

THESE

Présentée pour obtenir le titre de

Docteur de l'Institut National Polytechnique de Toulouse

par

Damien Devault

**Approche spatio-temporelle
de la contamination par les herbicides de pré-levée
du biotope de la Garonne Moyenne**

le 10 octobre 2007

Pr. Puy Lim	Co-directeur de thèse
Pr. Eric Pinelli	Co-directeur de thèse
Dr. Jean-Pierre Cravedi	Invité
M. François Delmas	Invité
Dr. Henri Etcheber	Invité
Dr. Georges Merlina	Invité
Pr. Stefan Motelica-Heino	Rapporteur
Pr. Patrick Ravanel	Rapporteur

**Frères humains qui après nous vivez
N'ayez les coeurs contre nous endurciz [...]
De nostre mal personne ne s'en rie:
Mais priez Dieu que tous nous veuille absouldre!**

François Villon, 1463

REMERCIEMENTS

Mes premiers remerciements vont à mes co-directeurs de thèse, Puy Lim et Eric Pinelli. Ils ont su, chacun à leur façon et de leur mieux, encadrer et pourvoir à cette thèse. Le travail réalisé n'aurait pas pu être mené jusqu'à son terme sans leur appui et leur complémentarité.

Je remercie donc le professeur Puy Lim pour avoir su rendre cette thèse possible, pour ses conseils pragmatiques et ses encouragements. Merci aussi de m'avoir donné l'occasion de retours bienvenus sur le terrain, à crapahuter dans les gaves pyrénéens limpides et les rivières gasconnes moins bucoliques.

Je remercie également le professeur Eric Pinelli pour m'avoir accueilli au laboratoire Agronomie, Environnement et Ecotoxicologie, pour son affabilité indéfectible et primesautière. Son soutien aux heures sombres savait rappeler leur fugacité. Enfin, sa partialité opiniâtre (voire têtue) d'autochtone pour sa rivière argentée corrobora toujours la réputation de ses riverains.

A Georges Merlina vont des remerciements tout particuliers. En effet, c'est à lui que je dois d'avoir été éveillé aux joies ineffables de la chromatographie et de la chimie analytique : seuls les initiés comprendraient des allusions aux ors de l'Oncle Picsou ou la freinectomie hiérosolomytaine. Il fut aussi le compagnon des heures solitaires estivales et festives, à veiller nos machines ou à décortiquer les chromatogrammes. Enfin, son érudition dans le domaine des polluants organiques ne peut qu'être mentionnée pour mieux être saluée !

Francis Dauba (dit le « Landais increvable ») fut de toutes les sorties sur le terrain et de toutes les dissections aussi, qu'il a émaillé de doctes remarques et de vertes et mustélines considérations. Sa modestie et la profondeur alexandrine de son savoir restent des facettes de sa personnalité plus difficiles d'accès mais non moins précieuses.

Certains visiteurs ont leur heure, François Delmas avait ses caisses rouges et blanches de bouteilles lorsqu'il se présentait aux portes de l'ENSAT. Travailler avec lui était l'occasion de digressions aussi enrichissantes que l'objet même du débat. Chacun apprécie son esprit ouvert et son énergie –chez François, il ne se trouve que les capteurs pour être passifs !

Merci à Henri Etcheber pour sa gentillesse et son expertise sur les sédiments qui lui valent d'être impliqués dans les présentes recherches mais également nombre d'autres autour

des pesticides dans les sédiments. L'assiduité de ces demandes de collaboration l'étonnait jusqu'alors. J'espère que la présente thèse aura su établir une jonction entre son domaine de prédilection et le monde des pesticides.

Merci à Jean Pierre Cravedi d'avoir bien voulu participer à l'encadrement de cette thèse. L'évolution géochimique du sujet ne doit pas occulter tout le pan biologique pour lequel nous avons collectivement œuvré. Néanmoins, l'aide qu'il apportée a été précieuse et ce malgré ce tournant vers les sédiments. Ses conseils judicieux et son expertise porteront des fruits à plus long terme car la pertinence de l'écotoxicologie réside dans le Vivant.

Merci à Stefan Motelica-Heino pour son travail de rapporteur de la présente thèse mais aussi ses conseils et son appui pour l'avenir. Son caractère courtois et posé ainsi que ses analyses fines sont les gages de fructueuses collaborations futures avec les personnes impliquées dans le présent travail de thèse.

Merci à Patrick Ravanel pour ses conseils et l'impartialité de son travail de rapporteur. Sa personnalité riche et affable, qui renforce la portée de ses expertises, lui a rapidement acquis la sympathie en plus de l'estime de ses voisins.

Huong et Chumnan m'épaulèrent lors des travaux de thèse et le présent ouvrage est pour parties de leur. Nous avons réalisé ensemble un travail fastidieux et ingrat qui m'a fait découvrir deux personnalités distinctes sinon par leur sérieux et leur caractère attachant : Huong, calme et décidé, avec qui le sédiment a été défriché et avec qui nous avons essuyé les plâtres de toutes les techniques que nous avons élaboré ; Chumnan, d'un tempérament plus latin, qui s'est avéré rapidement un locuteur talentueux en plus d'un esprit vif. Bonne chance à tous deux !

Le premier vœu qu'il puisse être formulé à Jean-Luc Probst est de recouvrer une santé de fer pour revenir au plus tôt dans l'équipe. Si s'engager dans une discipline comme l'écotoxicologie n'est que rarement fortuit, il stigmatise, hélas, l'une des raisons (conviction ou volonté d'être utile) qui meut ses praticiens à préserver le développement de l'Homme des maux de sa façon. Je salue son entrain qui donne bon espoir en sa guérison et sa rigueur scientifique.

Magali Gérino a été la personne de référence pour tous ceux qui cherchent à percer les secrets de Malause dont l'onde miroite de la sueur et des neurones, artificielles ou non,

dépensées à essayer de comprendre son fonctionnement. Par là même, je la remercie d'avoir accepté d'être longuement importunée par mes questions saugrenues !

José Miguel Sanchez Perez s'est attelé à fusionner les données acquises dans le cadre du programme Garonne Moyenne et son travail de compilation. Merci aussi pour la part active prise pour la correction des articles, ses conseils et ses encouragements.

Ma première rencontre avec Christophe Laplanche se fit dans les pools des torrents du Luchonnais à courir la truite. Ce n'est qu'après que j'ai su qu'il murmurait aux tympans des Cachalots et tutoyait un certain « R ». Grâce à ce contact privilégié et à de solides connaissances biomathématiques, il me fut d'une grande aide. Qu'il en soit remercié ! Néanmoins, un conseil : ne touchez pas à son écran d'ordinateur...

Certains Toulousains parlent des Bordelais comme étant les « Anglais ». Peter Winterton aurait probablement préféré que ce soit vrai ! Merci à lui d'avoir touché du doigt la différence entre la langue de Newton et celle de Descartes, d'avoir lutté pour donner un accent du Norwich à ma plume trop gironde !

Sabine Sauvage se reconnaît à ce qu'elle a toujours le sourire de celle toujours prête à aider. Ceci explique peut-être pourquoi elle ne provoque pas de crise de panique automobile lorsqu'elle sort sa sonde multi paramètres, semblable à quelque Gatling des temps modernes, sur les ponts de la Garonne. Merci pour tous les coups de mains hydrologiques !

J'ai eu le plaisir d'œuvrer avec Gbénonchi Mawussi, alias « Roger », dont la thèse était concomitante. Aux relations de laboratoire se sont substituées des relations personnelles amicales. Je lui souhaite donc tout particulièrement une bonne fin de thèse et mes vœux de réussite l'accompagnent ainsi que sa petite famille !

Gael Durbe effectuait son DRU lorsque j'ai entamé ma thèse et c'est avec plaisir que je l'ai vu parvenir à travailler dans la recherche et s'installer dans sa « petite maison dans la prairie » du Volvestre. Je lui souhaite le bonheur à surveiller l'erpétolofaune et les Brochets de Mancies !

Manu (Henri) m'a suivi dans l'enfer des sédiments par jusqu'au dégoût et, désormais, ne veut plus en entendre parler ! Cela m'a cependant donné le plaisir de connaître cette personnalité truculente. J'espère qu'il parviendra à réaliser ses rêves !

Un important travail a été réalisé sur les Poissons visant au même résultat que celui obtenu dans les sédiments. Je me dois de citer Stéphanie, Norah, Carole et Valérie qui collaborèrent à l'élaboration de la méthode et Sabine et Aurélie aux premiers dépouillements. L'avantage des grands nombres permettent de tirer des tendances générales : elles y ont toutes gagné un grain de folie !

Anne-Laure et maintenant Lobat se sont penchées sur les sédiments et les processus. L'un des regrets que l'on ne peut s'empêcher d'avoir et de ne pas avoir tout fait et tout expliqué. Cette tâche prométhéenne ne pouvait reposer que sur une seule thèse. Les portes ouvertes par celle-ci ouvrent à des questions

Laure Geoffroy et ensuite Séverine Jean se sont attelées à faire vivre l'écloserie en génisse à mon arrivée. Leur patient travail est désormais couronné de succès et chacune d'entre elle a atteint son objectif.

Annick, Alain René et Christian ont, chacun de leur façon contribué à la réalisation des travaux de thèse. Les uns par leur aide directe, les autres par leurs encouragements et leurs conseils. Merci à chacun d'entre eux !

Un salut spécial à Thomas, Sylvain, Aurore et Timothée qui eurent l'occasion de me connaître sous une face plus privée qui transparaissait cependant par-delà le contexte de recherche.

Enfin, il y a toutes ces personnes qui font qu'une vie au laboratoire, malgré les écueils, ne sera jamais une corvée : Geoffrey (le maître Fouras des thésards), Alonso, Victor, Bertrand, Claire, Mohamadou, Matthieu, Marie, Gaëlle, Sophie... A eux et à tous ceux nombreux qui se reconnaîtront, un merci général pour ces trois ans passés en votre présence !

« Si tes traces sont celles de ton père et de ta mère, tes pieds sont à toi » dit la Danse du Feu grecque. Merci aux miens pour leur soutien pour cette longue marche que j'ai entreprise le jour où j'ai mis le pied sur un bateau, le « Planula II », un 28 janvier 2000 par un beau jour d'hiver ; merci à ceux, à Arcachon, qui surent me transmettre le virus ; merci à celle sans qui je n'envisage pas de laisser de trace...

VALORISATIONS

Les travaux de thèse ont donné lieu à des publications et à des présentations dans le cadre de colloques.

Articles

Accepté :

Pre-emergence herbicide content in the Mid-Garonne River : Contribution of rural and urban areas. **Damien A. Devault**, Georges Merlina, Puy Lim, Jean-Luc Probst, Eric Pinelli. Journal of Environmental Monitoring (impact factor : 1.6).

Soumis :

Accumulation or Elimination of Herbicides by Reservoirs. **Damien A. Devault**, Magali Gérino, Christophe Laplanche, Frédéric Julien, Peter Winterton, Georges Merlina, François Delmas, Puy Lim, José Miguel Sánchez Pérez, Eric Pinelli. Chemosphere (impact factor : 2.44).

Nutrient and contaminant fluxes in a large river with different hydrological conditions: characterisation of the anthropogenic impact (Garonne River, SW France). Sanchez-Pérez J.M., A. Probst, M. Gerino, **D.A. Devault**, S. Sauvage, D. Aubert, , F. Julien, F. Delmas, M. Tackx, K. Muylaer, S. Mohamadou Mamoudou, S. Boulétreau, A. Dauta, G. Durbe, J.M. Thebault, N. Mazzella, B. Mialet, F. Dauba, D. Dalger, G. Merlina, P. Lim, E. Pinelli, J.L. Probst, P. Vervier. Science of Total Environment (impact factor : 2.36).

Pre-emergence Herbicides Elimination and Early Diagenesis in Sediment Cores. **Damien A. Devault**, Sebastien Delmotte, Magali Gérino, Georges Merlina, Puy Lim, Eric Pinelli. Water Research (impact factor : 2.46).

En cours :

Contamination by pesticides and their metabolites of Fishes of the Garonne: Assessment and prospects. Georges Merlina, **Damien A. Devault**, Puy Lim, Eric Pinelli.

Dissolved and particulate herbicide contamination panorama in water of the Mid-Garonne River. **Damien A. Devault**, François Delmas, Olivier Croze, Nicolas Mazzella, Georges Merlina, Puy Lim, Eric Pinelli.

Colloques

Présentations orales :

Bilan et dynamique de la matière organique et des contaminants au sein d'une discontinuité. Exemple de la retenue de Malause -Restitution des travaux scientifiques du projet de recherche Ecobag P2 « Circulation de l'eau des matières et des espèces au sein du bassin Adour-Garonne- Relation amont aval et rôle des discontinuités ». 28 Mars 2006 Bordeaux. Gerino M. G. Abril, P. Anschutz, D. Aubert, V. Bertrin, H. Beuffe, E. Breugnot, A. Coynel, D. Dalger, F. Dauba, A. Dauta, F. Delmas, S. Delmotte, **D. Devault**, J.L. Druile, J.F. Dubernet, G. Durbe, A. Dutartre, H. Etcheber, , F. Julien, C. Laplace, B. Larrue, P. Lim, M. Mamoudou, B. Méchin, G. Merlina, C. Mur, K. Muylaert, C. Othoniel, A. Probst, J.L. Probst, F. Rodriguez, J.M. Sanchez Perez, S. Sauvage, M. Tackx, J.Thébault, M. Torre, P. Vervier. 2006

Analyse des pesticides dans les Poissons – Restitution des travaux scientifiques du projet Gis-Ecobag P2. Eric Pinelli, **Damien A. Devault**, Georges Merlina, Carole Castaing, Valérie Miotti, Francis Dauba, Puy Lim.

Etat de la contamination sédimentaire par les herbicides de prélevée dans la Garonne Moyenne – Colloque « Les transferts des produits phytosanitaires vers les milieux environnementaux ». 2-3 octobre 2007 Toulouse. **Damien A. Devault**, Georges Merlina, Puy Lim, Eric Pinelli.

Analyse multirésidus d'herbicides de prélevée d'adventices dans des Barbeaux fluviatiles - Colloque « Les transferts des produits phytosanitaires vers les milieux environnementaux ». 2-3 octobre 2007 Toulouse. Georges Merlina, **Damien A. Devault**, Francis Dauba, Puy Lim, Eric Pinelli.

Actes de colloques :

Contamination des sédiments de la Garonne Moyenne par les herbicides de pré-levée : Sources et puits. – Colloque « Les transferts des produits phytosanitaires vers les milieux environnementaux ». 2-3 octobre 2007 Toulouse. **Damien A. Devault**, Georges Merlina, Puy Lim, Eric Pinelli.

Analyse multirésidus d'herbicides de prélevée d'adventices dans des Barbeaux fluviatiles - Colloque « Les transferts des produits phytosanitaires vers les milieux

environnementaux ». 2-3 octobre 2007 Toulouse. Georges Merlina, **Damien A. Devault**, Francis Dauba, Puy Lim, Eric Pinelli.

Poster :

Sánchez-Pérez, J.M., A. Probst, M. Gerino, S. Sauvage, D. Aubert, **D. Devault**, M. Tackx, S. Boulêtreau, D. Dalger, F. Delmas, J.F. Dubernet, G. Durbe, M. Henry, F. Julien, P. Lim, G. Merlina, M. Mamoudou, E. Pinelli, J.L. Probst, P. Vervier. Fluvial transport and transformation of heavy metals, pesticides and biogenic elements in the Garonne river continuum system. International Symposium Man and River Systems II, Interactions among Rivers, their Watershed and the Sociosystem, Paris, France, 4-6 December 2006.

SOMMAIRE

LISTE DES TABLES ET FIGURES	1
GLOSSAIRE	6
LISTE DES ABREVIATIONS	10
INTRODUCTION	12
Partie 1. Les pesticides dans l'environnement	14
I PESTICIDES	15
1. Généralités	15
2. Classification des pesticides	16
3. Le marché des pesticides	18
3.1 Marché mondial	18
3.2 Le marché de l'Union Européenne	20
3.3 Le cas de la France	21
3.3.1 Consommation des herbicides	23
3.3.2 Conditionnement des pesticides	24
3.3.3 Les problèmes de dérive	24
3.4 Causes des variations interannuelles	25
4 Problématique des pesticides vis-à-vis de l'environnement	25
5 Contamination du milieu aquatique	29
5.1 Contamination de l'eau	29
5.2 Contamination du sédiment	30
II HERBICIDES ET ENVIRONNEMENT	32
1. Présentation des molécules	32
1.1. s-Triazines	32
1.2. Urées substituées	33
1.3. Anilides	33
2. Mode d'action des herbicides d'étude	33

3. Dispositions légales	34
4. Transfert des herbicides dans l'environnement	35
4.1. Transfert des herbicides	36
4.1.1. Vers l'atmosphère	36
4.1.2. Vers les eaux	36
4.1.2.1. Eaux de nappe	36
4.1.2.2. Eaux de surface	37
4.1.2.3. Vers les cours d'eau	38
4.1.3. Dans les sédiments	38
4.2. Disparition des herbicides	40
4.3. Herbicides non mobilisés ou « liés »	42
5. Etude de cas	43
5.1. Atrazine	43
5.2. Isoproturon	46
III SITE D'ETUDE : LE BASSIN CENTRAL MIDI-PYRENEES	48
1. Approche morpho-pédologique	48
1.1. Plaines et terrasses alluviales	49
1.2. Coteaux molassiques	49
2. Approche usagère : une agriculture prédominante	50
3. Usage et qualité de l'eau du bassin d'étude	52
4. Contamination de la zone d'étude	54
PARTIE 2. Etude expérimentale	56
I METHODOLOGIE ET ETABLISSEMENT D'UN PROTOCOLE ADAPTE A L'ANALYSE DES RESIDUS HERBICIDES DANS LE SEDIMENT	57
Introduction	57
1. Choix des procédés d'extraction	58
1.1 Dans l'eau	58
1.1.1. Les différents types de dosage de l'eau	58
1.1.2. Choix de l'eau brute et de l'extraction liquide-liquide	59

1.2. Choix du procédé d'extraction dans le sédiment	60
1.3. Choix de la chromatographie	63
2. Extraction	63
2.1. Produits	64
2.2. Extraction manuelle : Matrice « eau »	64
2.3. Validation du protocole expérimental pour la matrice sédimentaire	65
3. Dosage	67
3.1. Principes de chromatographie en phase gazeuse	68
3.2. Pesticides d'étude	69
3.2.1. Rôle des insecticides dans cette étude	70
3.3. Conditions chromatographiques	70
4. Bilan de la méthode d'extraction et de purification des pesticides dans le sédiment	70
Protocole d'extraction et de purification des herbicides dans le sédiment	75
Résumé du chapitre I	76

II APPROCHE SPATIALE DE LA CONTAMINATION DU SEDIMENT PAR LES HERBICIDES DE LA GARONNE MOYENNE

Introduction	77
Multi-residues Analysis of Pre-emergence Herbicides in fluvial Sediments: Application to the mid-Garonne river	79
Abstract	79
Introduction	79
1. Characteristics of the Garonne river basin	80
2.1. Sampling area	80
2.2. Sampling period	80
2.3. Sample treatment	81
3. Method of analysis: Multi-residue approach	81
3.1. Sample analysis	81
3.1.1. Chemicals and equipment	81
3.1.2. Sample extraction and purification	81
3.1.3. Chromatographic conditions	81
3.1.4. Evaluation of the detection limit and the repeatability of the method	81
3.1.5. Recovery on a reference material	82

3.2. Assessment of the used method	82
4. Application to the Mid-Garonne River.	82
4.1. Results	82
4.1.1. Sediment	82
4.1.1.2. Water	83
4.1.2. Statistical analysis of herbicide distribution into the different fractions	84
4.2. Discussion	84
4.2.1. Herbicide concentration in water and sediment	84
4.2.2. Spatial distribution of herbicide contamination	85
Conclusion	85
Acknowledgments	86
References	86
Résumé du chapitre II	88

III COMPARAISON DE LA CAPACITE D'EPURATION DES HERBICIDES DE DEUX SITES D'ACCUMULATION

Introduction	89
Differential evolution of herbicides accumulated in reservoir sediments	90
Abstract	91
Introduction	91
Study area	92
1. Material and methods	94
1.1. Sampling period	94
1.2. Sampling treatment	95
1.2.1. Water	95
1.2.2. Sediment	96
1.3. Statistical methods	96
2. Results	96
2.1 Water	96
2.2. Sediment	96
2.2.1. Physical-chemical parameters	96
2.2.2. Herbicides	97
2.2.4. Statistics	100

3. Discussion	102
Conclusion	106
Acknowledgments	107
References	107
Résumé du chapitre III	111

IV APPROCHE VERTICALE DE LA CONTAMINATION DES SEDIMENTS PAR LES HERBICIDES DE LA GARONNE MOYENNE

Introduction	112
Etude préliminaire	115
1. Matériel et Méthodes	115
1.1. Zone de prélèvement	115
1.2. Période de prélèvement	116
1.3. Traitement préliminaire des échantillons de sédiment et caractérisation physico-chimique du sédiment	117
1.4. Paramètres physico-chimiques du sédiment	117
1.5. Analyse de la charge en herbicides	117
2. Résultats	118
2.1. Stock d'herbicide	118
2.2. Concentrations en herbicides	119
3. Discussion	122
3.1. L'atrazine et son métabolite DEA	122
4. Dégradation des herbicides	123
5. Bilan	124
Influence of in situ biological activity on the vertical profile of pre-emergence herbicides in sediment	126
Abstract	126
Introduction	127
1. Materials and methods	127
1.1. Sampling area	127
2.2. Sampling period	128
2.3. Pesticide assay	129
2.3.1. Sample treatment	129

2.3.2. Sample analysis	130
2.4. Geochemical profiles	130
2.4.2. Sample extraction and purification	130
2.4.3. Statistical analysis	131
3. Results and discussion	131
3.1. Herbicide concentrations	131
3.2. Mineralisation of organic matter	135
4.2. Interaction diagenesis/herbicide profile	137
Conclusion	138
Résumé du chapitre IV	139
PARTIE 3. Discussion	141
DEVENIR DES PESTICIDES DANS LES SEDIMENTS	142
1. Spatialisation de la contamination	142
1.1. Imbrication des bassins versants agricoles et contamination des sédiments	142
1.2. Influence urbaine sur la contamination des sédiments par les herbicides	144
1.2.1. Eau	146
1.3. Devenir des herbicides dans le sédiment	148
1.2.1. Conditions générales du milieu	148
1.2.2. Analyse de la répartition granulométrique des herbicides	149
1.2.3. Passage des herbicides de la fraction grossière à la fraction fine :	
proposition d'un scénario	152
1.4. Archivage des herbicides dans les sédiments	155
2. Influence sur le biota	157
2.1. Le sédiment en place	157
2.2. Le sédiment remobilisé	159
CONCLUSION	161
PERSPECTIVES	162
REFERENCES	164
ANNEXE - REFERENCES DES MOLECULES D'ETUDE	186

LISTE DES TABLES ET FIGURES

Partie 1 : Les pesticides dans l'environnement

Chapitre I

Figures

- Figure I-1 : Evolution chronologique de l'usage des pesticides (données U.I.P.P.) 16
- Figure I-2 : Répartition du marché mondial pour l'année 2004 (30 725 millions de dollars) source UIPP - 19
- Figure I-3 : marché mondial 2005 des pesticides (a) par région du monde et (b) par catégorie de produits (Philips Mc Dougall Agriservice pour U.I.P.P.) 20
- Figure I-4 : Les marchés phytopharmaceutiques en Europe en 2004, en million d'euros. Consommation des 10 pays les plus consommateurs de l'Union Européenne en fonction de chaque type de pesticide. Source U.I.P.P. 21
- Figure I-5 : Evolution du chiffre d'affaire des campagnes agricoles en France par famille de produit en million d'euros. 22

Table

- Table I-1 : Pesticides écologiquement sensibles 26

Chapitre II

Figures

- Figure II-1 : Processus et transfert des pesticides dans les sols (Barruiso *et al.*, 1996) 35
- Figure II-2 : Voies de dégradation par *Rhodococcus* spp. NI86/21, *TE1*. *Pseudomonas* spp. 192, 194 et *Streptomyces* sp. PS1/5. (Wackett, 2006). 45
- Figure II-3 : Voies de dégradation par *Pseudomonas* sp. ADP, *Ralstonia* sp. M91-3, *Clavibacter* sp., *Agrobacterium* sp. J14a, *Alcaligenes* sp. SG1 (Wackett, 2006 http://umbbd.msi.umn.edu/atr/atr_map.html). 46

Table

Table II-1 : Caractéristiques physico-chimiques des molécules d'étude d'après le Pesticide Action Network (2006).	33
---	----

Chapitre III

Figures

Figure III-1 : Carte morpho-pédologiques de la zone d'étude (Bornand <i>et al.</i> , 1989).	48
Figure III-2 : Occupation des sols de Midi-Pyrénées. Orientation technico-économique des communes au recensement agricole 2000. Agreste (2002).	50
Figure III-3 : Consommation de l'eau dans le bassin Adour Garonne (en milliard de litres) en fonction des usages socio-économiques (données A.E.A.G.).	52
Figure III-4 : Zones vulnérables aux pollutions (forte sensibilité ou forte occurrence). Données AEAG.	53
Figure III-5 : Pourcentage de la population desservie par une eau non conforme (et pourquoi). Données AEAG	54

Table

Table III-1 : Nombre d'exploitations en Midi-Pyrénées en 2003 et occupation des terres (exprimée en milliers d'hectares) en 2002 et 2003 (INSEE 2004, Agreste 2004).	51
--	----

Partie 2 : étude expérimentale

Chapitre I

Tables

Table I-1 : Tableau récapitulatif des méthodes utilisées pour l'étude de contaminants organiques dans des sédiments et des sols hydromorphes.	62
Table I-2 : Conditions d'extraction des sédiments	65
Table I-3 : Rendement de purification sur colonne d'alumine activée (30ml). Urées s. : urées substituées. Anil. : anilides.	66
Table I-4 : Proportion de l'élution totale des herbicides sur cartouche de Florisil en fonction des phases éluantes a, b et c.	67
Table I-5 : Gamme des pesticides dosés.	

(*) : signalés au Schéma d’Evaluation des Pesticides de l’OMS . Italique : dosable au seul TraceDSQ. Gras : brûlé à l’injecteur (HPLC requise).	69
Table I-6 : Rendement du protocole d’extraction et de purification	71
Table I-7 : Répétitivité comparée entre une triple injection d’étalon et une triple injection de deux échantillons	71
Table I-8 : Précision et seuils de quantification des herbicides en fonction de l’équipement analytique utilisé.	72

Chapitre II

Figures

Figure II-1: Location of the eleven sampling sites. M1: Mancies reservoir. M2: Malause reservoir. G1: Portet-sur-Garonne. G2: Empalot. G3: Grenade. G4: Bourret. G5: Lamagistère. A1: Aussonnelle river. A2: Hers river. A3: Save river. A4: Tarn river.	80
Figure II-2. Herbicide concentrations observed in the bottom sediment, grouped by family, during the sampling period of March 2005.	83
Figure II-3. Herbicide concentrations observed in unfiltered water, by family and by sampling site.	84
Figure II-4: PCA of herbicide concentration in the different fractions. M1: Mancies reservoir. M2: Malause reservoir. G2: Empalot. G3: Grenade. G5. Lamagistère. A1: Aussonnelle river. A2 : Hers river. A4 : Tarn river.	84

Tables

Table II-1. List of sampling sites, corresponding river, type of flow and human environment, upstream to downstream.	80
Table II-2. Studied herbicides and metabolites by family and their recovery percentage from a standard reference soil material (Eurosoil7) and the specific ions used in GC/MS. Detection limit was established for the HP5890 equipped with 5971MSD equipment.	81
Table II-3. Relative standard deviation observed on cyanazine, simazine and metolachlor herbicides and DEA metabolite from triplicates of sediment samples for two sites and triple injection of Mix44 standard.	82
Table II-4. Herbicide concentration of fine (FF) and coarse (CF) fractions in the riverside sediment ($\mu\text{g/g}$) of the different stations (cf. table II-1).	

-: Under the detection limit

T: Traces of herbicide (lower than 0.01µg/g) 83

Table II-5. Herbicide concentration in the unfiltered water (expressed in µg/L). For M1, G1, A3, G4, A4, M2 and G5 stations, all the concentration were under the detection limits.

-: Under the detection limit

T: Traces of herbicide (lower than 0.01µg/L) 83

Chapitre III

Figures

Figure III-1. Sampling map. 94

Figure III-2. Spatial distribution of the sediment contamination in Mancies reservoir. 97

Figure III-3. Spatial distribution of the sediment contamination in Malause reservoir 100

Figure III-4. Unsupervised classification of sampling sites in Malause depending on their herbicide contamination. Top left (group I): RM2, RM3 and RM7. Centre (group II): RM1, RM5, RM10 and RM11. Bottom right (group III): RM4, RM6, RM8, RM9 and RM12. 101

Figure III-5. Water oxygenation in Malause reservoir. 104

Figure III-6. Organochlorinated pesticide concentration (µg/g) –Average per group of sample sites Malause reservoir. 106

Figure III-7. Herbicide concentrations along the Garonne main channel in the Malause reservoir (for the two granulometric fractions). 121

Tables

Table III-1a. Molecules sought in the sediments and raw water 95

Table III-1b. Molecules sought in filtered water 95

Table III-2. Herbicide concentration (µg/g) of sediment finer than 2mm. RC1 to RC7 are Mancies samples, RM1 to RM12 Malause samples. US: Tarn upstream of Malause. DS: Garonne downstream of Malause.

T: Traces = concentration lower than 0.01µg/g. No value: Undetectable concentration.

Metabenz: Metabenzthiazuron 99

Chapitre IV

Figures

Figure IV-1 : Sites de prélèvement 115

Figure IV-2. Location of Malause reservoir and sampling sites of MG and MT coring.	128
Figure IV-3. Vertical profile of sediment contamination for MT and MG cores. X-axis: herbicide families' concentrations ($\mu\text{g/g}$) of each layer. Y-axis: sediment depth axis (cm); to each sediment layer thickness correspond x-bar height. MT7 to MT10 and MG7 to MG10 mentions figure to legibility.	132
Figure IV-5. Vertical profiles of various dissolved and solid compounds associated with the mineralization of organic matter in sediments. MT denotes the Tarn core and MG denotes the Garonne core.	136

Tables

Table IV-1 : Concentration en herbicide dans le sédiment inférieur à 2mm ($\mu\text{g/g}$) aux diverses profondeurs.	119
-: Inférieur à la limite de détection	
T: Traces d'herbicides ($<0.01\mu\text{g/g}$)	
Terbuthyl. : terbuthylazine. Sebuthyl. : sebuthylazine. T. Urées sub. : Total Urées substituées.	
Table IV-2 : Concentration en herbicide de la fraction fine et de la fraction grossière dans le sédiment ($\mu\text{g/g}$) aux diverses profondeurs.	121
-: Inférieur à la limite de détection	
T: Traces d'herbicides ($<0.01\mu\text{g/g}$)	
Terbuthyl. : terbuthylazine. Sebuthyl. : sebuthylazine. T. Urées sub. : Total Urées substituées.	
Table IV-3. Compounds associated to OM early diagenesis studied in porewater and herbicides studied in sediment	134
Table IV-4. Herbicide concentration ($\mu\text{g/g}$) in sediment finer than 2 mm. MT1 to MT12 are samples from the MT core, MG1 to MG11 from the MG core. T: Traces = concentration lower than $0.01\mu\text{g/g}$. No value: Undetectable concentration. Wtd average: Average herbicide contamination of each core weighted by considering the thickness of the heterogeneous layer.	
Metabenz: Metabenzthiazuron	136

GLOSSAIRE

Additifs : tensioactifs, mouillants, huiles (pour augmenter la toxicité), épaississants, moussants et autres agents d'adhérence limitant les pertes par lessivage (augmentent l'efficacité), colorants, anti-moussants, solvants (augmentent le confort d'utilisation) répulsifs, vomitifs (augmentent la sécurité du produit).

Adsorption : processus de rétention caractérisé par l'accumulation rapide et réversible de molécules ionisées ou non (ici, les herbicides étudiés) à l'interface entre la surface développée dudit solide et la phase liquide (Jamet, 1979 ; Pignatello, 2000). La rapidité de la désorption est sujette à caution (Pignatello, 1989 ; Gaillardon, 1996 ; Pignatello & King, 1996 ; Lerch et al., 2007). Le processus inverse est la désorption. L'adsorption peut être faible (<80kJ/mol) ou forte (>80kJ/mol) (Malterre, 1997).

L'adsorption physique est de nature électrostatique (forces de Van der Waals), surtout dans le cas des pesticides non ioniques et apolaires sur les acides humiques (Sensesi, 1992). De faible énergie, elle peut cependant adsorber plusieurs couches de molécules superposées.

La liaison hydrogène (ou « H ») est à la fois physique (électrostatique) et chimique (transfert de charge). C'est une liaison faible (<80kJ/mol) induite par la présence de molécules à fort potentiel anionique. Les pesticides non ioniques ou non ionisés sont alors en compétition avec l'eau pour de tels site (Sensesi, 1992). Les substances humiques sont riches en groupements hydroxyl (-OH) et en oxygène aussi les urées substituées sont réputées s'y adsorber (Guimont, 2004). Les groupements -NH et -SH, présents dans les structures organiques, sont aussi impliqués. Les liaisons ions-dipôles et dipôles-dipôles sont aussi des liaisons faibles conjuguant des molécules ou des radicaux polaires ou ionisés sans engagement d'atome d'hydrogène.

L'adsorption chimique permet une adsorption à forte énergie (>80kJ/mol) : liaisons de coordination, protonation, échange de ligands (surtout ceux comportant des atomes donneurs d'électrons comme N, O et S) et d'ions (liaison ionique ou échange de cations). Elle ne peut justifier d'adsorption de couches superposées.

Bassin versant : Ensemble géographique correspondant à la surface comprise dans la limite de séparations des eaux entre deux cours d'eaux, affluents compris.

Biocides généraux : produits biocides destinés à l'hygiène humaine, les désinfectants à usage privé ou de santé publique pour désinfecter l'air, les surfaces, les matériaux, les équipements

et le mobilier qu'ils soient ou non utilisés en contact direct avec les denrées alimentaires ou les aliments pour Animaux et les Hommes.

Biota : Ensemble des êtres vivants.

Dérive : fraction de pulvérisation qui, au moment de l'application, n'atteint pas la cible (sol ou végétal).

Désorption : diffusion hors du solide (vers l'eau ou l'atmosphère) de l'adsorbat. Cette propriété distingue l'adsorption au sens strict de l'hystérésis. Elle est influencée par le pH.

Elution : séparation de deux substances adsorbées

Formulation (commerciale) : mélange ou préparation disponible à la vente d'au moins une matière active et d'additifs destinés à être utilisés comme produits phytopharmaceutiques.

Hystérésis : terme exprimé par Koskinen (1979), il fait état du décalage des isothermes d'adsorption et de désorption : A la désorption d'une molécule peut succéder à plus ou moins long terme une nouvelle adsorption. Cet équilibre dynamique peut maintenir des molécules adsorbées.

Kd : coefficient de distribution d'une molécule entre la phase dissoute et la phase particulaire. Il est déterminé opérationnellement par la mesure de la concentration de l'élément considéré dans la phase dissoute après filtration et la phase particulaire recueillie sur un filtre. Le Kd est le rapport entre ces deux mesures. Il est lié au coefficient de partage carbone organique-eau (Koc) par la relation suivante : $Koc = Kd : \%CO \times 100$ (%CO = pourcentage de carbone organique). Un tel concept suggère que le rôle de la matière organique d'un sol, d'un sédiment ou de matières en suspension, est analogue à celui d'un solvant non miscible avec l'eau, ce qui a conduit à utiliser le coefficient de partage octanol-eau (Kow) pour prédire la capacité de sorption des substances organiques dans les sols et les sédiments

Koc : coefficient de partage carbone organique/eau.

Kow : coefficient de partage octanol/eau.

Lessivage : il s'agit de la migration des pesticides sous l'action de l'eau vers les horizons profonds du sol et les nappes phréatiques.

Matières actives : molécules impliquées dans l'effet pesticide. Substances ou micro-organismes, y compris les virus, exerçant une action générale ou spécifique sur les organismes nuisibles ou sur les végétaux, parties de végétaux ou produits végétaux (s'oppose aux additifs). Voir annexe 1.

Organismes nuisibles : espèce, souche ou biotype de végétal, d'animal ou d'agent pathogène nuisible pour les végétaux (plantes vivantes et parties de plantes vivantes : semences, matériel

génétique...) ou produits végétaux (produits manufacturés (fibres...) ou non manufacturés d'origine végétale (grains...).

Pesticides : anglicisme correspondant étymologiquement à « tueurs de fléaux », produits dont les propriétés toxiques permettent de lutter contre les organismes nuisibles. On distingue réglementairement les pesticides utilisés principalement pour la protection des végétaux (« produits phyto-pharmaceutiques ou phytosanitaires » (directive 91/414/CE)) des autres (« biocides » définis notamment dans la directive 98/8/CE).

Phytosanitaires : produits antiparasitaires à usage agricole minéraux, organiques de synthèse ou mixtes employés pour protéger les semences, préserver les cultures et les productions stockées. Molécules contrariant le développement des vecteurs de maladies humaines, animales ou végétales (médicaments exceptés).

Polluants : agents physiques (chaleur, rayonnements), chimiques ou biologiques (microbes, espèces invasives) induisant des atteintes structuro fonctionnelles aux individus ou aux écosystèmes (pollution).

Pollution : modification défavorable du milieu naturel qui apparaît en totalité ou partiellement comme le sous-produit de l'action humaine, au travers d'effets directs ou indirects altérant les modalités de répartition des flux d'énergie, les niveaux de radiation, la constitution physico-chimique du milieu naturel et l'abondance des espèces vivantes.

Pollution diffuse : pollution dont il n'est pas possible d'associer une source précise géographiquement. Antonyme de la pollution ponctuelle, d'où son autre nom de N.P.S. (non-point source).

Produits antiparasitaires : pesticides, répulsifs et appâts dirigés contre les Animaux.

Produits de protection : ils comprennent les produits de protection utilisés à l'intérieur des conteneurs, pour les pellicules, le bois, les fibres, le cuir, le caoutchouc et les matériaux polymérisés, les ouvrages de maçonnerie, les liquides utilisés dans les systèmes de refroidissement et de fabrication, les produits anti-moisissures, les produits de protection des fluides utilisés dans la transformation des métaux.

Résidus liés : ce terme traduit le piégeage (séquestration physique, précipitation de molécules sur ou dans la matrice solide, dès lors non extractibles) de molécules actives ou de métabolites.

Substances actives : voir *Matières actives*.

Vieillessement : association plus forte entre le pesticide et le sol par augmentation du temps de contact. Justifie l'évolution de l'adsorbat en hystérésis. Voir Lerch *et al.*, 2007.

Xénobiotiques : polluants de synthèse ou en infime proportion dans l'environnement, ces derniers pouvant être doués de propriétés hormétiques.

LISTE DES ABREVIATIONS

AEAG :	Agence de l'Eau Adour-Garonne.
ASE :	Accelerated Solvant Extractor. Extraction accélérée par solvant.
CPG :	Chromatographie en Phase Gazeuse
CEMAGREF :	Centre d'Etude du Machinisme Agricole, du Génie Rural, des Eaux et Forêts.
ECD :	Electron Capture Detector. Détecteur par capture d'électron
FID :	Flame Ionization Detector. Détecteur par ionisation de flamme.
FPD :	Flame Photometric Detector. Détecteur soufre-phosphore par photométrie de flamme.
GC :	Gas Chromatography. Voir CPG.
HAP :	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques.
LEH :	Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes.
LPME :	Liquid Phase Micro-Extraction. Micro-extraction en phase liquide.
MAE :	Microwave Assisted Extraction. Extraction assistée par micro-onde.
MS :	Mass spectrometer. Spectromètre de masse
NPD :	Nitrogen-Phosphorus Detector. Détecteur azote-phosphore par photométrie de flamme.
OCP :	OrganoChlorinated Pesticides. Pesticides organochlorés.
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé.
OSPAR :	comission OSlo PARis.
PCB :	PolyChloroBiphényles.
PLE :	Pressurized Liquid Extraction. Extraction assistée par liquide pressurisé.
POCIS :	Polar Organic Compounds Integrative Samplers. Echantillonneurs intégratifs par composés organiques polaires.
POP :	Polluants organiques persistants.
REACH :	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals. Nouvelle réglementation européenne sur les substances chimiques « enregistrement, évaluation, autorisation et restrictions relatifs aux substances chimiques. »

RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire.
SDEM :	Solid Dispersion Extraction Method. Méthode d'extraction par dispersion de solide.
SIM :	Specific Ion Mode. Mode ion spécifique.
SPE :	Solid Phase Extraction. Extraction en phase solide.
SPMD :	Semi Permeable Membrane Device. Dispositif de membrane semi-perméable.
US EPA :	United States Environment Protection Agency. Agence de protection de l'environnement des Etats-Unis .
WHO :	World Health Organisation. Voir OMS.

INTRODUCTION

Les produits phytosanitaires sont des produits élaborés pour accroître les rendements agricoles en éliminant les antagonistes des cultures, compétiteurs (adventices) ou non (parasites). Les principaux pays agricoles mondiaux sont les pays développés et l'emploi de produits phytosanitaires, au premier chef les herbicides, y est massif.

Opportunité culturelle majeure, l'introduction de ces molécules dans l'environnement a cependant induit des effets secondaires avérés pour l'Homme et pour l'environnement. Le comportement, la reproduction et la survie des adultes de même que le nombre et les propriétés de leurs descendants peuvent être affectés par une exposition à ces pesticides, quand bien même ils n'auraient pas été formulés contre le règne animal. Le milieu aquatique s'est avéré l'un des plus sensibles à cette contamination pour un ensemble de facteurs dont son exposition liée au rôle collecteur des cours d'eau vis-à-vis de leur bassin versant. Ils recueillent les résidus de pesticides ayant ruisselé hors des zones traitées ou ayant contaminé les eaux de nappe.

Les herbicides sont les produits phytosanitaires les plus utilisés et sont surtout employés pour maintenir les champs nus ou alors que les cultures sont aux premiers stades de développement. Une grande partie tombe donc au sol où elle peut être facilement emportée par les pluies d'hiver et de printemps. Cette catégorie de pesticides comprend donc des familles de molécules connues pour être des contaminants majeurs des eaux de surface dont les s-triazines (appliqués notamment sur Maïs), les urées substituées (Blé d'hiver) et les anilides (Colza) en vertu de quoi ces trois familles ont été sélectionnées pour faire l'objet de cette étude.

La contamination en pesticides de la Garonne fluviale n'a fait l'objet que de trois études (Dupas *et al.*, 1993 ; Cossu *et al.*, 2000 ; Bamcon-Montigny *et al.*, 2004). Aucune d'entre elles n'a intégré le bassin de la Garonne entre Toulouse et Malause. Elles se limitent à un point de prélèvement sur la Garonne et/ou un de ses affluents (Lot, Cossu *et al.*, 2000 ; Garonne et Dropt, Dupas *et al.*, 1993). Bamcon-Montigny *et al.*, 2004 se sont limités à des pesticides spécifiques (organostaneux).

Le sédiment est connu pour sa capacité d'intégration des micropolluants, organiques notamment. La contamination du sédiment par les herbicides de pré-levée, sujets au

ruissellement et à l'érosion puisque appliqués sur sol nu, a fait l'objet de rares études (Gao *et al.*, 1997, Müller *et al.*, 2000 ; Moore *et al.*, 2006).

La présente thèse vise d'abord à établir un protocole de dosage le plus ergonomique, automatisé et performant possible pour des composés labiles aux conditions thermiques et chimiques trop astringentes. La méthode mise au point dans le sédiment (Devault *et al.*, 2007) avait pour objectif une analyse multi résidus d'herbicides (s-triazines, urées substituées, anilides) aux propriétés hétérogènes grâce à un automate A.S.E. maximisant la reproductibilité de l'étape d'extraction.

Une fois cet objectif atteint, cette technique sera validée par une campagne de prélèvement de sédiment en Garonne Moyenne. Cette application aura pour but l'établissement d'une cartographie de la contamination de cette matrice par les herbicides d'étude. Un effort sera porté sur la compréhension des origines possibles de ces herbicides dans le sédiment.

L'identification des lieux de stockage permettra de s'y focaliser pour mieux connaître les processus dont ils sont le siège et sous quelles conditions pour esquisser le devenir de ces herbicides dans le sédiment.

Le sédiment étant une matrice meuble, il est aisé d'y prélever par carottage pour disposer d'une perspective temporelle sur la présence des molécules et de la façon dont elles sont transformées.

Un premier bilan de la contamination du sédiment par les herbicides sera dressé d'après nos observations. La nature de l'association entre ces ligands et ce substrat, leur rémanence et les conditions de leur transformation seront abordées. Au regard de ce constat, il sera possible de discerner l'influence potentielle de cette contamination sur les écosystèmes aquatiques en fonction des diverses conditions hydrologiques et éthologies rencontrées.

