>	35%	90%	90%	30%	75%	5%	22° - 24°

Tableau 11 - Action de l'OMS 466 + acétone.

	A	B	C	D	E	T	température d'expérimentation
<u>Chironomus pulcher</u>	40%	20%	20%	0%	0%	20%	19°5 - 21°
<u>Anisops balcis</u>	0%	0%	40%	0%	20%	0%	18° - 20°

avait un effet toxique, d'ailleurs plus important que celui obtenu (cf. tableau 10). En ce qui concerne Anisops balcis, une forte mortalité avait été trouvée en 1973 mais celle trouvée dans les expériences consignées au tableau 10 est au moins deux fois plus élevée.

Cela montre à nouveau que de grandes différences de réaction existent entre les individus, différences qui dépendent souvent du type de formulation employé et des concentrations. Ceci a pour conséquence qu'il sera très difficile de "pronostiquer" par avance le taux de mortalité d'une espèce non cible lors d'un épandage et qu'il est plus sage de classer les espèces comme étant insensibles, moyennement sensibles ou très sensibles aux effets de l'insecticide employé.

L'action de la concentration à 100 ppm met à nouveau en évidence la sensibilité de Crocothemis et d'Anisops avec respectivement les temps moyens de traumatisation de 43'42" et 43'28" et de mortalité de 95' et 37'38". Par contre, la traumatisation de Chironomus pulcher n'apparaît qu'après un délai de 4 à 5 heures. Enfin, et c'est un phénomène souvent observé, les larves de Bufo regularis sont traumatisées après une exposition moyenne de seulement 8'31", alors que les Batraciens résistent fort bien à l'action de faibles concentrations, ils sont très sensibles aux fortes concentrations, probablement du fait d'un métabolisme plus élevé que les insectes.

5) Action de l'OMS 466 + acétone

Les Batraciens et les Odonates testés ne présentèrent aucune réaction à la gamme de concentrations testées. Par contre, un certain pourcentage de mortalité a été trouvé pour les autres organismes testés (cf. tableau 11).

Les effets sont cependant peu marqués si l'on tient compte du taux de mortalité élevé des témoins pour les Chironomides. L'action sur Anisops est plus nette en ce qui concerne les fortes concentrations. Avec une toxicité moindre, ces résultats sont cependant en accord avec ceux trouvés en 1973 (cf. tableau 4).

Cette moindre toxicité est également confirmée par l'action de la concentration à 100 ppm. Alors qu'avec la formulation commercialisée, nous trouvons pour A. balcis une traumatisation en un temps moyen de 2'12" et une mortalité en 34'24", nous trouvons avec le mélange OMS 466 + acétone, respectivement 4'35" et 155'.

Des résultats du même ordre sont obtenus avec les autres groupes : la traumatismation de Chironomus pulcher ne survenant qu'après 6 à 7 heures celle de C. erythraea qu'après une heure trente et enfin celle B. regularis qu'après au moins 2 heures.

6) Action de l'OMS 466 + éthanol

Il est pratiquement impossible de tirer de conclusion des résultats obtenus en expérimentant cette formulation, particulièrement en raison de la non miscibilité avec l'éthanol. Il est fort probable qu'une petite partie du produit technique pur soit solubilisée car nous avons dans certains cas, obtenu des mortalités d'A. balcis. Toutefois, il nous est impossible de connaître la fraction du produit passée en solution, donc la concentration réelle ayant agi.

Devant une telle incertitude, nous préférons nous abstenir de conclure à une toxicité quelconque.

7) Conclusion

- Compte tenu des difficultés rencontrées lors des expérimentations, nos conclusions ne seront pas aussi complètes que pour l'Abate 200. Toutefois, il est certain que les solvants testés, agissant seuls, n'ont aucune action sur les organismes non cible, aux concentrations normalement employées lors des épandages.

- Par ailleurs, les produits techniques purs ne peuvent agir seuls étant donné leur insolubilité pratiquement totale dans l'eau.

- Enfin, et même si les solvants que nous avons utilisés ne sont pas parfaits, il est évident qu'ils jouent un rôle essentiel dans la formulation, non par leur toxicité propre (dans le cas de l'acétone et de l'éthanol) mais par le fait qu'ils rendent "actifs" les principes toxiques du produit technique pur. Il faut cependant prendre en considération le fait que certains solvants, autres que ceux testés, peuvent avoir, comme dans le cas de l'Abate, une toxicité propre qui, alors, vient partiellement s'ajouter à la toxicité du produit technique.