PARTIE 1

Les pesticides dans l'environnement

I PESTICIDES

1. Généralités

Depuis le Néolithique, l'Homme tire sa subsistance principale de l'agriculture. Il apprend au fur et à mesure à promouvoir les espèces exploitées et à contrer leurs compétiteurs. Qu'elle soit avant ou après la récolte, la lutte contre les nuisibles tant des cultures que des stocks se fit d'abord par des procédés physiques et manuels, puis par des méthodes chimiques. Homère et Plin l'Ancien relatent respectivement fumigations soufrées et usage de l'arsenic comme insecticide. Au Moyen Age, l'utilisation de sels d'arsenic est relatée contre les Fourmis. Empiriques, ces tentatives contre les ravageurs furent en général peu efficaces.

Il faut attendre l'emploi, en 1763, de jus de tabac sur des pêchers infestés de pucerons pour attribuer un résultat convaincant à un traitement organique sur une culture. Jusqu'à la première moitié du XX^{ème} siècle, les produits phytosanitaires et les protections des semences sont essentiellement des dérivés minéraux (arsenic contre le doryphore de la pomme de terre aux Etats-Unis, sulfate de cuivre contre le mildiou de la vigne en France...) ou végétaux (roténone issue des racines de *Derris* malaisien ou *Lonchocarpus* américain, pyrèthre issue des fleurs de chrysanthème).

A partir de 1931 apparaissent, sur un marché déjà constitué, des pesticides organiques de synthèse (figure I-1). Avec les organochlorés dont le DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane), leur efficacité et leur prix deviennent tels qu'ils sont d'abord surtout utilisés pour des campagnes de santé publique et enrayerent des épidémies, comme le typhus exanthématique à Naples en 1943, la peste en Inde ou la lutte contre le paludisme (Mouchet, 1994).

Cependant, afin de pouvoir pénétrer dans les organismes à combattre, les pesticides doivent franchir des barrières lipidiques (cuticule des Plantes, chitine des Insectes et des Mycètes). Pour cela, des formulations très lipophiles difficilement dégradables sont d'abord recherchées. Ces caractéristiques mêmes amenèrent ces pesticides à s'accumuler dans les corps gras et les tissus riches en lipide, notamment chez l'Homme, et à polluer durablement les sites traités (on parle alors de produits rémanents). Lorsque ce phénomène a été constaté, d'autres pesticides, plus toxiques et donc d'action plus rapide mais plus rapidement dégradés, furent promus : les organophosphorés comme le malathion (1950). Bientôt, des pesticides plus spécifiques furent élaborés, tantôt en copiant des pesticides d'origine végétale (pyréthrinoides, 1974), tantôt en

stimulant les défenses naturelles des Plantes (phoséthyl-aluminium, 1977) -mais surtout peu lipophiles (glyphosate, ammonia quaternaires...). Les produits spécifiques impliquant une connaissance toujours plus poussée de la physiologie du ravageur ou de sa cible ont aussi été mis sur le marché (Tissut *et al.*, 2006).

Évolution des produits			
	HERBICIDES	FONGICIDES	INSECTICIDES
Avant 1900	Sulfate de cuivre ● Sulfate de fer	Soufre ● Sels de cuivre	Nicotine ●
1900 - 1920	Acide sulfurique ●		Sels d'arsenic ●
1920 - 1940	Colorants nitrés ▼ ●		
1940 - 1950	Phytohormones... ●		Organo-chlorés ● Organo-phosphorés ▼
1950 - 1960	Triazines, Urées substituées ▼ ● Carbamates	Dithiocarbamates ● Phtalimides	Carbamates ▼ ●
1960 - 1970	Dipyridyles, Toluidines... ●	Benzimidazoles ●	
1970 - 1980	Amino-phosphonates ● Propionates...	Triazoles ● Dicarboximides ● Amides, Phosphites ● Morholines ●	Pyréthriinoïdes ● Benzoyl-urées (régulateurs de croissance) ●
1980 - 1990	Sulfonyl urées... ●		
1990 - 2000		Phénylpyrroles ● Strobilurines ▼	

Figure I-1 : Evolution chronologique de l'usage des pesticides (données U.I.P.P.)

2. Classification des pesticides

Face à la profusion de matières actives et, *a fortiori*, de spécialités commerciales, les producteurs et les utilisateurs de pesticides les classent suivant leur cible.

- *Les herbicides* : ils éliminent les adventices des cultures. Ces mauvaises herbes peuvent atténuer les rendements par compétition d'utilisation des ressources (eau, éléments nutritifs, lumière, espace) ou par excrétion de phytotoxines (chiendent rampant, camaline). Mêlées aux récoltes, elles peuvent également être toxiques pour le bétail (renoncules, colchiques et ciguë dans les fourrages secs), donner du goût au lait

(achillée, millefeuille) voire rendre l'ensilage dangereux : l'amarante accumule des nitrates qui peuvent provoquer des déflagrations dans les silos de maïs.

- *Les insecticides* : ils sont avant tout des matières actives organiques de synthèse. Les substances minérales et les molécules organiques d'origine naturelle ne sont que d'un usage marginal ou utilisées en association (roténone et dérivés de la nicotine) ou dans le cadre de l'agriculture biologique.

Les organochlorés (au sens strict du terme) sont les insecticides qui représentent le plus grand danger de bioaccumulation à l'échelle individuelle et de bioamplification à l'échelle de la chaîne trophique. Les organophosphorés (malathion, diméthoate), les carbamates (aldicarbe, carbofuran) et les pyréthrinoïdes de synthèse sont les familles les plus représentées. Les organochlorés furent les premiers à être interdits au début des années 1970 dans les pays développés.

Certains insecticides ciblent le système nerveux des insectes. De ce fait, l'impact comportemental peut suffire à induire une mortalité (prédation, orientation...) même à des doses sublétales (Haynes, 1988 ; Vandame *et al.*, 1995).

- *Les fongicides* : ces molécules ciblent différents types de champignons pouvant directement infester les cultures à différents stades de développement, les récoltes durant les phases de stockages, ou encore les semences. Souvent apportées par des vecteurs animaux comme les Insectes eux-mêmes, les maladies cryptogamiques (mildiou de la pomme de terre et de la vigne, charbons et rouilles) sont enrayerées par les carbamates (carbendazine, mancozèbe), triazoles (bromuconazole, triconazole), dérivés du benzène (chlorothalonil, quintozone), dicarboximides (folpel, iprodione).

Les autres classes de pesticides sont :

- les acaricides (contre les acariens), principalement des sulfones, des sulfonates ou des sulfures reliant deux cycles benzéniques chlorés. Ils sont notamment utilisés pour traiter le bétail ou lutter contre les cochenilles. Les acaricides sont très proches des insecticides du fait de la proximité phylogénétique des Chélicérates et des Insectes. Ils sont, de ce fait, parfois confondus dans la littérature.
- les corvicides et corvifuges, contre les Oiseaux en règle générale. L'endosulfan est un corvifuge.

- les molluscicides, avant tout pour lutter contre les limaces sur les cultures maraîchères. Les plus utilisés sont le Bensultap, le mercaptodiméthur, le métaldéhyde et le thiocarbe.
- les nématicides, avant tout des organophosphorés, des thyocarbamates, des thyocyanates et le tétrathiocarbonate. L'aldicarbe est un nématicide.
- les rodenticides, dirigés contre les rongeurs. Cette classe est parfois utilisée pour décrire tout pesticide dirigé contre un vertébré (incluant donc corvicides et taupicides). L'alphachloralose est utilisée indifféremment contre les trois alors que l'antraquinone ne s'utilise pas contre les Taupes. Les rodenticides inorganiques sont soit gazeux (chloropicrine) soit minéraux (arsenic, phosphures, sels de baryum, cyanures et fluorures). Les sels de thallium, impliqués dans de nombreuses intoxications humaines accidentelles, sont actuellement interdits en France. Les rodenticides organiques sont soit naturels (scilliroside, strychnine, véatrine) soit de synthèse. Ces derniers sont souvent moins toxiques pour l'Homme.
- les taupicides, dont les plus courants sont le phosphore d'aluminium (minéral) et l'alphachloralose (organique de synthèse).

3. Le marché des pesticides

3.1. Marché mondial

Le marché mondial (environ 30 milliards d'euros) est globalement stable depuis quelques années (2000). Certains évènements climatiques récents (chaleur et sécheresse en Europe, pluie en Océanie) influencent fortement ces chiffres. En Europe et en Amérique du Nord, les herbicides représentent 70 à 80% des produits utilisés (figures I-2 et I-3) pour deux raisons :

-la première, structurelle, pour maintenir des sols nus durant la période froide inculte en prévision des semailles à venir.

-la seconde, conjoncturelle, à cause de la forte augmentation des cultures de maïs (O.R.P., U.I.P.P.).

Sous les tropiques, 50% des produits appliqués sont des insecticides. L'entomofaune, maintenue en état optimal d'activité par une température élevée constante, s'y révèle plus apte à s'accoutumer (« mythrification »). Ainsi, certains insecticides utilisés avec profit dans les zones tempérées comme les pyréthrénoïdes se sont avérés rapidement inopérants dans les pays tropicaux. Néanmoins, l'influence des pays non tempérés reste faible puisque les pays dits industrialisés consomment 82,5% des pesticides produits.

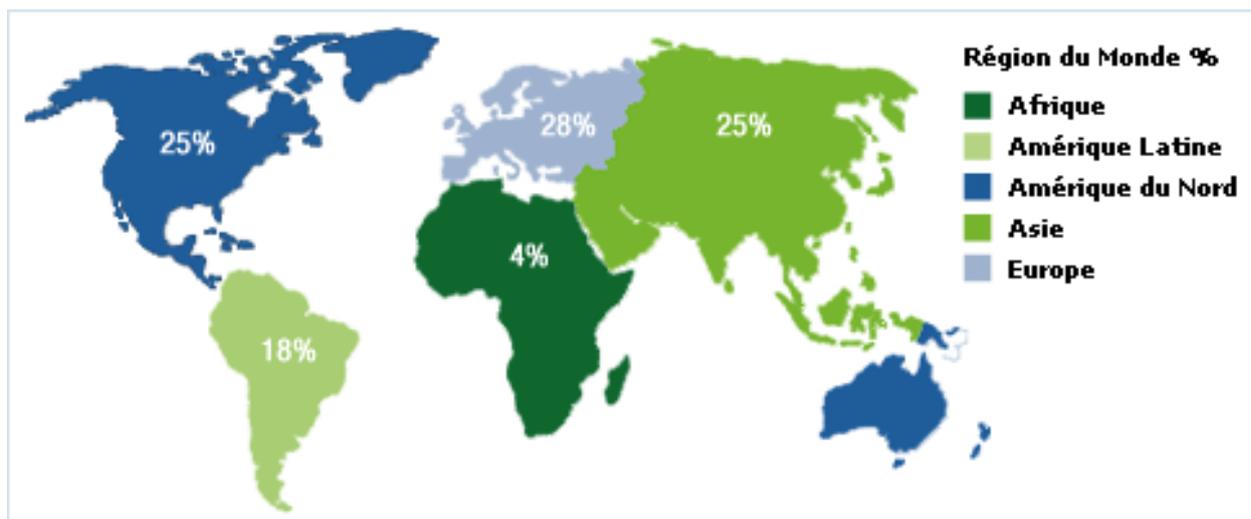


Figure I-2 : Répartition du marché mondial pour l'année 2004 (30 725 millions de dollars) source UIPP -

La diversification des cultures, avec l'amélioration du niveau de vie dans certains pays, modifie également cet équilibre. Ainsi, la Chine a converti l'équivalent de la surface de l'Angleterre de rizières en cultures maraîchères, entraînant une diversification des produits mis en œuvre. Les usages non-agricoles représentent environ 12% du marché global (dont plus d'un tiers des usages pour les Etats-Unis). En France, les usages non agricoles représentent entre 6 et 10% de la consommation totale.

En association avec la généralisation de l'usage d'engrais, les pesticides ont permis, depuis quarante ans, de tripler la productivité. Les pertes occasionnées aux cultures représentent pourtant encore près de 30% en Europe pour le maïs contre 50% en Afrique ; moins de 30% en Asie pour le riz contre plus de 50% en Afrique. Dans un contexte de sous-nutrition pour un milliard d'individus sur Terre et de projections démographiques moyennes visant à un accroissement de la population de 50% d'ici 2050, les pesticides restent comme l'une des opportunités agronomiques majeures. Le marché des pesticides est donc considéré comme disposant d'une marge de progression encore significative. Les entreprises de production de produits agropharmaceutiques dominant le marché sont américaines et européennes. Les quatre premières représentent plus de 90% des ventes de ce secteur (Monsanto Company, Syngenta, Bayer Crop Science, DuPont™).

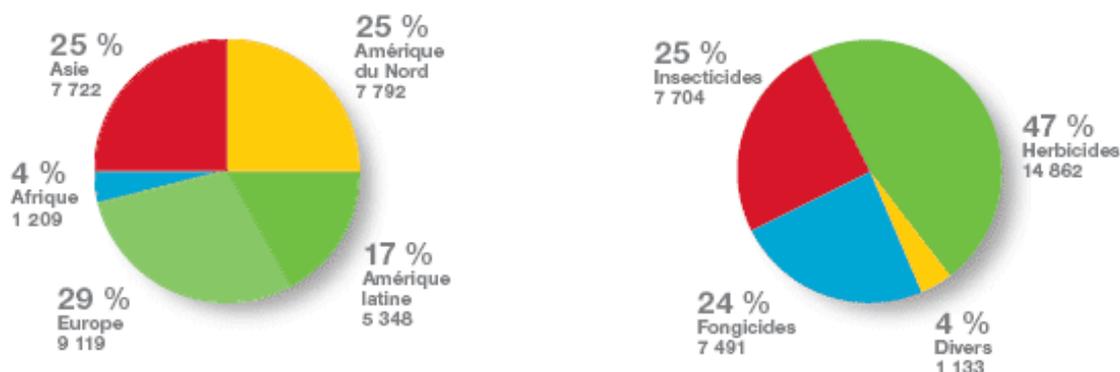


Figure I-3 : marché mondial 2005 des pesticides (a) par région du monde et (b) par catégorie de produits en milliard d'euros (Philips Mc Dougall Agriservice pour U.I.P.P.)

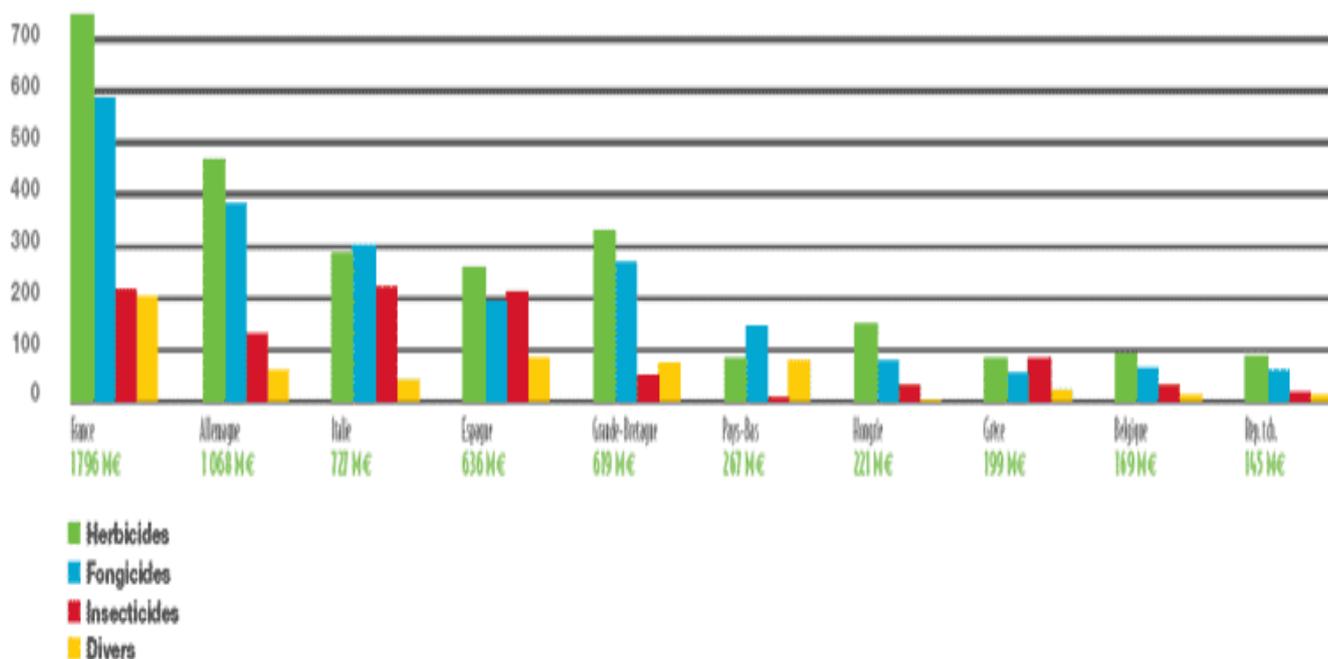
3.2. Le marché de l'Union Européenne

Le marché européen est le deuxième marché mondial derrière les USA. Cette consommation est cependant à pondérer : la diversité des pratiques agricoles en Europe est bien plus importante qu'aux USA du fait de l'hétérogénéité du niveau de mécanisation et, plus globalement, des niveaux de vie dans les différents pays de l'Union (figure I-4). De même, les usages agricoles dépendant fortement de l'histoire et de la politique de chaque état-membre, une certaine prudence s'impose vis-à-vis de cette comparaison.

Au sein de l'Union, la documentation issue d'Eurostat fournit une idée globale mais claire des disparités d'usage des pesticides (Eurostat) et a été compilé par Lucas & Pau Vall (http://ec.europa.eu/agriculture/envir/report/fr/pest_fr/report.htm). Certaines cultures sont plus consommatrices que d'autres. Certaines régions agricoles de l'Union se sont spécialisées dans des cultures à haute valeur ajoutée. Ainsi, les Pays-Bas ont une horticulture prépondérante proportionnellement à leurs voisins et appliquent plus généralement un modèle agro-économique intensif. Dans ces conditions, tous les types de culture n'exigent pas une pression phytosanitaire identique. Cette asymétrie peut prendre des proportions très importantes en fonction de la pluvalue associée à la denrée. Herbicides et fongicides sont les classes de pesticides les plus abondamment utilisées, les premiers dans un contexte de grande culture, les seconds essentiellement sur Vigne par les pays du sud (France, Italie, Espagne). Les herbicides représentent 41% de la consommation pondérale totale, les fongicides 39%, les insecticides 12% et les autres classes de pesticide 8% (Eurostat, ECPA).

Ainsi, en France, les doses de pesticides à l'hectare représentent en moyenne 4,4kg de formulation commerciale, ce qui place la France au sixième rang européen, loin derrière les

Pays-Bas (17,5kg/ha) (OPECST, 2003). Cette situation n'est pas nouvelle et la dose de pesticide à l'hectare en France se trouvait déjà, en 1996, bien en deçà de celle des Pays-Bas et de la Belgique. Pourtant, de par la surface agricole, la France est le premier pays consommateur de l'Union.



France 1796M€ Allemagne 1068M€ Italie 727M€ Espagne 636M€ RU 629M€ Pays-Bas 276M€ Hongrie 221M€ Grèce 199M€ Belgique 169M€ Tchéquie 145M€

Figure I-4 : Les marchés phytopharmaceutiques en Europe en 2004, en million d'euros. Consommation des 10 pays les plus consommateurs de l'Union Européenne en fonction de chaque type de pesticide. Source U.I.P.P.

3.3. Le cas de la France

Les 14,3 millions d'hectares de forêts françaises et les 18 millions d'hectares dévolus à l'agriculture consomment l'essentiel des pesticides commercialisés chaque année en France (plus de 100 000 tonnes en 1999). Après un important essor entre 1980 et 1995, les marchés s'est stabilisé depuis une dizaine d'années (1,9±0,2 milliards € données U.I.P.P.).

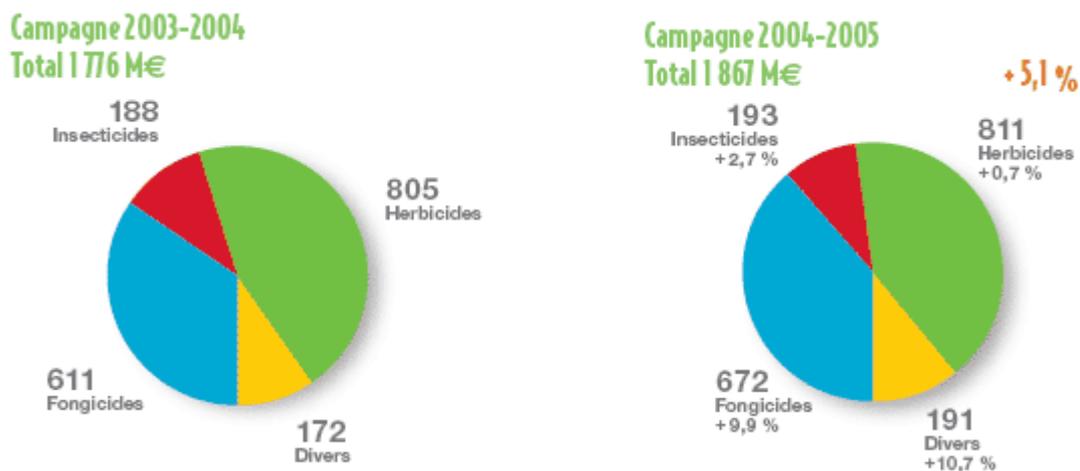


Figure I-5 : Evolution du chiffre d'affaire des campagnes agricoles en France par famille de produit en million d'euros.

Si le tonnage de phytosanitaires en France a baissé de 40% depuis 1999 (données U.I.P.P.), il convient de souligner l'introduction de molécules nouvelles à posologie plus réduite. Au cours des dernières années, la tendance générale a été d'abandonner l'utilisation de pesticides fortement dosés au profit de nouvelles substances, actives à plus faibles doses (aminotriazoles, strobines, sulphonylurées...) (Acta 2006). Ainsi, le chiffre d'affaire du secteur semble être le seul critère valide pour une comparaison interannuelle. Les herbicides prédominent (45% du chiffre d'affaire) devant les fongicides (35%) et les insecticides (figure I-5).

En France, environ 520 matières actives sont homologuées, entrant dans la composition de 2588 spécialités commerciales. De plus, parmi elles, 500 spécialités comprenant 115 matières actives sont autorisées à la vente aux amateurs (Acta 2001). Le marché français du pesticide est le premier en Europe et le troisième au monde derrière les USA et le Japon. Il est admis que 90% de la consommation hexagonale est liée à l'agriculture, 8% aux usages amateurs et 2% aux collectivités, à l'équipement (DDE), ou au transport (routes, voies ferrées) (OPECST, 2003).

Sur les 35 familles employées, les plus représentées à l'échelon national sont les carbamates (chlorprophame, triallate,...) les urées substituées malgré les interdictions (diuron) ou les réductions d'usage (isoproturon), les phytohormones (2-4D et dérivés) et les amides (anilides

tels metolachlor ou alachlor...). Les matières actives de la famille des triazines ont fait l'objet d'une interdiction définitive d'usage au 30 septembre 2003.

Il est impossible d'obtenir des données d'utilisation des pesticides en Midi-Pyrénées du fait du secret commercial et industriel.

3.3.1. Consommation des herbicides

Les principaux utilisateurs de pesticides peuvent être subdivisés en trois groupes :

L'agriculture : soumis seulement à des recommandations d'usage (avertissements agricoles), les exploitants agricoles utilisent les pesticides de façon de plus en plus raisonnée. Mieux formés dans les disciplines scientifiques et sensibilisés aux risques environnementaux au cours de leur cursus, les agriculteurs sont aussi attentifs au coût d'un épandage excessif ou à un moment inapproprié, comme peu avant un épisode pluvieux entraînant les phytosanitaires hors des zones traitées, réduisant leur efficacité (Spalding&Snow, 1989).

Au demeurant, les impératifs de production dans ce secteur très concurrentiel induisent la nécessité de la lutte contre les ravageurs des cultures. Les études comportementales auprès de cette catégorie socioprofessionnelle montrent une réduction des doses et du nombre de traitements sur le blé et le maïs (Agreste, 2001). Les produits sont plus employés en mélange. Alors qu'en 1994, sur blé tendre et maïs, une seule matière active était employée par passage, un mélange en contenant trois ou plus se rencontre dans 15% des surfaces en blé tendre et 30% en maïs lors d'un passage en 2001. Cette multiplication des produits sous-dosés induit le problème du dosage des pesticides dans le milieu naturel et du développement de résistances aux matières actives par leurs cibles.

Les infrastructures et collectivités : l'emploi des pesticides par les collectivités, les administrations et les grandes entreprises gestionnaires des grandes infrastructures routières et ferroviaires (2% du marché français des pesticides) est fortement encadré tant en matière de quantités apportées qu'aux périodes pendant lesquelles celles-ci sont introduites dans le milieu (OPECST, 2003, annexe 52).

Les particuliers : le tonnage de phytosanitaires à usage domestique représentait 8% du tonnage des pesticides totaux achetés en France en 2000 (OPECST, 2003). Les consommations effectives de pesticides par les particuliers ainsi que le respect des bonnes conditions de stockage sont inconnus. Les seules études comportementales disponibles sont peu fiables mais semblent indiquer une désinvolture relative parmi les jardiniers vis-à-vis de

ces produits. Près de la moitié des jardiniers ne prennent aucune précaution lorsqu'ils traitent. Un sur trois porte des gants, 14% seulement changent de vêtements après traitement, 50% des utilisateurs amateurs doublent les doses préconisées, 15% la quintuplent alors qu'elle est déjà parfois surévaluée par le fabricant. Moins de 10% souhaitent plus d'informations sur les produits ou leurs alternatives. Certains produits présentent une mention « biodégradable » abusive (glyphosate). Enfin, dans certains pays comme l'Italie, les pesticides sont stockés en rayons vitrés fermés à clef. En France, ils sont en vente libre.

3.3.2. Conditionnement des pesticides

Les pesticides formulés sous forme solide : ils sont généralement de pré-semis et de pré-levée et sont utilisés sur sols nus. Les granulés doivent diffuser lentement dans le sol. Les risques pour le manipulateur sont réduits car les tensioactifs évitent la formation d'aérosols et diminuent les résidus dans les emballages. Les phytosanitaires peuvent être inclus dans des microcapsules poreuses de polymères (polyamides...) de diamètre moyen (25µm). Elles peuvent être dispersées en suspension dans l'eau.

Les phytosanitaires liquides ou émulsifiables : ils sont utilisés au cours de la post-levée, à des stades déterminés le plus souvent par le nombre de feuilles des plants. Les épandages aériens, encore pratiqués sur les forêts, mettent en œuvre des pesticides liquides ou microencapsulés mais ne sont plus pratiqués par les agriculteurs pour des questions de coût logistique élevé pour des zones réduites et une dispersion importante du produit.

Enrobage des semences : certains produits sont utilisés en enrobage des graines destinées à la semence, il s'agit principalement de fongicides ou d'insecticides. L'imidaclopride (Gaucho) et le fipronil (Regent TS) enrobaient ainsi celles du Maïs et du Tournesol. Leur protection s'étendrait pendant toute la durée de la croissance pour disparaître lors de la floraison (Araki *et al.*, 1994). Cependant, la toxicité chronique des métabolites a été mise en évidence (Suchail *et al.*, 2000 et 2001). L'usage de 10.000 tonnes de pesticides en granulé aurait ainsi été évité pour le seul Maïs d'après les fabricants de ces semences.

3.3.3. Les problèmes de dérive

Les pertes dues aux méthodes d'épandage culminent avec le traitement par aéronef (jusqu'à 50% de dérive), d'où le presque complet abandon de cette technique (soumise à autorisation préfectorale mais en voie d'interdiction) pour des asperseurs toujours plus fins et, donc, plus

économiques limitant la dérive entre 1 à 10% de la dose au champ (Pimentel&Levitan, 1986 ; Emans *et al.*, 1992). Pour autant, certaines cultures restent plus soumises à la dérive que d'autres, soit qu'elles soient relatives à des produits alimentaires difficiles d'accès incitant aux surdoses soit que ceux-ci soient en milieu dispersant : vergers et vigne (jusqu'à 25% avec un matériel d'épandage mal réglé ou dispendieux).

3.4. Causes des variations interannuelles

Les conditions climatiques sont les premières raisons de variation de consommation de pesticides. Une température élevée favorisera en toute saison la pression de l'entomofaune. L'hygrométrie favorisera le développement fongique alors que les adventices pourront profiter d'un ensoleillement important. Les traitements préventifs seront donc effectués en fonction du climat.

Pour autant, les épiphyties ne dépendent pas uniquement des conditions climatiques. L'acclimation d'une espèce nuisible invasive sans prédateur naturel induit sa prolifération. Dès lors, l'Homme peut avoir recours à la chimie pour contrer le nuisible dans le cadre d'une lutte d'urgence, sortant de celui de la prévention usuelle. L'apparition de nouvelles molécules actives peut aussi générer une modification significative du tonnage. Ainsi, le tonnage de pesticide en Europe s'est trouvé diminué par la généralisation des s-triazines. Pourtant connue auparavant, cette famille a été popularisée dans les années 1980. Depuis, la notion de pesticides faiblement dosés s'applique principalement au groupe d'herbicides dans lequel la substance active appartient à la famille des sulfonylurées. Ils s'utilisent surtout pour les céréales. En Suède, les herbicides faiblement dosés (4,5 g/ha) ont été appliqués sur 50 % de la superficie céréalière dès 1996 (Lucas & Pau Vall). La quantité totale d'herbicides faiblement dosés utilisée sur les céréales était de 2,7 tonnes (0,35 % du poids total des herbicides utilisés).

Les contraintes réglementaires et les recommandations visant à rationaliser l'épandage de pesticides peuvent enfin avoir un impact sur les quantités utilisées. Pour autant, les normes sont quantitatives et peuvent être contournées par l'usage de pesticides faiblement dosés.

4. Problématique des pesticides vis-à-vis de l'environnement

Les premiers effets des pesticides sur l'environnement ont été portés à la connaissance du grand public par Rachel Carson (1962) qui désignait par « *dirty dozen* » les treize matières

actives les plus impliquées dans des mortalités d'oiseaux pêcheurs. Le retentissement de son ouvrage « Silent spring », changea le point de vue de la population sur les pesticides. Autrefois encline à voir en eux des molécules providentielles, celle-ci fut informée de leur nocivité potentielle.

Des cas ponctuels de mortalité de Poissons, d'animaux domestiques et de bétail ont été observées par simple boisson d'eaux contaminées (Perfect, 1980). Cependant, le phénomène de bioamplification s'avère d'une plus grande portée.

Table I-1 : Pesticides écologiquement sensibles

" Dirty dozen " Carson (1962)	Pesticides prioritaires Jensen&Slorach (1990)
Aldrine	Hexachlorobenzène
Aminotriazole	Trifluraline
Camphechlor	Endosulfan
Chlordane	Simazine
DDT	Atrazine
Dieldrine	Azinphos-ethyl
Dinitro-herbicides	Azinphos-methyl
Endrine	Fenitrothion
HCB	Fenthion
HCH	Malathion
Mirex	Parathion
Telodrin	Parathion-methyl
Toxaphene	Dichlorvos

Les effets des pesticides sur les êtres vivants sont de plusieurs types suivant le mode d'administration, la quantité et la rémanence du produit. L'éthologie, la survie des individus au travers de leur capacité respiratoire, alimentaire, sensitive ou motrice, l'intégrité cellulaire (cancérogénèse) et, enfin, la reproduction des êtres vivants ont été mentionnés comme affectés par des pesticides. Cette influence néfaste peut être le fruit de processus complexes et potentiellement cumulés. Ainsi, la reproduction peut être affectée au travers de la qualité ou du nombre des descendants de la cohorte considérée. Elle peut être perturbée par une tératogénèse directe (mutation) ou indirecte (malformations par trouble du développement),

l'inhibition du comportement maternel de protection, la faiblesse des réserves vitellines cédées à la descendance, la moindre tenue de la coquille des œufs... Voir.pesticideinfo.org/index.html et Tron *et al.* (2001) pour de plus amples détails.

Les pesticides de contact, pour pénétrer dans les organismes-cibles, doivent pouvoir franchir la barrière lipidique que constituent les molécules épidermiques de surface des individus à combattre. Pour cela, il leur faut (dans la plupart des cas) être lipophiles, ce qui implique un caractère hydrophile inversement proportionnel. Or plus un produit est lipophile plus il aura tendance à se stocker dans les cellules riches en lipides (adipocytes, hépatocytes, cellules de Schwann) ou toute sécrétion grasse (lait maternel) (Connel&Hawker, 1988). Celle-ci permettra à l'individu d'éliminer tout ou partie des pesticides bioaccumulés mais ne peut que rester marginal aux vues des quantités de pesticides ingérées. Elles sont estimées aux Etats-Unis à deux kilos de matière active par personne et par an (Fournier, 1988). Ainsi, au cours de sa vie, chaque être vivant va intégrer des pesticides. Ce phénomène est appelé bioaccumulation. Il s'observe lorsque la durée ou l'intensité d'exposition est assez longue, le rapport entre la quantité de pesticides et la croissance pondérale de l'organisme augmente. Dans une certaine mesure, suivant son équipement enzymatique (Suchail *et al.*, 2000) et les caractéristiques de chaque pesticide, l'organisme pourra les métaboliser. Cependant, cette élimination des xénobiotiques fonctionnalisés dans les sécrétions aqueuses ne peut que rarement compenser la pénétration dans l'organisme de nouvelles matières actives. Ce bilan de flux entrant et sortant induit donc la plupart du temps un stockage des pesticides. Elle n'est donc observée qu'à l'échelle individuelle et est directement corrélée à l'âge de l'individu et à son régime alimentaire. Ceci peut induire une intoxication à long terme (on parle de toxicité chronique) même en milieu faiblement pollué (Storner *et al.*, 1983).

Un prédateur va donc collecter les pesticides bioaccumulés par ses proies. Ainsi, un super-prédateur aura-t-il intégré au cours de sa vie une quantité de xénobiotiques en relation directe avec celle présente dans ses proies et donc en relation indirecte avec le niveau de contamination du producteur primaire. De ce fait, plus une chaîne trophique est longue, plus la concentration en xénobiotiques dans les tissus des Animaux constituant les maillons supérieurs sera élevée car plus la biomasse de producteurs primaires impliquée dans leur nutrition sera grand. On parle alors de bioamplification. Les polluants organiques persistants (POPs) dont le DDT et le lindane sont impliqués dans de nombreux cas (Bro-Rassmussen, 1996). En milieu dulçaquicole, trois exemples de bioamplification de pesticides illustrent ce phénomène : Clear Lake (Californie, Hunt&Bishop, 1960), Green Bay (Wisconsin) et le lac Kariba (Zimbabwe, Berg *et al.*, 1992). Ces chaînes trophiques à trois maillons présentent chez

les Poissons et les Oiseaux (super prédateurs) un facteur de bioamplification (à partir de la concentration dans l'eau, toujours inférieure ou égale à 20ppb) respectivement de 84800, 8000 et compris entre 250 000 et 475000. Dans le cas de Green Bay, le rapport monte à 1952000 si l'on considère les tissus gras. Ce phénomène persiste au travers de pesticides plus modernes bien que dans une moindre mesure puisque les matières actives actuelles sont plus rapidement dégradées.

Les effets toxicologiques et écotoxicologiques des pesticides ont généré la surveillance, la limitation voire l'interdiction de ces molécules. Les cas d'intoxication directe sont rares et sont la plupart du temps dus à des méprises ou des actes volontaires. Leur effet à long terme sur l'Homme et l'environnement justifie davantage leur mise à l'index (carcinogènes avérés pour la « dirty dozen », fortement suspectés pour la « liste prioritaire » -voir figure I-1). Tron *et al.* (2001) ont compilé les données épidémiologiques acquises.

La pollution de l'environnement par les herbicides a commencé à être considérée en France à partir de la loi du 16 décembre 1964. Celle-ci portait sur le milieu aquatique (création des agences de l'eau et des comités de bassin pour chacun des bassins hydrographiques, établissement du principe pollueur-payeur, efforts de réduction des pollutions industrielles et urbaines assorties d'un réseau de mesure) et soulignait sa vulnérabilité particulière. En 1990, une liste des 36 xénobiotiques prioritaires a été établie par Jensen&Slorach, comprenant ces 13 pesticides non cités dans la *dirty dozen* (tableau 1). Ils ont été interdits dans les pays occidentaux dans les années 1970 (1972 pour la plupart d'entre eux en France). La loi du 3 décembre 1992 voit la généralisation de l'épuration des effluents, de la contrainte et de l'aspeption « milieu aquatique », englobant désormais les zones humides. Les Schémas Directeurs d'Aménagement et de Gestion des Eaux (SDAGE) mis alors en place ont pour objectif de limiter les pollutions diffuses. Les pesticides en milieu agricole sont la cible déclarée de cette loi. Le dispositif législatif s'est trouvé renforcé par la Directive Cadre Européenne sur l'eau d'octobre 2000. Elle résume, rappelle et amplifie la trentaine de directives sur l'eau émises par l'Europe depuis 1970. Son objectif vise à atteindre le « bon état écologique des milieux aquatiques en 2015 ». La nouvelle réglementation européenne sur les substances chimiques (REACH) a été adoptée en décembre 2006. L'acronyme REACH correspond à « Enregistrement, évaluation, autorisation et restrictions relatifs aux substances chimiques ». Le règlement (CE) n° 1907/2006 et la directive 2006/121/CE amendant la directive 67/548/CEE ont été publiés au Journal officiel le 30 décembre 2006. REACH est entrée en vigueur le 1er juin 2007. Les entreprises qui produisent ou importent plus d'une

tonne d'une substance chimique par an, y compris les pesticides, devront l'enregistrer dans une base de données centrale gérée par la nouvelle agence européenne des produits chimiques (basée à Helsinki). Cette agence mettra à disposition des outils informatiques et des orientations tandis que les États membres proposeront un service d'assistance aux sociétés concernées. Cette directive renverse la charge de la preuve : les producteurs privés des molécules doivent prouver leur innocuité et non les services et laboratoires des autorités sanitaires publiques.

5. Contamination du milieu aquatique

Le milieu aquatique est caractérisé par la longueur de ses chaînes trophiques. Du producteur primaire jusqu'au super prédateur, environ 6 échelons trophiques sont franchis. Aussi, les phénomènes de contamination les plus critiques ont-ils toujours été observés dans des réseaux trophiques intimement ou intégralement associés au milieu aquatique, tant en relation avec la colonne d'eau qu'avec le benthos.

5.1. Contamination de l'eau

La contamination de l'eau traduit un mélange complexe entre l'eau proprement dite, ses solutés et les particules en suspension. La pollution de l'eau par les pesticides a fait l'objet d'un très grand nombre de publications techniques et scientifiques décrivant l'état phytosanitaire de milieux très divers au travers de ce prisme (Eke *et al.*, 1996, Götz *et al.*, 1998, Konstantinou *et al.*, 2005, Barth *et al.*, 2007, Garmourma *et al.*, 1997, Blanchoud *et al.*, 2004).

La contamination de l'eau par les herbicides dépend des aléas climatiques induisant l'intensité du ruissellement et de l'usage du bassin versant et donc de la période de l'année conditionnant (Garmourma *et al.*, 1996) l'état du sol (nu ou non) et des cultures en place (stade de développement...) (Weber *et al.*, 2007).

Les publications de l'Organisation Mondiale de la Santé sur les pesticides recensent les contaminations maximales avérées de même que les seuils admissibles, molécule par molécule. La contamination par les organochlorés semble en régression dans les pays développés suite à une énergique campagne d'interdiction et de sensibilisation dans les années 1970 et 1980. Par contre, l'inefficacité de molécules insecticides de substitution provenant des pays au climat tempéré utilisées dans les pays tropicaux induit à les employer de nouveau. La

contamination par les herbicides conventionnels semble, au vu de la 3eme édition du rapport « Chemicals in drinking water » de l’OMS, sous contrôle relatif.

Konstantinou *et al.*, 2005 proposent la plus exhaustive revue bibliographique de la contamination des cours d’eau d’Europe par les herbicides majeurs entre 1988 et 2000. Ils s’attachent à la caractérisation de la contamination de cours d’eau grecs aux vues de leurs équivalents européens. L’étude considérée relève des épisodes de pollution importants pouvant dépasser les limites sanitaires de potabilisation de l’OMS. Les herbicides contribuent donc parfois fortement à la pollution globale des eaux. Sur l’Humber, House *et al.* (1997) relèvent ainsi plus de 8,7µg/L de diuron en 1995, Cerejeira *et al.* (2003) rapportant quant à eux 4,8µg/L sur la Sado en 1999 et Griffini *et al.* (1997), sur l’Arno, 3,68µg/L de metolachlor en 1995. En France, les études sur la Marne ont permis d’observer 1,3µg/L d’atrazine et 1,54µg/L de terbuthylazine, seulement dépassé par l’Arno (étude précédemment citée, 2.27µg/L).

5.2. Contamination du sédiment

La contamination des sédiments par les pesticides organochlorés, dont le protocole de quantification est établi de longue date, a permis un grand nombre d’analyses tant en investigations spatiales des continents (en Pologne par Niemirycz *et al.*, 2005, en Belgique par Covaci *et al.*, 2005, en Italie par Camusso *et al.*, 2002 puis Vigano *et al.*, 2003 ou en Espagne par Peris *et al.*, 20005 qu’au Canada par Marvin *et al.*, 2004) qu’en étude des domaines océaniques (Pavoni *et al.*, 2000, Mwevura *et al.*, 2002). La liste exhaustive serait sans intérêt. Les études sur la contamination des sédiments par les pesticides organochlorés en France sont rares et essentiellement littorales (Wafo *et al.*, 2006).

Malgré la diversité des contaminations, une concentration en organochlorés des sédiments de surface comprise entre 1 et 15ng/g semble la norme (Peris *et al.*, 2005) ce qui n’invalide pas des constats anciens de valeurs bien plus élevées. Agarwall *et al.* (1986) observaient, dans les sédiments de la rivière indienne Januna, 5630ng/g de DDT total. Smokler *et al.* (1979), quant à eux, mentionnent une concentration équivalente ayant atteint 0.1mg/g à Palos Verdes (Californie). Les molécules d’organochlorés présentent une rémanence et une lipophilie élevées. Ces critères autorisent l’analyse sédimentaire au travers de carottes.

Les s-triazines ont été analysées dans les sédiments (Noppe *et al.*, 2007) grâce à leur relative robustesse autorisant des procédés d’extraction stringents.

La contamination du sédiment *sensu stricto* par les herbicides (s-triazines exclues) n'a été approchée pour l'instant que par trois publications : Gao *et al.*, 1997, Muller *et al.* 2000 et Moore *et al.*, 2007.

Les études réalisées ont porté sur des drains (Müller *et al.*, 2000) et de petits bassins versants, se concentrant sur l'exploration de la contamination sans en donner un résultat à l'échelle géographique. Les concentrations maximales observées se sont avérées comprises entre 0,01 et 0,001µg/g.

II HERBICIDES ET ENVIRONNEMENT

La contamination des eaux par les pesticides est impliquée dans près d'un quart des cas de non conformité des eaux destinées à l'alimentation humaine (IFEN, 2002). L'IFEN, en 2004, avançait que 80% des eaux de surface et 57% des eaux souterraines analysées présentaient des concentrations en phytosanitaires supérieures au seuil de potabilisation et induisaient la perturbation du milieu aquatique. Parmi ceux-ci, les plus abondamment usités dans les pays développés sont les herbicides. Ces molécules ont un vaste spectre d'usage les rendant ubiquistes puisqu'elles sont employées tant pour l'acquisition de denrées que pour le confort. Au sein de cette classe des herbicides, plusieurs groupes de molécules sont distingués sur la base de leur séquence d'usage, correspondant par ailleurs bien souvent à une proximité chimique. Les plus critiques sont les herbicides de pré-levée, c'est-à-dire ceux utilisés sur sol nu pour empêcher ou limiter l'apparition d'adventices avant la germination des semences. Ces produits sont utilisés seuls (période hivernale) ou en mélange (printemps) suivant le démarrage des cultures mais aussi la croissance des plants. Ils sont donc particulièrement exposés à l'exportation de la parcelle nue vers le milieu naturel lors des pluies hivernales et surtout printanières, génératrices de crues.

1. Présentation des molécules

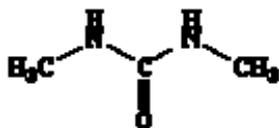
La présente thèse a pour objectif d'étudier les herbicides de pré-levée de trois familles : Les s-triazines, les urées substituées et les anilides. Les formules développées des herbicides d'étude sont dans l'annexe 1. La table II-1 fournit les caractéristiques physico-chimiques de quelques molécules de ces familles.

1.1. s-Triazines



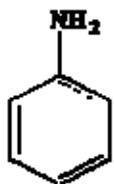
Nom générique donné aux molécules ayant un cycle à six chaînons contenant trois atomes d'azote. Le cycle doit comporter également au moins une liaison double. Les hydrogènes du cycle ou liés aux atomes d'azote peuvent être substitués par d'autres atomes, par des chaînes ou par des cycles. Les s-triazines se doivent à la symétrie du cycle benzénique : un atome de carbone est ainsi intercalé entre chaque atome d'azote.

1.2. Urées substituées



Nom donné aux molécules renfermant un groupe urée (qui peut se trouver à l'intérieur d'un cycle) dont les atomes d'hydrogène liés aux atomes d'azote peuvent être substitués (d'où leur nom) par d'autres atomes, par des chaînes ou par des cycles ou constituer un cycle.

1.3. Anilides



Nom générique donné aux molécules renfermant un noyau benzénique dont un atome d'hydrogène est substitué par un groupe amino (NH₂). Les atomes d'hydrogène liés à l'atome d'azote et au cycle peuvent être substitués par d'autres atomes, des chaînes ou des cycles. Les deux hydrogènes de l'azote peuvent être substitués par un cycle (troisième molécule). Par extension, si les deux atomes d'hydrogène sont substitués par un lien double avec un autre atome de carbone, ce qui constitue une fonction imine, la molécule est acceptée dans la famille des anilides.

Table II-1 : Caractéristiques physico-chimiques des molécules d'étude d'après le Pesticide Action Network (2006).

	Solubilité (mg/l)	Koc	1/2 vie hydrolyse (j)	1/2 sol aérobie (j)	1/2 vie sol anaérobie (j)
Atrazine	32	93	30	146	159
Simazine	6	340	28	110	71
Cyanazine	155	188	3680	15	108
Linuron	77	341	262	22	102
Diuron	36	499	1285	372	995
Metolachlor	480	185	200	384	60,5
Alachlor	200	131	30	20	5

2. Mode d'action des herbicides d'étude

Le processus engendrant le caractère phytotoxique de ces trois familles est exposé dans le détail dans tissu *et al.*, 2006. **Les s-triazines et les urées substituées** ont pour cible la sous-unité d1 du photosystème II (protéine membranaire). Ce photosystème est particulièrement

représenté dans la chlorophylle *b*. Les effets sont associés à son fonctionnement et ne s'observent donc qu'à la lumière. La neutralisation de la sous-unité induit une dispersion des électrons générés par le photosystème II, ce qui a pour effet de minimiser son rendement mais surtout de provoquer l'apparition d'un ion super oxyde, à l'origine d'un stress oxydatif destructeur pour les macromolécules environnantes.

Les anilides sont des inhibiteurs cytosoliques des élongase et des enzymes de cyclisation du geranyl-geranyl pyrophosphate, molécule nodale de la synthèse des acides gras, terpènes, terpénoïdes et protéines portant à leur tour le motif geranyl-geranyl.

Au demeurant, la malherbologie méconnaît encore grandement les effets réels des molécules actives, notamment parce que les constats symptomatiques peuvent s'avérer dépendre de plusieurs processus distincts. Indépendamment de leur mode d'action individuel, le dispositif légal actuel favorise les mélanges dans l'usage agricole. Dans le cadre de ces épandages multiples, les données sont rares et parcellaires. pesticideinfo.org/index.html compile les effets connus des herbicides.

3. Dispositions légales

Les s-triazines sont caractérisés par une action privilégiée sur les cultures de Maïs. En effet, le Maïs sait métaboliser rapidement l'atrazine, molécule phare de cette famille. La demi-vie de l'atrazine est importante mais moindre que certaines autres s-triazines. Cependant, l'emploi généralisé et massif de l'atrazine tout autant que sa rémanence lui ont valu d'être interdite. La simazine, molécule très proche créée pour pallier les défauts de l'atrazine, l'a été également ainsi que la cyanazine et la terbuthylazine (cette dernière molécule sous réserve). Cette famille est donc presque intégralement interdite à l'usage depuis le 1^{er} octobre 2003 mais la rémanence des produits nous permettra de suivre leur disparition dans les sédiments. Seule l'hexazinone est encore libre d'usage. Enfin la sebuthylazine n'est pas employée sur le bassin versant. Mais, suite à l'interdiction d'autres s-triazines, son usage pourrait apparaître, aussi a-t-elle été sélectionnée.

Les urées substituées, autre famille de pesticides, sont en voie de limitation (diuron, chlortoluron, isoproturon). Leur usage devrait se maintenir jusqu'en 2007, date de la prochaine réévaluation. Ces produits devraient permettre d'observer le comportement de pesticides considérés comme sensibles dans l'environnement et notamment vis-à-vis du réseau trophique. Leur usage est principalement notable sur les céréales d'hiver (Blé...).

Enfin, les anilides ne sont soumis à aucune limitation d'usage ni aucune interdiction. Ils sont employés sur le Colza et, culture bien plus représentée dans le bassin considéré, le Maïs. C'est à ce titre qu'ils furent considérés comme une alternative aux s-triazines devenues illégales

4. Transfert des herbicides dans l'environnement

Le devenir des herbicides dans le sol dépend fondamentalement de la capacité de transfert de chaque matière active. Elle conditionne leur mobilité, rétention et biodisponibilité (figure II-1). Mobile, la molécule pourra circuler entre les compartiments, eau, sol ou sédiment, air et biota. Sa capacité d'adsorption (sur un sol ou un sédiment) accroîtra sa rémanence et donc la pollution à long terme tant des sols que des eaux souterraines (Dur *et al.*, 1998), limitant la portée des tentatives de dépollution en les renchérissant et en les rendant plus longues (Söderdren, 1984).

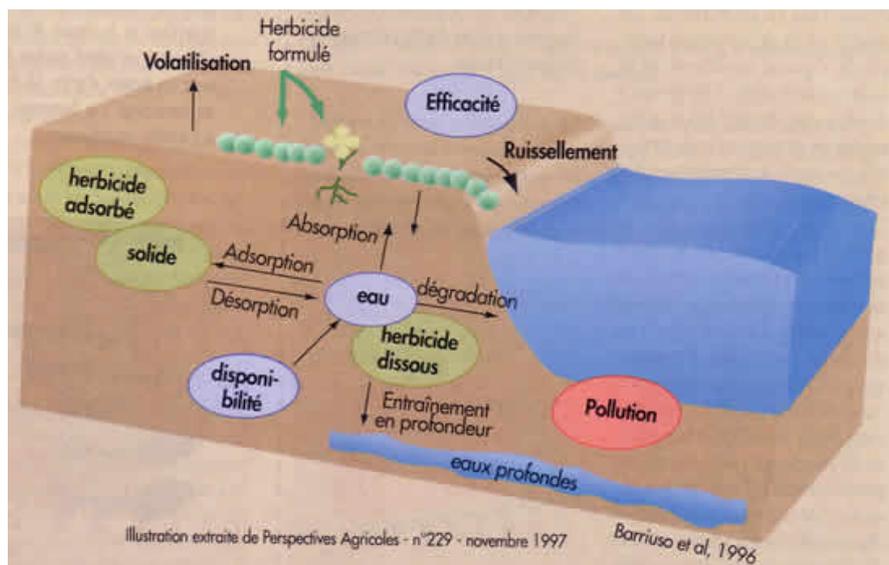


Figure II-1 : Processus et transfert des pesticides dans les sols (Barriuso *et al.*, 1996)

Suivant la méthode et les conditions extérieures, entre 0 et 23% de la dose mise au champ par aspersion est appliquée efficacement sur la plante traitée. La valeur communément admise est inférieure à 0,3% (Pimentel, 1995). Sur les 2,5 millions de tonnes épandues chaque année sur Terre, 2,49 millions sont donc « perdues », soit 0,399kg/hectare. Gouy *et al.* (2001) fournissent une estimation plus récente évaluant à 5-10% les quantités absorbées par les plantes, soit une perte de 0,36kg/hectare.

4.1. Transfert des herbicides

4.1.1. Vers l'atmosphère

Entre 50 et 90% des pesticides sont soit *évaporés soit volatilisés* (Perfect, 1980). Pour les herbicides actuels, 15% de l'application à la parcelle est volatilisée (Gouy *et al.*, 2001). Entre 20 et 22% le sont à même la plante et 50 à 68% directement à partir du sol ou sous forme d'aérosols. La volatilisation, avant tout, est accrue par des conditions thermiques élevées et l'absence de précautions.

Ce phénomène est donc particulièrement marqué dans les zones tropicales (Perfect, 1980). La volatilisation lors du traitement à partir du sol, pollution autant que perte onéreuse pour l'agriculteur, s'est vue fortement diminuée par l'utilisation de pesticides sous formulation solide et l'élaboration de machines d'épandages minimisant les pertes de matières actives. La volatilisation peut ainsi être réduite à 3% des molécules actives sur des brouillards (atrazine et simazine, Koreta, 1996).

Le devenir de ces molécules une fois dans l'atmosphère reste sujet à caution. Fortement exposées à la photolyse et, dans une moindre proportion, à des gaz astringents (ozone), elles peuvent y être détruites mais peuvent contribuer sinon à une contamination à grande échelle (organochlorés dans les neiges pyrénéennes, Carrera *et al.*, 2001).

4.1.2. Vers les eaux

4.1.2.1. Eaux de nappe

La fraction extractible à l'eau pourra subir le *lessivage* déterminé par plusieurs paramètres comme la nature du sol, la sorption de chaque matière active et la durée séparant le traitement et les premières pluies (Gish *et al.*, 1991). Les formulations commerciales cherchent à réduire le lessivage afin de permettre à la molécule de se maintenir le plus longtemps possible dans l'horizon superficiel du sol pour prolonger leur durée d'action. Il resterait environ 90 à 95% de la dose dans les 30 premiers centimètres du sol (Barruio *et al.*, 1996). Dans ces conditions, le lessivage est donc réduit. En 1988, Albanis *et al.* ont estimé la fraction lessivée entre 0,47% (sol limono-sableux) et 0,66% (sol limoneux) de la dose appliquée.

Sur un sol non travaillé (prairie), le sol est recouvert de matières organiques riches en micro-organismes capables de métaboliser les pesticides. Cependant, il est structuré par des fissures correspondant aux chemins préférentiels de l'eau facilitant le drainage (Cessna & Elliott, 2001 ; Elliott & Cessna 2001). Au contraire, le champ, nu ou non, présente un couvert de matières organiques moindre mais le labour permettrait de déstructurer le sol et d'éliminer les chemins préférentiels, diminuant ainsi le drainage (Baker, 1992). L'interaction de la

pédofaune sur le transfert des herbicides est approchée par Kersanté (2003) qui s'est intéressée à l'impact de Lombricidés sur le lessivage de l'atrazine. Elle met en exergue la promotion de l'hétérogénéité spatiale et structurelle du fouissage et l'augmentation de la capacité de rétention d'un sol remanié par la faune édaphique. Comme les galeries offrent une source d'azote par rétention des engrais, les micro-organismes y sont cependant moins enclins à chercher l'azote dans les molécules étudiées, ce qui limite la biodégradation.

Le lessivage est donc un processus de transfert qui intègre de nombreux paramètres. Gustafson (1989) a introduit dans une équation le coefficient GUS (groundwater ubiquity score) pour qualifier le comportement des molécules actives, faisant intervenir leur dégradation et leur adsorption. Un GUS inférieur à 1,8 correspond à une molécule peu mobile, une molécule au GUS supérieur à 2,8 est très mobile tandis qu'un GUS compris entre 1,8 et 2,8 définit une molécule de mobilité intermédiaire. Les molécules au GUS élevé comme l'atrazine (GUS de 3,2) ont donc une mobilité telle qu'elles peuvent contaminer les eaux.

4.1.2.2. Eaux de surface

La possibilité de transfert d'un pesticide du sol vers les eaux de surface dépend essentiellement de sa disponibilité dans le sol au cours du temps. Elle est conditionnée en grande partie (i) par les phénomènes de rétention et de transformation chimique et biologique (Barruio *et al.*, 1996) et (ii) par la dynamique de l'eau en surface, c'est-à-dire l'intensité et la durée de la pluie (Schaller&Bailey, 1983).

Le **ruissellement** survient lorsque l'intensité des pluies dépasse la capacité d'infiltration du sol. Les molécules peuvent alors être exportées dissoutes ou adsorbées sur des sols érodés. D'après Wauchope (1978), celles qui ont une solubilité inférieure à 2mg/L sont essentiellement transportées sous forme particulaire et celles dont la solubilité est supérieure à 10mg/L le sont en solution. Leonard (1990) estime à 2% le ruissellement moyen d'une parcelle tandis que Bro-Rasmussen (1996) envisage que le ruissellement soit compris au maximum entre 0,5 et 5%. Plusieurs paramètres déterminent le ruissellement : la nature du sol, la sorption de chaque matière active et la durée séparant le traitement et les premières pluies. Il est compris entre 0,4 et 30% suivant le sol et la molécule (Gouy, 1993) mais peut atteindre 90% suite à des pluies violentes sur des parcelles juste traitées (Louchart *et al.*, 2000). Il faut noter que le ruissellement moyen peut être bien plus important sur des surfaces imperméables comme des dalles de ciment, de béton et d'asphalte. D'après Blanchoud *et al.*

(2004), le ruissellement est de l'ordre de 40% à 100% en fonction des herbicides. La dégradation étant fortement minorée par l'hostilité de ces milieux, la volatilisation et la photolyse sont, dès lors, les deux autres voies de transfert ou de réduction quantitative des pesticides (Blanchoud *et al.*, 2004).

4.1.2.3. Vers les cours d'eau

L'enrichissement des cours d'eau en pesticides se fait majoritairement par voie atmosphérique (pluies...) à moyenne et longue distance (53%) contre seulement 8% par transport éolien courte distance et 5% par des voies mineures comme la condensation (serres) et les aspersions accidentelles. Environ 35% des herbicides présents dans les cours d'eau sont issues des nappes contaminées par le lessivage des parcelles, au travers des sédiments. La modélisation du transfert des pesticides de la parcelle à la rivière jouit d'une abondante littérature couvrant des aspects globaux (Steen *et al.*, 2002 ; Scheringer *et al.*, 2004 ; Gärdenas *et al.*, 2006) mais proposant aussi des interprétations plus spécifiques par molécules (diuron pour Louchart *et al.*, 2000 ou metolachlor pour Novak *et al.*, 2004) ou encore associées à la nature même de la rivière (Dabrowski *et al.*, 2006). Cette modélisation permet d'évaluer l'influence relative des dispositifs (bandes enherbées...) et des précautions d'usage (délai avant ondée, déclivité des parcelles...) en fonction des molécules actives appliquées.

Il faut au demeurant noter que les aménagements humains (chaussées, retenues) ne sont pas sans effet sur la qualité des eaux de surface (Carluer&De Marsily, 2004). Ils facilitent tantôt le drainage, tantôt l'accumulation et la prolifération de phanérogames surtout en zones eutrophisées. L'étude met en avant combien l'artificialisation des cours d'eaux peut avoir un impact décisif sur le comportement de la rivière.

4.1.3. Dans les sédiments

Les polluants de l'eau se répartissent suivant leurs caractéristiques physico-chimiques (thiolooprivité pour les métaux, lipophilie pour les molécules hydrophobes, surface spécifique disponible pour tous), tantôt dans la stricte fraction liquide tantôt sur les particules solides entraînées par le flux (Kharitchov, 1979, Koelmans *et al.*, 1996 ; Crane, 2003, Weber *et al.*, 2004 ; Chefetz *et al.*, 2004 ; Boivin *et al.*, 2005). Celles-ci peuvent se déposer et constituer le sédiment. Réversible mais suivant une diversité de temporalité, ce phénomène associé directement à la vitesse de l'eau peut conduire, dans les zones de sédimentation, au stockage temporaire ou définitif des contaminants de ces particules. Cette décantation rassemble donc les vecteurs de pollutions anthropiques dans le même compartiment, ce qui a aussi pour effet

de les concentrer dans l'espace mais aussi dans le temps : le sédiment est donc une matrice plus intégrative que l'eau qui ne peut traduire qu'une contamination instantanée. Heppell&Chapman (2005) soulignent combien le sédiment peut être plus contaminé que le sol sur jacent, notamment dans le cadre d'une contamination lente mais continue du milieu aquatique (« non-point source », N.P.S.). La remise en suspension et le charriage amènent le sédiment à dévaler à une vitesse moyenne bien inférieure à l'eau. Pour autant, cette vitesse peut être fortement accrue jusqu'à lui être similaire en fonction des conditions hydrodynamiques. C'est ainsi que les événements de crue peuvent emporter le résultat de décennies de décantation sur des centaines de kilomètres en quelques heures ou jours. Coynel (2005) signale ainsi que la crue cinquantennale du Lot de décembre 2003, ayant exigé l'ouverture de tous les barrages sur cette rivière, a emporté l'essentiel de la charge sédimentaire déposée derrière les ouvrages, ce qui constitua un apport d'environ 6 tonnes de cadmium sur l'estuaire de la Gironde. Certaines activités humaines mobilisant le sédiment (constructions, draguages, extraction de granulats) peuvent aussi remettre en suspension de grandes quantités de polluants en même temps que le sédiment connexe (Carpentier *et al.*, 2002).

Il n'en reste pas moins que, par sa nature même, le sédiment solide est en contact intime et saturant avec l'eau qui le baigne. Ce phénomène peut s'assimiler à un lessivage constant. De ce fait, les pesticides qui vont s'y trouver seront associés fortement à la matrice, constituant *a minima* une fraction non extractible à l'eau et, par extension, peu aux solvants polaires (méthanol). Il s'agit donc essentiellement d'une fraction extractible par des solvants apolaires et hydrophobes (dichlorométhane, hexane) ou considérée comme liée, donc défavorable à la dégradation des herbicides associés à cette matrice. *A contrario*, l'estimation du lessivage au sein de cette matrice gorgée d'eau reste difficile : le sédiment est autant en contact avec l'eau courante qu'avec l'eau de nappe qui sourd à travers lui. Enfin, le sédiment est une matrice où les pesticides de pré-levée sont très peu étudiés. Les analogies avec les processus ayant lieu sur le sol ne sont pas nécessairement valides : Baer (1996) montra qu'à une température de 28°C, un taux d'humidité élevé (90% de saturation en eau) favorisait l'élimination du diuron et de la simazine dans le sol, alors qu'une sécheresse relative (50% de saturation en eau) ne le permettait pas. Ces résultats laissent supposer que dans le sédiment (milieu saturé en eau) la microflore pourrait être plus active que dans un sol. Les données acquises sur le sol sont-elles transposables au sédiment ? Quels processus prédominent entre la dégradation facilitée et la plus forte adsorption des herbicides aux particules sédimentaires ?

Au sein du sédiment, l'eau est omniprésente. Elle baigne la matrice qui est donc extraite en permanence, au moins dans les échantillons de surface. Une concentration observée dans le sédiment est donc attribuable à des molécules non extractibles par l'eau. Cela ne signifie pas pour autant que la solubilité ou l'hydrophilie soit un critère de sélection suffisant pour déterminer quel pesticide s'y trouve.

4.2. Disparition des herbicides

Si le transfert des pesticides peut nous indiquer vers où les molécules vont migrer, une description de l'évolution des pesticides dans l'environnement ne serait complète qu'en intégrant leur transformation progressive jusqu'à leur disparition. Ce phénomène est normalisé sous la forme de DT50 (ou temps de demi-vie) et dépend du sol, du processus étudié (hydrolyse, thermolyse...) et des pesticides eux-mêmes.

Dans les sols neutres à basique, la biodégradation prédomine ($\text{pH} > 5,5$). Elle dépend de la structure chimique de l'herbicide, du type de sol (texture, teneur en matière organique, activité microbienne, pH) et des facteurs environnementaux (humidité et température vis-à-vis du metolachlor, Walker&Zimdahl, 1981).

Dans un sol acide ($\text{pH} < 5,5$), l'hydrolyse chimique prédomine (Best&Weber, 1974 ; Walker *et al.*, 1989). Elle peut être accélérée par des molécules constitutives du sol agissant comme des catalyseurs tels le Fer (III) et des chlorures d'aluminium envers le DDT.

La photodégradation n'affecte les herbicides que de façon marginale. Elle n'intéresse principalement que deux grandes familles d'insecticides : les carbamates (en présence d'un solvant polaire, comme l'eau) et les pyréthrénoïdes (rupture du cyclopropane). Considérée au départ comme un défaut, cette faculté est devenue un atout commercial pour ces molécules. En effet, elles ont une toxicité intense (près de trois fois plus toxique que les organochlorés) mais de courte durée, évitant ainsi la contamination des sols et des réseaux trophiques.

La photodégradation des urées et des s-triazines a été caractérisée par Lanyi&Dinya (2005) qui soulignèrent alors la vulnérabilité des chaînes latérales aux ultraviolets (UV) à leur substitution par des hydroxyles. Pour les s-triazines, le cycle perd ainsi ses chaînes alkyl tandis que, pour les urées substituées, la dégradation dépend de la proximité des groupements aryl et méthyl par rapport aux atomes d'azote. Même le DDT est susceptible d'être dégradé par la lumière et notamment les rayonnements UV (Fournier, 1988).

Les herbicides étudiés sont des molécules de synthèse sensibles à *l'hydrolyse*. La demi-vie des matières actives sous la seule action de l'eau est moins étudiée que la dégradation des herbicides dans les sols. Elle est catalysée sous certains pH, à la lumière mais aussi en présence de matière organique. Armstrong *et al.* (1987) ont démontré que l'adsorption par liaison hydrogène de l'atrazine sur des particules de sol diminuait sa demi-vie d'hydrolyse. Le rôle des acides faibles dus aux protons à la surface des argiles peut y jouer un rôle déterminant. Il s'agit de la seule réaction chimique pouvant se produire en l'absence de micro-organisme (Guimont, 2004).

L'oxydation des pesticides peut avoir lieu, initiée par l'irradiation ultraviolette, comme il l'a été montré *in vitro* (Guimont, 2004).

Un grand nombre de réactions chimiques peuvent exister sans hydrolyse. Pour autant, leur nombre et les conditions de leur réalisation sont si divers qu'une liste exhaustive serait vaine.

Observée dès 1966 par Dalton *et al.*, *la biodégradation* aérobie intéresse les micro-organismes qui peuvent amener à la métabolisation des pesticides. Tel est le cas par exemple dans un sol à température ambiante (Ellis&Camper, 1982). Les Bactéries, Actinomycètes et Champignons peuvent hydrolyser les groupements amides. Bactéries, Mycètes et micro-algues sont capables de dégrader les molécules organiques. Une dégradation plus rapide peut être observée dans un sol traité souvent avec la même matière active (Hamaker, 1972). Garmouma *et al.* (1997) ont estimé que la biodégradation expliquerait 50 à 60% de la disparition globale des s-triazines et des urées substituées dans le milieu.

Cette dégradation ne se réalise que sur la fraction extractible à l'eau qui est vulnérable aux processus tant biotiques (dégradation) qu'abiotiques (hydrolyse, volatilisation) (Barruio *et al.*, 1996). Les cinétiques observées sur le 2,4-D par Guy Soulas et ses collaborateurs mais aussi par Memic *et al.* (2005) sur herbicides ou Thompson *et al.* (1992) permettent de mieux comprendre la dégradation de ces herbicides dans un milieu strictement aqueux. Memic *et al.* (2005) ont établi la courbe de pourcentage de disparition d'herbicides (hexazinone, metribuzin, metobromuron et propachlor) en fonction du temps et ont obtenu une sigmoïde comprenant un plateau caractérisant un seuil asymptotique au-delà duquel la disparition cesse ou se fait à une vitesse imperceptible. Ils ont mis en évidence que les cultures microbiennes non adaptées à la présence des phytosanitaires les dégradent dans une moindre mesure et après un temps d'induction plus long que les cultures adaptées (deux fois plus long pour hexazinone d'après Memic *et al.*, 2005). D'après Lauga *et al.* (2007), l'apport massif et

continu d'un ou plusieurs herbicides sur un sol déséquilibrerait les populations microbiennes et sélectionnerait les plus aptes à les dégrader ou les moins sensibles.

4.3. Herbicides non mobilisés ou « liés »

De 7 à 20% des matières actives sont *directement incorporées aux sols*, et de 3 à 5% le sont par transfert à partir des racines et de la fumure. De 40 à 90% de cette dernière fraction pourra à son tour être volatilisée.

Il restera donc une partie des pesticides dans le sol. Cette fraction est dite non extractible ou liée. Lors du premier épandage, ces résidus liés correspondent à 15 à 30% de l'application mais cette proportion baisse lors des épandages suivants (Kahn, 1982). L'auteur rapporte qu'au troisième passage, 5% seulement des pesticides s'y lient fortement.

Connus pour être une matrice propice à l'accumulation de polluants métalliques et organiques hydrophobes rémanents (POPs), les sédiments s'avèrent donc également une matrice intégrative des molécules plus hydrophiles comme les herbicides de type s-triazines, urées substituées et anilides ($K_{ow} \approx 3$).

Le devenir du 2,4-D dans le sol a fait l'objet d'une abondante littérature depuis Soulas, 1982. Cet herbicide auxinique est plus soluble et plus hydrophile encore que les herbicides étudiés dans la présente thèse mais fournit par défaut une analogie intéressante avec les plus hydrophiles et les plus solubles des molécules étudiées moins documentées (hexazinone...). Lerch *et al.* (2007) ont étudié son interaction avec le sol et ont démontré que 3 à 8 jours suffisent pour que les liens d'hystérésis s'établissent entre les herbicides et le sol. Pour cette molécule sur laquelle repose notre analogie *a maxima* de solubilité et d'hydrophilie des herbicides étudiés, et donc par là même faiblement exposée aux interactions hydrophobes, les résidus non extractibles représentent en moyenne 50% (de 30% à 90% suivant les conditions) de la dose appliquée à la parcelle (Barruiso *et al.*, 1996 ; Lerch *et al.*, 2007). Les résidus extractibles à l'eau ne représentent plus que 1% du 2,4-D présent dans le sol au bout de 15 jours. La minéralisation (volatilisation) d'environ 50% du 2,4-D dans ce délai est observée et continue dans le sol jusqu'à atteindre 60% de la dose au bout de 6 mois (fin de l'étude, Lerch *et al.*, 2007). Aussi, la part extractible se résume t'elle à une portion congrue mais issue d'un équilibre entre le lié et le libre.

5. Etude de cas

Chaque herbicide a ses caractéristiques physico-chimiques propres. De même, chacun présente une vulnérabilité spécifique envers les diverses conditions biotiques et abiotiques qu'il pourra connaître dans l'environnement. Le devenir de chaque molécule active dépend donc de facteurs si nombreux qu'il s'avère actuellement impossible de tous les appréhender pour chacune.

Les herbicides de pré-levée comprennent des matières actives ayant intéressé les praticiens et, de ce fait, les scientifiques. Deux parmi les plus fameuses jouissent d'une abondante littérature et ont été choisies pour présenter le devenir d'herbicides : l'atrazine et l'isoproturon.

5.1. Atrazine

L'atrazine est la molécule-phare de la famille des s-triazines. Elle partage de très fortes similitudes quant à sa structure chimique avec la simazine et la sebuthylazine. L'atrazine est essentiellement un herbicide de pré-levée (en post-semis) du Maïs. Cet usage de l'atrazine est relativement spécifique : Tissot *et al.* (1992) ont expliqué la grande tolérance de cette céréale vis-à-vis de ce produit phytosanitaire. Les traitements en post-levée complètent l'application.

Sa popularité auprès des agriculteurs a induit une abondante littérature à son propos. Sur un sol hydromorphe limono-argileux, son coefficient de partage entre le sol et l'eau (Kd) est de 0,66 L/kg en surface mais décroît avec la profondeur : le Kd est de 0,12 L/kg à un mètre de profondeur (Mrlina *et al.*, 1992). Dans un sol limoneux, un maximum de 1,71 L/kg a été observé en surface tandis que le Kd en profondeur était de l'ordre de 0,45 L/kg (Barrueto *et al.*, 1994). De ce fait, l'atrazine a tendance à être lessivée et est un contaminant important des eaux souterraines. Cependant, pour la même raison, l'atrazine est peu susceptible de ruisseler. L'atrazine est une molécule peu volatile. Schiavon *et al.* (1992) ont estimé la volatilisation de l'atrazine à seulement 3% de la dose à la parcelle.

La dégradation de l'atrazine peut être observée en condition abiotique et biotique. Ainsi, la dégradation abiotique est surtout liée à l'hydrolyse de la molécule en milieu acide, aboutissant à une hydroxylation supplétive de l'atome de chlore. Elle commence par une protonation de l'atome d'azote cyclique intercalé entre les deux radicaux, puis par la réaction induite par l'eau, libérant le chlore (Cl⁻) et le proton précédemment associé à l'azote cyclique (Armstrong *et al.*, 1967). La dissociation de la molécule d'eau fournit le groupement -OH remplaçant

l'atome de chlore, et un proton. La réaction produit donc deux protons, aptes à induire une réaction en chaîne.

La dégradation biotique est le fait de micro-organismes (bactéries, mycètes et micro-algues) trouvant dans ces molécules des sources d'azote (Kaufman & Kearney, 1970). Le processus commence majoritairement par une N-déalkylation par dé-isopropylation (conduisant au dé-isopropylatrazine ou DIA) ou une dé-éthylation (conduisant au déséthylatrazine ou DEA). Le détail de deux chemins métaboliques aboutissant à la dégradation de l'atrazine est fourni en figures II-2 et II-3. Ces deux composés ont tout deux une tendance moins marquée à l'adsorption et sont donc retrouvés dans les eaux de nappes.

La bio-disponibilité des résidus liés d'atrazine a été évaluée par ré-incubation dans un sol (Loiseau, 2001). La capacité de la microflore du sol à minéraliser l'atrazine pilote les quantités de résidus liés formés (de 10 % de l'apport initial pour un sol avec une microflore adapté à la minéralisation de l'atrazine, jusqu'à 41 % pour un sol non adapté). Les paramètres physico-chimiques des sols et des produits de dégradation de l'atrazine influencent la nature des résidus qui se stabilisent sous forme de résidus liés (de 15 à 23 % des résidus liés totaux sont des métabolites hydroxylés de l'atrazine pour les sols basiques, et de 36 à 43 % pour les sols acides). De 20 à 30 % étaient supposés piégés physiquement, et de 20 à 30 % supposés liés chimiquement. Enfin, de 18 à 32 % étaient bio-disponibles suite à une déstructuration du sol. L'atrazine est actuellement interdite (décret d'application du 31 septembre 2003) notamment à cause de son impact sur les eaux souterraines.

Les cinétiques de volatilisation de l'atrazine à partir du sol ont été étudiées par Cherif (1997) et Jaunky (2000). Se reporter à ces deux thèses pour plus d'information.

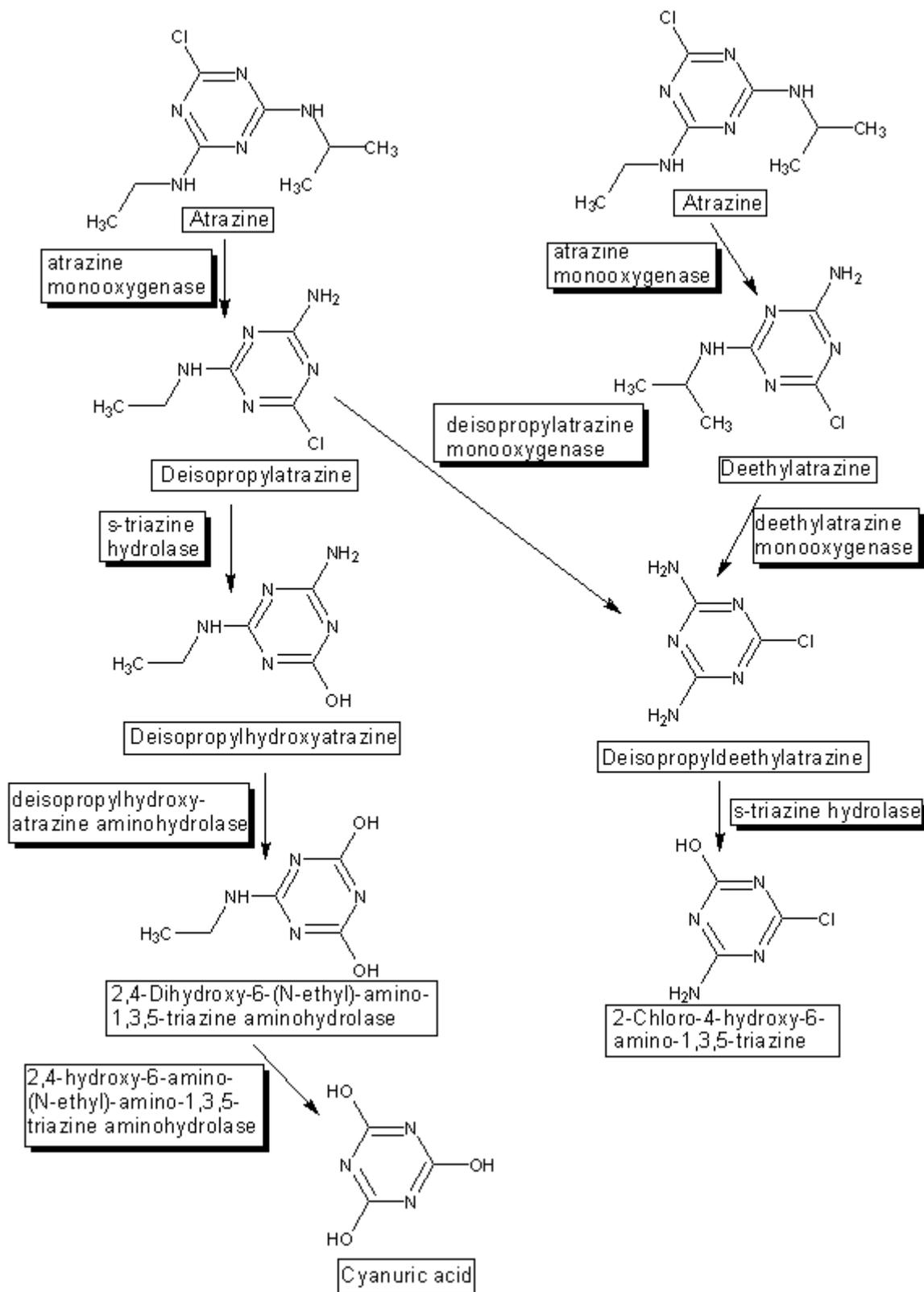


Figure II-2 : Voies de dégradation par *Rhodococcus* spp. NI86/21, TE1. *Pseudomonas* spp. 192, 194 et *Streptomyces* sp. PS1/5. (Wackett, 2006).

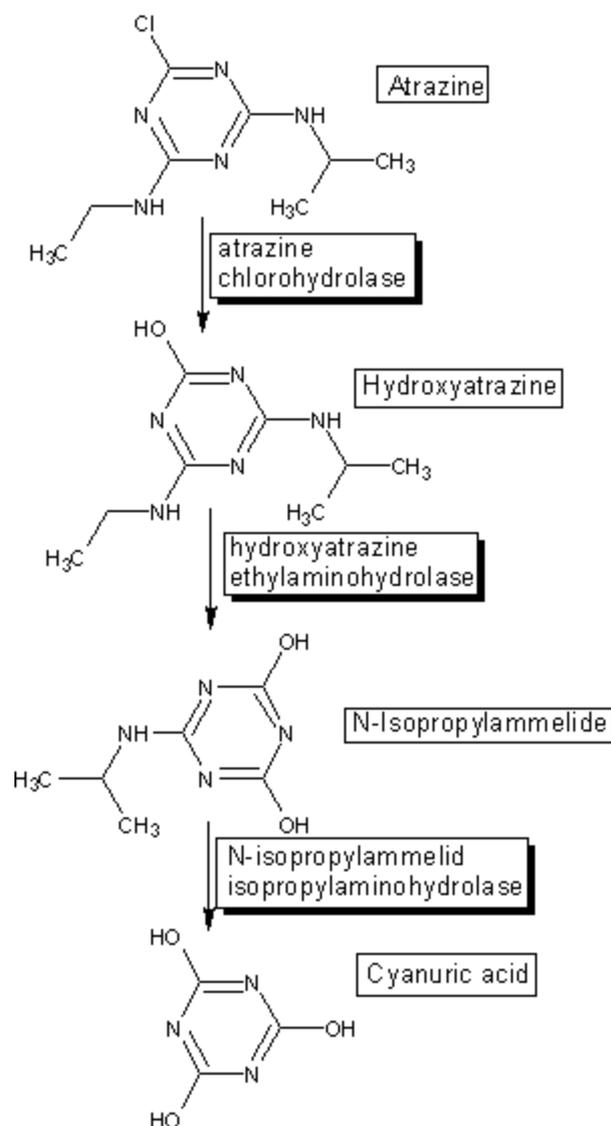


Figure II-3 : Voies de dégradation par *Pseudomonas* sp. ADP, *Ralstonia* sp. M91-3, *Clavibacter* sp., *Agrobacterium* sp. J14a, *Alcaligenes* sp. SG1 (Wackett, 2006 http://umbbd.msi.umn.edu/atr/atr_map.html).

5.2. Isoproturon

Cette urée substituée utilisée en pré- ou post-levée pour le contrôle des adventices des graminées annuelles d'hiver et de printemps (ray-grass, folle-avoine, vulpin) a un mode d'action et de pénétration typiques de sa famille. Non ionique et relativement hydrophile, il est peu volatil et moyennement soluble dans l'eau.

Son coefficient de partage (K_d) varie selon la nature des sols mais, pour un sol limoneux à limono-sableux, il varie entre 1,96 et 5,75l/kg. (Cooke *et al.*, 2004). L'adsorption est décrite comme directement proportionnelle à la teneur en carbone organique de l'adsorbant (Coquet,

2002). Ainsi, les bandes enherbées sont particulièrement efficaces pour l'isoproturon qui est arrêté sur la fraction organique non humifiée de l'horizon superficiel (Benoît *et al.*, 1999).

Cette molécule présente des éléments structuraux (O, N, H et $-C=O$) disponibles pour des liaisons faibles (forces de Van der Waals, liaison H, échanges de ligands) avec les acides humiques en fonction du pH du sol (Ertli *et al.*, 2004). Le groupement carbonyle ($-C=O$) peut, d'après Pantani (1997) établir des interactions avec des argiles saturés de cations (Na^+ , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Al^{3+}).

La rapidité de la disparition de l'isoproturon des horizons superficiel est toute relative : Gaillardon & Dur (1996) n'observent une baisse significative qu'au bout de deux semaines. L'adsorption rapide serait suivie d'une adsorption lente (de l'ordre d'un mois) due à la diffusion du produit dans les pores fins du sol et les anfractuosités de la matière organique (Brusseau *et al.*, 1991 ; Gaillardon, 1995). Ce phénomène n'aboutit pas pour autant au vieillissement puisque la désorption par lessivage est comprise entre 69,7 et 101,8% en fonction du sol (Cooke *et al.*, 2004). Cette molécule est donc éminemment sujette au lessivage.

Le ruissellement cumulé d'isoproturon est ainsi compris entre 0,48 et 1,43% sur un sol argileux au bout de 70 jours (Walker *et al.*, 2004).

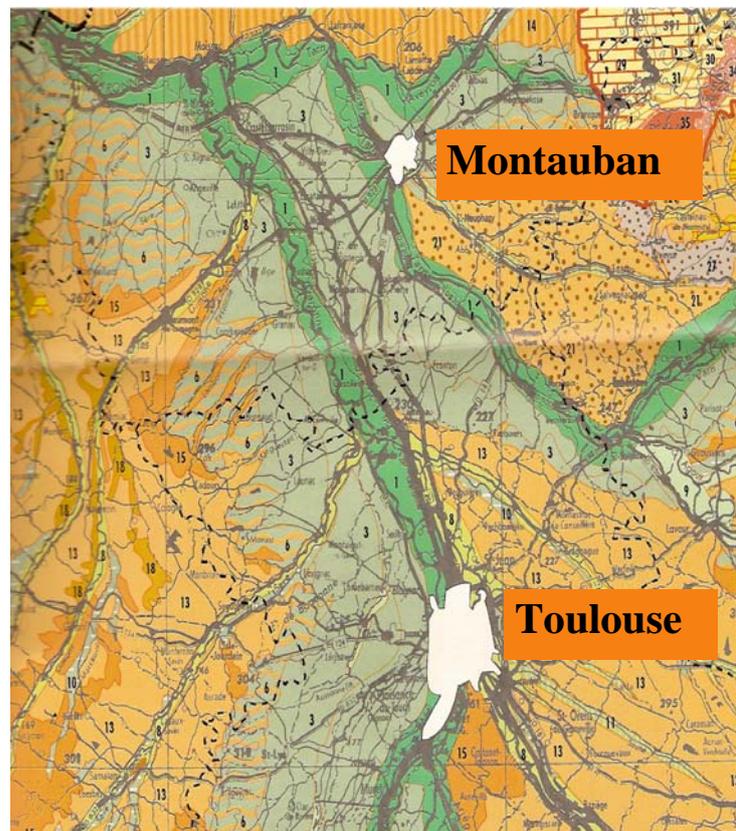
Ces pourcentages ne discriminent pas la possibilité de la dégradation de l'isoproturon *in situ* tant abiotique (photolyse en didéméthylisoproturon [Kulshresta & Mukerjee, 1986], hydrolyse en milieu faiblement basique [Kulshresta, 1982]) que biotique (Mudd *et al.*, 1983) majoritairement en monodémethyl-isoproturon. Pourtant, en conditions thermiques peu favorables aux micro-organismes mésophiles (incubation à 5°C durant 45 jours), Walker *et al.* (2004) indiquent un vieillissement touchant de 45 à 70% de la dose. Ce phénomène, dans la mesure où l'isoproturon peut être utilisé en conditions thermiques fraîches (hiver ou début du printemps) ne jouit pas d'une littérature assez abondante pour connaître son effet exact au champ.

Enfin, les cinétiques de volatilisation de l'isoproturon à partir du sol ont été étudiées par Cherif (1997) et Jaunky (2000). Se reporter à ces deux thèses pour plus d'information.

III Site d'étude : Le bassin central Midi-Pyrénées

1. Approche morpho-pédologique

Bornand *et al.* ont défini en 1989 trois grands ensembles morpho-pédologiques (figure III-1) pour la région Midi-Pyrénées, incluant dix sous-ensembles eux-mêmes recouvrant quarante huit unités cartographiques. La présente étude recouvre l'impact des activités humaines ayant lieu dans le grand ensemble du Bassin Central Midi-Pyrénées, sur deux de ses trois sous-ensembles « Plaines et terrasses alluviales » (Quaternaire) et « Coteaux molassiques » (Tertiaire). L'altitude y est faible (100-500m) et le relief peu accidenté.



- Coteaux molassique tertiaires
- Basses plaines quaternaires
- Terrasses quaternaires

Figure III-1 : Carte morpho-pédologiques de la zone d'étude (Bornand *et al.*, 1989).

1.1. Plaines et terrasses alluviales

Les grands cours d'eau de Midi-Pyrénées ont entaillé les terrains mollassiques y créant des terrasses constituées de dépôts alluviaux anciens dominant de basses plaines formées avec les dépôts les plus récents. Un talus les sépare.

Les vallées sont caractérisées par des sols limoneux s'enrichissant en sable et cailloux vers l'amont et vers le lit du fleuve. La nappe est à 1-5m de profondeur au niveau des plaines alluviales.

Les terrasses sont constituées de sols limoneux lessivés hydromorphes dégradés (boulbènes), surmontant des horizons argileux qui leur font office de socle. Les sols sont moyennement hydromorphes, bruns lessivés sur les pentes et bruns ou bruns calcaires sur les pentes plus fortes.

1.2. Coteaux molassiques

Quatre subdivisions ont été ségréguées par Bornand *et al.* :

1- Les coteaux argilo-calcaires sur marnes dominantes, présentant des bancs de calcaire intercalés dans la marne. Le sol caractéristique de cette unité est argileux, calcaire ou calcique et est nommé localement « terrefort ».

2- Les coteaux sur substrats non calcaires, c'est à dire la molasse sableuse, sablo-argileuse à argilo-sableuse et argileuse. Régionalement, elle est représentée par les sables fauves de l'Armagnac et les sols bruns ou bruns recarbonatés limono-argileux à argileux de la Gascogne centrale.

3- Les zones à substrat hétérogène, lié à des dépôts d'âge et de nature différents, juxtaposés ou mélangés. Tel est le cas des coteaux limono-argilo-sableux du nord du Tarn. Les sols bruns calcaires, bruns calciques, bruns, bruns lessivés, sols lessivés (luvisols) y sont associés, suivant la nature de la roche-mère. Dans l'ouest de la Gascogne, les marnes du Miocène et molasses acides du Pliocène représentent cette subdivision. Souvent argileux, parfois calcaires, non calcaires ou recarbonatés mais toujours hétérogènes voire mélangés, les sols sont bruns à bruns calcaires et généralement de faible profondeur.

4- Les plateaux sur calcaire tendre du bassin du Tarn. La molasse y est armée de calcaire. Le sol, superficiel à peu profond, est placé sur une roche calcaire fissurée à faible profondeur, généralement calcaire mais parfois calcique, généralement argileux : la rendzine.

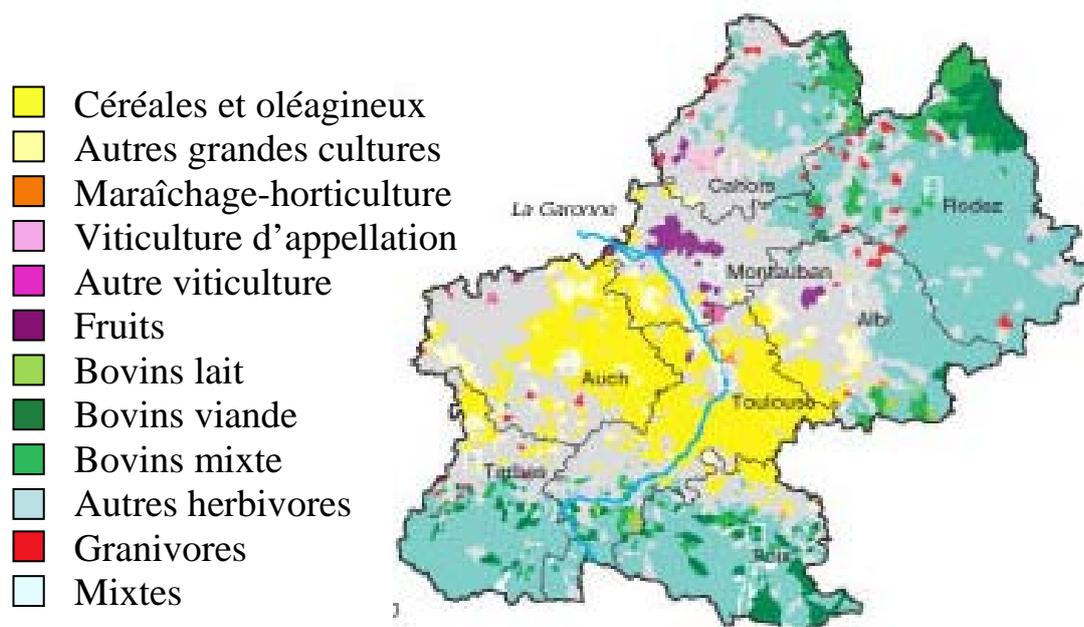


Figure III-2 : Occupation des sols de Midi-Pyrénées. Orientation technico-économique des communes au recensement agricole 2000. Agreste (2002).

2. Approche usagère : une agriculture prédominante

L'usage agricole du sol correspond à 75% de la surface de la région Midi-Pyrénées. L'enquête de structure menée par l'Agreste en 2003 nous fournit l'occupation des terres arables en fonction des cultures (figure III-2 et table III-1).

La répartition des terres arables indique une nette dominance des céréales (41% de la superficie arable) avec Maïs et Blé tendre dominants (respectivement 33,77% et 29,97% des céréales).

La proportion des prairies temporaires (26%) souligne que la région Midi-Pyrénées est la première région productrice de viande carnée et de lait de France. A elles deux, ces productions correspondent à 65% du chiffre d'affaire agricole régional.

Les oléagineux, à 72,39% de Tournesol, constituent la troisième occupation des sols. Maïs, Blé tendre et Tournesol constituent les trois cultures dominantes de la région. Leur occupation de l'espace agricole s'équivalent (autour de 200 000 hectares chacun) et les classer par rang ne constitue donc pas une information pertinente. Si, depuis 2004, la surface en Maïs s'est contractée de 15%, attribuée par l'Agreste (2006) à l'influence de la vulnérabilité de cette céréale aux sécheresses, il serait prématuré d'y voir une tendance lourde.

Table III-1 : Nombre d'exploitations en Midi-Pyrénées en 2003 et occupation des terres (exprimée en milliers d'hectares) en 2002 et 2003 (INSEE 2004, Agreste 2004).

	Exploitations	Superficie 2002	Superficie 2003
Terres arables dont :	44702	1627	1626
<i>Céréales dont :</i>	<i>38447</i>	<i>732</i>	<i>653</i>
Maïs		228	204
Blé tendre		223	181
Orge et escourgeon		93	89
Blé dur		101	98
Sorgho		36	32
<i>Oléagineux dont :</i>	<i>14701</i>	<i>223</i>	<i>268</i>
Tournesol		168	194
Soja		39	48
Colza		16	19
<i>Légumes secs et protéagineux</i>	<i>3627</i>	<i>39</i>	<i>32</i>
<i>Pommes de terre et légumes frais</i>	<i>3872</i>	<i>14</i>	<i>14</i>
<i>Prairies temporaires</i>		<i>418</i>	<i>424</i>
<i>Fourrages annuels</i>	<i>25898</i>	<i>58</i>	<i>86</i>
<i>Jachères</i>	<i>20348</i>	<i>126</i>	<i>131</i>
Vignes	8673	43	43
Cultures fruitières dont	2398	19	19
Pommes de table			5,9
Prunes			4,5
Fruits à coque			3,2
Cerises			1
Pêches, nectarines, brugnons			0,8
Actinidia ("kiwi")			0,7
Poires de table			0,4
Autres fruits			0,8
Surfaces toujours en herbe	36162	868	879
Autres		1	1
Surface agricole utilisée		2558	2568
Superficie totale		4560	4560

L'agriculture représente 16,5% du salariat (25600 emplois) en Midi-Pyrénées, soit près du double de la moyenne nationale. S'y ajoutent près de 45000 exploitations en activité, ce qui fait de Midi-Pyrénées la première région agricole de France en terme de main d'œuvre orientée sur cette activité.

Environ 2% du bassin versant est occupé par des implantations urbaines, essentiellement Toulouse et sa banlieue. Le régime particulier de la Garonne, caractérisé par des étiages marqués (hivernaux ou estivaux) et de sévères débordements a fortement influencé l'implantation urbaine le long du cours d'eau : à l'exception notable de Toulouse, les villes sont abritées de ses crues, sises sur les collines frangeant sa plaine d'inondation. Elles ne sont jamais à même ses rives sinon le village de Bourret, juché sur la pente d'un « pech » le long de la Garonne.

Cette particularité, rare pour un cours d'eau de cette ampleur et dans un pays développé, est une originalité du bassin d'étude. L'absence de conurbation riveraine de Toulouse et son aire urbaine (1.208.214 habitants, recensement 2006) qui rassemblent pourtant près de la moitié de la population de Midi-Pyrénées permet ainsi de clairement identifier la pression urbaine.

3. Usage et qualité de l'eau du bassin d'étude

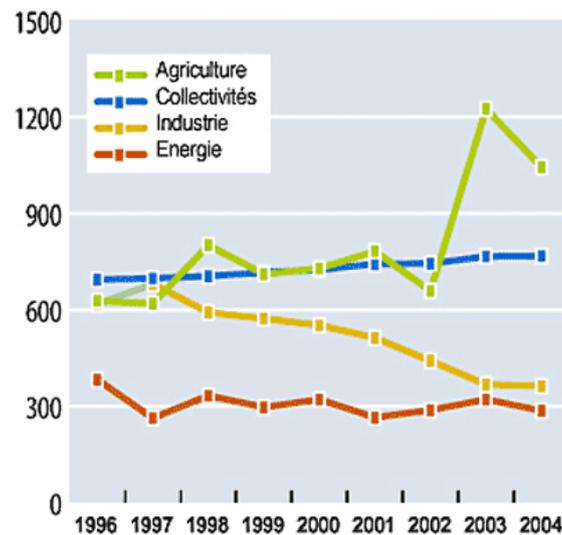


Figure III-3 : Consommation de l'eau dans le bassin Adour Garonne (en milliard de litres) en fonction des usages socio-économiques (données A.E.A.G.).

L'eau est une ressource à la fois abondante et précieuse dans le bassin versant de la Garonne. Si les apports océaniques fournissent nappes et sources avec prodigalité sur les montagnes (Massif Central et Pyrénées) et les plaines, la consommation en eau reste élevée, notamment du fait des usages agricoles. De plus, des étiages estivaux sévères ont nécessité de longue date des mesures de soutiens de débit (retenues collinaires, canaux d'adduction d'eau des reliefs) essentiellement dans le Gers sur le bassin versant de la Garonne.

Le bassin d'étude reste peu industrialisé malgré des zones ponctuelles qui le sont fortement (figure III-3). Le sud-ouest est compris dans cette « diagonale du vide » qui marque l'habitat et l'activité économique française. Les efforts de l'industrie de même que l'appauvrissement global de ce secteur convergent vers un moindre usage de la ressource en eau par le secteur secondaire. La production d'énergie, traditionnellement peu consommatrice en eau, profite de sa modernisation pour réduire encore sa part dans la consommation de la ressource (cas du nucléaire par exemple). *A contrario*, la migration continue de populations vers le bassin d'étude exige une ponction croissante. Le poste de consommation le plus élevé de la ressource reste l'agriculture et ce d'autant plus que les précipitations se raréfient dans le contexte de réchauffement climatique avéré. Quels que soient les efforts sur l'outil de production ou la nature des cultures (réduction de la surface en Maïs), l'agriculture reste dispendieuse en eau, puisant dans des nappes qu'elle contribue à polluer par l'usage de phytosanitaires et d'autres intrants lessivés.

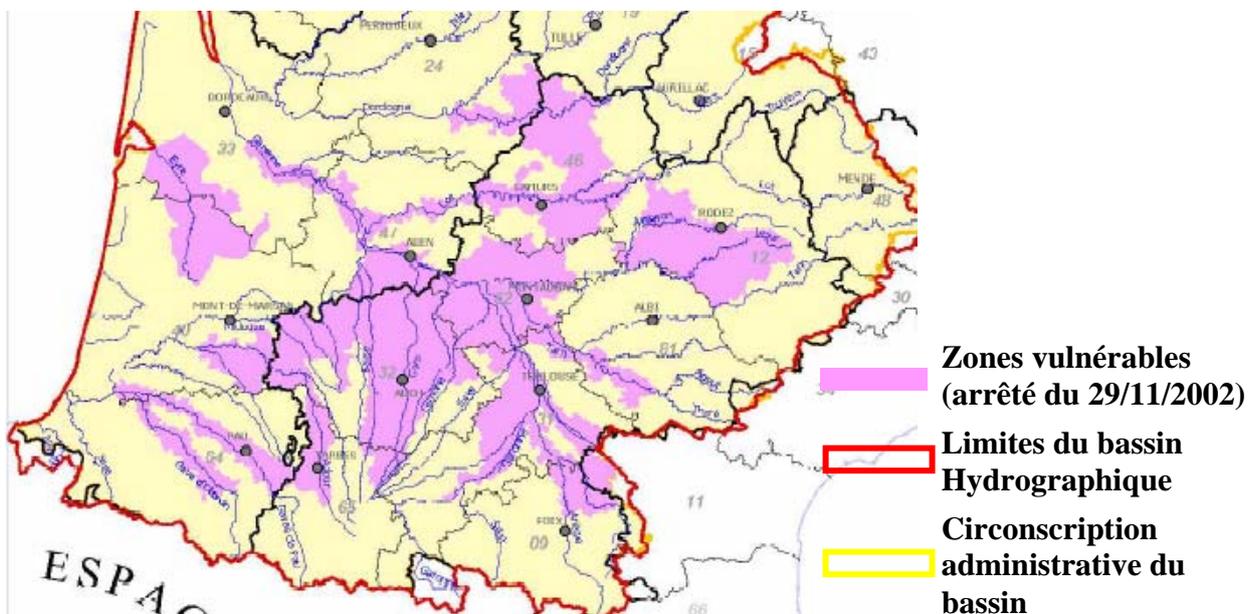


Figure III-4 : Zones vulnérables aux pollutions (forte sensibilité ou forte occurrence). Données AEAG.

Le bassin d'étude est bien drainé. Avec 120 000 kilomètres de cours d'eau, permanents ou non, d'une longueur supérieure à 1km, la densité est proche de 1km de cours d'eau par km² de surface. La répartition est cependant très inégale et peut varier du simple (0,6 pour la Charente) au double (1,2 pour l'Adour) selon les bassins. Pour autant, le bassin de la Garonne Moyenne considérée reste proche de cette moyenne. Il est donc possible de considérer qu'un tronçon de rivière d'1km reçoit l'équivalent de l'érosion et des résidus de contamination d'1km² de sol, qui pourront arriver en fraction dissoute ou adsorbée sur des matières en suspension. Ce dernier phénomène ne doit pas être minimisé dans le cadre de rivières gasconnes à forte turbidité. Ce rapport illustre la raison de la protection des cours d'eau, ce qui est particulièrement vrai pour les zones agricoles où l'usage d'amendements de toutes sortes est généralisé. Un acte anodin réalisé par un grand nombre d'acteurs tout autant que les mésusages ponctuels vont donc avoir une répercussion démultipliée dans les cours d'eau qui vont donc collecter les pollutions diffuses. *Tales sunt aquae, qualis terra per quam fluunt* ; disait déjà Pline l'Ancien (*Historiae Naturalis libri III, §CVI*) : Les eaux sont de la qualité de leur bassin versant. Or l'aire d'étude englobe une forte proportion de zones où la ressource en eau est vulnérable aux pollutions d'origine anthropique (figure III-4). L'eau de boisson, malgré le traitement, est ainsi essentiellement exposée aux pesticides (figure III-5).

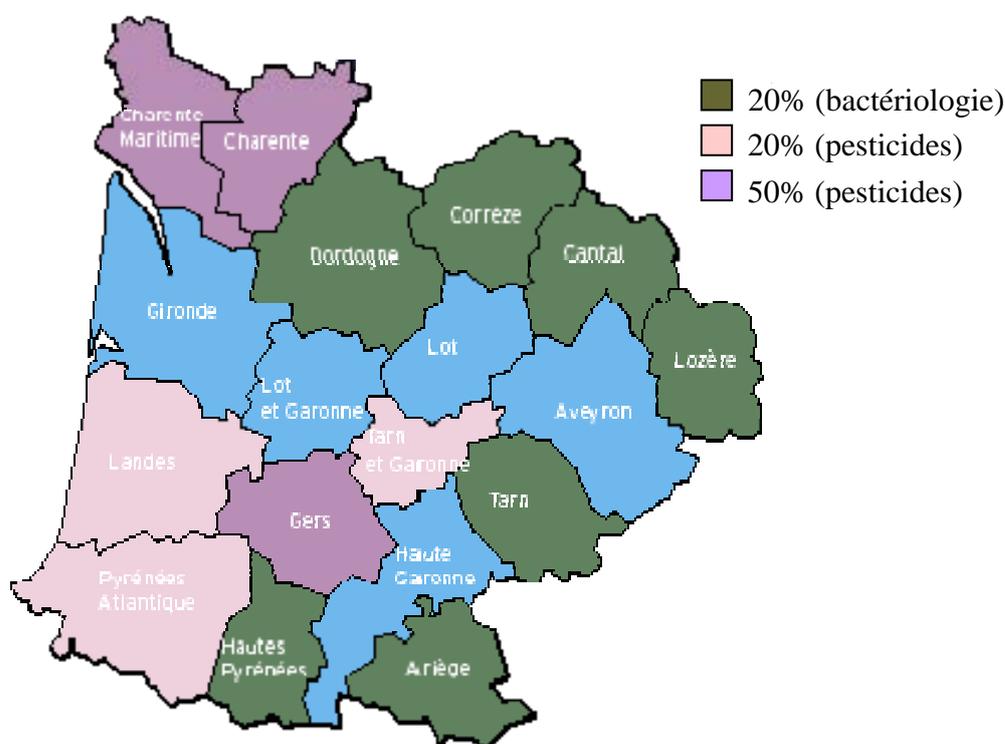


Figure III-5 : Pourcentage de la population desservie par une eau non conforme (et pourquoi). Données AEAG

4. Contamination de la zone d'étude

Sur la Garonne, la littérature scientifique concernant la contamination du milieu aquatique par les herbicides se résume à une publication ancienne (Dupas *et al.*, 1993). Elle étudie la contamination de la Garonne en aval de la zone d'étude, à la confluence entre le fleuve et un affluent issu de l'Entre-Deux-Mers, le Dropt, en fonction du débit. Les s-triazines y ont admis une valeur comprise entre 0,1 et 1µg/L pouvant culminer jusqu'à 2,2µg/L en période de crue. Illustrant une contamination diffuse, toutes les stations d'échantillonnages ont présenté une contamination détectable en herbicide (quoi que pouvant être modeste) à toutes les campagnes. La Garonne en aval de la zone « Garonne Moyenne », soumise à une agriculture intensive, présentait donc une contamination de l'eau moyenne à forte pour l'époque et pour les molécules étudiées (atrazine, simazine, DEA, DIA, diuron, chlortoluron, isoproturon). Elle était comprise entre 0.1µg/L (étiage) et 2.2µg/L (crue printanière).

La contamination des sédiments par les pesticides, que ce soit celle liée aux organochlorés ou des molécules plus récentes, n'a fait l'objet d'aucune étude à l'amont d'Agen.

PARTIE 2

Etude expérimentale

I METHODOLOGIE ET ETABLISSEMENT D'UN PROTOCOLE ADAPTE A L'ANALYSE DES RESIDUS HERBICIDES DANS LE SEDIMENT

Introduction

Le biotope aquatique inclut l'eau et le sédiment. Si la contamination de l'eau par les herbicides de pré-levée n'a pas exigé de mise au point d'une méthode d'analyse, celle-ci a été nécessaire pour l'investigation la contamination du sédiment par ces mêmes molécules. Si le dosage de certaines était documenté, il n'en va pas de même pour toutes. De surcroît, notre objectif est de rendre possible de toutes les rechercher conjointement, ce que recouvre le terme « analyse multi-résidus ».

Les critères de praticité devront être observés dans le développement méthodologique : l'objectif est non seulement l'élaboration d'une technique à haut rendement mais également d'un procédé assez simple et rapide pour être utilisée en routine. Une solution peut résider dans l'automatisation, par essence à la fois plus reproductible et plus sobre qu'une manipulation humaine. Elle est aussi libératrice pour l'opérateur.

Les molécules étudiées sont thermolabiles ; une autre forme d'énergie que la chaleur devra être employée pour les dissocier du sédiment. Cependant, le protocole devra aussi permettre d'extraire d'autres contaminants que les herbicides d'étude, les polluants organiques persistants, afin de proposer un dosage à l'emploi le plus large en vue d'études complémentaires.

Le problème des co-extraits dont les échantillons environnementaux sont riches sera abordé.

Enfin, le sédiment est une matrice complexe qui soulève des questions vis-à-vis des polluants organiques auxquelles un protocole unique ne pourrait prétendre répondre. Le temps nécessaire à une analyse pertinente en fonction du besoin sera considéré.

La mise au point d'un protocole expérimental et le développement d'une technique analytique fiable, reproductible et sensible pour le dosage des herbicides a représenté une étape

importante dans la réalisation de ce travail. En effet, l'approche multi résidus aussi bien dans l'eau que dans les sédiments pour l'ensemble des herbicides analysés a représenté une année entière de mise au point. Avant de décrire le protocole définitif établi et utilisé dans le reste de cet ouvrage, un rappel bibliographique sur les différentes techniques analytiques va être présenté ainsi que la démarche et les choix qui ont guidé la réalisation de ce protocole.

1. Choix des procédés d'extraction

1.1. Dans l'eau

1.1.1. Les différents types de dosage de l'eau

De nombreuses techniques d'extraction existent pour l'eau, tant pour l'eau brute que l'eau filtrée. En effet, l'eau peut être vectrice de pesticides à double titre : les molécules les plus solubles ou les plus récemment épandues pourront être entraînées par l'eau proprement dite sous forme dissoute. Les molécules les moins solubles ou épandues depuis un certain temps dans l'environnement peuvent être associées à des particules de sol (Lerch *et al*, 2007) et de sédiment elles-mêmes en suspension dans l'eau. Ce phénomène ne doit pas être sous-estimé, surtout dans le cadre de la contamination des eaux de surface par les herbicides de pré-levée des adventices appliqués sur sols nus, eux-mêmes susceptibles d'être emportés vers les cours d'eau par les pluies hivernales. En fonction des conditions hydrologiques, ces particules peuvent être ensuite maintenues en suspension ou sédimenter (dépôt réversible). La présente thèse s'intéressant essentiellement à la contamination du sédiment par les herbicides, l'estimation de la contamination de l'eau dans sa globalité apparaît importante.

L'approche de la contamination de l'eau peut donc ensuite être envisagée sous l'angle de la concentration de l'eau en herbicide ou en terme d'exposition. Dans le premier cas, deux mises en œuvre différentes sont réalisables : par préleveur automatique ou par prélèvement instantané. Dans le second cas, la technologie des capteurs passifs serait à mettre en œuvre.

Des techniques diverses d'extraction des pesticides de l'eau existent :

L'extraction liquide-liquide au dichlorométhane est la plus largement utilisée car cette méthode, à haut rendement, a un large spectre d'action et la mise en œuvre de cette technique est aisée. Elle est basée sur les caractéristiques physico-chimiques de la molécule de dichlorométhane : lipophile, polaire et non miscible à l'eau. Plus lourde que l'eau, elle décantera en une phase sous-jacente sous-tirable. Son efficacité, la simplicité de sa mise en œuvre et sa popularité se renforcent mutuellement car, si ce protocole d'extraction est ancien,

il reste couramment employé, préconisé par les organismes de normalisation et encore présenté dans des articles.

D'autres existent mais la méthode liquide-liquide est principalement mise en compétition avec des méthodes *d'extraction par cartouche* (SPE) (Sherma, 2001). Ces cartouches constituent des pièges où les molécules présentes dans l'eau vont rester lorsque l'échantillon aqueux sera passé au travers de ces cartouches. Un mélange de solvants sera ensuite employé pour éluer les molécules recherchées. Cette solution, de plus faible volume et composée de solvants aux températures d'évaporation plus basses, permet un traitement comparable à l'extrait obtenu par la méthode liquide-liquide. Le choix de la cartouche et l'éluant réduisent cependant le champ d'application de l'étude à quelques molécules : la cartouche et l'élution sont sélectifs de molécules spécifiques, tous les produits n'étant pas nécessairement retenus sur la première et élués par la seconde. Enfin, la méthode SPE exige la filtration préliminaire des échantillons d'eau chargés en matières en suspension. Elle reste donc impossible à réaliser sur une eau brute.

Une technique récente propose l'usage de capteurs passifs qui intègrent la contamination dans le temps. L'exposition plutôt que le flux de contaminant est estimée. Ces dispositifs se présentent sous la forme de poches (SPMD pour Semi Permeable Membrane Device) ou de carters (POCIS, pour Polar Organic Compounds Integrative Samplers) contenant une résine d'une capacité d'adsorption spécifique à l'hydrophobicité de polluants organiques. Les SPMD sont élaborés pour les composés les plus hydrophobes (PCBs, organochlorés) tandis que les POCIS sont élaborés pour des composés plus hydrophiles comme les résidus pharmaceutiques et les herbicides (Mazzella *et al.*, 2007).

1.1.2. Choix de l'eau brute et de l'extraction liquide-liquide

Le choix de l'eau brute plutôt que de l'eau filtrée soulève le débat dans la communauté scientifique. En effet, l'eau brute comprend les matières en suspension (qui peuvent sédimenter) et le plancton (végétal ou animal) qui ne sont pas de l'eau au sens strict. Les mécanismes assurant la présence des pesticides dans cette eau brute ne relèvent donc pas des seules solubilité ou hydrophilie des molécules (hydrodynamique). Néanmoins, les affinités hydrophobes, voire les processus plus complexes de bioaccumulation et de bioamplification, peuvent aussi y induire une contamination.

Pour autant, la présente étude cherche à estimer la charge en produits phytosanitaires à laquelle la faune aquatique est soumise. Or la part de la contamination de cette dernière par imbibition, par l'alimentation ou par les branchies n'est pas encore établie pour la majeure

partie des polluants, donc *a fortiori* pour ces herbicides, thermolabiles. Dans le cadre de ce travail, l'eau brute a aussi été préférée à l'eau filtrée pour des raisons appartenant au contexte scientifique de la thèse (étude de la répartition spatio-temporelle des herbicides dans l'eau et les sédiments à l'échelle d'un grand bassin versant comme la Garonne). De plus, dans le cadre des campagnes de recherche sur la Garonne Moyenne une approche sur eau filtrée a été réalisée par les équipes du CEMAGREF (Bordeaux). Les capteurs passifs, étaient encore en cours de mise au point au début de la présente thèse et, informant du niveau d'exposition plutôt que de contamination, ne correspondaient pas à son objectif. Ces éléments ont motivé le choix de l'extraction liquide-liquide par échange de phase avec le dichlorométhane.

1.2. Choix du procédé d'extraction dans le sédiment

La capacité intégrative du sédiment a déjà été décrite précédemment tant pour des polluants organiques que pour des traces d'autre nature (métaux...). L'extraction des pesticides dans le sédiment est bien documentée pour des molécules particulièrement résistantes comme les POPs. Celles-ci autorisent l'extraction à des conditions physiques et/ou chimiques astringentes, que ce soit le Soxhlet (USEPA 3540, Basheer *et al.*, 2005), l'extraction assistée par micro-ondes (Thompson *et al.*, 2002) ou assistée par liquide sous pression (dite PLE). La gamme des Accelerated Solvent Extractor (ASE) est une représentante de cette dernière (Richter *et al.*, 1995). Tel n'est pas le cas des herbicides de pré-levée (exceptés les s-triazines, résistantes à des conditions douces de Soxhlet -Garcia *et al.*, 2001) et la plupart des autres pesticides plus récents que ces POPs. Ces premiers sont souvent plus fragiles (thermolabiles, etc.) et les méthodes présentées ci-dessus les détruisent. D'autres protocoles d'extraction ont été proposés, basés sur des bains de solvants à température ambiante (Ambrus *et al.*, 1981) éventuellement assistés de micro-ondes, dite M.A.E. (Gao *et al.*, 1998 ; Sherma, 2001) ou M.A.S.E (Basheer *et al.*, 2005). D'autres enfin comme Chefetz *et al.* (2004) ou Gao *et al.* (1998), se sont principalement intéressés à l'eau interstitielle et aux relations entretenues entre le carbone organique dissout et les pesticides. De ce fait, le devenir des pesticides dans le sédiment est largement inconnu. La table I-1 présente une liste partielle des études ayant eu trait aux polluants organiques dans le sédiment ou des sols saturés en eau. On peut y remarquer la très faible part d'études consacrées aux herbicides.

L'objectif initial des présents travaux était d'établir une méthode simple, rapide et fiable d'analyse des herbicides en multi résidu. Des techniques d'extraction séquentielle ont été mises au point pour l'étude de molécules isolées (Bending *et al.*, 2007) mais leur spécificité

interdit la généralisation de leur emploi. Le protocole doit être capable d'extraire des herbicides aux caractéristiques les plus diverses tant en thermorésistance (les anilides d'étude commencent à se détériorer au-dessus de 40°C sous pression ambiante alors que les s-triazines supportent des températures bien plus élevées) que dans leurs affinités avec les substrats lipophiles (Kow). Il doit être mis en œuvre dans des conditions optimales de sécurité et d'ergonomie. Il faut donc maximiser la fiabilité et la répétabilité des opérations et, dans cette philosophie, minimiser les étapes exécutées par des opérateurs humains.

Le Soxhlet ne permet pas de doser les composés les plus fragiles et exige une manutention de produits onéreux et dangereux ainsi qu'une longue manipulation.

La sonication est une méthode mise en œuvre pour nombre de molécules trop fragiles pour être dosées par Soxhlet. Pour autant, ce procédé sur des bains de solvant induit un échauffement important. De plus, les bains sont une étape longue, contraignante et inféodée à un facteur humain vecteur d'artefacts opérationnels.

Le procédé doit pourtant apporter à l'échantillon une énergie conséquente pour désorber des molécules parfois difficilement extractibles. La pression représente donc une alternative à une chaleur trop importante qui doit être proscrite. Une pression élevée minimise aussi les premiers effets des hautes températures sur les composés étudiés. La technologie PLE a abouti à une génération d'automates prenant à leur charge l'intégralité de la manutention des échantillons au cours de l'extraction (ASE), ce qui nous a incité à établir un protocole appliquant cette technique.

L'extraction des sédiments s'est donc faite en utilisant du solvant sous pression permise par l'ASE 200 (Dionex). Il s'agit d'un système automatique d'extraction des composés organiques à partir d'échantillons solides ou semi-solides contenus dans des cylindres en acier inoxydable bouchés nommés cellules. Il accélère les processus traditionnels d'extraction en utilisant des solvants à des températures élevées. La pression est appliquée à la cellule d'extraction pour maintenir le solvant chauffé à l'état liquide durant l'extraction. Après la phase de chauffage, l'extrait est chassé de la cellule de l'échantillon vers le flacon de récupération.

Table I-1 : Tableau récapitulatif des méthodes utilisées pour l'étude de contaminants organiques dans des sédiments et des sols hydromorphes.

Auteurs	Molécules	Extraction	Dosage
Bending <i>et al.</i> , 2007	Isoproturon		HPLC-MS
Pozo <i>et al.</i> , 2007	43 PCB	Soxhlet	GC-ECD
Armitage <i>et al.</i> , 2006	13 PCB	Soxhlet	GC-MS
Wafo <i>et al.</i> , 2006	6 OCPs	Soxhlet	GC-ECD
Kim <i>et al.</i> , 2006	13 OCP*	Soxhlet	GC-ECD
Basheer <i>et al.</i> 2005	9 OCP 8 PCB	Soxhlet, LPME, MAE	GC-MS
Covaci <i>et al.</i> , 2005	13 PCB 3 OCP 8 BDE	Soxhlet	GC-ECD
Secco <i>et al.</i> , 2005	6 HAP 6 PCB	Sonication	GC-ECD GC-MS
Peris <i>et al.</i> , 2005	13 OCP*	MAE.	GC-ECD
Hong <i>et al.</i> , 2003	OCP PCB	Soxhlet	GC-ECD HPLC-UV
Marvin <i>et al.</i> , 2003	24 PCB 6 OCP	ASE	GC-MS
Mwervura <i>et al.</i> , 2002	6 OCP	SDEM	GC-ECD
Rawn <i>et al.</i> , 2001	13 OCP*	ASE	GC-ECD
Dabrowski <i>et al.</i> , 2002	8 PCB 21 OCP	ASE	GC-MS
Camusso <i>et al.</i> , 2002	5 OCP 18 PCB	Soxhlet	GC-ECD
Barra <i>et al.</i> , 2001	13 OCP*	Soxhlet	GC-ECD
Pavoni <i>et al.</i> , 2000	12 PCB 9 OCP	Sonication	GC-ECD GC-MS
Müller <i>et al.</i> , 2000	8 OCP 14 pesticides	Batch	GC-FPD GC-NPD
Zhou <i>et al.</i> , 1999	11 PCB 16 HAP 18 OCP	Ultra-sonication	GC-FID GC-ECD
Gao <i>et al.</i> , 1998	2 herbicides	Batch	HPLC-UV

Gao *et al.*, 1997 2 herbicides Batch HPLC-UV

*: Mix 20

LPME : Micro-extraction en phase liquide.

SDEM : Méthode d'extraction par dispersion de solide.

MAE : Extraction assistée par micro-onde.

ASE : Extraction accélérée par solvant.

HPLC : Chromatographie liquide de haute performance. La détection peut mettre en œuvre les ultra-violet (UV) ou les spectromètres de masse (MS).

GC : Chromatographie en phase gazeuse. La détection peut mettre en œuvre les ECD (capture d'électron), FID (ionisation de flamme), la photométrie de flamme soufre-phosphore (FPD) et azote-phosphore (NPD) et les spectromètres de masse (MS).

Batch : Immersion prolongée dans un bain de solvant.

1.3. Choix de la chromatographie

L'alternative à la chromatographie en phase gazeuse (GC) est la chromatographie en phase liquide (LC). Les deux techniques de dosage sont bien connues et éprouvées. Pourtant, l'interposition de colonnes, les tampons ioniques et les phases mobiles de solvants sont à l'origine d'interférences de bruit de fond plus fréquentes en LC qu'en GC (Sherma, 2001). La GC a donc un spectre d'application plus large que la LC, notamment dans le domaine des résidus les plus lourds. La GC s'est avérée plus adaptée à la mise au point d'un protocole de dosage d'herbicides en multi-résidus.

Certains herbicides qui feront l'objet de notre étude et qui ne sont pas chlorés (isoproturon...) empêchent l'utilisation de l'ECD pour distinguer les molécules grâce au temps de rétention et de la signature du chlore. En effet, alors que les organochlorés au sens strict ont les mêmes propriétés que le DDT, les molécules porteuses d'atomes de chlore représentent une majorité des molécules en usage. Il faut aussi souligner que, dans les échantillons issus du milieu environnemental, la diversité des molécules porteuses d'atomes de chlore rend la reconnaissance très malaisée. La spectrométrie de masse s'avère une technique plus précise pour la reconnaissance des molécules. Les autres types de GC (FID, NPD, FPD) étaient ou obsolètes ou trop spécifiques pour un usage de large spectre.

2. Extraction

2.1. Produits

Les extractions mais également les lavages de verrerie et de pièces d'appareils d'extraction et de dosage ont exigé l'utilisation de quatre solvants : le dichlorométhane, l'hexane, le méthanol et l'acétone. Ils ont été fournis par SDS (Solvant Documents Synthèse, Peypin, France)/Carlo Erba et seuls des solvants de qualité « Pestipur » ont été utilisés pour chacune des étapes de l'analyse. Il en fut de même pour le sulfate de sodium anhydre. Les étalons (Mix 44 pour les herbicides, Mix 20 pour les organochlorés), tant pour valider les rendements d'extraction des méthodes mises au point que pour quantifier les pesticides dans les extraits, furent produits par Dr Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Allemagne) et distribués en France par C.I.L. (Cluzeau Info Labo, Sainte-Foy-la-Grande, France). Les évaporations ont été effectuées à l'aide d'un évaporateur rotatif R-114 de Büchi Labortechnik AG, Flawil, Suisse.

L'extraction des sédiments fut réalisée à l'aide d'une ASE 200 (Dionex, Salt Lake City, Utah). La terre de Diatomées (Hydromatrix®) provenait de Varian, Palo Alto, Californie.

La matrice de référence utilisée pour l'estimation du rendement des extractions sédimentaires (Eurosoil7) est fourni par Sigma-Aldrich (St Louis, Missouri). Tout l'équipement est en acier inoxydable et en verre. Les cartouches de Florisil de Waters Corporation (Milford, Massachusetts) sont employées pour la purification des extraits de sédiment à l'aide de seringues S.G.E. (Scientific Glass Engineering Pty. Ltd, Melbourne, Australie).

2.2. Extraction manuelle : Matrice « eau »

Le risque induit par la lenteur d'extraction est la dégradation bactérienne des pesticides. Elle est jugulée en ajoutant 40ml de dichlorométhane à l'échantillon de 2.5L immédiatement après le prélèvement. Les échantillons ont été rapportés du terrain dans des bouteilles en verre brun. Ces échantillons ont été extraits prioritairement. L'extraction est réalisée à l'aide d'une ampoule à décanter (« *shake flask* ») de 5L. Le solvant d'extraction est le dichlorométhane) : La méthode consiste en l'agitation continue de l'échantillon avec du dichlorométhane (1 :15, v : v) durant cinq minutes de l'ampoule à décanter, suivi d'une vidange du solvant d'extraction après une décantation de 30 minutes. L'échantillon est a nouveau extrait avec le même volume de dichlorométhane et agité manuellement durant cinq minutes. A l'issu d'une décantation d'une heure, le dichlorométhane est prélevé. L'échantillon est alors a nouveau mélangé au même volume de dichlorométhane pour une dernière extraction. Après une heure de décantation, le solvant est vidangé. Les extraits sont déshydratés à l'aide de 50g de sulfate de sodium anhydre fourni par Panreac et SDS/Carlo Erba puis recueillis dans un ballon cœur.

Une condition de 40°C et de vide relatif est imposée à l'extrait jusqu'à obtention d'un résidu sec. Le résidu est alors récupéré avec 2ml d'hexane environ sous ultrasons.

2.3. Validation du protocole expérimental pour la matrice sédimentaire

Les herbicides sont des polluants organiques pour lesquels il n'existe pas d'échantillons standard aussi a-t-il fallu doper une matrice non contaminée et la plus proche possible des caractéristiques physico-chimiques du sédiment avec un étalon, le Mix 44. L'Eurosoil7 est un sol de référence dont les caractéristiques granulométriques et chimiques sont très proches du sédiment du bassin d'étude. Une extraction à blanc de ce sol standard a montré une faible teneur en pigments chlorophylliens. Pour s'assurer de l'absence d'interférence entre ceux-ci et de toute contamination du sol de référence par des herbicides, trois extractions à des conditions proposées par Richter *et al.* (1995) ont été réalisées. La matrice ainsi obtenue a ensuite été dopée avec du Mix 44 en vue de l'établissement d'un protocole d'extraction des herbicides.

L'extraction des pesticides s'est faite à l'ASE 200, en employant une méthode adaptée du protocole préconisée par le fournisseur (Dionex) pour des sédiments. Un mélange de 10g de sédiment sec et le complément de terre de Diatomées (environ 5g) a été disposé dans des cellules de 22ml. Le solvant d'extraction est un mélange 1 : 1 (v : v) d'hexane et d'acétone. L'acétone a été employée pour parfaire l'extraction à l'hexane grâce aux propriétés de mouillant de ce solvant. Les conditions d'extraction imposées aux échantillons sédimentaires ont exigé deux extractions distinctes ; la première à 50°C pour extraire les pesticides les plus thermosensibles et la seconde à 100°C pour les autres. Le détail en est fourni dans la table I-2.

Table I-2 : Conditions d'extraction des sédiments

Température (°C)	Montée Temp. (°C)	T° statique	Flush	Purge	Cycles
50	5 minutes	5 minutes	60%	60s	3
100	5 minutes	5 minutes	60%	60s	3

Dans la phase d'extraction, l'acétone solubilise la chlorophylle et les phéopigments connexes contenus dans les sédiments (débris végétaux, méioflore benthique) qui induisent une purification des échantillons obtenus. Les extraits sont dédoublés, une moitié mise en réserve pour des analyses ultérieures tandis que l'autre moitié sera analysée.

Après obtention d'un protocole d'extraction assurant un haut rendement, l'extraction à blanc d'un échantillon environnemental a montré la présence d'une grande quantité de pigments chlorophylliens. Néanmoins, ils étaient extraits au terme du processus mis au point pour les herbicides. Un protocole de purification de la chlorophylle et des autres co-extraits fut nécessaire à l'obtention de chromatogrammes lisibles. Deux méthodes présentèrent un rendement compatible avec l'analyse en routine : les cartouches de Florisil et l'alumine activée. Cependant, le rendement et la praticité d'emploi des cartouches de Florisil les firent être préférées à des colonnes de 30ml d'alumine activée (table I-3). Cette dernière technique présentait un rendement moyen de 84,9%, methabienzthiazuron exclu (78,4% inclus).

Table I-3 : Rendement de purification sur colonne d'alumine activée (30ml).

Urées s. : urées substituées. Anil. : anilides.

s-Triazines	DEA	64.09%
	Simazine	70.59%
	Atrazine	116.66%
	Terbuthylazine	102.25%
	Sebuthylazine	75.13%
	Cyanazine	75.42%
	Hexazinone	73.93%
Urées s.	Isoproturon	68.93%
	Linuron	116.08%
	Metobromuron	97.88%
Anil.	Metazachlor	97.44%
	Metolachlor	60.41%

L'élution des pesticides est réalisée en trois étapes, impliquant trois mélanges de solvants inspirés de Müller *et al.* (2000) : (a) 20ml d'hexane et d'éther éthylique 94 :6 (v :v) puis (b) 10ml d'hexane et d'acétone (9 :1 ; v :v) et enfin (c) 20ml d'hexane et d'acétone 1 :1 (v :v). Le rendement de chaque élution est présenté dans la table I-4.

Table I-4 : Proportion de l'élution totale des herbicides sur cartouche de Florisil en fonction des phases éluantes a, b et c.

Eluants	DEA	Methabenzthiazuron	Simazine	Atrazine	Terbutylazine	Sebutylazine	Metobromuron	Isoproturon	Metolachlor	Cyanazine	Linuron	Metazachlor	Hexazinone
a		84		71.5		17.4		100			46.2	36.6	100
b	100	13.2	100	28.5	100	82.6	100		100	100	53.8	63.4	
a+b	100	97.2	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
c		2.8											

L'élution des herbicides amène les molécules déposées avec la phase initiale à sortir de la cartouche avant les pigments. La part croissante d'acétone parviendra à solubiliser ces derniers significativement dans l'élution (c). Ainsi, bien que l'essentiel des herbicides sortent de la cartouche durant la phase (b), son efficacité est aussi conditionnée par la phase précédente (a) et, dans une moindre mesure, la phase de dépôt. En d'autre terme, les résultats présentés ne doivent pas amener à considérer que cette purification sur cartouche pourrait se résumer à la seule élution de la phase (b).

Le rendement de l'extraction et de la purification est de $97,3 \pm 6,47\%$ pour les herbicides de l'étude et $98,78 \pm 11,28\%$ pour les organochlorés recherchés soit une moyenne de $98,11 \pm 9,31\%$.

3. Dosage

Les analyses ont été faites par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse ou GC-MS. Deux appareils ont été utilisés : le premier chromatographe était du modèle HP 5890 Series II couplé au spectromètre de masse MSD HP 5971 et le second du modèle TraceGC ultra couplé au spectromètre de masse TraceDSQ (GC-MS-MS).

3.1. Principes de chromatographie en phase gazeuse

On attribue la découverte de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) à Martin et Synge, qui publient dès 1941 la théorie de la chromatographie de partage. Ils recevront en 1950 le prix Nobel de chimie pour cette découverte qui bouleversera le monde de l'analyse. Les progrès de l'instrumentation (colonne capillaire, détecteurs...) et sa relative facilité d'emploi font de la CPG une technique d'analyse de routine essentielle. La CPG s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans décomposition dans l'injecteur. Le système d'injection permet l'évaporation et le transfert dans la colonne des échantillons. Parmi les injecteurs classiques, l'injecteur diviseur est le plus utilisé dans le cas d'échantillon en solution. Celui-ci est introduit avec une micro-seringue. Un système de vanes élimine une partie de l'échantillon et permet ainsi une analyse plus précise d'une certaine quantité de produit sans surcharge de la colonne.

La phase mobile est alors un gaz vecteur (hélium dans notre cas), qui balaie en permanence la colonne. Cette dernière, placée dans un four thermostaté, est un tube de faible section enroulé sur lui-même et contenant la phase stationnaire. Elle débouche dans un compartiment soumis à une pression inférieure à 60mTorr. La colonne employée pour nos analyses est en silice. Elle va permettre aux produits de se séparer en raison de leurs caractéristiques propres comme leur masse moléculaire et leur point d'ébullition. Les molécules sont ensuite ionisées au passage d'un filament, ce qui peut produire la fragmentation des molécules. Les temps de rétention permettent d'identifier les pics constituant le chromatogramme. Les fragments spécifiques confirmeront ou infirmeront l'identification.

Nous utilisons un spectromètre de masse avec analyseur de masse à quadripôle. Ils servent à séparer les ions en appliquant différents champs électriques, produisant la déviation suivant les masses. Quatre barres métalliques en carré, situées symétriquement de part et d'autre de l'axe de progression des ions, en constituent le cœur. Les barres opposées diamétralement sont reliées électriquement l'une et l'autre. Un potentiel constant U et un potentiel modulé (alternatif) de fréquence radio sont appliqués aux barres. Sous l'effet de ces champs, les ions injectés dans l'axe de leur progression vont osciller vers les barres proportionnellement à leur masse et à l'intensité du champ électrique. C'est cette oscillation différentielle qui permet de déterminer la masse des produits.

La quantification des pesticides se fait par comparaison entre l'aire des pics observés sur le chromatogramme de l'étalon externe (Mix 44 pour les herbicides et Mix 20 pour les organochlorés par exemple) et l'aire des pics observés sur le chromatogramme des

échantillons. Connaissant les quantités injectées, pré-concentrées et extraites, il est possible de connaître la concentration initiale de la matrice environnementale.

3.2. Pesticides d'étude

Trois familles d'herbicides ont été sélectionnées : Les s-triazines, les urées substituées et les anilides. Les insecticides dosés sont les organochlorés. L'étalon retenu pour les herbicides est le Mix 44 ; l'étalon d'insecticides retenu est le Mix 20 (table I-5). Les deux ont été fournis par Cluzeau Info Labo et certifiés par le Dr Ehrenstorfer.

Table I-5 : Gamme des pesticides dosés.

(*) : signalés au Schéma d'Evaluation des Pesticides de l'OMS. *Italique* : dosable au seul TraceDSQ. Gras : brûlé à l'injecteur (HPLC requise).

Herbicides (MIX 44)	Insecticides (MIX 20)
Desethylatrazine	Aldrin
polychlorobiphényles	Dieldrin
Simazine*	Endrin*
Atrazine*	Isodrin
Terbutylazine*	2-4DDD*
Sebuthylazine	4-4DDD*
Cyanazine*	2-4DDE*
Metobromuron	4-4DDE*
Isoproturon	2-4DDT*
Linuron	2-4DDT*
Methabenzthiazuron	α -Endosulfan*
Metazachlor	β -Endosulfan*
Metolachlor*	Heptachlor*
Alachlor	Heptachlor-exo-epoxide*
<i>Chlortoluron*</i>	α -HCH*
Diuron	β -HCH*
<i>Metoxuron</i>	γ -HCH*
<i>Monolinuron</i>	Hexachlorobenzène*
	Isobenzan

3.2.1. Rôle des insecticides dans cette étude

Les techniques de dosage ont été élaborées avec le souci d'extraire les molécules bien connues et continuant à poser des problèmes environnementaux à l'instar des organochlorés dont les caractéristiques chimiques conditionnant l'extraction (Kow, résistance aux conditions chimiques et physiques sévères) sont proches d'autres POPs comme les PCBs. Ainsi, les protocoles présentés, souvent inspirés de ceux proposés pour ces familles de molécules, ont-ils un bon rendement tant pour les organochlorés que pour les herbicides. L'absence de méthodes établies et diffusées pour ces derniers induit une absence d'étalons et donc une impossibilité de s'appuyer sur cette référence pour estimer l'efficacité d'extraction. Les organochlorés ont permis cette comparaison (Concha-Graña *et al.*, 2004).

3.3. Conditions chromatographiques

Les extraits ont été analysés avec le chromatographe en phase gazeuse HP 5890 Series II couplé au spectromètre de masse MSD HP 5971 sur une colonne de dimension 25mx0,32mmx0,25µm. Un mode « ions spécifiques » (SIM) a été élaboré distinctement pour les herbicides et pour les organochlorés. Pour les herbicides, la température initiale de 45°C est maintenue une minute puis augmente de 35°C/minute jusqu'à 180°C. Dès lors, elle s'accroît de 8°C/minute jusqu'à 280°C où elle est stabilisée durant 10 minutes.

Le chromatographe TraceGC ultra couplé au spectromètre de masse TraceDSQ (GC-MS-MS), sur une colonne 30mx0,25mmx0,25µm fut également exploité en SIM. Un programme thermique et ionique fut élaboré notamment afin de doser les herbicides. Il démarre à 55°C pendant 30 secondes. Il comporte une première rampe thermique amenant la température du four jusqu'à 180°C à raison de 35°C/minute. Puis, une fois cette température atteinte, une autre rampe de 6°C/minute porte le four à 240°C. Dès lors, la température va s'accroître de 10°C/minute jusqu'à 280°C, température finale maintenue durant 25 minutes.

4. Bilan de la méthode d'extraction et de purification des pesticides dans le sédiment

Pour les herbicides étudiés, le rendement d'extraction et de purification obtenu pour chaque pesticide fut compris entre 82,4% à 104,6 % (table I-6), soit un rendement moyen de 95,4±6,5%. Ces résultats ont été obtenus sur sédiment enrichi avec une quantité connue d'herbicide. Il fut en effet impossible de trouver un étalon certifié puisque ces herbicides ne sont pas recherchés. L'efficacité de cette méthode est confirmée par l'essai sur les dérivés

organochlorés qui ont donné un rendement moyen de 98,5% en accord avec les résultats obtenus par Concha-Graña *et al.* (2004).

Table I-6 : Rendement du protocole d'extraction et de purification

	Herbicides (MIX 44)	Rendement (%)	Ions spécifiques
s-Triazines	Desethylatrazine (DEA)	82,4%	146
	Hexazinone	102,0%	209-175-135
	Simazine	91,3%	172-187-145
	Atrazine	101,3%	164
	Terbutylazine	101,2%	172-201
	Sebuthylazine	96,7%	61
	Cyanazine	102,2%	162
Urées substituées	Metobromuron	99,1%	172-214
	Isoproturon	95,9%	68-173-201
	Linuron	104,6%	61
	Methabenzthiazuron	97,7%	187
Anilides	Metazachlor	88,2%	132-160-209
	Metolachlor	102,2%	61

La répétitivité de la technique fut éprouvée par la comparaison de triplicats issus de deux sites d'une part et trois injections de l'étalon brut d'autre part. La variabilité entre les triplicats fut du même ordre et comparable à la variabilité du triple dosage de l'étalon MIX 44. La variabilité issue du sédiment fut quantitativement d'environ 80% de celle des standards. L'écart-type relatif des quatre dérivés trouvés simultanément dans l'étalon et les deux sites fut inférieur à 14%.

Table I-7 : Répétitivité comparée entre une triple injection d'étalon et une triple injection de deux échantillons

	Cyanazine	DEA	Simazine	Metolachlor
Site A	4,51%	7,88%	12,20%	11,86%
Site B	4,90%	7,30%	13,11%	12,51%
Standard	5,11%	9,01%	13,76%	13,50%

La précision de la mesure et la limite de détection dépendent nécessairement de la génération d'appareil utilisé, comme l'illustre la table I-8. Les performances intrinsèques de l'instrumentation et son entretien (polissage des pièces toutes les 150 injections en moyenne, exigé par des co-extraits lourds dus à la nature même des échantillons environnementaux) nous ont permis d'obtenir une limite de détection de 0.001µg/g pour l'ensemble des molécules. Le metobromuron, le methabenzthiazuron et le metazachlor présentèrent une limite de détection supérieure (0,01-0,005µg/g) avec le HP 5890 Series II couplé au MSD HP 5971. Dans le cas du metobromuron, cette moindre précision est due à la contamination croisée d'esters phtaliques perturbant le signal dans le cas des échantillons d'eau. Pour les deux autres molécules, leur projection via la chromatographie engendre des aires réduites, limitant d'autant la sensibilité à leur présence.

Table I-8 : Précision et seuils de quantification des herbicides en fonction de l'équipement analytique utilisé.

Limite de quantification (µg/g)	Chromatographe à gaz HP 5890 Series II couplé au détecteur de masse MSD HP 5971	Ultra chromatographe à gaz TraceGC couplé au détecteur de masse TraceDSQ
DEA	0,005-0,001	0,0001
Simazine	0,001	0,0001
Atrazine	0,005-0,001	0,0001
Terbuthylazine	0,001-0,0001	0,0001
Sebuthylazine	0,001	0,001-0,0001
Cyanazine	0,005-0,001	0,0005-0,0001
Hexazinone	0,005	0,001
Methabenzthiazuron	0,01	0,001
Metobromuron	0,01	0,01-0,005
Isoproturon	0,001	0,0001
Linuron	0,001	0,0005-0,0001
Metolachlor	0,001	0,0001
Metazachlor	0,01	0,001

La méthode d'extraction est inspirée de celles proposées par Richter *et al.* (1995) et Concha-Graña *et al.* (2004). Cependant, le rendement d'extraction et de purification élevé obtenu avec

les herbicides illustre le large spectre de molécules extractibles par la méthode mise au point. Les propriétés physico-chimiques des composés extraits n'ont, *de facto*, pas de répercussions sur l'efficacité de celle-ci. Elle permet de s'affranchir dans une grande mesure de la solubilité (de celle de l'endosulfan (0.32mg/L) à celle de l'hexazinone (33 000mg/L)), de la lipophilie (du Kow du DDT (6.19) à celui de l'hexazinone (1.05)) et de la pression de vapeur (de celle de la cyanazine (0.2μPa) à celle de l'heptachlore (53000μPa)). Les caractéristiques physico-chimiques des organochlorés sont très similaires à celles des polychlorobiphényles (PCB). La bonne extractabilité de ces derniers composés par la présente méthode dans le sédiment peut être considérée comme très fortement probable. L'Application Note 316 de Dionex Corporation pour les PCBs, avalisée par l'U.S. E.P.A. et appuyée sur Richter *et al.* (1994), propose la même méthode que celle exposée par Richter *et al.*, 1995 pour les organochlorés mais avec une pression de 2000psi. Or il est apparu qu'au dessus de 1500psi, la pression appliquée n'avait qu'un effet marginal sur l'extraction (Concha-Graña *et al.*, 2004).

Ce large spectre d'extraction peut être attribué au mélange de solvants : l'hexane collecte les résidus les plus lipophiles (organochlorés...) tandis que l'acétone a un rôle similaire envers les plus hydrophiles (urées substituées). L'encombrement stérique de la molécule d'acétone conjugué à cette relative hydrophilie lui autorise également, physiquement et chimiquement, à s'immiscer plus intimement dans la matrice que la molécule d'hexane.

Bien que la matrice soit séchée à l'air, de l'eau liée y persiste. La confirmation a été obtenue lors d'une expérience de séchage à 105°C durant 24 heures du sédiment préalablement séché passivement à l'air ambiant. Cette eau liée représente environ 3% du poids du sédiment. Bien que présente en faible quantité, cette eau nuit à l'extraction des pesticides par les solvants hydrophobes comme l'hexane, tandis que le séchage actif, qui permet de s'en affranchir, est trop drastique pour certains pesticides thermolabiles (urées substituées, azoles). Pour autant, l'eau extraite de la matrice, tout comme celle résiduelle dans l'acétone, ne présente pas une quantité suffisante pour imposer une étape de séchage, du fait du chargement des cellules avec la terre de Diatomées. La présence d'acétone aurait interdit l'usage de sulfate de sodium.

La durée du traitement de l'échantillon peut être adaptée à l'objectif de l'étude. Le sédiment sec s'obtient en deux à trois jours. Si une vision d'ensemble de la contamination est recherchée, les deux premières étapes (séchage à l'air et ségrégation sur un tamis de 2mm) suffisent. Cependant, dans le cadre d'une étude sur le devenir des pesticides dans le sédiment,

le tamisage sur 63 μ m est nécessaire. Les étapes discriminant les fractions intermédiaires sont les plus longues. Dans le cas de notre étude, l'étape de ségrégation des fractions fines et grossières dure en moyenne une journée par échantillon. Aucune méthode convaincante n'a pu être élaborée pour accélérer cette part du travail. Le prétraitement complet d'un échantillon prends donc de 3 à 4 jours ce qui est assez bref pour ne pas avoir d'influence sur le résultat final.

Lorsque des molécules hydrophobes comme les organochlorés (et probablement les polychlorobiphényles dont les caractéristiques physico-chimiques sont similaires) sont impliquées, l'étude de la fraction fine du sédiment peut suffire à une évaluation de la contamination globale de la matrice. Cependant, tel n'est pas le cas des herbicides pour lesquels la fraction grossière contribue de façon non négligeable.

Un protocole d'extraction et de purification à haut rendement, automatisé et d'une mise en œuvre simple a été établi. Il est récapitulé ci-après.

Protocole d'extraction et de purification des herbicides dans le sédiment

1-Prélèvement

Homogénéiser l'intégralité de l'échantillon brut.

Laisser sécher à l'air la quantité désirée de sédiment dans un cristalliseur à l'ombre.

Cribler sur un tamis de 2mm. Criblage optionnel supplémentaire sur tamis de 63µm.

2-Préparation de la cellule

Placer deux disques de cellulose au fond d'une cellule ASE de 22ml.

Charger la cellule avec 2g de terre de Diatomées.

Peser la cellule. Tarer.

Charger 10g d'échantillon. Noter le poids. Tasser.

Compléter la cellule de terre de Diatomées tassée.

Placer un disque de cellulose. Fermer la cellule.

3-Extraction

Extraction 1 : 50°C ; hexane : acétone 1 : 1 ; 1500psi. 3 cycles de 5 minutes, purge 60%, flush 60 secondes.

Extraction 2 : 100°C ; hexane : acétone 1 : 1 ; 1500psi. 3 cycles de 5 minutes, purge 60%, flush 60 secondes.

4-Concentration

Ultrasonication des flacons de récupération des extraits.

Verser le contenu des flacons de récupération dans un ballon-cœur de 500ml.

Verser 10mL de mélange d'extraction dans les flacons vidés. Ultrasoner puis verser dans le ballon-cœur.

Réduire l'extrait à 2,5ml sous vide à 40°C.

5-Purification

Déposer l'extrait sur cartouche de Florisil avec une seringue dédiée à cet usage.

Elution a : 10ml du mélange hexane : éther éthylique (94 : 6, v : v). Une goutte par seconde (0.5ml/min.) dans un ballon poire 1 de 125ml.

Elution b : 20ml du mélange hexane : acétone (9 : 1, v : v). Une goutte par seconde (0.5ml/min.) dans un ballon poire 1 de 125ml.

Elution c : 20ml du mélange hexane : acétone (1 : 1, v : v). Une goutte par seconde (0.5ml/min.) dans un ballon poire 2 de 125ml.

Réduction des deux ballons poire à <2ml. Transfert dans un flacon d'injection.

Résumé du chapitre I

La technique mise au point pour l'analyse des herbicides dans les sédiments a exigé l'élaboration d'une extraction s'appuyant sur la pression plutôt que sur la température pour dissocier les molécules d'étude de leur matrice. Les co-extraits les plus abondants et les plus gênants par rapport à la quantification ultérieure ont été par des cartouches de Florisil.

Le protocole proposé a un haut rendement non seulement pour les molécules d'herbicides qui sont son objectif principal mais également pour les polluants organiques persistants. La validation n'a pas été réalisée sur d'autres familles de pesticides ni d'autres polluants émergents mais son large spectre d'efficacité semble pouvoir s'étendre à nombre d'autres molécules jusqu'alors peu ou pas étudiées dans le sédiment par défaut d'une méthode adaptée.

Sa mise en œuvre est simple et d'autres phases que l'extraction, qui nécessite une machine d'extraction liquide pressurisée, peuvent être automatisées.

Néanmoins, le tamisage du sédiment représente l'étape la plus fastidieuse et ne peut être abandonnée à une machine. La distinction de la contamination du sédiment en fonction de la granulométrie reste cependant une exigence qui peut n'être dévolue qu'aux études mécanistiques.

II APPROCHE SPATIALE DE LA CONTAMINATION DU SEDIMENT PAR LES HERBICIDES DE LA GARONNE MOYENNE

Introduction

Notamment pour des raisons méthodologiques, les insecticides jouissent d'une bien plus abondante littérature que les herbicides, pourtant quantitativement et financièrement prépondérants. Parmi ces derniers, certaines familles appliquées sur sol nu et adsorbées sur les sols se sont avérées sujettes à l'érosion lors des épisodes pluvieux et donc des contaminants majeurs de la ressource en eau.

La contamination de l'eau de surface ou des nappes peut avoir pour corollaire la contamination du sédiment ; pourtant, les études restent rares et partielles (consacrées à un herbicide unique) car aucune méthode n'avait été élaborée pour le dosage de ces contaminants dans l'environnement.

La quantification de la contamination des sédiments par les herbicides exigera la mise au point d'un protocole adapté d'extraction, de purification et de dosage puis son application dans l'estimation des résidus dans les sédiments de la Garonne Moyenne. La comparaison de leur concentration dans les sédiments et dans l'eau sur jacente informera du potentiel intégratif du sédiment vis-à-vis de ces micropolluants organiques, de leur comportement au sein de cette matrice et de leur rémanence, qui dépend tant de leur résistance aux contraintes physico-chimiques du milieu que de leur vulnérabilité aux processus biologiques.

Afin de comprendre la part de l'adsorption aspécifique des herbicides de prélevée dans le sédiment, il a été décidé de séparer le sédiment inférieur à 2mm en deux fractions : Une fraction composée d'argiles et de limon (granulométriquement inférieure à 63 μ m) et une autre faite de sables et de débris organiques (comprise granulométriquement entre 2mm et 63 μ m). L'adsorption aspécifique met en jeu la surface spécifique (développée) et la teneur en matière organique, ce qui induit l'adsorption presque exclusive sur la fraction fine.

Précision sur l'échantillonnage. Les présents travaux ont été réalisés sur deux contextes sédimentaires distincts (sédimentation en eaux lotiques ou lentiques). Deux types de prélèvement ont été employés afin de ne pas perturber la matrice et empêcher toute contamination de l'échantillon : (i) lorsque le sédiment disponible était trop peu épais ou

inaccessible par d'autres moyens, par immersion du récipient de stockage final à contre-courant ; (ii) à la benne Eckmann de 0.045m² lorsque la verticale du point d'échantillonnage était accessible.

Multi-residues analysis of pre-emergence herbicides in fluvial sediments: application to the mid-Garonne River

Damien A. Devault, Georges Merlina, Puy Lim,* Jean-Luc Probst and Eric Pinelli

Received 15th January 2007, Accepted 8th June 2007

First published as an Advance Article on the web 13th July 2007

DOI: 10.1039/b708454b

Contamination of man and ecosystems by pesticides has become a major environmental concern. Whereas many studies exist on contamination from agriculture, the effects of urban sources are usually omitted. Fluvial sediment is a complex matrix of pollutants but little is known of its recent herbicide content. This study proposes a method for a fast and reliable analysis of herbicides by employing the accelerated solvent extractor (ASE). The aim of the study is to show the impact of a major town (Toulouse) on the herbicide content in the river. In this study, three herbicide families (*i.e.* *s*-triazine, substituted ureas and anilides) were analysed in fluvial sediment fractions at 11 sampling sites along the mid-Garonne River and its tributaries. River water contamination by herbicides is minor, except for at three sites located in urban areas. Among the herbicidal families studied, urban and suburban areas are distinguished from rural areas and were found to be the most contaminated sites during the study period, a winter low-water event. The herbicide content of the coarse sediment fractions is about one third of that found in the fine fractions and usually ignored. The distribution of pesticide concentrations across the whole range of particle sizes was investigated to clarify the role of plant remains on the significant accumulation in the coarse fractions.

Introduction

Contamination of man and ecosystems by pesticides has become a major environmental concern. The impact of these products on human health and ecosystem integrity is well known.¹ Ecosystem contamination by agricultural practices and eradication procedures has been the subject of many studies, and more recently some have started to outline the impact of urban activities: Kimbrough and Litke² in Colorado (USA), CORPEN³ in France, Gerecke *et al.*⁴ in Switzerland, and Blanchoud *et al.*⁵ in the surroundings of Paris (France). Braman *et al.*⁶ showed that herbicides account for 85% of the pesticides applied in urban environments. In France, 10% of the pesticides consumed are used for non-agricultural uses, especially domestic (8%) and collective (2%) uses.⁷ With two percent of the surface area of the Midi-Pyrenees region being urbanised, we can estimate that the urban ground receives about as much pesticide per unit of area as agricultural land. ANTEA⁸ estimated that 26 g of pesticide were used per year per inhabitant in the Garonne basin. Among non-agrarian consumers, the greatest users of herbicides are as follows, greatest first: private individuals, municipal services (who use half as much as private individuals) and professional gardeners (who use half as much as municipal services) as reported by OPECST⁷ and Blanchoud *et al.*⁹ Unlike private individuals and *a fortiori* farmers, professionals use herbicides on im-

permeable surfaces (asphalt, concrete, gravel, sand) where streaming dominates (40 to 100% runoff).^{5,10} Most of the herbicides used belong to *s*-triazine, substituted urea and anilide families. One of their advantages is that some of them can be used for winter treatment in agricultural or urban practices. However, some molecules such as atrazine have been forbidden since 2003 in France, or are under limitations as substituted ureas, *i.e.* linuron and isoproturon in the European Community (EC).

The fluvial sediment is well known to be an integrative matrix for pollutants.^{11,12} Since there is little variation in the agricultural practice, an accumulation of these pesticides is conceivable in river bed sediment by direct agricultural and urban dissolved effluents as well as by deposition of suspended particulate matter (SPM)^{13–15} contaminated by agricultural and urban use. However, accumulation of these molecules is seldom studied in sediment and biota because no reliable and easily implemented method exists.

Excluding specific sanitary reports, the pesticide concentration of the Garonne River has been the subject of only three studies restricted to the confluence of the Garonne and its tributaries, the Lot River¹⁶ and the Dropt River¹⁷ or to specific pesticides, *i.e.* organotin.¹⁸ The upstream area of the Malause reservoir has never been covered. The aim of this study is to determine the herbicide levels in the water and sediment of the Garonne River for the first time and to assess the respective contributions of agricultural and urban areas to different herbicide concentrations in the sediments. For this purpose, a broad spectrum multi-residue analysis method based on ASE extraction coupled with mini column solid purification has been developed.

Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse, Institut National Polytechnique, Laboratoire Agronomie Environnement Ecotoxicologie (AEE), Avenue de l'Agrobiopole, BP 32607, Auzeville Tolosane, 31326 Castanet-Tolosan. E-mail: plim@ensat.fr; Tel: +33-5-62-19-39-04

1. Characteristics of the Garonne River basin

The Garonne River has an uncommonly “wild” character for a river in a developed country. Its hydrological regime is still natural, with an unstable river bed, easily creating oxbows and side-arms. This river is the least fitted, large French river.¹⁹ Most of the smaller towns lie outside of its flood plain *i.e.* uphill or on the tributaries, especially between Toulouse and the Malause reservoir where the Garonne River overflows. The mean annual river discharge in Toulouse and Tonneins (last measurement site before the tidal part) is $191 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ and $613 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, respectively. The lowest daily temperature is $5.4 \text{ }^\circ\text{C}$ (January) and the average yearly temperature is $13.3 \text{ }^\circ\text{C}$.²⁰ The studied area concerns the middle part of the river marked off by two dams with Mancies upstream and Malause downstream, making a 120 km long section centred on Toulouse, allowing the impact of the city area to be distinguished.

The country through which the mid-Garonne River runs is a coherent morpho-pedological, physiographical and agricultural area. Mid-Garonne is characterised by a low altitude range (100–500 m) with a smooth relief made of Quaternary flat and alluvial terraces and steep Tertiary clay-rock slopes.²¹ Excluding the industrial effluent from the suburbs of Toulouse, the expected herbicide concentration of the Garonne water and sediment in this area could be attributed to the agricultural activities and particularly to the use of pre-emergence herbicides applied to crops: *s*-triazines, substituted ureas and anilides. The mid-Garonne area is favourable to farming of cereals (wheat, corn) and oilseed (sunflower), which are the main crops. Their respective agricultural surface areas are similar, at around 200 000 hectares each (data from the French services of statistics for agriculture and forestry).^{22,23} In this basin, rapeseed is distributed over a total area of 20 000 hectares. A similar area for orchards is concentrated around the confluence of the Garonne and the Tarn Rivers, near the Malause dam (Fig. 1). Horticulture and market gardening is located north of Toulouse (14 000 hectares). Thus, different samples of river water and sediments were taken along the mid-course of this river and at the mouth of the main

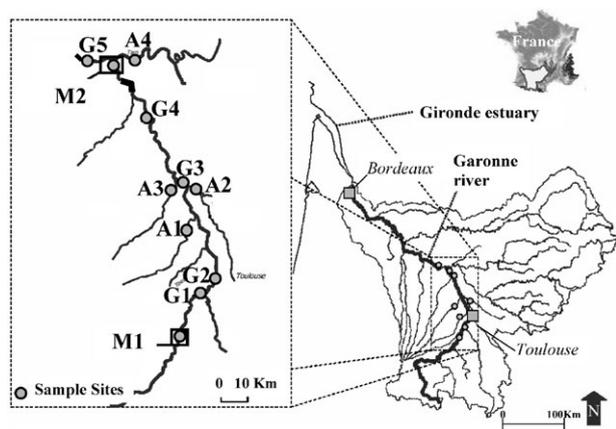


Fig. 1 Location of the eleven sampling sites. M1: Mancies reservoir, M2: Malause reservoir, G1: Portet-sur-Garonne, G2: Empalot, G3: Grenade, G4: Bourret, G5: Lamagistère, A1: Aussonnelle River, A2: Hers River, A3: Save River, A4: Tarn River.

Table 1 List of sampling sites, corresponding river, type of flow and human environment, upstream to downstream

Code	Sample site	River	Type	Environment
M1	Mancies	Garonne	Reservoir	Rural
G1	Portet-sur-Garonne	Garonne	Main river	Rural
G2	Empalot	Garonne	Main river	Urban
A1	Seilh	Aussonnelle	Tributary	Suburban
A2	St Jory	Hers	Tributary	Suburban
G3	Grenade	Garonne	Main river	Suburban
A3	Grenade	Save	Tributary	Rural
G4	Bourret	Garonne	Main river	Rural
A4	Ste Livrade	Tarn	Tributary	Rural
M2	Malause	Garonne	Reservoir	Rural
G5	Lamagistère	Garonne	Main river	Rural

tributaries. The sampling sites were chosen for the nature of their agricultural or urban catchments, since these products can originate from both sources.^{5,9}

2. Material

The bottom riverside sediments were collected on the same day at 5 sites on the Garonne River (2 urban/suburban, 3 agricultural) and 4 sites on the tributaries (2 suburban, 2 agricultural) (Table 1). Surface water samples were also collected at the same time. Sediments were sampled (3 pooled replicates for river sites, 6 pooled samples for reservoir M1 and 12 pooled samples for reservoir M2) with a 0.045 m^2 Eckmann bucket and water surface samples with stainless steel and glass equipment.

2.1 Sampling area

Sampling of sediment and the corresponding surface water was performed in the bed of the Garonne River (Fig. 1). The physicochemical evaluation, pedological evolution and human activity effects of this part of the Garonne basin have been described in other papers.^{24–27} The sampling sites are referenced by the codes in Table 1, corresponding to the sites shown on the map (Fig. 1).

2.2 Sampling period

All sediment and water samples were collected the same day (16th March 2005), 54 days after the last rainfall. Sediment samples were collected in coves during the winter low-water event corresponding to the beginning of treatments and to maximum sedimentation under cold water conditions. Pre-emergence herbicides indicate recent pollution, urban as well as agricultural, during a typical period of spreading. This was the most marked low-water level event and the sediment to be collected was never out of water. The Garonne has a flow mode characterized by severe low-water levels¹⁹. The end of the winter season was selected for sampling, taking into consideration agricultural uses according to investigations of the regional service for plant protection (SRPV). This period corresponds to the beginning of spring, especially in 2005, when spring was particularly early and dry. The last relevant rain event induced a $568.91 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ flow (21/01/2005).

2.3 Sample treatment

The different sediment fractions were dried at room temperature and separated according to the Commission of Oslo and Paris (OSPAR) methods.^{28–32} The sediment components were separated using an agate mortar and sifted with 2 mm and 63 µm mesh sieves (stainless steel sieves from Retsch GmbH and Co. KG, Haan, Germany) to distinguish silts and clays from sands and plant remains.

For water samples, dichloromethane (1 : 40; v/v) was added to the unfiltered water sample at the sampling site and stored in the dark until extraction the next day. Unfiltered water was analyzed according to normative directives and to a better appreciation of the exposure of the different biota to the contamination.

3. Method of analysis: multi-residue approach

3.1 Sample analysis

3.1.1 Chemicals and equipment. All solvents were of analytical grade for pesticide analysis ("Pestipur" by SDS Solvant Documents Synthèse, Peypin, France). Analytical grade anhydrous sodium sulfate was also from SDS. Pesticide standards (Mix 44) from Dr Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany) were purchased from C.I.L., Sainte-Foy-la-Grande, France. Reference soil (Eurosoil7) was from Sigma–Aldrich (St Louis, Missouri, USA). Florisil cartridges used for purification were from Waters Corporation (Milford, Massachusetts, USA).

Extraction was performed with a Dionex accelerated solvent extractor (ASE 200) (Dionex, Salt Lake City, Utah, USA). Diatomaceous earth (Hydromatrix[®]) was from Varian, Palo Alto, California, USA.

3.1.2 Sample extraction and purification

Sediment samples. From the initially described method for organo-chlorine insecticides in soils and whole sediments,³³ recovered by Concha-Graña *et al.*³⁴ on the Ehrenstorfer mix 20, recommended by Dionex³⁵ and approved by the U.S. Environmental Protection Agency, the method was adapted to the extraction of those pre-emergence herbicides. Sediment samples collected were analysed on arrival at the laboratory. For each sediment fraction, 10 g was extracted on an ASE 200. Briefly, three cycles of five minutes (static phase) were carried out for extraction. The extraction solvent was a mix of hexane and acetone (1 : 1, v/v) under two distinct temperatures, the

first being at 50 °C and the second at 100 °C, according to pesticide sensitivity to high temperatures. The cell was flushed to 60% of its volume over a period of 60 s. Sediment extracts were not directly analysed because of their high chlorophyll content. Chlorophyll was removed on a Florisil cartridge according to a method derived from Müller *et al.*³⁶ Each extract was evaporated until dry and the residue dissolved in 2.5 mL of hexane. Compounds of interest were eluted in three separate fractions using 20 mL of *n*-hexane : diethylether (94 : 6, v/v), followed by 10 mL of *n*-hexane : acetone (9 : 1, v/v) and finally by 20 mL hexane : acetone (1 : 1, v/v). The elution speed was 0.5 mL min⁻¹. On the basis of spiking the reference material (Eurosoil 7) used as a surrogate standard at a concentration of 0.15 µg g⁻¹, the recovery yield was established for each compound and the efficiency was checked and confirmed by applying the same protocol to an organo-chlorine mix (mix 20, Dr Ehrenstorfer GmbH).

Water samples. Unfiltered water samples were liquid–liquid extracted using the shake-flask method with dichloromethane as a solvent for phase exchange. The total solvent : water ratio was 1 : 6, v/v. After extraction, dichloromethane was dried on anhydrous sodium sulfate (50 g) and evaporated under vacuum. The dried residue was dissolved in 2 mL of hexane.

3.1.3 Chromatographic conditions. The extracts were analysed using an HP 5890 Series II gas chromatograph coupled to an MSD HP 5971 mass detector. Chromatographic conditions in the splitless mode (injector temperature: 280 °C) were set up at an initial temperature of 45 °C. The first step had a temperature increase rate of 35 °C min⁻¹ up to 180 °C, then a second step at 8 °C min⁻¹ up to 280 °C and, finally, a 10 min plateau at 280 °C. The detection conditions were: temperature, 300 °C; E.M.V., 2600 V; the followed ions in SIM mode are presented in Table 2. In these conditions, diuron could not be detected since a cold on-column injection was not used.

3.1.4 Evaluation of the detection limit and the repeatability of the method. The detection limit established was 0.001 µg g⁻¹ (Table 2) except for metobromuron, methabenthiuron and metazachlor which showed higher detection values (0.01–0.005 µg g⁻¹) due to the cross contamination of some samples by phthalates, particularly of water samples. The relative standard deviations for four derivatives were compared to

Table 2 Studied herbicides and metabolites by family and their recovery percentage from a standard reference soil material (Eurosoil7) and the specific ions used in GC-MS. Detection limit was established for the HP5890 equipped with 5971MSD equipment

	Herbicides (Mix 44)	Recovery (%)	Specific ions	Detection limit/µg g ⁻¹
s-Triazines	Desethylatrazine (DEA)	82.4%	146	0.005–0.001
	Hexazinone	102.0%	209-175-135	0.005
	Simazine	91.3%	172-187-145	0.001
	Atrazine	101.3%	164	0.005–0.001
	Terbuthylazine	101.2%	172-201	0.001–0.0001
	Sebuthylazine	96.7%	61	0.001
	Cyanazine	102.2%	162	0.005–0.001
Substituted ureas	Metobromuron	99.1%	172-214	0.01–0.005
	Isoproturon	95.9%	68-173-201	0.001
	Linuron	104.6%	61	0.001
	Methabenthiuron	97.7%	187	0.01–0.005
Anilides	Metazachlor	88.2%	132-160-209	0.01–0.005
	Metolachlor	102.2%	61	0.001

Table 3 Relative standard deviation observed on cyanazine, simazine and metolachlor herbicides and DEA metabolite from triplicates of sediment samples for two sites and triple injection of Mix44 standard

	Cyanazine	DEA	Simazine	Metolachlor
Site A	4.51%	7.88%	12.20%	11.86%
Site B	4.90%	7.30%	13.11%	12.51%
Standard	5.11%	9.01%	13.76%	13.50%

that of three injections of the standards mix and varied with an acceptable repeatability <14% as shown in Table 3.

3.1.5 Recovery on a reference material. For the studied herbicides, the recovery percentage after sample preparation, extraction and purification obtained for each pesticide varied from 82.4% to 104.6% (Table 2), leading to a mean recovery of $95.4 \pm 6.5\%$. The efficiency of this method is confirmed by the test on organo-chlorine derivatives which gave a mean recovery yield of 98.5% in accordance to methods used in other studies.³⁴

3.2 Assessment of the used method

As the extraction method was applied to organo-chlorine pesticides with results in agreement to the previous studies of Richter *et al.*³³ and Concha-Graña *et al.*,³⁴ this method covers a broad spectrum of pesticides having varied physicochemical properties with fairly good recoveries. The extracted compounds can vary from quasi-insoluble residues to more soluble ones (from endosulfan: 0.32 mg L^{-1} to hexazinone: $33\,000 \text{ mg L}^{-1}$), for lipophily or vapour pressure the same ranges are involved: DDT K_{ow} : 6.19 to hexazinone's one: 1.05, $0.2 \mu\text{Pa}$ for cyanazine to $53\,000 \mu\text{Pa}$ for heptachlor. This can be attributed to the extraction solvent mixture; hexane collecting the most lipophilic residues like OCPs while a less hydrophobic solvent like acetone collects the least lipophilic residues like substituted ureas. Although being air-dried, the matrix contains a small quantity of bound water measured by a concomitant 105°C drying (3% of dry weight). This low level of water does not represent a handicap in the process since drying on sodium sulfate could be eliminated but prohibits the use of a sole hydrophobic solvent such as hexane.

The duration of the sample treatment can be adapted to the study's objectives. If an overview of the contamination is needed, the first two steps *i.e.* drying at room temperature and a 2 mm sifting are convenient, but if an approach of the fate of pesticides in sediments is aimed at, the next step of a $63 \mu\text{m}$ sifting must be taken in account, even though it is time consuming. Since wet sifting is prohibited due to the solubility of the studied compounds, the air drying step (2–3 days) is sufficiently short to avoid the consideration of the decomposition of those weak half-life molecules explained by the possibility of an adsorption–protection process. When lipophilic molecules such as OCPs and PCBs are involved, the study of the fine fraction of the sediment is sufficient¹¹ for a global evaluation of sediment contamination, but in the case of those herbicidal compounds, further study is needed to evaluate the contribution of the coarse fraction in the total contamination of the sediment.

4. Application to the mid-Garonne River

4.1 Results

4.1.1 Herbicide content

4.1.1.1 Sediment. Herbicide concentrations of sediment are shown in Table 4. The sediment from the reservoirs presented the highest herbicide contamination with the most varied types of herbicide molecules and the highest concentrations. Except in dams, the fine fraction was more contaminated than the coarse fraction. Five molecules made a significant contribution to herbicide contamination: simazine (especially in the Garonne and tributaries), cyanazine, isoproturon (especially in reservoirs), linuron and metolachlor.

The concentrations of the herbicides in whole, unsieved sediment for the 3 main families are presented in Fig. 2. Malaue (M2), Empalot (G2) and Mancies (M1) were the three most contaminated sites, whereas Portet (G1), Bourret (G4), and Save River (A3) sediments exhibited the lowest contents.

Except in dams, on examination of the herbicide distribution in the 2 subfractions (Table 4), the fine fraction was more contaminated than the coarse one. Five molecules made a significant contribution to herbicide contamination *i.e.* simazine (especially in the Garonne and tributaries), cyanazine, isoproturon (especially in the M2 reservoir), linuron and metolachlor. Total concentration range (between $2.63 \mu\text{g g}^{-1}$ for M1 and $2.41 \mu\text{g g}^{-1}$ for M2) and the highest number of detected molecules (11) were observed in the reservoir. Fine fractions of tributary sediment had a concentration range between $2.42 \mu\text{g g}^{-1}$ and $2.02 \mu\text{g g}^{-1}$, except for in the Save River (A3). Sediment sampled in the main channel showed lower concentrations, even under the detection limit. The most contaminated site was G2 with $3.15 \mu\text{g g}^{-1}$, followed by M2 and M1. Except in the reservoir sediments, only five herbicides and the metabolite desethylatrazine (DEA) were significantly detected in this Garonne area: isoproturon and metolachlor reached their maximum level at G2; the cyanazine level at this point was only exceeded by that at M2. Simazine and linuron were also at a maximum among Garonne samples at G2. At G1, the upstream sample site on the Garonne River, herbicides were under the detection limit. Maximum DEA levels were observed on the Garonne downstream from Toulouse (G3). For all sites *s*-triazines were the most abundant derivatives (54%), then substituted ureas (29%) and finally anilides (17%). On the basis of frequency of occurrence (number of detectable concentrations of a molecule over the total number of analyses), anilides dominated (41%) followed by substituted ureas (39%) and triazines (36%).

For the coarse fraction (Table 4), sediment collected behind dams showed the maximum concentration ranges ($1.9 \mu\text{g g}^{-1}$ for M1 and $5.18 \mu\text{g g}^{-1}$ for M2) and the largest number of detected molecules (12). Coarse fractions of tributary sediments held ranges between $0.75 \mu\text{g g}^{-1}$ (A1) and $0.28 \mu\text{g g}^{-1}$ (A3). Coarse sediments sampled in the Garonne River bed showed the lowest ranges ($0.01 \mu\text{g g}^{-1}$ for G1 to $0.72 \mu\text{g g}^{-1}$ for G2). The most contaminated sites were reservoirs: Malaue (M2) with $5.18 \mu\text{g g}^{-1}$ followed by Mancies (M1) ($1.90 \mu\text{g g}^{-1}$) and the urban weir G2 ($3.15 \mu\text{g g}^{-1}$), which induced high sedimentation levels in this area. The least contaminated

Table 4 Herbicide concentration of fine (FF) and coarse (CF) fractions in the riverside sediment ($\mu\text{g g}^{-1}$) of the different stations (cf. Table 1)^a

Herbicides	Stations																					
	M1		G1		G2		A1		A2		G3		A3		G4		A4		M2		G5	
	FF	CF	FF	CF	FF	CF	FF	CF	FF	CF	FF	CF	FF	CF	FF	CF	FF	CF	FF	CF	FF	CF
DEA	0.45	0.01	—	—	0.12	—	0.23	—	0.12	0.02	0.62	—	0.05	0.02	—	—	0.27	0.03	0.29	0.1	—	—
Simazine	0.17	0.22	—	—	0.66	0.05	0.93	—	0.93	0.03	0.53	—	0.01	—	—	0.77	—	0.19	T	—	0.08	
Atrazine	0.38	0.07	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.06	—	0.01	0.08	—	—	—	
Terbuthylazine	0.13	—	—	—	—	—	—	—	0.16	—	—	—	—	—	—	—	—	0.16	0.1	—	—	
Sebuthylazine	—	0.03	—	—	—	—	—	—	—	0.64	—	—	—	—	—	—	0.16	0.05	0.75	—	—	
Cyanazine	0.35	0.72	—	—	0.54	0.6	0.13	—	0.26	—	0.02	—	—	—	—	—	0.03	0.72	0.7	—	0.34	
Hexazinone	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Sub-total <i>s</i> -triazines (1)	1.48	1.06	—	—	1.32	0.65	1.28	—	1.20	0.31	1.79	0.02	0.06	0.02	—	0.06	1.05	0.24	1.48	1.66	—	0.42
Methabenzthiazuron	—	0.01	—	—	—	—	—	—	0.16	0.04	—	—	—	—	—	—	0.05	0.03	T	—	—	
Metobromuron	0.43	0.05	—	—	—	—	—	—	—	0.13	—	—	—	—	—	—	—	0.49	0.1	—	—	
Isoproturon	—	0.01	—	—	0.80	—	0.46	0.35	—	—	0.42	—	0.13	—	—	—	0.29	—	0.06	2.3	—	
Linuron	0.48	0.64	—	—	0.35	—	0.4	0.48	0.3	0.25	0.25	0.09	—	—	—	0.16	—	0.49	1.06	—	—	
Sub-total sub. ureas (2)	0.91	0.7	—	—	1.14	—	0.46	0.75	0.63	0.35	0.37	0.67	0.09	0.13	—	—	0.45	0.05	1.06	3.46	—	
Metolachlor	0.07	0.11	—	—	0.68	0.08	0.40	—	0.18	—	0.26	—	—	0.13	—	—	—	0.04	0.21	0.02	—	
Metazachlor	0.17	0.4	—	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.91	0.04	0.19	0.05	0.26	
Sub-total anilides (3)	0.24	0.14	—	0.01	0.68	0.08	0.40	—	0.18	—	0.26	—	—	0.13	—	—	0.91	0.08	0.40	0.07	0.26	
Total (1) + (2) + (3)	2.63	1.9	—	0.01	3.15	0.72	2.14	0.75	2.02	0.65	2.43	0.69	0.15	0.28	—	0.06	2.41	0.37	2.95	5.18	—	0.68

^a —, under the detection limit; T, traces of herbicide (lower than $0.01 \mu\text{g g}^{-1}$).

tributary was the Save River (A3) with $0.28 \mu\text{g g}^{-1}$ and the two sampling sites (G1, G4) on the Garonne River showed a lower level of herbicides compared with the other sites. Excepting dams, six herbicides and DEA were significantly detected. DEA, methabenzthiazuron and metazachlor were only located in tributaries and dams. On the basis of abundance in the

coarse fraction, substituted ureas dominated (54%) followed by *s*-triazines (39%) and anilides (7%), showing a different profile to that obtained with the fine fractions. On the basis of frequency, anilides dominated (50%), followed by substituted ureas (36%) and *s*-triazines (35%), just like the fine fraction.

4.1.1.2 Water. Unfiltered water samples from the 11 sites were analysed (Table 5, Fig. 3). Only four stations exhibited a herbicide concentration higher than the detection limit ($0.01 \mu\text{g L}^{-1}$). Average surface water herbicide concentrations for the 4 sampling sites concerned was close to $1.17 \mu\text{g L}^{-1}$. For the three urban sites, simazine, atrazine and terbuthylazine for the *s*-triazine family and methabenzthiazuron and isoproturon for substituted ureas, were present at detectable

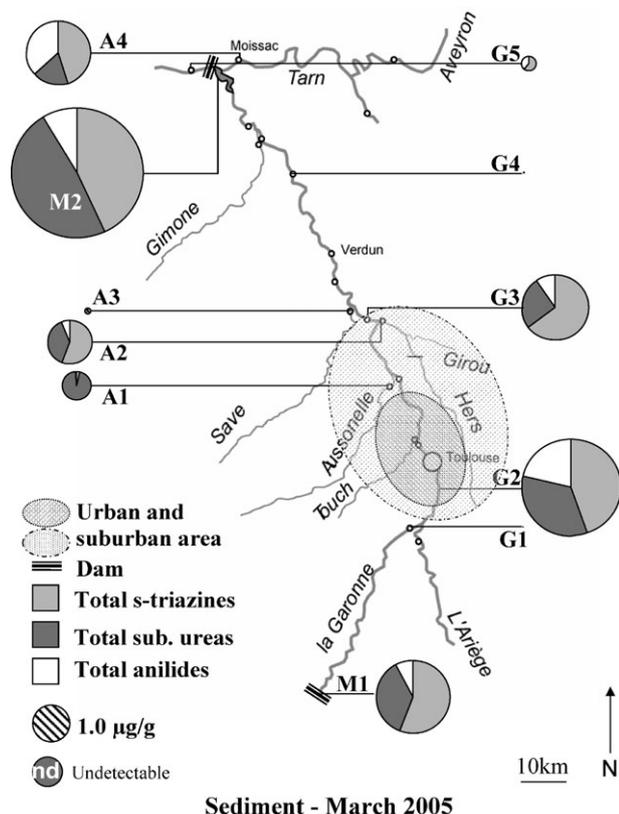


Fig. 2 Herbicide concentrations observed in the bottom sediment, grouped by family, during the sampling period of March 2005.

Table 5 Herbicide concentration in the unfiltered water (expressed in $\mu\text{g L}^{-1}$). For M1, G1, A3, G4, A4, M2 and G5 stations, all the concentrations were under the detection limits^a

Herbicides	Stations			
	G2	A1	A2	G3
DEA	—	—	—	—
Simazine	—	0.03	0.05	0.01
Atrazine	—	0.12	0.09	0.05
Terbuthylazine	—	0.04	0.05	0.01
Sebuthylazine	—	—	—	—
Cyanazine	—	—	0.04	0.01
Hexazinone	—	—	—	—
Sub-total <i>s</i> -triazines (1)	—	0.19	0.22	0.08
Methabenzthiazuron	T	1.18	1.95	0.35
Metobromuron	—	—	—	—
Isoproturon	0.06	0.18	—	0.15
Linuron	—	—	0.17	—
Sub-total sub. ureas (2)	0.06	1.36	2.12	0.51
Metolachlor	—	—	—	—
Metazachlor	—	—	0.05	0.07
Sub-total anilides (3)	—	—	0.05	0.07
Total (1) + (2) + (3)	0.06	1.54	2.39	0.65

^a —, under the detection limit; T, traces of herbicide (lower than $0.01 \mu\text{g g}^{-1}$).

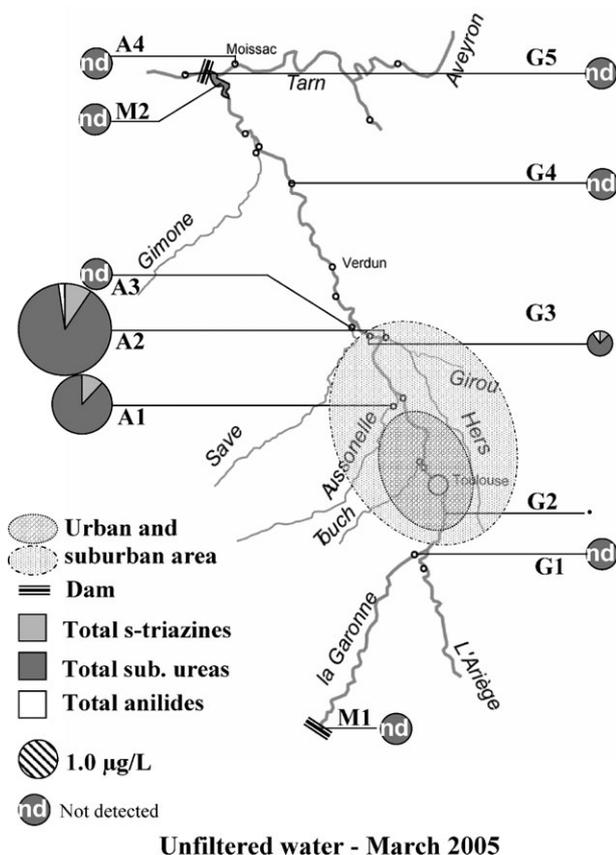


Fig. 3 Herbicide concentrations observed in unfiltered water, by family and by sampling site.

concentrations and the incriminated sites showed the same profile, except A1 for cyanazine and metazachlor and A2 for isoproturon. Cyanazine and metazachlor are present to a lesser extent.

Three surface water samples (A1, A2, G3) had a total herbicide concentration higher than the French recommendation for drinking water, which follows European directives (EEC, 1980) ($0.5 \mu\text{g L}^{-1}$): maximum concentration of $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ for each molecule and $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$ for all the cumulated pesticide concentrations. Among water samples, some of them had a total herbicide concentration higher than the allowed threshold set by the World Health Organization given for each molecule.

4.1.2 Statistical analysis of herbicide distribution into the different fractions. Statistical analysis of data was run with the SPSS 12.0 software (Microsoft Corporation, Mountain View, California, USA). Principal component analysis (PCA) was performed to reveal the various sources of herbicide contamination. This analysis allows investigating the implications of different parameters, either bound to the sampling site or bound to the studied molecule parameters in the repartition of those molecules along the Garonne River (Fig. 4). The principal component analysis was performed considering the concentration of each herbicide by family and by fraction at all the sampling sites, to illustrate the relationship between sites and the sources of pollution. Some sites, presenting a very

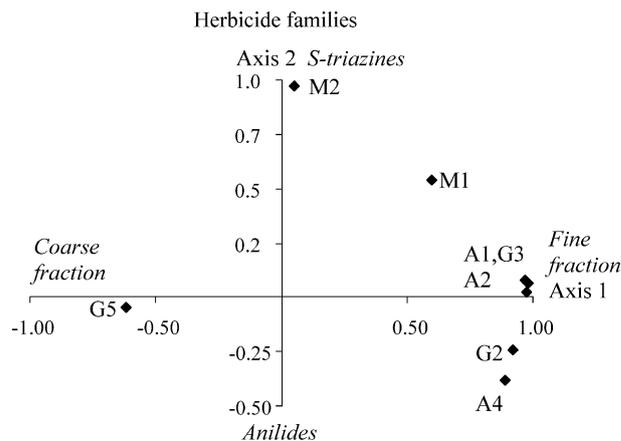


Fig. 4 PCA of herbicide concentration in the different fractions. M1: Mancies reservoir, M2: Malause reservoir, G2: Empalot, G3: Grenade, G5: Lamagistère, A1: Aussonnelle River, A2: Hers River, A4: Tarn River.

low concentration (traces) of herbicides, were excluded (Portet G1, Bourret G4 and Save River A3). The first axis (45.6%) represents the granulometric distribution, *i.e.* the relative proportion of each fraction without consideration for the participating herbicides. The second axis (29.5%) segregated the herbicides on the basis of their physiological targets *i.e.* photosystem II for *s*-triazines and substituted ureas and the growth regulation enzymes for anilides. G3 (Garonne downstream from Toulouse), A2 and A1 sites are well correlated and probably impacted by Toulouse suburbs. Conversely, M1 and M2 represented dams which are not correlated with this Toulouse site group. The two weir sampling sites, G2 (site across Toulouse city) and Tarn River (A4), are linked by these hydrological similarities, inducing sedimentation similarities. The G5 sampling site (Lamagistère) is located downstream from the Malause reservoir and showed detectable concentrations only in the coarse fraction.

4.2 Discussion

4.2.1 Herbicide concentration in water and sediment. Considering previous and preliminary reports,^{16–18} contamination of the Garonne water and tributaries observed in this work presented average values lower than those described in the literature.^{4,5,13} According to those references about herbicide contamination and numerous others, such as Konstantinou *et al.*,³⁷ which reviewed 20 European rivers, atrazine, terbuthylazine, simazine and metolachlor contamination of water in the Garonne River is comparable to the Loire, Segre, Thames or Guadiana Rivers (0.001 and $0.437 \mu\text{g L}^{-1}$).³⁷ In the Garonne River, Dupas *et al.* observed higher concentrations of pesticides in 1989 than those observed in this study, except for 4 stations (G2, G3, A1 and A2), which exhibited the same level of pesticide (0.1 to $1 \mu\text{g L}^{-1}$), particularly for DEA, atrazine, simazine, and isoproturon.

Regarding the sediments, studies of herbicide contamination are scarce and were conducted on small basins.^{30,36} Müller *et al.*³⁰ observed the concentration of 22 organochlorinated, organophosphorus substituted ureas and *s*-triazines in

11 Australian agricultural drains (sugarcane, horticulture and cotton cultures). In these studies, the herbicide contaminations (substituted ureas and *s*-triazines) present ranged in values from 0.001 to 0.08 $\mu\text{g g}^{-1}$. Gao *et al.*³⁶ investigated *s*-triazines and aminotriazoles contamination of a pond located in southern Germany. They found a maximum herbicide content of 0.012 $\mu\text{g g}^{-1}$. The lowest contaminated sites presented in our study are in agreement with the lowest contaminated sites observed in the study mentioned above (0.01 $\mu\text{g g}^{-1}$). However, maximum values observed in G2, G3, A1, A2 and A4 were 10 to 100 times as high as maximum values observed elsewhere for sediment in smaller basins. In the Garonne basin, in regard to *s*-triazine concentrations, these results suggested a continued presence of *s*-triazines, even if these molecules were not allowed in use since 2003. In this way, sediments could constitute a possible source of storage of these molecules.

In addition, the analysis of pesticides in sediments of the Garonne River showed that these organic pollutants were more concentrated in the fine fractions (FF) than in the coarse ones (CF), as previously observed by Karickhoff *et al.*¹¹ The observed ratio FF : CF (3 : 1) is comparable to that given by Gao *et al.* (3.5 : 1).³⁰ Three molecules (cyanazine, isoproturon, linuron) represented more than 80% of the total herbicide content in the coarse fraction. Anilide herbicides were more concentrated in the fine fraction (17%) than in the coarse one (7%), showing that the repartition of those molecules in the sediment is complex. As previously described by Karickhoff *et al.*¹¹ two parameters control this repartition: lipophilicity and specific surface. The diversity of fraction components (on the one hand silts and clays for the fine fraction and on the other hand sands and in some cases plant remains for the coarse fraction) is complemented by the physicochemical properties of the studied herbicides (1 to 3.5 for *K_{ow}* and 1 to 33 000 $\mu\text{g L}^{-1}$ for solubility).

4.2.2 Spatial distribution of herbicide contamination. Fig. 2 and 3 show that the water contamination was not detectable for sites where herbicidal contamination in sediment could be found for the studied molecules.

The main values for water contamination were observed near the urban area of Toulouse, representing only 2% of the studied sector (Ibarra *et al.*).²⁷ Critically contaminated water samples, according to the law enforced in the European Union,³⁸ originated from the two tributaries (A1 and A2) situated in this suburban area. If these results contradict the generally accepted idea that pesticides originate mainly from rural areas, they are in agreement with different studies outlining this paradoxical influence of cities.^{2–5} Such a significant presence of *s*-triazine, urea and anilides has been previously reported in France.⁴ In addition, studies about the amenity use involved in direct urban impact are generally not taken into account by local authorities. In the present study, the lotic water contamination was strongly linked to the sediment contamination.

Upstream from Toulouse (G1), the Garonne sediment presented negligible herbicide concentration. Tributaries draining suburban areas like the Aussonnelle (A1) and Hers (A2) Rivers, presented high herbicide levels (2.14 and 2.02 $\mu\text{g g}^{-1}$

for the fine fraction), whereas the Save River (A3) drainage basin is widely used for agricultural activity (wheat, corn and sunflower) and presented a much lower (0.15 $\mu\text{g g}^{-1}$) herbicide concentration. Downstream from the Toulouse area, the two tributaries of the Save (A3) and Tarn (A4) Rivers showed a large difference in found herbicide concentrations. The Save River (A3) profile is bound to the small variety of crops and characterised by the presence of the metabolite DEA. The Tarn River (A4) showed contamination due to the orchard plantations and the inherent associated pollution risks.^{39–42} The observed pesticide signature (simazine in association with metazachlor) could be in agreement with tree treatments.⁴³

Mancies (M1) and Malause (M2) were among the most contaminated points. Reservoir sediments contributed mostly to the herbicide content, according to the observations of Doggett and Rhodes.⁴⁴ They showed that, for diazinon (an organophosphorus insecticide), the concentrations in the reservoir were higher than along the upstream part of the river. This can be explained by the differences in the sedimentation process, owing to the differences in water velocities. In the Garonne basin, two hydraulic obstacles were discriminated: weirs (G2, A4) and dams (M1, M2). Weirs were characterized by an overflowing regime, inducing the elimination of the organic part of the coarse fraction. The effects of hydraulic conditions and sedimentation similarities are illustrated by the PCA (Fig. 4), in which sites G2 and A4 are close.

For dams, the draw off water evacuation induced a coarse fraction accumulation all along the reservoir. However, Mancies (M1) and Malause (M2) were not mutually correlated by the PCA (Fig. 4), since they have two different hydraulic regimes. Malause (M2) is situated at the confluence of the Garonne River and its main tributary, the Tarn River. A comparable disturbance is absent along the Mancies site (M1). The difference between the two dams is due to the higher contamination of the fine fraction in M1 than in M2. M2 is under the influence of the sedimentation of primary production of the Tarn River. The PCA showed the exclusion of Lamagistère (G5). This sample, with a high contribution from plant remains, presented a C/N value of 17 for the coarse fraction and a value of 7 for the fine one. The other coarse and fine fractions presented C/N values of, respectively, about 14 ± 2 and 6 ± 1 (data not shown). This high C/N value is due to plant fragments taken from aquatic flowering plants (*Potamogeton perfoliatus* L.). The coarse fraction presented much higher herbicide concentrations than the fine ones. The herbicide fine fraction concentrations were undetectable.

Conclusion

The methods of extraction, purification and multi-residues analysis herein suggested is applicable to a broad spectrum of molecules contaminating sediment, pesticides or persistent organic pollutants and with good recoveries (higher than 80%). The method is flexible according to the needs (mechanistic or monitoring) and the sample preparation.

Studies are currently being conducted to understand the complex relationships between sediment contributors and herbicides, in particular in the case of reservoirs and hydraulic regimes, leading to their distribution by fraction. For this first

analysis of herbicides contamination of the Garonne basin, water contamination by herbicides in the mid-Garonne River was found to be minor, except at three points (A1, A2 and G3). The analytical method presented herein allowed the characterisation of different profiles of contamination: idled zones with the presence of numerous derivatives in the sediment and a lack of them in the water-column, including dams, weirs, urban zones with a concomitant notable contamination of water and sediment, and rural zones less contaminated by parent molecules and where metabolites can be found. For both sediment and water, the highest concentrations of herbicides occurred in urban and suburban zones, accrediting an important impact of these contaminants in non-agricultural areas, which has to be confirmed by an extended study with more specific herbicides, such as glyphosate and diuron.

Acknowledgements

This study was performed within the framework of the GIS-ECOBAG, Programme P2 "Mid-Garonne River", and supported by funds from CPER and FEDER (grants no OPI2003-768) of the Midi-Pyrenees Region and Zone Atelier Adour Garonne (ZAAG) of PEVS/CNRS-INSUE. Special thanks go to Francis Dauba and Huong Nguong for their helpful technical assistance.

References

- 1 F. Bro-Rasmussen, Content by persistent chemicals in food chain and human health, *Sci. Total Environ.*, 1996, **188**(1), S45–S60.
- 2 R. A. Kimbrough and D. W. Litke, Pesticides in streams draining agricultural and urban areas, *Environ. Sci. Technol.*, 1996, **30**(3), 908–916.
- 3 CORPEN, *Waters quality and pesticides, proposals for a diagnosis process* (in French), Ministère de l'Environnement, Paris, France, 1996.
- 4 A. C. Gerecke, M. Schrärer, H. P. Singer, S. R. Müller, R. P. Schwarzenbach, M. Sägesser, U. Ochsenein and G. Popow, Sources of pesticides in surface waters in Switzerland: pesticide load through waste water treatment plants—current situation and reduction potential, *Chemosphere*, 2002, **48**, 307–315.
- 5 H. Blanchoud, F. Farrugia and J. M. Mouchel, Pesticide uses and transfers in urbanised catchments, *Chemosphere*, 2004, **55**, 905–913.
- 6 S. K. Braman, R. D. Oetting and A. D. Florkowski, Assessment of pesticide use by commercial landscape maintenance and lawn care firms, *J. Entomol. Sci.*, 1997, **32**, 403–411.
- 7 OPECST, *Sénat—Water quality and cleansing report in France*, 215 (in French), Paris, France, 2003, pp. 195.
- 8 ANTEA, *Characterization of the nonagricultural use of the plant health products in the Adour-Garonne basin and evaluation of the risks of water pollution* (in French), France, 1996, pp. 29.
- 9 H. Blanchoud, V. Andreassian, P. Ansard, J. M. Mouchel, N. Fauchon, G. Billen and M. Chevreuil, *Use and transfer of pesticides in the Marne River basin*, unpublished report 1998–2001 (in French), Piren-Seine, France, 2002, p. 29.
- 10 J. Perfect, The environmental impact of DDT in a tropical agroecosystem, *Ambio*, 1980, **9**(1), 16–21.
- 11 S. W. Karickhoff, D. S. Brown and T. A. Scott, Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments, *Water Res.*, 1979, **13**, 241–248.
- 12 A. A. Koelmans, F. Gillissen, W. Makatita and M. Van Den Berg, Organic carbon normalisation of PCB PAH and pesticide concentrations in suspended solids, *Water Res.*, 1997, **31**(3), 461–470.
- 13 R. Götz, O. H. Bauer, P. Friesel and K. Roch, Organic trace compounds in the water of the river Elbe near Hamburg part II, *Chemosphere*, 1998, **36**(9), 2103–2118.
- 14 L. Wolska, M. Wierowski, K. Galer, T. Górecki and J. Namiesnik, Sample preparation for GC analysis of selected pesticides in surface water, *Chemosphere*, 1999, **39**(9), 1477–1486.
- 15 J. L. Zhou, H. Hong, Z. Zhang, K. Maskaoui and W. Chen, Multi-phase distribution of organic micropollutants in Xiamen Harbour China, *Water Res.*, 2000, **34**(7), 2132–2150.
- 16 C. Cossu, A. Doyotte, M. Babut, A. Exinger and P. Vasseur, Antioxidant biomarkers in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, in response to different content profiles of aquatic sediments, *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, 2000, **45**(2), 106–121.
- 17 S. Dupas, P. Scribe, H. Etcheber and A. Saliot, *Phenylurea and triazine herbicides in the Garonne River (France) during high flood and low water periods*, 4th workshop on chemistry and fate of modern pesticides and related pollutants, Prague, 1993.
- 18 C. Bancon-Montigny, G. Lespes and M. Potin-Gautier, Organotin survey in the Adour-Garonne basin, *Water Res.*, 2004, **38**(4), 933–946.
- 19 S. Sauvage, S. Teissier, P. Vervier, T. Amézière, F. Garabétian, F. Delmas and B. Caussade, A numerical tool to integrate biophysical diversity of a large regulated river: hydrobiogeochemical bases. The case of the Garonne River (France), *River Res. Appl.*, 2003, **19**, 181–198.
- 20 D. Bengen, Contribution to the functional typology of the side-arms of the Garonne River approaches physicochemical and ichthyologic (in French), PhD thesis, Institut National Polytechnique de Toulouse, 1992.
- 21 M. Bornand, D. Arrouays, D. Baize and M. Jamagne, Methodological framework of a regional cartography of the grounds on a scale of 1/250 000° (in French), *Sci. Sol.*, 1989, **27**(1), 17–20.
- 22 SCEES, *Agriculture and agro alimentary one in regions* (in French), Agreste GraphiAgri Régions, 2002, pp. 340.
- 23 Agreste, *Enquête de structure des exploitations en 2003* (in French), 2004, Données 20, p. 4.
- 24 D. Etchanchu and J. L. Probst, Evolution of the chemical composition of the Garonne river during the period 1971–1984, *Hydrol. Sci. J.*, 1988, **33**, 243–256.
- 25 F. Dauba, S. Lek, S. Mastrorillo and G. H. Copp, Long-term recovery of macrobenthos and fish assemblages after water pollution abatement measures in the river Petite Baise (France), *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1997, **33**, 277–285.
- 26 R. A. Hutagalung, P. Lim, A. Belaud and T. Lagarrigue, Global effects of an agglomeration on fish typology of a river: case from the Garonne in Toulouse (France) (in French), *Ann. Limnol.*, 1997, **33**, 263–279.
- 27 A. A. Ibarra, F. Dauba and P. Lim, Influence of non-point source pollution on riverine fish assemblages in South West France, *Ecotoxicology*, 2005, **14**(5), 573–588.
- 28 OSPAR, *Strategy for a program of evaluation and continuous monitoring (JAMP)* (in French), 2003–22, 2005.
- 29 G. Umlauf and R. Bierl, Distribution of organic micropollutants in different size fractions of sediment and suspended solid particles of the River Rotmain, *Z. Wasser-Abwasser-Forsch.*, 1987, **20**, 203–209.
- 30 J. P. Gao, J. Maguhn, P. Spitzauer and A. Kettrup, Distribution of pesticides in the sediment of the small Teufelsweiher pond (Southern Germany), *Water Res.*, 1997, **31**(11), 2811–2819.
- 31 J. P. Gao, J. Maguhn, P. Spitzauer and A. Kettrup, Sorption of pesticides of the Teufelsweiher pond (Southern Germany). II: Competitive adsorption, desorption and aged residues and effect of dissolved organic carbon, *Water. Res.*, 1998c, **32**(7), 2089–2094.
- 32 A. W. Leonard, R. V. Hyne, R. P. Lim, K. A. Leigh, J. Le and R. Beckett, Fate and toxicity of endosulfan in Namoi River water and bed sediment, *J. Environ. Qual.*, 2001, **30**, 750–759.
- 33 B. Richter, J. Ezzell and D. Felix, Dionex Corporation-single laboratory Method Validation Report: Extraction of TCL/PPL (Target Compound List/Priority Pollutant List) BNAs and Pesticides Using Accelerated Solvent Extraction (ASE) with Analytical Validation by GC/MS and GC/ECD, document 116064.A, 1995.
- 34 E. Concha-Graña, M. I. Turnes-Carou, S. Muniategui-Lorenzo, P. López-Mahía, E. Fernández-Fernández and D. Prada-Rodríguez, Development of pressurized liquid extraction and cleanup procedures for determination of organochlorine pesticides in soils, *J. Chromatogr., A*, 2004, **1047**(1), 147–155.
- 35 Dionex, Extraction of Chlorinated Pesticides Using Accelerated Solvent Extraction (ASE), application note 320, 1999, p. 3.

-
- 36 J. F. Müller, S. Duquesne, J. Ng, G. R. Shaw, K. Krrishnamohan, K. Manonmanii, M. Hodge and G. K. Eaglesham, Pesticides in sediments from Queensland irrigation channels and drains, *Mar. Pollut. Bull.*, 2000, **41**(7–12), 294–301.
- 37 I. K. Konstantinou, D. G. Hela and T. A. Albanis, The status of pesticide pollution in surface waters (rivers and lakes) of Greece. Part I. Review on occurrence and levels, *Environ. Pollut.*, 2006, **141**(3), 555–570.
- 38 EEC directive, EEC council directive on drinking water (80/778/EEC), *Off. J. Eur. Communities: Legis*, 1980, L. 229.
- 39 D. M. Suckling, J. T. S. Walker and C. H. Wearing, Ecological impact of three pest management systems in New Zealand apple orchards, *Agric., Ecosyst. Environ.*, 1999, **73**, 129–140.
- 40 J. V. Cross, P. J. Walkate, R. A. Murray and G. M. Richardson, Spray deposits and losses in different sized apple trees from an axial fan orchard sprayer: effect of spray liquid flow rate, *Crop Prot.*, 2001a, **20**, 13–30.
- 41 J. V. Cross, P. J. Walkate, R. A. Murray and G. M. Richardson, Spray deposits and losses in different sized apple trees from an axial fan orchard sprayer: 2. Effects of spray quality, *Crop Prot.*, 2001b, **20**, 333–343.
- 42 R. Schulz, Rainfall-induced sediment and pesticide input from orchards into the Lourens river: western Cape. South Africa. Importance of a single event, *Water Res.*, 2001, **35**(8), 1869–1876.
- 43 ACTA, ACTA Index Phytosanitaire, 36^{ème} édition (in French), 2000, pp. 724.
- 44 S. M. Doggett and R. G. Rhodes, Effects of a Diazinon formulation on unialgal growth rates and phytoplankton diversity, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1991, **47**(1), 36–42.

Résumé du chapitre II

Une méthode d'extraction a été élaborée pour les sédiments afin de permettre une extraction et une purification de haut rendement pour les molécules comprises dans un spectre de tolérance physico-chimiques aux conditions d'extraction allant des herbicides de pré-levée aux polluants organiques persistants. Appliquée à la Moyenne Garonne, elle a mis en avant l'impact des discontinuités (chaussée d'Empalot, barrages de Mancies et de Malause) ainsi que de l'environnement urbain sur le profil spatial de la contamination du continuum de la Garonne. La contamination dans le sédiment est donc représentative de celle du site de prélèvement en zone lotique mais les zones de sédimentation massive peuvent intégrer la contamination dans le temps.

Le rôle de ces zones de rétention est double : si elles accumulent les contaminants, elles les séquestrent aussi. En cela, elles permettent de limiter dans l'espace les dommages potentiels associés aux micropolluants. Elles restreignent leur fuite vers l'aval et le protègent implicitement. Les molécules de synthèse sont promises à disparaître, fut-ce à long terme. Or le biota de ces sites est soumis à des concentrations critiques pouvant induire la sélection des espèces (micro-organismes, végétaux...) aptes à dégrader ces intrants pour se maintenir. La contamination peut donc y être davantage traitée que dans le cadre d'un cours d'eau ouvert où elle ne serait qu'un bruit de fond dont la faune et la flore pourraient s'accommoder.

La charge moyenne élevée en herbicide dans ces zones pourrait donc dissimuler que le transit par ces retenues soit couplé à une dégradation intense de ces molécules et que ces zones d'accumulation soient une opportunité pour le milieu aquatique de s'en épurer.

III COMPARAISON DE LA CAPACITE D'EPURATION DES HERBICIDES DE DEUX SITES D'ACCUMULATION

Introduction

Le précédent chapitre a montré combien les sites de sédimentation massive que sont les retenues pouvaient accumuler des herbicides en leur sein.

Il apparaît évident que le dépôt de la matière en suspension charriant les herbicides étudiés justifie une accumulation des herbicides au gré des épisodes turbides. Ceci est observé pour nombre de polluants métalliques (Castelle *et al.*, 2007), radioactifs (Schertz *et al.*, 2006) ou persistants dans l'environnement (Olivella, 2006), Néanmoins elle ne peut expliquer pourquoi les sédiments y sont plus concentrés que le reste du cours d'eau (Bérard *et al.*, 2003). De même, le temps de résidence des sédiments derrière les ouvrages peut être important alors que les herbicides, molécules de synthèse, sont labiles. Enfin, le sédiment à l'exutoire de Malause apparaît moins concentré que celui de cette retenue lui-même.

Une analyse spatiale a été réalisée (à l'aide de la benne Eckmann précédemment citée) au sein des retenues de Mancies et Malause, frangeant la Garonne Moyenne afin d'observer la répartition spatiale de la contamination, étant entendu que les sédiments les proches des ouvrages étaient les plus anciens.

L'un des intérêts de cette étude réside aussi dans la dissemblance des barrages de Mancies et de Malause : le premier est représentatif des barrages de piémont, ouvrages érigés perpendiculairement à une section du cours d'eau ne présentant pas d'événement hydrologique majeur, au contraire du second. Sis à l'aval immédiat de la confluence du Tarn et de la Garonne, l'ouvrage de Malause génère un plan d'eau où se déroule le mélange des eaux de ces cours d'eau aux caractéristiques contrastées physiques (régimes hydrologiques), chimiques (oxygénation) et biologiques (flore planctonique) contrastées qui conditionnent la nature et la temporalité du dépôt sédimentaire.

Differential evolution of herbicides accumulated in reservoir sediments

Damien A. Devault^a, Magali Gérino^a, Christophe Laplanche^a, Frédéric Julien^a, Peter Winterton^c, Georges Merlina^a, François Delmas^b, Puy Lim^{*a}, José Miguel Sánchez-Pérez^a, Eric Pinelli^a

a: Laboratoire d'Ecologie fonctionnelle ECOLAB UMR 5245 CNRS-UPS-INPT, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse, Institut National Polytechnique, Avenue de l'Agrobiopole, BP 32607 Auzeville Tolosane, 31326 Castanet-Tolosan Cedex

b: Unité de Recherche REQUE, Groupement Cemagref de Bordeaux, 50 Avenue de Verdun, Gazinet, 33 612 Cestas Cedex.

c: UFR de Langues Vivantes, Bâtiment 4A, Amphithéâtre Leclerc du Sablon, Université Paul Sabatier, 118, Route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 04.

Corresponding author e-mail address: plim@ensat.fr

Corresponding author telephone number: 335-62-19-39-01.

Keywords: s-triazines, substituted ureas, anilides, POPs, water, sediment.

Abstract

The aim of the present study was to understand the effect of reservoir configurations on sediment pesticide load. The influence of dam sediment on pesticide transit in a river continuum and on the quality of the water was examined. Two dams were selected on the River Garonne, in southwest France: Carbonne and Golfech, both with reservoirs subject to accumulation of herbicide-contaminated sediment. They are situated upstream and downstream respectively of an agricultural and urban area: The Mid-Garonne. The dams were used to study the pesticide transformation processes. The results presented include pesticide concentrations and C/N ratios in the smaller sediment particles (<2mm) and values of oxygenation and herbicide concentrations in the water.

The dynamic behaviour of sediment in the reservoirs studied is discussed. It was established that the sediment can (i) adopt all behaviour types (erosion, haulage and deposit) and (ii) can reach a maximum flow of 300 meters per month. The present study shows that the theoretical lifespan (weak remanence *in vitro*) and the results actually observed in the sediment are conflicting. Pesticide contamination in Carbonne indicates conservation, even accumulation, of herbicide molecules while in Golfech transformation processes dominate with pesticide moving from the coarse fraction towards the fine fraction before elimination. Biogeochemical processes are at the origin of the lack of pesticide transformation. Indeed, the geomorphological position of Golfech reservoir, i.e. located at the junction of two rivers with contrasting hydrological regimes and very different oxygenation conditions, leads to accelerated pesticide transformation. Unfortunately this configuration is rare.

Introduction

The 40,000 dams in the world (Rashad&Ismail, 2000) present various proven disadvantages. Sediment, especially coming from upstream, can be the vector of pollutants of the food networks (Frery *et al.*, 2001). Pesticide accumulation in the sediment causes strong contamination of the benthos (Armstrong *et al.*, 1980) and, via biomagnification, leads to lethal concentrations at the top of the food chain. Among these pollutants, the example of pesticides has become well known especially since the works of Carson, 1962. Pesticides are synthetic molecules with an environmental impact which is a subject of concern even beyond the circle of medical authorities, managers of the natural environment and the scientific community. Depending on their concentrations, pesticides can disturb hormonal equilibrium, behaviour (Scott & Sloman, 2004; McLaughlin & Mineau, 1995) – and even lead to death

(Heger *et al.*, 1995). Among pesticides, it is herbicides that are the most used (47% of world pesticide trade). They include s-triazines, substituted ureas and anilides. However, few environmental studies have been performed due, in particular to methodological problems (Gao *et al.* 1997, 1998). The processes, therefore, of *in situ* degradation, especially of the more recent generations, are ignored. These pollutants are more unstable *in vitro* than persistent organic pollutants (POPs) for which an abundant documentation exists. Is there conservation of these pesticides which are considered fugacious as long as they are associated with the sedimentary matrix?

In a previous paper (Devault *et al.*, 2007), we showed the influence of dams on herbicide contamination of the environment in the first study authorizing a large-scale vision of herbicide spatial distribution in the Garonne river. The pesticides present in dams can have two forms: associated with the matter in suspension or that has settled as sediment, and sometimes in the dissolved phase. The pesticides essentially come from upstream via the river (Doggett & Rhodes, 1991). The rain which falls directly into the lakes can also contribute to herbicide contamination but, owing to the relatively low volumes involved and the low pesticide concentration (Perfect, 1980), rain only contributes very little to total contamination (Carrera *et al.*, 2001).

The aim of the present study was to investigate the effect of two contrasting reservoirs (i) on pesticide transit in a river continuum, (ii) on the quality of the water and (iii) on the spatial distribution of pesticide contamination in the sediment.

The sediment trapped behind the two large dams studied, Golfech and Carbonne, was relatively immobile in both cases but the prevailing physicochemical conditions were quite different. Golfech reservoir is located in the River Garonne at its confluence with the Tarn, downstream of the Toulouse agglomeration (pop. 1 million) and the third largest agricultural watershed in France. However, it is the configuration of Carbonne that is by far the most common, i.e. not immediately downstream of a confluence. It is located upstream of Toulouse city on the Mid-Garonne. Thus, the present study seeks to understand the processes which condition the fate of the pesticides in the sediments in reservoirs with these two types of configuration.

Study area

The Garonne River (figure 1), with the third largest river in France, has a pluvio-nival regime. Carbonne dam (figure 2), the last of the hydroelectric installations of the Pyrenean Piedmont, forms the upstream limit of the Mid-Garonne, a simple dam across the river with no other

particular features. The course of the Garonne has been barred in the open plain since 1968 by another hydroelectric dam located in Golfech (figure 3), at the junction with its largest affluent: the Tarn River, forming the downstream limit of Mid-Garonne. The Garonne river flow regime is characterized by two hydrological maxima, one in February and one in May, with a low-flow period from August to September. The mean annual discharge at Toulouse is $200 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ and ranges between $17 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ and $8000 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Golfech and Carbonne are both constant-head dams. They accommodate fishing and sailing, and pleasure-boats are moored on their banks. Both these storage reservoirs are protected as zones of high ecological richness. For this reason, they are never drained. Between the two dams extends the Mid-Garonne, an important agricultural area described elsewhere (Devault *et al.* 2007) providing large quantities of pesticides, mainly herbicides (urban as well as agricultural). Upstream of Carbonne, the Pyrenean Piedmont is primarily used for livestock. Near the reservoir, located in the transition zone, field crops are preponderant. The reservoir contains $8,000,000 \text{ m}^3$. The Golfech reservoir of $25,000,000 \text{ m}^3$ located at the junction of the Garonne and the Tarn, is in an unusual location for a dam. For the whole of the 300 dams in the basin, this configuration occurs once. In Golfech, one branch exclusively contains water from the Garonne, and the other exclusively water from the Tarn and after the confluence, a mix of water from both sources. In the River Tarn, photosynthesis is intense and the water in the shallow parts of the reservoir is saturated in oxygen (figure 4). In contrast, in the Garonne branch, the water loses the little dissolved oxygen it has upon arrival in the reservoir. It is in this section that sediment deposition mainly occurs. Here, anaerobic degradation takes and methane is generated (Gerino *et al.*, 2004). The length of the two reservoirs is similar (approximately 3.5 km). The residence time can be considered identical (see below). For further information on sediment behaviour depending on water velocity, please consult El Kadi Abderrezak (2002).

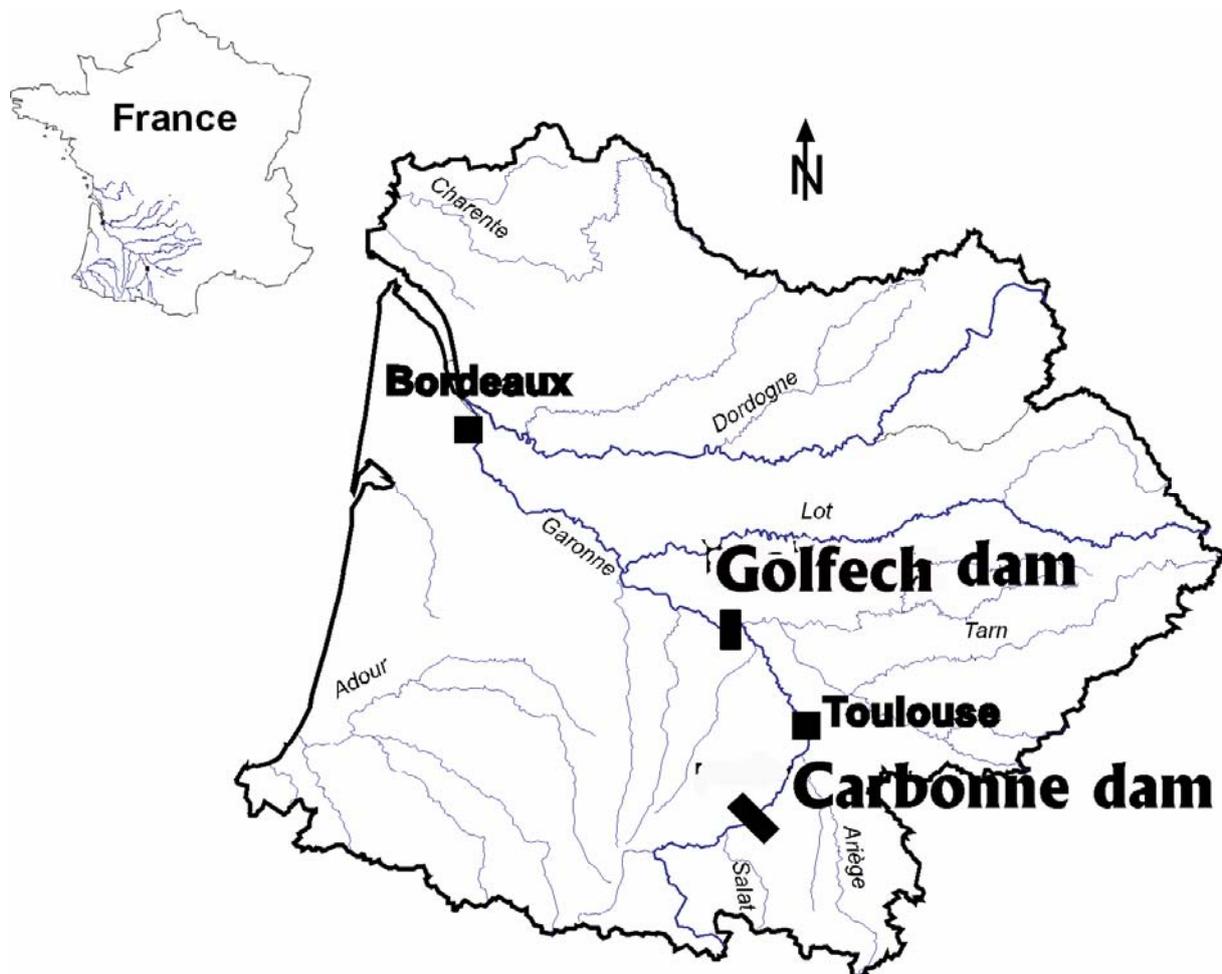


Figure III-1. Sampling map.

1. Material and methods

Water was taken at the surface and preserved at 4°C in darkness until analysis. Raw water was analysed for both reservoirs. Filtered water was analysed only for Golfech reservoir.

The sediment was taken with an Eckmann bucket at the sites presented in figures 2 and 3. At Carbone reservoir, 6 samples were taken and at Golfech 12: this difference respects to the ratio of the reservoir areas. Sampling was performed using a method reported in paper Devault *et al.*, 2007. The justification for the choice of the families of herbicide studied is given in that paper. Tables 1 and 1bis report the molecules studied and the families to which they belong.

1.1 Sampling period

The sediment samples were taken simultaneously on March 16, 2005, at the lowest winter water level. The intensity of pesticide use in March corresponds to the annual average

spreading level of pesticides. The temperature remained at winter levels (around 5°C) and the flow close to the annual average.

1.2 Sampling treatment

1.2.1 Water

Pesticides present in filtered water were recovered on a cartridge. Extraction was performed on samples, in which the pH had been brought to 7, filtered through GFF membrane. Solid-Phase Extraction (Supelclean vacuum device) of 200ml samples was performed with silica cartridges grafted with Supelco C18.

Table III-1a. Molecules sought in the sediments and raw water

Table III-1b. Molecules sought in filtered water

Table III-1a.

	Herbicides (MIX 44)
S-triazines	Desethylatrazine (DEA)
	Atrazine
	Cyanazine
	Hexazinone
	Sebuthylazine
	Simazine
	Terbutylazine
Substituted ureas	Isoproturon
	Linuron
	Methabenzthiazuron
	Metobromuron
Anilides	Metazachlor
	Metolachlor

Table III-1b.

	Herbicides
s-Triazines	DEA
	Atrazine
	Prométryne
Substituted ureas	DCPMU
	Monuron
	Diuron
	Isoproturon
	Linuron
Chloroacetanilides	Eq Metolachlor*
Diphenyl ether	Aclonifen

Quantification used reverse-phase HPLC (C18, ODS2, 250 mm x 4.6 mm ID) packed with n-alkyl-grafted 3µm silica balls (Bischoff Chromatography) with a pre-column (10 x 4 mm) filled with the same packing. The mobile phase was initially made up of a mixture of ultrapure water and acetonitrile (80/20 in volume) (solvents were HPLC grade). The chromatograph used was a Thermoquest assisted by a degasser, a P1000 XR four-solvent pump (flow: 0.4 ml/min), an AS3000 automatic sample injector and a UV6000 UV detector, all from ThermoFinnigan (Waltham, Massachusetts).

Analysis of raw water is detailed in Devault *et al.*, 2007. The three-dimensional profile of the water oxygen content in was measured on site with an oxygen electrode. The profile includes results obtained on the Garonne branch of the reservoir, the Tarn branch and at a point between the confluence and the dam.

1.2.2 Sediment

The method consisted of separating the fine fraction (lower than 63µm-mesh) and the coarse fraction (between 63µm and 2mm-mesh) of the dry sediment. The fractions were extracted by ASE 200 then purified on Florisil cartridges and quantified with a HP5290 GC-MS. Whole sediment, i.e. all particles smaller than 2mm, was reconstituted by calculation. Mix44 herbicide mentioned was so quantified. See table 1.

Carbon was measured with a CS-500 *Determinator* (Eltra GmbH, Neuss, Germany) and nitrogen by the Kjeldahl method. For the needs of this particular study, only the C/N ratio was useful.

2. Results

2-1 Water

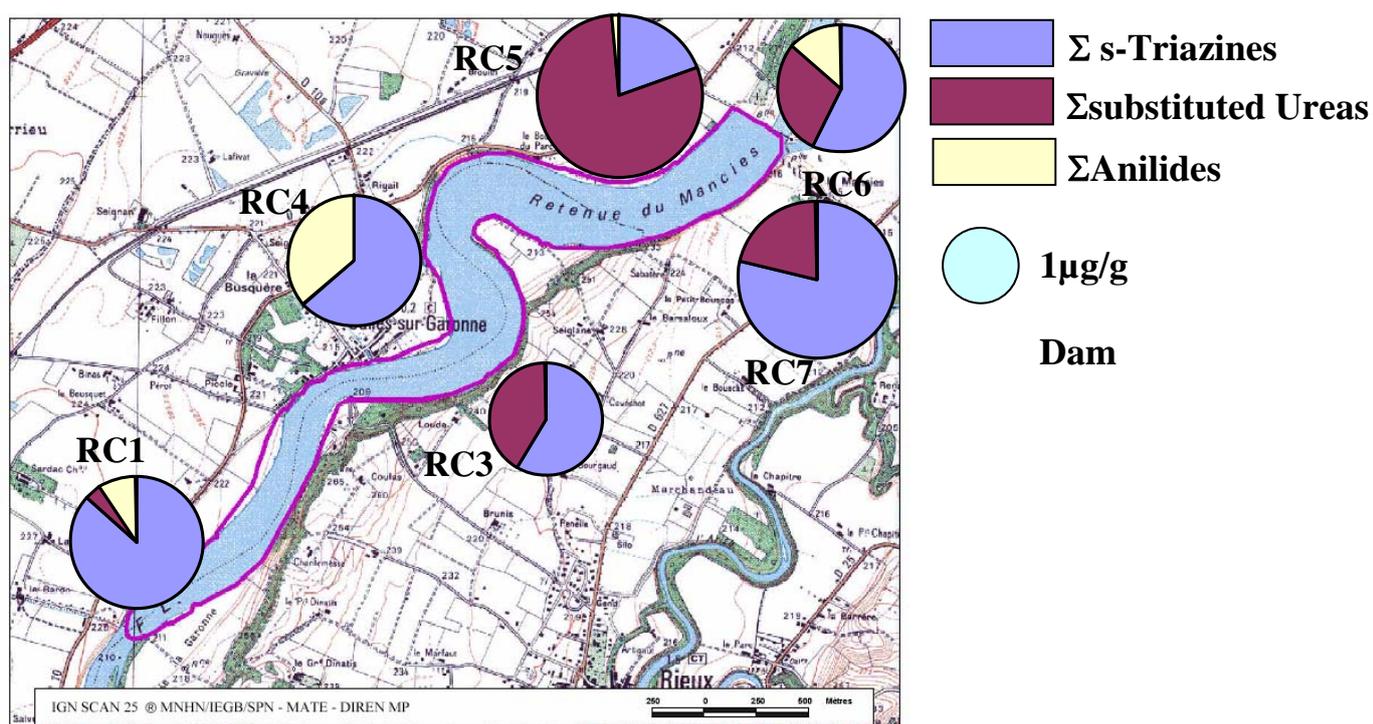
Raw water did not present any detectable concentrations for either Golfech or Carbonne. Filtered water, however, did present a detectable chloro-acetanilide concentration ($0.24 \pm 0.05 \mu\text{g/L}$ metolachlor equivalent).

2.2 Sediment

2.2.1 Physical-chemical parameters

The results are presented in table 2. As in figures 2 and 3, RC corresponds to samples from Carbonne reservoir and RM samples from Golfech.

2.1.2. Herbicides



Administrative limits of the Mancies reservoir

Figure III-2. Spatial distribution of the sediment contamination in Mancies reservoir.

C/N ratios in the fine fraction were fairly low (typical of proteins) while in the coarse fractions they were relatively high (representative of highly humified plant matter).

Figure 4 shows the dissolved oxygen profile obtained in Golfech reservoir. Dissolved oxygen values are included between 2 and 16mg/L. The Tarn branch showed the highest levels of oxygen with saturation of surface water while the Garonne branch presented particularly low values for surface water especially when compared to the high Tarn branch values.

2.2.2 Herbicides

The study presents herbicide concentrations in all sediments of particle size lower than 2mm but they were in fact determined in two separate fractions i.e. lower and higher than 63μm. The coarser fraction (>63μm) provided information on the contamination of the organic matter undergoing humification.

Expressed in μg of the herbicides listed in Table 1 per gram dry weight of sediment, the average herbicide concentration, pooling both reservoirs, was $3.24 \pm 2.31 \mu\text{g/g}$. In Carbonne, it was $2.44 \pm 0.33 \mu\text{g/g}$, and $3.64 \pm 2.77 \mu\text{g/g}$ in Golfech.

S-triazines prevailed: $1.59 \pm 1.48 \mu\text{g/g}$ on average for both reservoirs represented 49% of total contamination, accounting for 45.4% ($1.65 \pm 1.79 \mu\text{g/g}$) in Golfech and 60% ($1.46 \pm 0.59 \mu\text{g/g}$) in Carbonne. Substituted ureas, with an average concentration for the two reservoirs of $1.37 \pm 2.07 \mu\text{g/g}$, accounted for 42.3% of the total contamination by herbicides i.e. 46.2% ($1.68 \pm 2.45 \mu\text{g/g}$) in Golfech and 30% ($0.75 \pm 0.83 \mu\text{g/g}$) in Carbonne. Anilides represented, overall, only 8.7% of the herbicides found ($0.28 \pm 0.37 \mu\text{g/g}$) i.e. 10% (0.24 ± 0.33) in Carbonne and 8.4% ($0.31 \pm 0.41 \mu\text{g/g}$) in Golfech. Owing to the relatively high standard errors, the differences between the two reservoirs for each family of herbicides were not significant.

Linuron, with an average of $0.56 \pm 0.90 \mu\text{g/g}$, was the most abundant molecule. With cyanazine ($0.51 \pm 0.81 \mu\text{g/g}$) and isoproturon ($0.45 \pm 1.26 \mu\text{g/g}$), linuron accounted for nearly 47% of the contamination observed in both reservoirs. Metobromuron, at $0.35 \pm 0.46 \mu\text{g/g}$, sebuthylazine, at $0.34 \pm 1.23 \mu\text{g/g}$ and desethylatrazine (DEA) ($0.30 \pm 0.23 \mu\text{g/g}$) were also well represented in both reservoirs. These six molecules add up to more than 77% of the total contamination observed in all the sediments of the study.

Within the Golfech reservoir, isoproturon ($0.67 \pm 1.51 \mu\text{g/g}$) and linuron ($0.60 \pm 1.10 \mu\text{g/g}$) prevailed over cyanazine ($0.53 \pm 0.98 \mu\text{g/g}$) and sebuthylazine ($0.51 \pm 1.50 \mu\text{g/g}$) these four molecules together accounting for more than 63% of the contamination noted.

In the Carbonne reservoir, linuron ($0.49 \pm 0.35 \mu\text{g/g}$), cyanazine ($0.48 \pm 0.33 \mu\text{g/g}$), DEA ($0.41 \pm 0.31 \mu\text{g/g}$) and atrazine ($0.32 \pm 0.29 \mu\text{g/g}$), the four most abundant molecules, accounted for 50% of the total contamination.

Of the six sampling sites on Carbonne reservoir, the least contaminated was RC3 with $2.01 \mu\text{g/g}$ and the most was RC5, primarily by substituted ureas (79% of total contamination): due to metobromuron which reached a high of $1.56 \mu\text{g/g}$. Ureas were undetectable in RC4 where, on the contrary, anilides peaked ($0.86 \mu\text{g/g}$ metazachlor). Anilides were undetectable in RC3 and RC7 where s-triazines (mainly atrazine) were maximal ($2.19 \mu\text{g/g}$). Of the twelve sampling sites on Golfech, the least contaminated were RG9 and RG12 (both with $1.15 \mu\text{g/g}$) while the most contaminated was RG2 with $9.33 \mu\text{g/g}$ herbicides, primarily substituted ureas ($7.92 \mu\text{g/g}$). S-triazines reached a maximum in RG4 ($5.88 \mu\text{g/g}$) and a minimum in RG3 ($0.60 \mu\text{g/g}$) where, however, anilides reached a maximum. Anilides were undetectable in sampling sites RG5, RG8, RG9 and RG12.

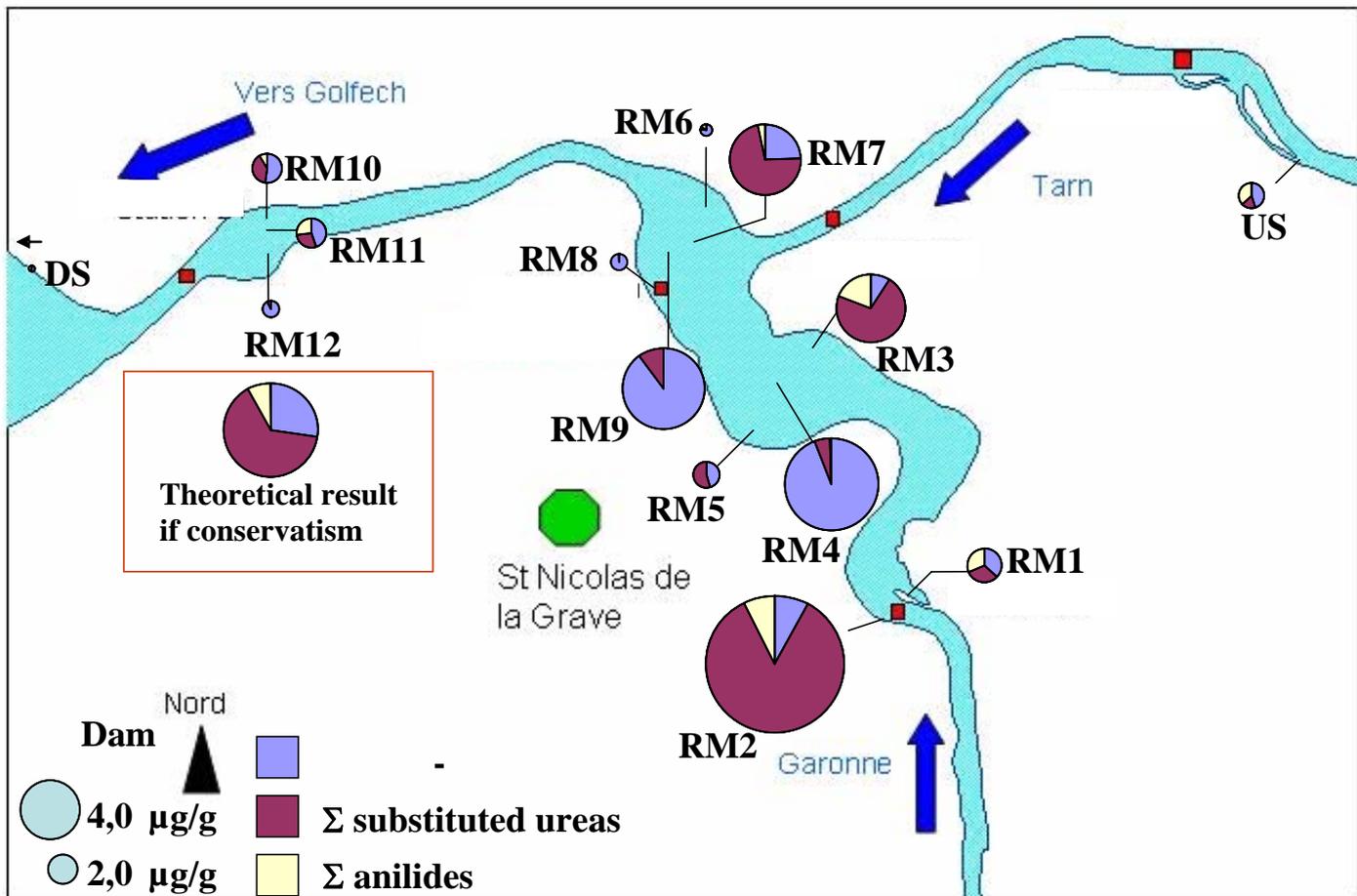
Table III-2. Herbicide concentration ($\mu\text{g/g}$) of sediment finer than 2mm. RC1 to RC7 are Mancies samples, RM1 to RM12 Malause samples. US : Tarn upstream of Malause. DS : Garonne downstream of Malause.

T: Traces = concentration lower than $0.01\mu\text{g/g}$. No value: Undetectable concentration.

Metabenz: Metabenzthiazuron

	RC1	RC3	RC4	RC5	RC6	RC7	US	RM1	RM2	RM3	RM4	RM5	RM6	RM7	RM8	RM9	RM10	RM11	RM12	DS
>63 μm (%)	0.02	0.05	0.30	16.77	0.02	0.01	0.00	0.87	0.02	0.52	0.27	0.01	0.52	0.06	0.00	0.30	0.87	0.00	0.19	1.40
<63 μm (%)	33.65	0.89	0.89	23.17	0.89	0.89	32.04	26.67	26.80	26.96	88.04	98.97	2.73	4.10	3.60	3.87	15.78	15.92	15.89	58.30
<2mm (%)	66.33	99.06	98.81	60.07	99.09	99.10	67.96	72.46	73.19	72.52	11.69	1.02	96.76	95.84	96.40	95.83	83.35	84.08	83.92	40.30
C/N>63 μm	12.60	9.72	10.66	11.19	10.52	11.31	6.64	7.56	11.43	8.88	7.74	4.62	11.82	7.14	5.99	7.60	10.55	7.69	11.76	9.09
C/N<63 μm	6.38	7.29	6.45	7.53	7.10	7.31	4.74	4.98	5.44	5.99	4.34	5.50	7.97	4.16	5.23	5.59	6.35	5.17	5.12	6.90
C/N<2mm	8.47	7.3	6.47	7.12	7.12	7.34	5.35	5.67	6.99	6.74	7.32	4.63	8.04	4.28	5.25	5.648	6.957	5.573	6.164	8.08
DEA	0.35	0.69	0.87	0.11	0.13	0.29	0.20	0.19	0.54	0.32	0.11	0.16	0.17	0.43	0.33			0.18	0.47	
Simazine		0.15	0.00	0.13	0.40	0.27	0.53	0.17					0.12	0.13	0.25	0.64	0.27	0.14	0.33	0.05
Atrazine	0.37		0.19	0.24	0.26	0.85	T	0.11							0.50	0.21				
Terbuthylazine	0.36				0.24				0.10	0.12	0.10	0.31		0.14	0.45			0.31		
Sebuthylazine							0.05				5.26	0.21	0.08	0.22	0.38					
Cyanazine	0.95	0.34	0.44	0.10	0.26	0.78	0.01	0.38	0.10	0.16	0.41	0.14	0.24	0.24	3.62		0.53	0.27	0.26	0.20
Hexazinone																				
Total triazines	2.03	1.18	1.50	0.57	1.29	2.19	0.79	0.85	0.74	0.60	5.88	0.81	0.61	1.18	5.02	1.14	1.01	0.90	1.06	0.24
Methabenz.	T						0.01							0.30				T		
Metobromuron				1.56				0.49	0.55	0.36	0.05	0.70		1.20	0.12		0.77	0.32	0.08	
Isoproturon							0.20		3.73	4.06		0.26			T					
Linuron	0.10	0.83		0.74	0.67	0.59	0.11	0.24	3.63	0.32	0.28	T	0.06	1.96	0.43	0.00	0.00	0.25		
Total ureas	0.10	0.83	0.00	2.30	0.67	0.59	0.32	0.73	7.92	4.74	0.33	0.97	0.06	3.46	0.55	T	0.77	0.56	0.08	0.00
Metolachlor	0.21			0.04	0.14	T	0.01	0.17	0.11	0.67	0.03	T	0.11	0.14			0.16	0.54		
Metazachlor			0.86		0.17		0.63	0.56	0.57	0.59		0.00	T							0.15
Total anilides	0.21	0.00	0.86	0.04	0.31	T	0.65	0.73	0.67	1.26	0.03	T	0.12	0.14	0.00	0.00	0.16	0.54	0.00	0.15
Total	2.34	2.01	2.36	2.91	2.27	2.78	1.75	2.31	9.33	6.60	6.24	1.78	0.79	4.78	5.57	1.15	1.95	2.01	1.15	0.40

Figure 5 shows that although the contamination of the fine fraction tended to rise in the centre of the Golfech reservoir before being reduced on approaching the dam itself, the herbicide contamination of the coarse fraction (very high with the transition between lotic and lentic water marking the entrance to the reservoir) decreased in the reservoir until it was no longer detectable.



Pesticides – Sediment sampling – March 2005

Figure III-3. Spatial distribution of the sediment contamination in Malause reservoir

2.2.3 Statistics

Statistical analyses were performed using the free software R. Firstly, we compared the variance of the contaminant concentrations in Golfech reservoir to their variance in Carbonne reservoir. Secondly, we investigated the spatial distribution of the contaminants just in Golfech reservoir.

First of all, F-tests were conducted to highlight any differences in the herbicide concentration variances between the two reservoirs. For every 18 sampling sites RG1-12 and RC1-6 overall herbicide concentrations were computed as the sums of the herbicide concentrations in the s-triazine, substituted urea, and anilide families. Herbicide concentrations in both reservoirs were both normally distributed as indicated by Shapiro-Wilk tests ($p=0.54$ and $p=0.06$ respectively). An F-test indicated that the variances of the herbicide concentration were significantly different ($p=0.0002$) in the two reservoirs. The standard deviation of the herbicide concentration was lower in Carbonne ($0.33\mu\text{g/g}$) than in Golfech ($2.77\mu\text{g/g}$), Golfech therefore having the more heterogeneous distribution.

Substituted ureas

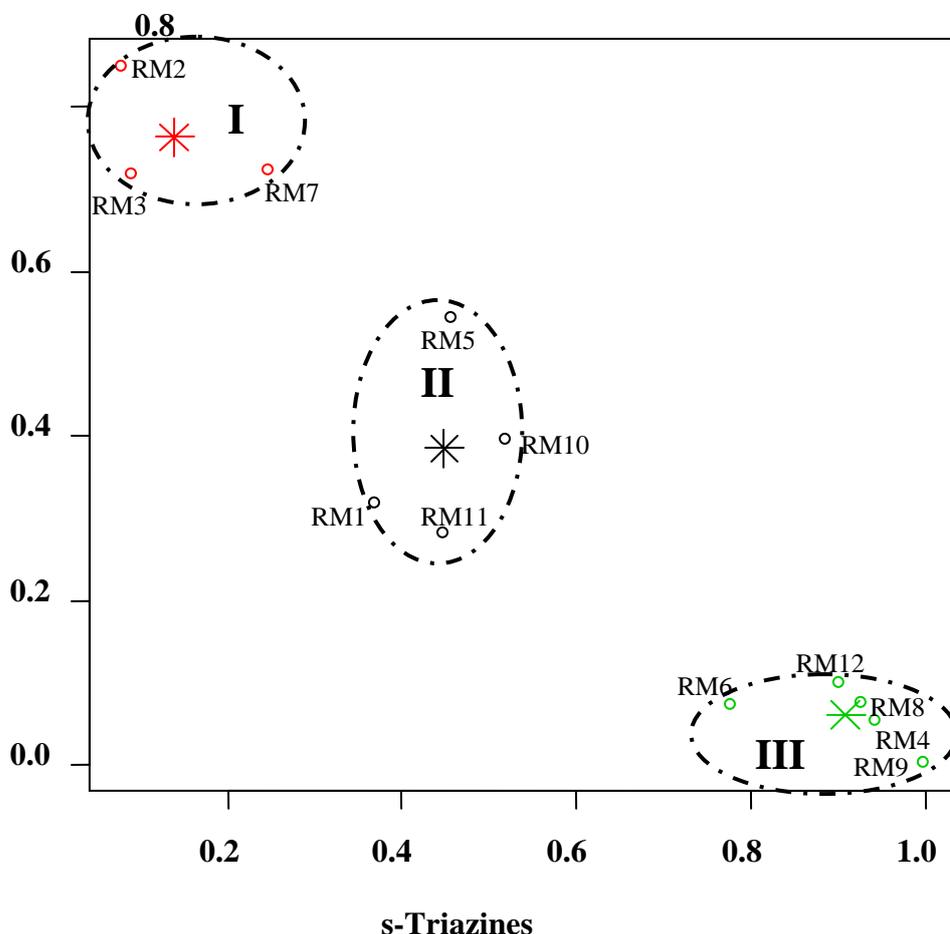


Figure III-4. Unsupervised classification of sampling sites in Malause depending on their herbicide contamination. Top left (group I): RM2, RM3 and RM7. Centre (group II): RM1, RM5, RM10 and RM11. Bottom right (group III): RM4, RM6, RM8, RM9 and RM12.

In the second step, we investigated the spatial distribution of the contaminants in Golfech reservoir. In the following we consider the proportions of contaminant in <2mm sediment fraction. By using proportions (the sum of the 3 herbicide families are equal to 1 at each sampling site), we can consider two herbicide families only. Anilide contamination represented just 8 % of the overall contamination within Golfech reservoir, so only the variations of s-triazine and substituted urea are followed below. In Figure 6, the x and y axes correspond to the proportions of s-triazines and substituted ureas respectively. The 12 sampling sites were classified using the k-means method of hierarchical decomposition in

three groups. The first group (group I, RG2, RG3, RG7) presents a cumulated concentration of prevalent substituted ureas (barycentre I coordinates: $x=0.14$, $y=0.76$). The second group (group II, RG4, RG6, RG8, RG9, RG12) an intermediate position (barycentre II coordinates: $x=0.45$, $y=0.38$). The third group (group III, RG1, RG5, RG10, RG11) shows the prevalence of s-triazines (barycentre III coordinates: $x=0.91$, $y=0.06$). The 2D data were then projected into a 1D composite data set using linear discrimination analysis. Each projected group was normally distributed (Shapiro, $p_I=0.88$, $p_{II}=0.59$, $p_{III}=0.99$). Welch tests significantly refuted any similitude between groups ($p_{I,II}=0.004$, $p_{I,III}=0.0003$, $p_{II,III}=0.000015$). These results show that herbicide proportions in the Golfech reservoir can be significantly classified into the 3 aforementioned groups. The first group gathers sampling sites close to the entry of the reservoir, the second group internal sites, and the third group is composed of sampling sites close to the end of the reservoir.

3 Discussion

As underlined elsewhere (Devault *et al.*, 2007), the reservoir sediments were more polluted than the river from which they came. It is to be regretted that this *in situ* herbicide contamination has not become the object of more studies (Gao *et al.*, 1997, 1998) or analysis at this scale of events. Studies of lakes do exist for POPs, such as those of Rawn *et al.* (2001), Marvin *et al.* (2004), Peris *et al.* (2005) and Xue *et al.* (2006). The remanence of these contaminants also allows degradation studies on sediment cores (Stern *et al.*, 2005). The present study does not focus to the origin of the pesticides *i.e.* due to urban or agricultural activities. We will firstly focus on demonstrating the elimination potential of each type of dam, secondly the resulting herbicide remanence and thirdly on the nature of this potential.

The value of the standard deviations of herbicide concentrations in Carbonne reservoir ($0.33\mu\text{g/g}$) indicates that its herbicide contamination is more homogeneous than that of Golfech reservoir ($2.77\mu\text{g/g}$). At the exit of Golfech reservoir, the sediments contain less pesticide than at the entrance, which is not observed in Carbonne. The mean herbicide concentration of sediment at the Golfech input was $6.11\mu\text{g/g}$. The herbicide concentration at the head of the reservoir (RG10, RG11 and RG12) was $1.70\pm 0.48\mu\text{g/g}$. Thus, considering that in Golfech reservoir, 60% of the water flow comes from the Garonne and 40% from the Tarn (Gerino *et al.*, 2004), the concentration at the entrance (figure 6 group I, RG2, RG3 and RG7) was 3.59 times higher than that at the head of the reservoir, indicating loss or transformation of the herbicides within the reservoir. This ratio increases again if the total herbicide concentration of the sediment at the entrance to Golfech is compared to the concentration in

the sediment sampled downstream from the reservoir (DS), which almost fell to zero but in fact remained at $0.40\mu\text{g/g}$ due to phytoremediation (Devault, 2007) i.e. more than 15.3 times less than the calculated mean concentration at the entrance. This indicates more marked conservation of the active molecules in Carbonne than in Golfech. Complementary calculations for various sites near the inputs (US, RG1) or the outlet (RG10, 11, 12, DS) were performed. All corroborate significantly lower concentrations downstream than upstream in Golfech both for the fine fraction and the coarse fraction, although the coarse fraction presents a loss or a transformation of the active molecules faster than in the fines. This result, observed for both particle classes, excludes any artefacts that could be due to different rates of sediment transport for different particle sizes. In addition, the above calculations assume that pesticide input to reservoirs is constant. However, most of the herbicides studied have fairly recently been prohibited, or at least subjected to limitations of use. The results presented were thus obtained in a global context of reduction in the consumption of the active molecules considered (U.I.P.P., personal communication) and data not shown about organochlorines, giving further weight to our conclusions. Thus, whereas conservative transport dominates in Carbonne reservoir, transformation seems to be the major process in Golfech.

For upcoming investigation, the temporal scale of sediment transport within reservoirs should be estimated. Knowing how long it takes for sediment to cross a reservoir is of primary importance when the aim is to determine the reality of actual remanence of the active molecules occurring in practice. According to the literature, the herbicide molecules analysed here have a half-life in the soil of five days to five months (BCPC, 2006).

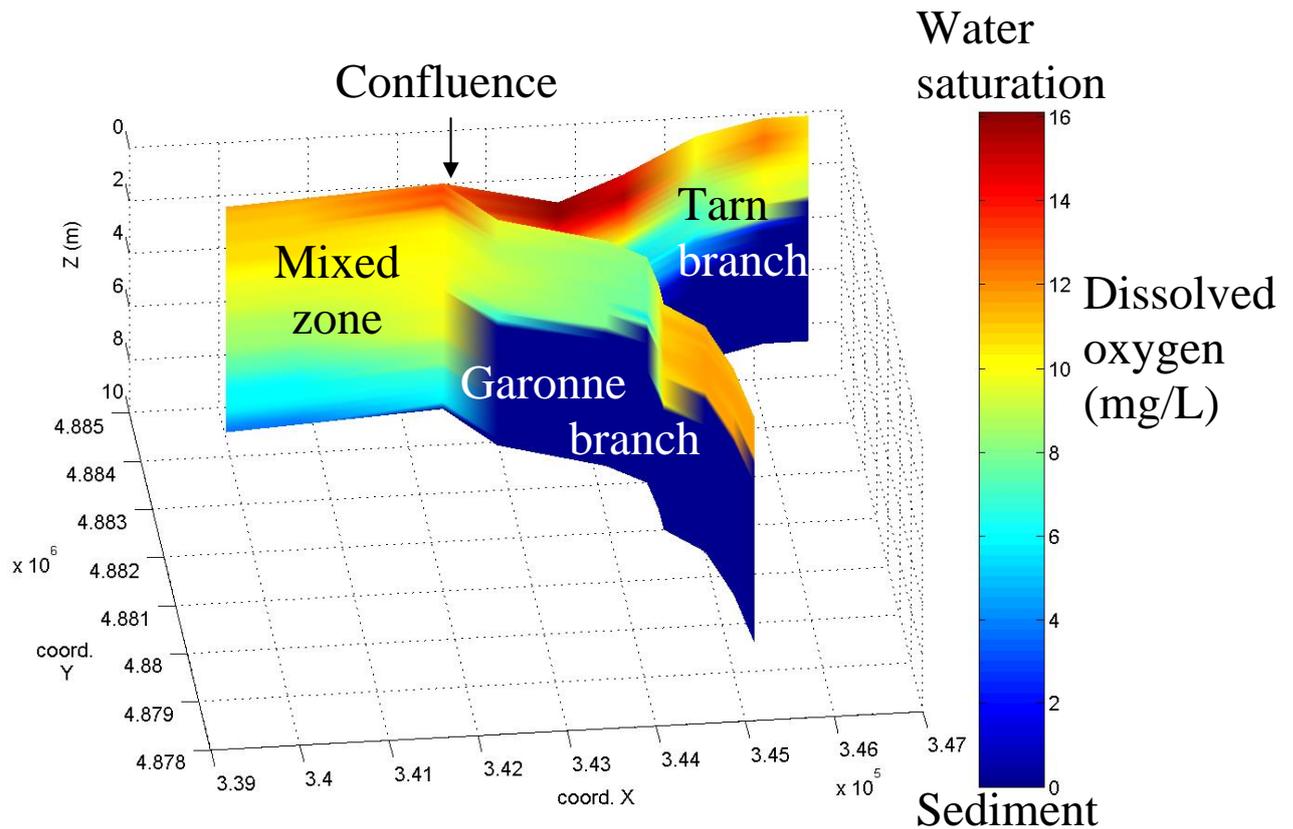


Figure III-5. Water oxygenation in Malause reservoir.

As stated, Golfech and Carbonne reservoirs occupy equal lengths. The mean velocity of the water can be estimated as equal between Carbonne and Golfech reservoirs by calculating the duration of residence. However, hydrodynamic complexity prevents any estimations of sediment residence time from being calculated but analogy is possible with the largest French river, the Loire. The sediment transport velocity in the Loire has been estimated at 10m per day for a section without obstacles (Belleudy, 2000; 2001). Progressing at this pace, the sediment of the 3.5 km-long reservoirs of Golfech or Carbonne would take approximately one year (around 350 days) to cross the dam. These phenomena should be the same for both reservoirs. The estimate of an absolute minimum residence time of one year can be regarded as the high estimate; i.e. with maximal mean velocity. Thus, the residence duration of sediment in the reservoirs is at least one year. So, depending on the time scale involved, metabolisation should be observed. The literature values suggest that degradation of the pesticides within reservoirs should be complete. The present field results indicate that the herbicides persist much longer, in a way never envisaged in a theoretical framework designed from data obtained with *in vitro* experiments according to short *in vitro* lifespan. Although,

the faster transformation kinetics occurred in Golfech (still involving at least a one-year process) compared to Carbonne (without any decrease in herbicide content).

The herbicide elimination potential could be due to different concomitant factors. The Carbonne dam, typical in its configuration, is built perpendicularly to the flow of the river with neither a confluence nor any other disturbing hydrological feature. The use of large river confluences to place a dam is indeed exceptional, Golfech being the only one of 296 in the whole Garonne basin (AEAG, personal communication). After statistical analysis, the differences in horizontal spatial distribution of herbicides in >2mm sediment were mainly attributed to this topographic difference. The elimination potential could be determined by transformation or enhanced desorption. Transformation can be of two types: simple lysis or hydrolysis of the molecules due to temperature or pH (which are the same in the two reservoirs) but also biotransformation (Goring & Hamaker, 1972; Aboul-Kassim & Simoneit, 2000; Matsumura & Murti, 1982). Metabolisation by organisms implies the degradation of organic matter, which is a potential vector of the herbicide load. In the Tarn river, phytoplankton photosynthesis was intense and Tarn water was saturated with oxygen. Mixing with the anoxic water of the reservoir will clearly enrich it with dissolved oxygen (figure 4) and could segregate microbial consortia depending to oxygen conditions like in industrial effluent treatment stations.

As indicated, the results obtained for the sediment (<2mm) are made up of the weighted results of the two particle classes: the fine fraction (smaller than 63µm) made up of clays, silts and colloids and the coarse fraction (between 63µm and 2mm) made up of sand and plant remains. The disappearance of the active molecules in sediment is clearly observed to occur in the coarse fraction (figure 5) faster than in the fine fraction where herbicide remains detectable. So, the behaviour with time therefore differs in the different fractions. The phenomenon of reduction of herbicide contamination in the coarse fraction is regular from the entrance to the exit of the reservoir on the main channel. Figure 5 shows that the transformation process, at least in the coarse fraction, is initiated even before the waters mix, in an exclusively Garonne segment – a biologically active shallow-water zone where anoxia is dominant. Herbicide contamination of the coarse fraction seems to be due to plant remains, which could be degraded under these biotic and physico-chemical conditions.

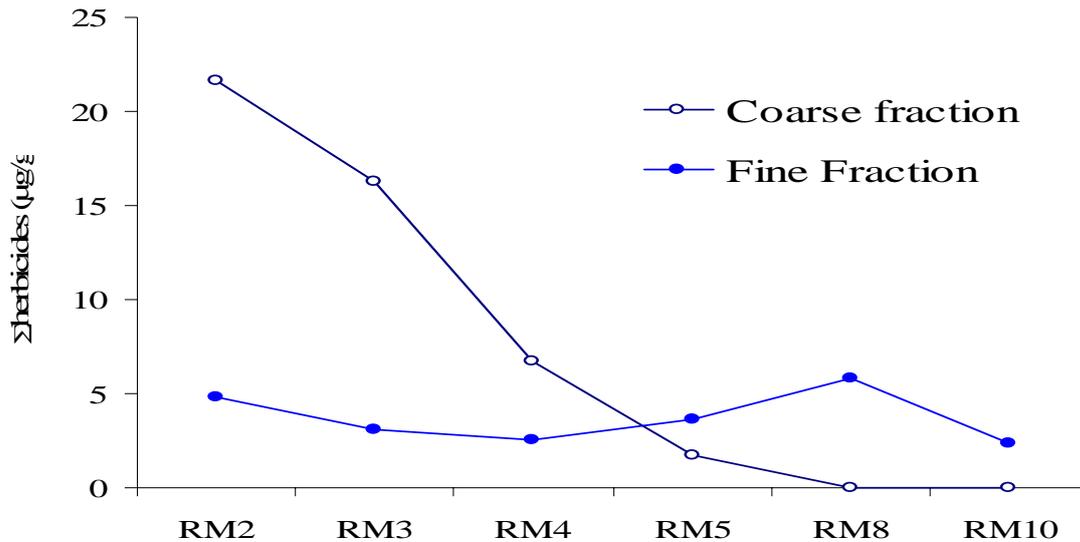


Figure III-7. Herbicide concentrations along the Garonne main channel in the Malause reservoir (for the two granulometric fractions).

Likewise, the geomorphology can lead to reworking of the sediment enhancing the re-appearance of hidden sediment at the surface. Moreover, whereas Carbonne was built in a section of the Garonne with no confluent, the Golfech dam was built at the junction of the Tarn and the Garonne, rivers with contrasting water regimes: pluvial and pluvio-nival respectively. The Tarn – Garonne confluence is thus a place where mechanical reworking of the sediment occurs due to conflicting Garonne and Tarn flows. However, the duration of herbicide contamination in the fine fraction is in agreement with the bound herbicide residues in soil. Guimont (2005) indicated that mechanical reworking during ploughing could induce the desorption of about 18% of bound herbicide content in soil. A similar phenomenon could be proposed for the fine fraction herbicide content of the sediment during mechanical reworking due to conflicting hydrological regimes, floods, dam flushes or breaching. In this case, extensive herbicide desorption from sediment to water could be feared. The actual occurrence of this potential phenomenon should be investigated more.

Conclusion

This study presents environmental results confirming herbicide transformation in the lake sediment but revealed much slower kinetics than those reported from *in vitro* studies. Reservoirs, which are zones of accumulation *par excellence*, can fulfil a purifying role when

they are placed at confluences where the sediment can be mechanically reworked and where contrasting conditions occur, supporting the appearance of dissimilar biotopes and biota ensuring, through their diversity, a better transformation capacity.

Acknowledgments

This study was performed within the framework of the GIS-ECOBAG, Programme P2 “Mid-Garonne River”, and supported by funds from CPER and FEDER (grants n°OPI2003-768) of the Midi-Pyrenees Region and Zone Atelier Adour Garonne (ZAAG) of PEVS/CNRS-INSUE. Special thanks go to Francis Dauba and Chumnan Ith for their helpful technical assistance.

References

- Aboul-Kassim TAT, Simoneit BRT. Pollutant-Solid Phase Interactions. Springer, Berlin, Germany; 2000. 445pp.
- Armstrong JW, Thom RM, Chew KK. Impact of a combined sewer overflow on the abundance, distribution and community structure of subtidal benthos. *Marine Environment Res.* 1980; **4** (1), 3-23.
- Belleudy P, Numerical simulation of sediment mixture deposition part 1: analysis of a flume experiment. *Journ Hydraul Res* 2000; **38** (6):417-425.
- Belleudy P, Numerical simulation of sediment mixture deposition part 2: a sensitivity analysis. *Journ Hydraul Res* 2001; **39** (1):25-31.
- Carrera G, Fernandez P, Vilanova TM, Grimalt J. Persistent organic pollutants in snow from European high mountain areas. *Atm Environ* 2001; **35**, 245-254.
- Carson R. *Silent Spring*. The Riverside Press ; Cambridge, Mass., U.S.A, 1962.
- Devault DA, Merlina G, Lim P, Probst JL, Pinelli E. Multi-residue analysis of pre-emergence herbicides in fluvial sediments: Application to the mid-Garonne river. *J. Environ. Monit.*, 2007, **9**, 1009 - 1017.
- Devault DA. *Approche spatio-temporelle de la contamination par les herbicides de pré-levée de la Garonne Moyenne*. Institut National Polytechnique de Toulouse. Toulouse. 271 pp.
- Doggett SM, Rhodes RG, Effects of a Diazinon formulation on unialgal growth rates and phytoplankton diversity. *Bull Environ Contam Toxicol* 1991; **J, 47** (1):36-42.

Dos Santos MA, Rosa LP, Sikar B, Sikar E, Dos Santos EO. Gross greenhouse gas fluxes from hydro-power reservoir compared to thermo-power plants. *Ener Pol* 2006; **34** (4), 481-488

El Kadi Abderrezzak K, Evolution of riverbed according to contributions (in French). 2002. PhD Université Claude Bernard – Lyon I. 179pp.

Frery N, Maury-Brachet R, Maillot E, Deheeger M, De Merona B, Boudou A. Gold-Mining activities and mercury contamination of native amerindian communities in French Guiana: Key Role of Fish in Dietary Uptake. *Environment Health Persp* 2001; **109** (5), 449-456.

Gao JP, Maguhn J, Spitzauer P, Kettrup A. Distribution of pesticides in the sediment of the small Teufelsweiher pond (Southern Germany). *Wat Res* 1997; **31** (11), 2811-2819.

Gao JP, Maguhn J, Spitzauer P, Kettrup A. Sorption of pesticides of the Teufelsweiher pond (Southern Germany). II: Competitive adsorption, desorption and aged residues and effect of dissolved organic carbon. *Wat Res* 1998; **32** (7), 2089-2094.

Gerino M, Tackx M, Mastrorillo S, Salles D, Etcheber H, Rodriguez F. 2004 - Fonctionnalités du milieu et enjeux économiques de la retenue de Golfech. Dans Cahier Thématique N°3 « La Garonne dans son bassin ». Ed. AEAG and GIS ECOBAG. Publications de l'Agence de l'Eau Adour Garonne. 4 p.

Goring CAI, Hamaker JW (eds.) Organic chemicals in the soil environment. Marcel Dekker, Inc., New York, 1972.

Guimont S. Devenir des pesticides dans les sols en fonction de l'état d'humidité et du mode de circulation de l'eau dans le sol. Doctoral thesis 2005. Institut National Polytechnique de Lorraine. Nancy. 223 pp.

Gunkel G, Lange U, Walde D, Rosa JWC. The environmental and operational impacts of Curuá-Una, a reservoir in the Amazon region of Pará, Brazil. *Lak&Reser: Res Manag* 2003; **8** (3), 201-216.

Gyau-Boakye P, Environmental impacts of the Akosombo dam and effects of climate change on the lake levels. *Environ, Develop Sustain* 2001; **3** (1), 17-29.

Heger W, Jung S-J, Martin S, Peter H. Acute and prolonged toxicity to aquatic organisms of new and existing chemicals and pesticides: 1. Variability of the acute to prolonged ratio 2. Relation to logPow and Water Solubility. *Chemosphere* 1995, **31**, (2), 2707-2726.

Marvin CH, Painter S, Charlton MN, Fox ME, Lina Thiessen PA. Trends in spatial and temporal levels of persistent organic pollutants in Lake Erie sediment. *Chemosphere* 2004; **54**, 33-40

McLaughlin A, Mineau P, The impact of agricultural practices on biodiversity. *Agric, Ecosyst & Environ* 1995; **55** (3), 201-212.

Muir WD, Zaugg WS, Giorgi AE, McCutcheon S. Accelerating smolt development and downstream movement in yearling chinook salmon with advanced photoperiod and increased temperature. *Aquac* 1994; **123** (3-4), 387-399.

Marston RA, Mills JD, Wrazien DR, Bassett B, Splinter DK. Effects of Jackson Lake Dam on the Snake River and its floodplain, Grand Teton National Park, Wyoming, USA. *Geomorpho* 2005; **71** (1-2), 79-98.

Matsumura F, Murti CRK (eds). *Biodegradation of Pesticides*. Plenum Press, New York. 1982. 312 p.

Perfect J. The environmental impact of DDT in a tropical agro-ecosystem. *Ambio* 1980; **9** (1):16-21.

Peris E, Requena S, De la Guardia M, Pastor A, Carrasco JM, Organochlorinated pesticides in sediments from the Lake Albufera of Valencia (Spain). *Chemosphere* 2005; **60**, 1542-1549.

Rawn DFK, Lockhart WL, Wilkinson P, Savoie DA, Rosenberg GB, Muir DCG. Historical contamination of Yukon Lake sediments by PCBs and organochlorine pesticides: Influence of local sources and watershed characteristics. *Sci Tot Environ* 2001; **280** 17-37.

Rashad SM, Ismail MA, Environmental-impact assessment of hydro-power in Egypt. *Appl Ener* 2000; **65** (1-4), 285-302.

Sahagian D, Global physical effects of anthropogenic hydrological alterations: sea level and water redistribution. *Glob Planet Change* 2000; **25** (1-2), 39-48.

Scott GR, Sloman KA. The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. *Aquat Toxicol* 2004; **68** (4), 369-392.

Stern GA, Braekevelt E, Helm PA, Bidleman TF, Outridge PM, Lockhart WL, McNeely R, Rosenberg B, Ikonomou MG, Hamilton P, Tomy GT, Wilkinson P. Modern and historical fluxes of halogenated organic contaminants to a lake in the Canadian arctic, as determined from annually laminated sediment cores. *Sci Tot Environ*. 2005; **342**, 223-243.

Xue N, Zhang D, Xu X, Organochlorinated pesticide multiresidues in surface sediments from Beijing Guanting reservoir. *Wat Res* 2006. **40** (2), 183-194

water marking the entrance to the reservoir), decreased in the reservoir until it was no longer detectable.

Résumé du chapitre III

Afin de quantifier l'impact de ces discontinuités sur le continuum fluvial de la Garonne, une campagne de prélèvement de sédiment des retenues de Mancies et de Malause a été réalisée.

Les résultats obtenus sont dissemblables, soulignant que le transport et le conservatisme des molécules d'herbicide est la règle dans la retenue de Mancies alors que le temps de résidence du sédiment au sein des retenues semble être identique. *A contrario*, Malause présente un potentiel de réduction de la charge en herbicides amenant le sédiment à sortir détoxifié de la retenue, la fraction grossière au premier chef.

Pourtant, la durée de vie déduite de ces expériences souligne que le sédiment est une matrice au sein de laquelle la dégradation des herbicides est plus de dix fois plus lente que dans les sols.

L'origine de la dissemblance n'a pas pu être déterminée. Le remaniement mécanique du sédiment à la confluence dû aux régimes fluviaux différents entre la Garonne et le Tarn avait été un temps considéré comme une explication plausible. Néanmoins, il ne semble pas pouvoir expliquer un processus initié dans une zone hydrologiquement strictement inféodée à la Garonne pour la fraction grossière.

D'autres explications comme la diversité de l'activité microbienne entre les différents sites de carottage peuvent être formulées mais mériteraient une expérience indépendante pour être validées ou non. L'activité microbienne dans le sédiment est un terme générique qui regroupe au minimum six grands types de réactions respiratoires étagés en profondeur du plus rentable (l'oxygène en surface) au moins rentable (le gaz carbonique au fond). Néanmoins, l'intensité et l'épaisseur des couches de sédiment concernées divergent en fonction des conditions hydrologiques passées et des régions.

En conclusion, le remaniement mécanique semble capable d'induire le relargage d'herbicides intimement associés au sédiment fin à l'instar de résidus liés au sol. Comme les résidus liés, ces herbicides sont épargnés par l'activité biologique et certains processus de lyse physico-chimique au contraire d'herbicides associés à la fraction grossière (débris végétaux).

IV APPROCHE VERTICALE DE LA CONTAMINATION DES SEDIMENTS DE LA GARONNE MOYENNE PAR LES HERBICIDES

Introduction

Au travers de la concentration importante des herbicides observée dans les sédiments lacustres et suite aux travaux réalisés dans les retenues de Malause et Mancies, la question de la rémanence de ces molécules dans cette matrice se pose. Une approche chronologique peut être envisagée au travers du profil vertical du sédiment dans les zones de dépôt régulier afin de savoir ce qui, de la dégradation ou de la conservation, prédomine dans ces zones d'accumulation.

Les limites d'interprétation des deux précédentes études étaient dues en partie à la nature même des prélèvements de surface. De ce fait, l'impact des différents paramètres (biologiques, physico-chimiques) pouvant influencer sur le devenir des herbicides dans cette matrice n'a pas pu être évalué directement. Les facteurs contrôlant la rémanence devaient donc être identifiés.

Il a été montré précédemment que la flore microbienne peut dégrader les herbicides. Il s'agit d'un processus estimé à deux ou trois mois dans le sol pour ces familles de molécule.

La matière organique fraîche est la source nutritive de cette microflore benthique et est apportée par décantation sur la surface du sédiment. Pour produire de l'énergie (sous forme d'ATP) à partir de cette matière, il faut un accepteur d'électron. Celui qui est à la fois le plus abondant et le plus rentable est l'oxygène (O_2) présent en surface sous forme dissoute dans l'eau. La flore présente en surface est constituée de bactéries aérobies strictes (ne peuvent consommer que l' O_2 comme substrat de respiration) ou facultatives (peuvent utiliser un autre accepteur d'électron). Néanmoins, la lenteur de sa diffusion vers la profondeur et/ou l'intensité de la consommation qui en est faite par les micro-organismes aérobies l'amène à vite manquer en profondeur. La microflore dépendante de sa présence (aérobies stricts) ne peut se maintenir tandis que les aérobies facultatifs peuvent changer d'accepteur d'électron, bien souvent les nitrates. Les bactéries anaérobies deviennent alors concurrentielles pour l'accès à la matière organique. Dans le sédiment vont ainsi s'étager des communautés bactériennes en fonction des accepteurs d'électron à leur disposition. Outre les nitrates déjà cités, en conditions anaérobies, les accepteurs d'électrons peuvent être des sulfates (dérivés

SO₂ et SO₃), des oxydes métalliques (Mn et Fe) et, en dernier ressort, le CO₂ issu de la respiration. Le CO₂ sera utilisé comme accepteur d'électron par des bactéries nommées en fonction de leur ultime déchet métabolique (le méthane ou CH₄) les bactéries méthanogènes. De l'ensemble de ces activités métaboliques résulte la consommation d'une grande partie de la matière organique et est en cela une étape de consolidation du sédiment initiant sa transformation en roches métamorphiques sédimentaires solides (grès, marnes) en vertu de quoi l'ensemble de ce phénomène est nommé « diagénèse précoce ». Leur présence est donc conditionnée par la profondeur dans un sédiment qui n'a pas été remanié récemment (il est dit à l'état d'équilibre).

Pour répondre à ces deux questions intimement liées (rémanence et dégradation des herbicides dans le sédiment), les investigations sur le devenir des herbicides dans le sédiment ont nécessité l'établissement du profil vertical en herbicide du sédiment. Le carottage est le mode exploratoire adapté à l'analyse chronologique d'un objet d'étude dans une matrice en croissance. Les carottages ont ainsi été réalisés dans le sédiment de longue date (la plus ancienne étude retrouvée est celle d'Heezen *et al.*, 1953) mais sont aussi de pratique courante dans d'autres matrices (bois, dentine, corail) ayant en commun une croissance régulière et une longévité importante. Ils exigent enfin un objet d'étude de durée de vie élevée qui puisse se déposer durant la croissance et être progressivement internalisé de façon quantitativement représentative de la présence de l'objet d'étude à l'époque de son dépôt (métaux [Bett, 2001], radionucléides [Abraham *et al.*, 2000], PCB et HAP [Broman *et al.*, 1994]...). Il permet de connaître l'exposition du site par un élément de son environnement si celui-ci est persistant. Connaissant le profil de l'exposition, il peut aussi permettre de connaître le comportement dans le temps d'un objet d'étude.

Précision sur l'échantillonnage. Ce profil vertical a nécessité la réalisation d'un carottier à bras en acier inoxydable mis au point en vue de cet échantillonnage, la matière (plastiques bannis), les profondeurs à atteindre et les quantités emportées en vue du dosage ne permettraient pas d'en trouver d'adéquat. Le carottier cylindrique de notre fabrication (diamètre : 8cm, hauteur : 70cm, volume : 3 500 cm³) est doté d'un lest assurant un échantillonnage vertical et d'un manche de 120cm. La profondeur atteinte correspond à un niveau de compacité de matrice sous-jacente suffisant pour maintenir en place la colonne sédimentaire et assurer son étanchéité. En 2006, cinq carottages ont été effectués en six points

de la Garonne : une à Mancies, Empalot et Bourret, deux dans Malause. Tous ces sites furent sélectionnés pour leur sédimentation non perturbée.

Dans la retenue du Mancies, à Empalot et Bourret, expériences préliminaires à celle effectuée dans Malause, la carotte fut divisée en niveaux d'épaisseur inégale suivant l'usage et leur disponibilité : De 0 à 2cm, de 2 à 6cm et de 6 à 14cm pour couvrir la tranche superficielle du sédiment où la diagenèse précoce s'opère. Des niveaux à 30 et 45cm de profondeur ont été échantillonnés lorsque ce fut possible. En pratique, seule la carotte d'Empalot n'a pas autorisé le prélèvement à 45cm.

Dans la retenue de Malause, deux carottes ont été prélevées. Elles le furent conjointement à une analyse de cette diagenèse précoce afin d'observer l'influence de celle-ci, due à l'activité de *consortia* bactériens. Cette étude parallèle a été réalisée grâce au LEH et à Sébastien Delmotte en particulier. Les prélèvements dans Malause ont été effectués dans des zones de sédimentation connues pour être dépendantes du flux lié à la Garonne exclusivement pour l'une et lié au Tarn exclusivement pour l'autre. Les couches dissociées de la carotte pour analyse sont les suivantes : 0 à 0,5 cm, 0,5 à 1cm, 1 à 1,5cm, 1,5 à 2cm, 2 à 3cm, 3 à 4cm, 4 à 6cm, 6 à 8cm, 8 à 10cm, 10 à 12cm, 12 à 14cm. A ces 11 échantillons s'ajoutent les couches de 29 à 31cm et de 44 à 46cm.

Etude préliminaire

Une étude exploratoire pour établir la rémanence des herbicides a été réalisée sur trois sites abrités de la Garonne sélectionnés pour leurs taux de sédimentation contrastés :

Cette campagne étant exploratoire, ce critère avait pour but de nous permettre une intégration temporelle du devenir des pesticides dans l'environnement à des échelles temporelles différentes et complémentaires. Un fort taux de sédimentation ($\geq 1\text{cm/an}$) pouvait ainsi donner une information précise sur la durée de vie de molécules très labiles. Au contraire, un taux de sédimentation faible ($\leq 0.1\text{cm/an}$) permet une vision plus historique. L'objectif final de cette étude préliminaire était donc de savoir si la rémanence des herbicides dans l'environnement serait assez grande pour permettre une interprétation chronologique comme c'est le cas pour les POPs (Rawn *et al.*, 2001 ; Barra *et al.*, 2001 ; Covaci *et al.*, 2005, Pozo *et al.*, 2007).

1. Matériel et Méthodes

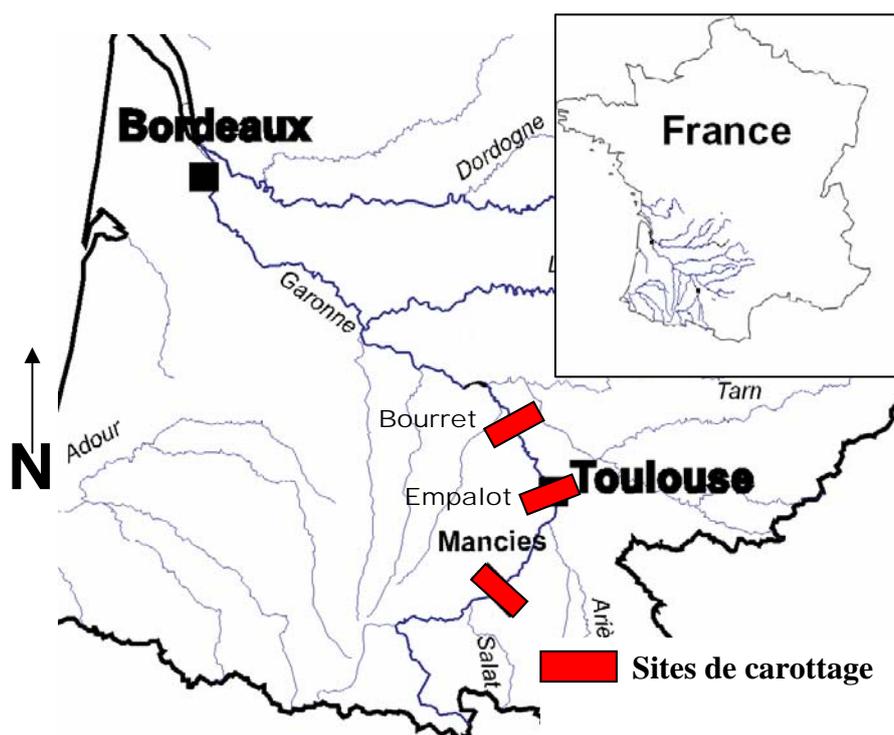


Figure IV-1 : Sites de prélèvement

1.1. Zone de prélèvement

Le prélèvement a été réalisé en trois points du continuum fluvial de la Garonne ayant en commun la régularité de leur sédimentation (figure IV-1).

- Le bras mort de Bourret est mentionné dès le XVIIIème siècle. Il est situé sur la Garonne en un point de la Garonne dépourvu d'aménagement humain et protégé pour son intérêt faunistique et floristique. Le niveau de la Garonne y fluctue donc mais l'anse où la carotte a été prélevée abrite partiellement la zone d'échantillonnage du flux de la Garonne. La seule sédimentation à pouvoir y avoir lieu est le fait d'apports de matière durant les crues (0.1cm/an). Sa distance vis-à-vis de Toulouse et certaines autres données (nutriments, métaux) laissent supposer le peu d'influence de la ville sur le site (Sanchez *et al.*, 2007). Aucun cours d'eau significatif ne vient y perturber l'homogénéité de la sédimentation. Enfin, l'usage agricole de la rive est tamponné par une zone protégée d'une vingtaine d'hectares. Le site de Bourret peut donc être estimé comme minimisant la surreprésentation des influences locales. De même, de par sa position aval, ce secteur n'est pas influencé par Malause.

-La chaussée d'Empalot fut érigée dans le cadre de l'aménagement du cours de la Garonne pour l'implantation de la minoterie du Château Narbonnais, au Moyen Age (1183). Tombée à l'abandon, elle ne résista pas à la crue de 1900 qui emporta l'ensemble de son tablier. Le fleuve revint alors à son comportement natif. La réfection du bras de la Garonne fut achevée en 1922 avec la mise en service de la station hydroélectrique du Ramier. La sédimentation est estimée depuis à 0.41cm/an. Le site a été finement étudié par Hutagalung (1998).

-Le barrage de Mancies a été réalisé « au fil de l'eau » et le lac induit est à niveau constant et établi dans un contexte rural. Sa physionomie a été décrite précédemment. Il a été construit en 1965. La sédimentation au site de prélèvement a été estimée à 1.23cm/an.

Les estimations ont été réalisées grâce à un échosondeur et à des cartes aimablement fournies par EDF pour les sites de Mancies et Empalot. Des études sur la sédimentation dans la Garonne (Steiger, 1997 ; Vervier *et al.*, 2001) furent consultées pour le site de Bourret.

1.2. Période de prélèvement

Les carottes ont été prélevées durant l'étiage hivernal (le 10 février 2006) afin de ne prélever qu'en des zones n'étant jamais exondées. Il s'agit aussi d'une période durant laquelle l'eau qui a durablement baigné le sédiment avait une température d'environ 5°C, favorable à la conservation des herbicides dans un contexte d'épandage représentatif de la moyenne des traitements annuels moyens de pesticides.

1.3. Traitement préliminaire des échantillons de sédiment et caractérisation physico-chimique du sédiment

Tous les sédiments analysés furent initialement criblés sur un tamis de 2mm de vide de maille pour éliminer les gros débris végétaux et les graviers susceptibles de représenter un facteur d'hétérogénéité trop important pour l'exploitation de l'analyse.

De même, la séparation de la fraction fine (<63µm) de la fraction grossière (>63µm) du sédiment a été réalisée. Pour ce faire, le sédiment a été séché à l'air, désagrégé à l'aide d'un mortier et d'un pilon en agate puis tamisé sur tamis de 2mm et 63µm conformément aux recommandations de l'OSPAR (Commission Oslo Paris) (Umlauf and Bierl, 1987; OSPAR, 1995; Gao *et al.*, 1998a et b; Leonard *et al.* 2001). La fraction fine (inférieure à 63µm) correspond aux limons et aux argiles. La partie grossière (comprise entre 2mm et 63µm) comprend certes des sables mais aussi des débris d'origine végétale. La fraction supérieure à 2mm, trop peu représentée pour être analysée, n'a été que pesée pour estimer sa contribution au sédiment total. Le jeu de tamis en acier inoxydable était fourni par Retsch GmbH and Co. KG (Haan, Allemagne).

1.4. Paramètres physico-chimiques du sédiment

-Le contenu de *carbone organique total*, associé à la matière organique, a été dosé. Cette caractéristique du sédiment est couramment corrélée avec la capacité d'adsorption des pesticides sur le sédiment, en l'occurrence les POPs. Le carbone organique a été estimé à l'aide d'un Leco CS 125 (St Joseph, Michigan).

-*L'azote organique total*, au travers du rapport azote/carbone (C/N), fournit une description du niveau de minéralisation du sédiment ainsi que sa nature géographique (endo- ou exogène à la Garonne) et humique (les valeurs élevées du C/N sont un indicateur du degré de dégradation des végétaux supérieurs). En 2005, l'azote organique a été dosé par la méthode de Kjeldhal sur une chaîne Tecator Kjelec-auto 1030 analyzer de Foss Analytical A/S (Hillerød, Danemark). En 2004 et 2006, le C/N l'a directement été sur ThermoFinnigan CHNS C/N.

-*La présence de carbonates* dans les sédiments a été quantifiée au calcimètre de Bernard. Cette donnée n'a été acquise que pour 2005.

1.5. Analyse de la charge en herbicides

Les produits et les techniques ont été détaillés dans le chapitre I de la présente partie. L'analyse chromatographique a été réalisée sur le HP5970 aux modalités thermiques correspondantes.

2. Résultats

Toutes les concentrations moyennes présentées sont pondérées en fonction de l'épaisseur des couches de sédiment.

2.1. Stock d'herbicide

Les concentrations en herbicides (tables IV-1 et IV-2) dans les carottes obtenues sont marquées par la très nette supériorité du DEA sur toutes les autres molécules étudiées, suivie de celle de l'atrazine tant en quantité qu'en nombre d'échantillons où elles sont présentes en des concentrations détectables. Dans une moindre mesure, le linuron est bien représenté puis la sebuthylazine et les deux anilides étudiés. Cependant, ces deux dernières sont bien moins bien réparties géographiquement. Seul le DEA est présent sur toutes les carottes et sur les deux fractions puisqu'il n'est indétectable qu'en B2 (fraction grossière) et en E4 (fractions fine) sur les 38 échantillons.

En considérant le stock de pesticides présents dans les sédiments inférieurs à 2mm, les s-triazines représentent 96.0% de la contamination. Les anilides n'en expliquent que 2.36% et les urées 1.65%. Le seul DEA en explique 88.7%. Les conclusions relatives au DEA prennent en compte la concentration observée en B1. Néanmoins, en excluant cette valeur, le DEA explique 56.59% de la contamination totale. Les conclusions relatives au DEA ne sont pas modifiées si l'on écarte cette valeur.

Le site le plus pollué est celui de Bourret (stock moyen de $2.71\mu\text{g/g}$ de molécules de l'étude), marqué par contamination due essentiellement (98,6%) à la présence de DEA dans la partie la plus superficielle de la carotte ($22.37\mu\text{g/g}$). Cette partie superficielle représente 92.5% de la contamination totale observée pour ce site. Les sites d'Empalot (stock moyen de $1.53\mu\text{g/g}$) et de Mancies (stock moyen de $1.68\mu\text{g/g}$) ont une contamination similaire.

La molécule la plus représentée est donc le DEA, quelle que soit la carotte comme indiqué précédemment, avec une moyenne de $2.68\pm 5.40\mu\text{g/g}$. C'est la seule molécule présente à toutes les profondeurs de tous les sites. L'atrazine, avec une contamination moyenne de $0.18\pm 0.23\mu\text{g/g}$, est aussi bien représentée. Les molécules les plus marquantes sont ensuite le linuron ($0.05\mu\text{g/g}\pm 0.1$) et le métolachlor ($0.04\pm 0.06\mu\text{g/g}$).

Les concentrations en herbicide observées dans le sédiment plus âgé que l'invention des molécules elles-mêmes doivent être comprises comme illustrant la diffusion des herbicides au sein de cette matrice. Ces quantités ne représentent que 1.92% des contaminations observées.

Table IV-1 : Concentration en herbicide dans le sédiment inférieur à 2mm ($\mu\text{g/g}$) aux diverses profondeurs.

-: Inférieur à la limite de détection

T: Traces d'herbicides (<0.01 $\mu\text{g/g}$)

Terbuthyl. : terbuthylazine. Sebuthyl. : sebuthylazine. T. Urées sub. : Total Urées substituées.

	$\mu\text{g/g}$	DEA	Simazine	Atrazine	Terbuthyl.	Sebuthyl.	Cyanazine	T. s-Triazines	Isoproturon	Linuron	T. Sub. ureas	Metolachlor	Metazachlor	T. Anilides	Total	âge (an)
Stock	CM1	0.064		0.239		0.001		0.304		0.001	0.001				0.304	0-1.9
	CM2	3.998		0.335		T	T	4.333				T		T	4.333	1.9-5.6
	CM3	0.407		0.766				1.172		T	T	T		T	1.172	5.6-13
	CM4	1.263						1.263		T	T	0.059		0.059	1.322	30
	CM5	0.020	T	0.010		T	T	0.030	0.020	T	0.020	0.039		0.039	0.098	40
	E1	0.472					0.012	0.484				0.047	0.035	0.082	0.566	0-4.9
	E2	3.995		0.262	0.003	0	0.044	4.297				0.051	0.073	0.117	4.421	4.9-14.6
	E3	0.228	0.032	0.115	0.007	0.108	0.024	0.504		0.080	0.080	0.025	0.015	0.038	0.618	14.6-34
	E4	0.009	0.032	0.115	0.026			0.182		0.111	0.111	0.060		0.060	0.358	70
	B1	21.06						21.059							21.059	0-20
	B2	0.770						0.770							0.770	20-60
	B3	0.316		0.057			0.001	0.373		0.007	0.007				0.378	60-150
	B4	0.034						0.034		0.023	0.023				0.058	300
	B5	0.101						0.101		0.015	0.015	0.085		0.085	0.201	450

2.2. Concentrations en herbicides

La fraction fine, qui représente en moyenne 81.23% du sédiment, est aussi la fraction à la concentration moyenne la plus élevée (3.30 $\mu\text{g/g}$). La concentration moyenne globale de la fraction fine en DEA est de 3.12 $\mu\text{g/g}$ ±5.91. Cette valeur est de 0.19±0.24 $\mu\text{g/g}$ pour l'atrazine et 0.05±0.12 $\mu\text{g/g}$ pour le linuron, c'est-à-dire les deux autres principales molécules de la fraction fine.

La station dont la fraction fine est la plus contaminée est Bourret (avec une moyenne de 5.57± $\mu\text{g/g}$) tandis que la moins contaminée est la partie centrale de Mancies (CM, 1.58±1.85 $\mu\text{g/g}$). Celle d'Empalot (E) présente une concentration moyenne en pesticide de 2.93±3.49 $\mu\text{g/g}$.

Les molécules impliquées dans la contamination des stations diffèrent d'un site à l'autre. Mis à part le DEA, la fraction fine de Bourret n'admet que deux échantillons présentant une molécule d'étude en concentration détectable. Celles-ci sont pourtant faibles : L'atrazine (B3, 0.08 μg) et le linuron (B5, 0.19 $\mu\text{g/g}$). Bien que le DEA soit la molécule la plus fréquemment et abondamment retrouvée, la fraction fine de Mancies présente aussi une présence notable d'atrazine, maximale à CM3 (0.86 $\mu\text{g/g}$). 3 autres concentrations détectables sont aussi

constatées dans cette fraction fine. A Empalot, le DEA et l'atrazine sont toujours les molécules les plus abondantes quantitativement mais sont minoritaires en nombre de concentrations détectables car les autres molécules représentent 11 concentrations détectables. Le profil en profondeur des pesticides de la fraction fine est différent pour chaque carotte. La couche 1 superficielle est la plus contaminée à Bourret ($23.77\mu\text{g/g}$), la couche 2 immédiatement sous-jacente à Mancies ($4.74\mu\text{g/g}$) et Empalot ($8.15\mu\text{g/g}$).

La fraction grossière ne représente qu'une partie minime du sédiment inférieur à 2mm (18.8%). Les concentrations totales observées y sont également inférieures à celles de la fraction fine.

La carotte de Bourret présente la concentration moyenne la plus faible (0.31 ± 0.30). La carotte d'Empalot présente une concentration moyenne de $0.65\mu\text{g/g}\pm 0.33$ contre 0.49 ± 0.11 dans la partie centrale du lac de retenue de Mancies (CM). Les molécules impliquées dans la contamination de la fraction grossière sont, par ordre décroissant de concentration moyenne, l'atrazine ($0.17\pm 0.21\mu\text{g/g}$), le DEA (0.09 ± 0.09) et le linuron ($0.08\pm 0.16\mu\text{g/g}$).

La station où la contamination moyenne est la plus faible est Bourret ($0.31\pm 0.30\mu\text{g/g}$). Les stations Mancies et Empalot présentent respectivement une concentration moyenne de $0.49\pm 0.11\mu\text{g/g}$ et $0.65\pm 0.33\mu\text{g/g}$.

Les molécules impliquées dans la contamination des stations discriminent la station de Bourret, la seule où l'atrazine n'est pas observée. En dehors du DEA ($0.7\pm 0.6\mu\text{g/g}$ en moyenne, soit 43% de la contamination totale de cette fraction sur ce site), 4 autres concentrations détectables sont observées sur les couches de ce site. La cyanazine, le linuron et le métolachlor sont les seules molécules à y être observées. Le linuron est également observé dans les carottes de deux sites de prélèvement sur trois. Les carottes issues de la partie centrale de Mancies et de la retenue d'Empalot présentent des concentrations détectables pour toutes les molécules mères de l'étude sauf la simazine et l'isoproturon. Seule la carotte d'Empalot présente une concentration détectable en métazachlor ($0.232\mu\text{g/g}$, E1).

Le profil en profondeur dans la fraction grossière est fortement différent d'un site à l'autre. Le maximum de concentrations cumulées observé pour Bourret est de $0.32\mu\text{g/g}$ à 45cm de profondeur ce qui, du fait du cumul de l'erreur analytique pour chaque pesticide, n'est pas significativement supérieur à la valeur ($0.31\mu\text{g/g}$) observée dans la couche de 6 à 14 cm tandis que, dans la partie centrale de Mancies, deux couches admettent un cumul de $0.61\mu\text{g/g}$, entre 2 et 6cm et à 45cm de profondeur. Le cumul maximal à Empalot est de $1.03\mu\text{g}$, soit le cumul le plus fort de l'étude. Il s'observe pour le prélèvement de 6 à 14cm de profondeur.

Table IV-1 : Concentration en herbicide de la fraction fine et de la fraction grossière dans le sédiment (µg/g) aux diverses profondeurs.

-: Inférieur à la limite de détection

T: Traces d'herbicides (<0.01µg/g)

Terbuthyl. : terbuthylazine. Sebuthyl. : sebuthylazine. T. Urées sub. : Total Urées substituées.

	µg/g	DEA	Simazine	Atrazine	Terbuthyl.	Sebuthyl.	Cyanazine	T. S-triazine	Isoproturon	Linuron	T. Urées sub.	Metolachlor	Metazachlor	T. Anilides	Total	
Fraction fine	CM1	0.07	-	0.26	-	-	-	0.33	-	-	-	-	-	-	0.33	
	CM2	4.18	-	0.35	-	-	-	4.53	-	-	-	-	-	-	4.53	
	CM3	0.43	-	0.81	-	-	-	1.24	-	-	-	-	-	-	1.24	
	CM4	1.29	-	-	-	-	-	1.29	-	-	-	0.06	-	0.06	1.35	
	CM5	0.02	-	0.01	-	-	-	0.03	0.02	-	0.02	0.04	-	0.04	0.10	
	E1	0.77	-	-	-	-	-	0.77	-	-	-	-	-	-	-	0.77
	E2	5.44	-	0.31	-	-	0.06	5.80	-	-	-	0.07	0.10	0.16	5.97	
	E3	0.33	0.05	0.18	-	0.17	0.02	0.74	-	-	-	-	0.02	0.02	0.76	
	E4	-	0.06	0.20	0.04	-	-	0.30	-	0.21	0.21	0.06	-	0.06	0.58	
	B1	22.37	-	-	-	-	-	22.37	-	-	-	-	-	-	-	22.37
	B2	0.85	-	-	-	-	-	0.85	-	-	-	-	-	-	-	0.85
	B3	0.38	-	0.07	-	-	-	0.45	-	-	-	-	-	-	-	0.45
	B4	0.04	-	-	-	-	-	0.04	-	-	-	-	-	-	-	0.04
	B5	0.08	-	-	-	-	-	0.08	-	0.05	0.05	-	-	-	-	0.13
	Fraction grossière	CM1	T	-	0.02	-	0.01	-	0.03	-	0.01	0.01	-	-	-	0.04
CM2		0.01	-	0.01	-	T	T	0.03	-	-	-	T	-	T	0.03	
CM3		0.01	-	0.01	-	-	-	0.01	-	T	T	T	-	T	0.02	
CM4		T	-	-	-	-	-	T	-	0.01	0.01	-	-	-	0.01	
CM5		0.01	T	T	T	0.00	-	0.01	-	T	T	-	-	-	0.01	
E1		0.01	-	-	-	0.03	-	0.04	-	-	-	0.12	0.09	0.21	0.25	
E2		0.05	-	0.13	0.01	-	-	0.19	-	-	-	-	-	-	-	0.19
E3		0.05	-	-	0.02	-	0.03	0.09	-	0.22	0.22	0.07	T	0.07	0.37	
E4		0.02	-	0.02	0.01	-	-	0.05	-	-	-	0.06	-	0.06	0.11	
B1		T	-	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	T
B2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B3		0.02	-	-	-	-	-	0.02	-	0.04	0.04	-	-	-	-	0.05
B4		0.03	-	-	-	-	-	0.03	-	0.04	0.04	-	-	-	-	0.07
B5		0.11	-	-	-	-	-	0.11	-	-	-	0.12	-	0.12	0.23	

3. Discussion

Le fait que les molécules mères ne présentent pas un profil continu peut être due à l'analyse. En effet, les molécules indétectables avec les moyens actuels pourraient l'être dès lors que le seuil de sensibilité se trouverait abaissé. Il n'est pas possible d'interpréter des profils dominés par des concentrations inférieures à notre seuil de détection.

3.1. L'atrazine et son métabolite DEA

La molécule du métabolite DEA est prédominante dans des proportions exposées ci-dessus. Elle se retrouve essentiellement dans la fraction fine, accréditant la thèse d'une métabolisation essentiellement réalisée dans cette fraction. Les s-triazines sont soumis à des dispositions légales qui aboutissent à leur interdiction en septembre 2003. En croisant leur consommation (donnée U.I.P.P.) aux vitesses de sédimentation de chaque site, il semble que le profil de DEA dans la fraction fine soit un traceur de la contamination par les s-triazines :

Les maxima à Empalot et Mancies sont observés dans la couche 2 (entre 2 et 6 centimètres de profondeur). Or la couche de surface (CM1 et E1) correspond approximativement aux deux années séparant l'interdiction de la date du prélèvement. A Bourret, l'essentiel de la contamination se résume à la couche de surface (B1). L'usage entre 2003 et 2006 de ces s-triazines constaté au travers d'autres études (Devault *et al.*, 2007) n'est pas contradictoire avec une baisse globale de l'emploi de ces produits depuis leur interdiction. Ces s-triazines, dont l'atrazine, furent très usitées dans les années 1980 et 1990 sur le bassin versant considéré. Dans les deux carottes considérées, la contamination des couches CM2, CM3, E2 et E3 peut être interprétée comme la trace de la pollution passée par les s-triazines.

Cependant, dans le cas de l'atrazine, il est aisé de constater l'évolution différente de son profil vertical car il est presque continu, ainsi que celui de son métabolite le DEA. Au demeurant, la concentration des molécules mères entre la fraction fine et la fraction grossière, sans être correspondantes, sont cependant du même ordre. La seule molécule pour laquelle une différence nette est observée est le DEA puisque les maxima de la fraction fine sont 100 fois supérieurs à ceux de la fraction grossière. Aussi, si le DEA représente 88.7% du stock des molécules dosées, il est possible d'assimiler cela à la dégradation des herbicides considérés. Le stock global de DEA est plus de 15 fois supérieur à celui de l'atrazine non dégradée, seule s-triazine métabolisée en DEA. Le DEA est donc le meilleur traceur de la pollution passée à l'atrazine. Aussi, sa présence à ces valeurs nous informe de la quantité relative d'atrazine aux périodes correspondants au DEA archivé dans le sédiment. Sa nette prépondérance sur sa

molécule mère sauf en surface témoigne que, si le processus de dégradation a bien lieu pour l'essentiel des pesticides, le DEA lui-même est peu aisément dégradé et reste adsorbé sur la fraction fine et ce, malgré un Kow de 1,5 (Weigel, 2003). Chefetz *et al.* (2004) ont montré que les s-triazines pouvaient être subdivisés en deux catégories : celles portant un atome de chlore et celles n'en portant pas. Dans une étude de sorption-désorption sur des sédiments, ils ont mis en évidence que les s-triazines porteurs de chlore pouvaient établir des liaisons Hydrogène avec les groupements carboxyliques du sédiment, augmentant leur sorption et limitant leur désorption. Ces résultats soulignent l'affinité des s-triazines envers les substrats riches en motifs COOH, indépendamment de leur Kow. La desethylatrazine porte comme l'atrazine un atome de chlore, qui lui confère des propriétés similaires, et qui peut justifier nos résultats quand à leur forte présence dans les sédiments.

4. Dégradation des herbicides

Une des carottes est issue du milieu urbain (Empalot). Le carottage autorise à étudier le dépôt chronologique mais aussi l'intensité de la dégradation par le rapport entre les molécules mères et les métabolites. Dans le cas présent, le couple atrazine-DEA permet une telle analyse par sa représentativité sur toutes les carottes. Dans la mesure où le DEA est bien plus représenté dans la fraction fine où il présente un profil vertical, celle-ci semble le siège de la transformation, comme indiqué également ailleurs (Devault *et al.*, 2007). La moyenne du rapport DEA/atrazine pondérée de l'importance granulométrique de chaque couche a été établie pour les deux fractions de chacune des trois carottes. La moyenne du rapport DEA/atrazine de la fraction grossière de chacune des trois carottes est utilisée pour s'affranchir de la variabilité spatiale entre les sites de prélèvements (certains sites sont plus contaminés que d'autres). Les moyennes des rapports de la fraction fine sont divisées par celles de la fraction grossière correspondante. Le rapport ainsi obtenu est de 12,25 pour Empalot, 3,92 pour la partie centrale de la retenue de Mancies (CM) et 3,52 pour Bourret. Les traces non quantifiables (T) furent estimées à la moitié du seuil de détection, soit 0.005 μ g/g et les concentrations indétectables à 0.002 μ g/g. De même, les urées substituées et les anilides, familles de molécules réputées moins rémanentes, sont elles aussi représentées dans la carotte réalisée à Empalot.

A Empalot, l'activité de dégradation semble donc pouvoir être réduite par rapport aux autres sites dont les valeurs sont très proches. Cette dégradation minorée peut être due au contexte urbain et aux divers polluants associés aux hautes densités humaines (résidus médicamenteux

dont les antibiotiques, polluants organiques persistants, hydrocarbures aromatiques polycycliques, métaux...). Ce mélange de polluants peut entraver l'activité bactérienne. La seule alternative serait une pollution de dépôt récent, d'origine urbaine ou périurbaine.

5. Bilan

Cette expérience exploratoire nous a permis de voir les limites d'interprétation de notre protocole en vue d'une expérience plus complète.

1- L'épaisseur des sections de carottes est également un facteur pouvant rendre difficile la lecture des profils. Les sections de carottes d'épaisseur inégale correspondent aux besoins de l'étude tant en matériel (prise d'essai) qu'à l'usage lié aux processus (Delmotte, 2007) mais les carottes prochaines, pour une meilleure approche, se devront d'être analysées en sections plus fines.

2- Une étude plus poussée, impliquant des carottes divisées couplée avec le profil de diagenèse s'impose pour mieux appréhender les résultats obtenus lors de la présente étude.

3- Prélever dans des sites plus contaminés permettrait une analyse plus fine de la concentration en herbicide du sédiment. Cela permettrait d'obtenir des profils plus complets pour mieux juger de la rémanence des micropolluants organiques dans la matrice.

En conclusion, quoi que parcellaire et perfectible, cette expérience préliminaire peut fournir certains enseignements :

-La fraction fine est plus contaminée que la fraction grossière. La contamination par les molécules mères est du même ordre dans les deux fractions. Le DEA est essentiellement réparti dans la fraction fine.

-Des molécules mères se retrouvent dans des compartiments profonds sans activité biologique. L'adsorption-protection ou tout autre processus augmentant la demi-vie d'un pesticide dans les sédiments permettrait de justifier d'une possible contamination ponctuelle. La présence de pesticides dans des sédiments anciens montrerait que ceux-ci peuvent être contaminés par des pesticides qui n'existaient pas à ce moment-là, accréditant la mobilité d'éléments contaminés.

Seul le profil du DEA dans la fraction fine semble pouvoir être associé à une chronologie d'usage. La disproportion entre les teneurs en DEA et celles des molécules mères traduit la contamination du sédiment avant la métabolisation, essentiellement dans la partie fine. La confrontation de l'âge du sédiment, de la demi-vie des molécules étudiées et des dates d'arrêt

d'utilisation (interdiction), montre que la constitution d'un stock de molécules non dégradées est possible dans le sédiment.

Influence of *in situ* biological activity on the vertical profile of pre-emergence herbicides in sediment

Damien A. Devault, Sébastien Delmotte, Georges Merlina, Puy Lim*, Magali Gérino, Eric Pinelli.

Laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle ECOLAB UMR 5245 CNRS-UPS-INPT, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse, Institut National Polytechnique, Avenue de l'Agrobiopole - BP 32607 Auzeville Tolosane - 31326 Castanet-Tolosan Cedex

Corresponding author e-mail address: plim@ensat.fr

Corresponding author telephone number: 335-62-19-39-01.

Abstract

We have studied the effect of *in situ* biological activity on herbicide degradation in sediment. Early diagenesis of organic matter (OM) was selected to provide information on the presence and the kinetics of the various biotic and abiotic processes involved in the degradation of fresh organic matter the vector of herbicides in the sediment.

Two tandem-coring samples were taken in the Malause reservoir, one in the hyperoxic zone (Tarn confluence, MT core) and the other in the central part, under the exclusive influence of the Garonne River (MG core), after having crossed a zone where the intensity of the abiotic processes is proven. At each site, analysis of the vertical profile of the herbicides was coupled with compounds associated to OM early diagenesis.

MT proved nearly 7 times more contaminated than MG. DEA played a minor role in sediment contamination. Biological activity only seems to influence herbicide degradation indirectly. Oxygen concentration and level of labile carbon did not indicate any correlation between the consumption of fresh organic matter and substrates degradation. Herbicide transformation thus does not seem to depend on the consortia studied but on physicochemical parameters such as hydrolysis, leading to the long half-life of herbicides in the sediment and hence their long-term presence in the aquatic environment.

Keywords: Early diagenesis, remanence, s-triazines, substituted ureas, anilides, Garonne River.

Introduction

Contamination of the environment by pesticides is an increasing concern for health authorities with the generalization of pesticide use and the accumulation of evidence that contradicts the alleged harmlessness of the modern molecules. The future of certain pesticides in the environment is known because suitable methods exist to study them. Others, however, have not been studied. A protocol was designed recently to assay pesticides that are more recent and less permanent in sediment than persistent organic pollutants (POPs).

Sediment is well known to be an integrative matrix. Deposition of contaminated matter in areas of calm water leads to the formation of sediment, which allows the fate of pesticides in the environment over time to be investigated by coring. Indeed, surface sediment is excavated by the benthic population and is home to microbial fauna and flora while spontaneous transformations proceed (e.g. hydrolysis).

The vertical distribution of benthic biotope members depends on substrate respiration /electron acceptors (Jones, 1985). Electron acceptors become less and less abundant with depth and hence the metabolic capacity diminishes. However, the metabolisation of certain pesticides (organochlorines) proved more effective in anaerobic conditions and thus with specific bacterial consortia. The vertical succession of degradation processes induced by the consortia or by physico-chemical parameters can be investigated by studying the mineralisation phase i.e. early diagenesis. In the same way, the quantity and quality of organic matter in sediment could explain the pesticide content. The first objective of the present work was to observe the disappearance of pre-emergence herbicides. The second was to attribute disappearance to causal processes. The time-scale will provide information on the respective roles of respiration-distinguished consortia or abiotic transformation. The interaction between herbicide on the one hand and quality and quantity of organic matter on the other was taken into account.

2. Materials and methods

2.1. Sampling area

Sediment samples were collected in the Malause reservoir (figure IV-2). This reservoir is situated at the confluence of the Tarn and the Garonne Rivers, in the South West of France (44°05'00.13'' N, 1°02'18.47'' E). It is considered to be a major discontinuity along the river continuum (water residence time from 1 to 5 days), resulting in a high sedimentation rate and silting. Shallow water (< 2 m) represents about 20% of the total area. Two stations, MG and

MT, were chosen in shallow sedimentation areas, under the hydrological influence of the Garonne River and the Tarn River respectively. The physico-chemical characteristics, pedological evolution and anthropic impact effects in this part of the Garonne basin have been described elsewhere (Etchanchu & Probst, 1988; Dauba *et al.*, 1997; Hutagalung *et al.*, 1997; Ibarra *et al.*, 2005; Devault *et al.*, 2007a). Diagenesis indicators have been investigated at the two stations since autumn 2004 to qualify and quantify compounds associated to OM early diagenesis, equilibrium status and, indirectly, the intensity of sedimentation at these places. At each study site, one 70cm-long core was sampled for pesticide analysis. All the equipment was made of glass and stainless steel. Additionally, one core (7.5 cm diameter PVC tube, 40 cm long) was collected with about 15 cm of surface sediments plus 1 to 2 L of surface water to measure geochemical profiles.

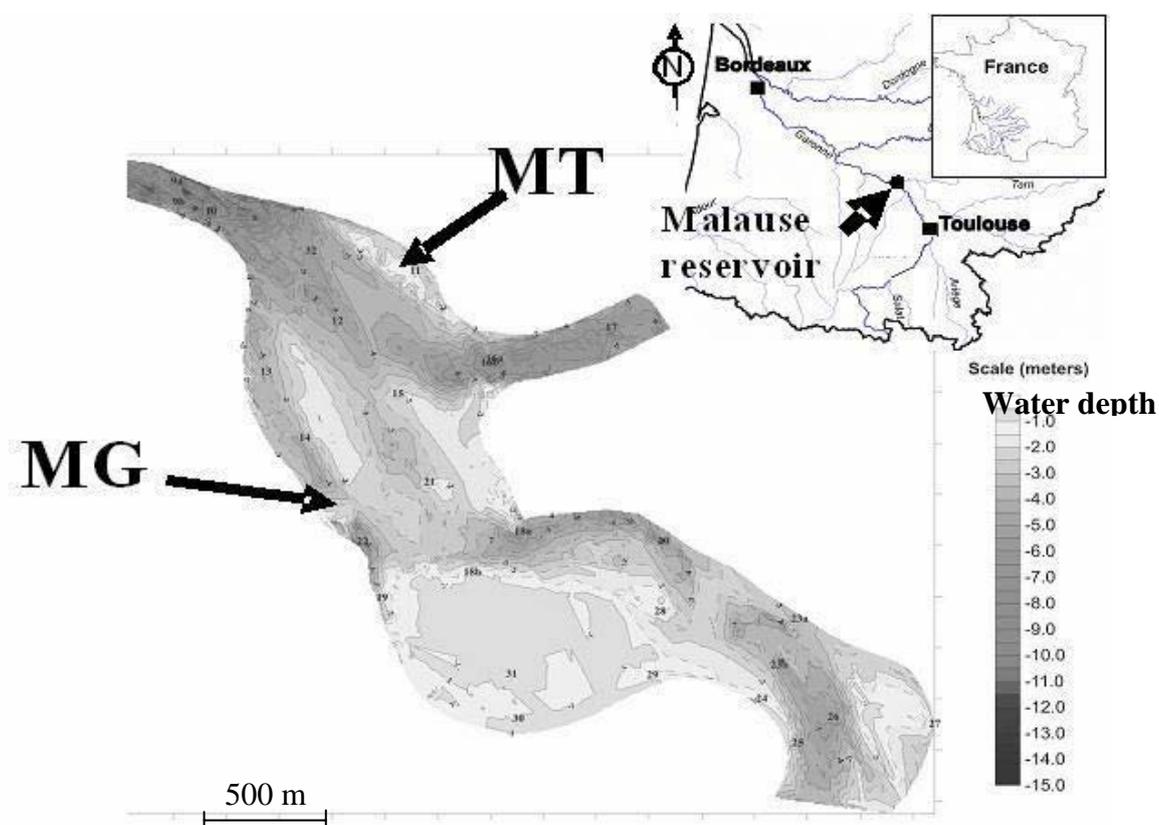


Figure IV-2 : Location of Malause reservoir and sampling sites of MG and MT coring.

2.2. Sampling period

Sediment samples were collected during the winter low-water event corresponding to the beginning of herbicide application and to maximal sedimentation. Samples were collected in March 2006. This was the most marked low-water event of the winter so the sediment

collected had never been above water level.

2.3. Pesticide assay

2.3.1. Sample treatment

The different sediment fractions were separated according to the methods of the Commission of Oslo and Paris (OSPAR) (Umlauf & Bierl, 1987; OSPAR, 1995; Gao *et al.*, 1998ab, Leonard *et al.* 2001). The components of the dried sediment were separated in an agate mortar and sifted with a 2 mm mesh (Stainless steel sieves from Retsch GmbH and Co. KG (Haan, Germany) to distinguish and eliminate coarse plant remains and gravel. In practice, coring was performed in sediment known to be free of large obstacles.

The cores were cut into sections: Section 1: 0 to 0.5 cm, Section 2: 0.5 to 1cm, Section 3: 1 to 1.5 cm, Section 4: 1.5 to 2 cm, Section 5: 2 to 3 cm, Section 6: 3 to 4 cm, Section 7: 4 to 6 cm, Section 8: 6 to 8 cm, Section 9: 8 to 10 cm, Section 10: 10 to 12 cm and Section 11: 12 to 14 cm. For certain analyses, Section 12: 29 to 31 cm and Section 13: 44 to 46 cm were also added. Owing to the small quantities of sediment per section, no distinction was made between fine and coarse fractions. This distinction was made, however, in an earlier work in the same reservoir (Devault *et al.*, 2007ab).

Table IV-3: Compounds associated to OM early diagenesis studied in porewater and herbicides studied in sediment

Compounds associated to OM early diagenesis Organic Carbon Chl- <i>a</i> NH ₄ ⁺ (NO ₂ ⁻ +NO ₃ ⁻) SO ₄ ²⁻ CH ₄	Herbicides assayed DEA atrazine cyanazine sebuthylazine simazine terbuthylazine isoproturon linuron methabenzthiazuron metobromuron metoxuron monolinuron metolachlor metazachlor
--	--

2.3.2. Sample analysis

All solvents were of analytical grade for pesticide analysis ("Pestipur" by SDS, Peypin, France). Analytical grade anhydrous sodium sulphate was also from SDS. Pesticide standards (Mix 44) prepared by Dr Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany) were purchased from CIL., Sainte-Foy-la-Grande, France. Reference soil (Eurosoil7) was from Sigma-Aldrich (St Louis, Missouri, USA). Florisil cartridges used for purification were from Waters Corporation (Milford, Massachusetts, USA).

Extraction was performed with a Dionex Accelerated Solvent Extractor (ASE 200) (Dionex, Salt Lake City, Utah, USA). Diatomaceous earth (Hydromatrix®) was from Varian, Palo Alto, California, USA. ASE extracts were analysed using a TraceGC ultra chromatograph coupled with a TraceDSQ mass detector (GC-MS-MS) from Thermofinnigan (Waltham, Massachusetts, USA).

2.4. Geochemical profiles

To determine the geochemical profiles, the cores were cut into ten sections (0-0.5 cm; 0.5-1 cm; 1-1.5 cm; 1.5-2 cm; 2-3 cm; 3-4 cm; 4-6 cm; 6-8 cm; 8-10 cm; 10-12 cm). In each section, part of the sediment was sub-sampled for: (i) organic carbon assay. The sediment was first freeze-dried, and then treated with HCl (1M) to remove inorganic carbon. It was subsequently dried at 40°C. Organic carbon concentrations were determined using a "NA 2100 Protein" CHN analyser from CE instruments (Wigan, UK). (ii) Methane assay. Immediately after the slicing, the sediment was placed in a sealed glass container with 10 ml of NaOH (0.1 M). Methane concentrations were measured using the headspace technique, with a gas chromatograph (Abril and Iversen, 2003). (iii) Nutrient assay. Sediment was centrifuged at 4000 rpm to collect the pore water. Ammonium and nitrate concentrations were measured by flow injection. Sulphate concentrations were measured with a Dionex DX120 chromatograph. (iv) Double extraction of Chl-*a* was carried out with acetone and assayed on a "Uvikon 930" spectrometer from Kontron Instruments (Plaisir, France).

2.4.2. Sample extraction and purification

The pesticide extraction and purification schedule has been explained elsewhere (Devault *et al.*, 2007a). Chromatography, in the Specific Ion Mode, was set up at an initial temperature of 55°C for 0.5 min. The temperature increase rate was 35°C/min up to 180°C, then 6°C/min up to 240°C, 10°C/min up to 280°C and finally a 25-min plateau at 280°C.

2.4.3. Statistical analysis

Observations were consolidated by Spearman correlation ranks analysis and R^2 for $p=0.05$ between early diagenesis indicators and pesticides.

3. Results and discussion

3.1. Herbicide concentrations

Results are presented in table IV-3 and figure IV-3. The MT core (from the Tarn branch) presented a significantly higher average herbicide contamination ($3.52\pm 2.77 \mu\text{g/g}$) than the MG core (from the Garonne branch) ($0.51\pm 0.36\mu\text{g/g}$), i.e. a ratio of 6.90 between MT and MG. s-Triazines contributed more to MG contamination ($97\pm 71\%$) than to MT contamination ($67\pm 57\%$). Substituted ureas contributed less to MG contamination ($3\pm 2\%$) than to that of MT ($31\pm 41\%$). Anilides contributed less to MG contamination ($0.15\pm 0.16\%$) than to MT contamination ($0.08\pm 0.14\%$). s-Triazines were more concentrated in MT sediment (4.9-fold MG values), as were substituted ureas and anilides (respectively 64.6- and 90-fold MG values).

The most abundant herbicide in MG cores was terbuthylazine (with an average concentration of $0.23\pm 0.13 \mu\text{g/g}$), cyanazine ($0.13\pm 0.09 \mu\text{g/g}$) and DEA ($0.11\pm 0.31 \mu\text{g/g}$). These first three molecules accounted for 93.6% of herbicide contamination in MG sediment. Atrazine, metobromuron, monolinuron and metazachlor presented undetectable concentrations. MG4 was the most polluted layer ($1.41 \mu\text{g/g}$) whereas MG12 contamination was undetectable. The highest levels of contamination were found under surface samples and above the deep samples. Average s-triazine ($0.49\pm 0.36 \mu\text{g/g}$) was higher than substituted urea ($0.02\pm 0.02 \mu\text{g/g}$) or anilide ($0.00\pm 0.00 \mu\text{g/g}$) contamination. On the basis of occurrence, s-triazines (56.1%) were found more frequently than anilides (50.0%) and substituted ureas (34.8%).

The most abundant herbicide at MT was DEA (with an average concentration of $1.384\pm 1.69\mu\text{g/g}$) followed by isoproturon ($1.007\pm 1.439\mu\text{g/g}$) and cyanazine ($0.82\pm 0.72\mu\text{g/g}$). These first three molecules accounted for 91.0% of the total herbicide contamination of MT sediment. Atrazine and metobromuron presented undetectable concentrations. MT5 was the most contaminated layer ($9.30\mu\text{g/g}$) and MT11 the least ($0.24\mu\text{g/g}$). Like in MG, the most contaminated sections were sub-surface ones, upper and deeper sections presenting the lowest concentrations. Average s-triazine contamination ($2.427\pm 2.00\mu\text{g/g}$) was greater than that of substituted ureas ($1.10\pm 1.45\mu\text{g/g}$) or anilides ($0.00\pm 0.01\mu\text{g/g}$). On the basis of occurrence, s-

triazines (66.7%) were found more frequently than anilides (36.4%) and substituted ureas (36.1%).

Vertical profiles of herbicides did not present a regular global tendency, neither for increases consecutive to herbicide accumulation nor for decreases associated with herbicide transformation. Numerous herbicide profiles appear random. However, some seem to follow the same pattern. MT isoproturon, MG linuron, metoxuron and DEA presented maximal concentrations for sections 5 to 6 and decreasing concentrations below and above. MG and

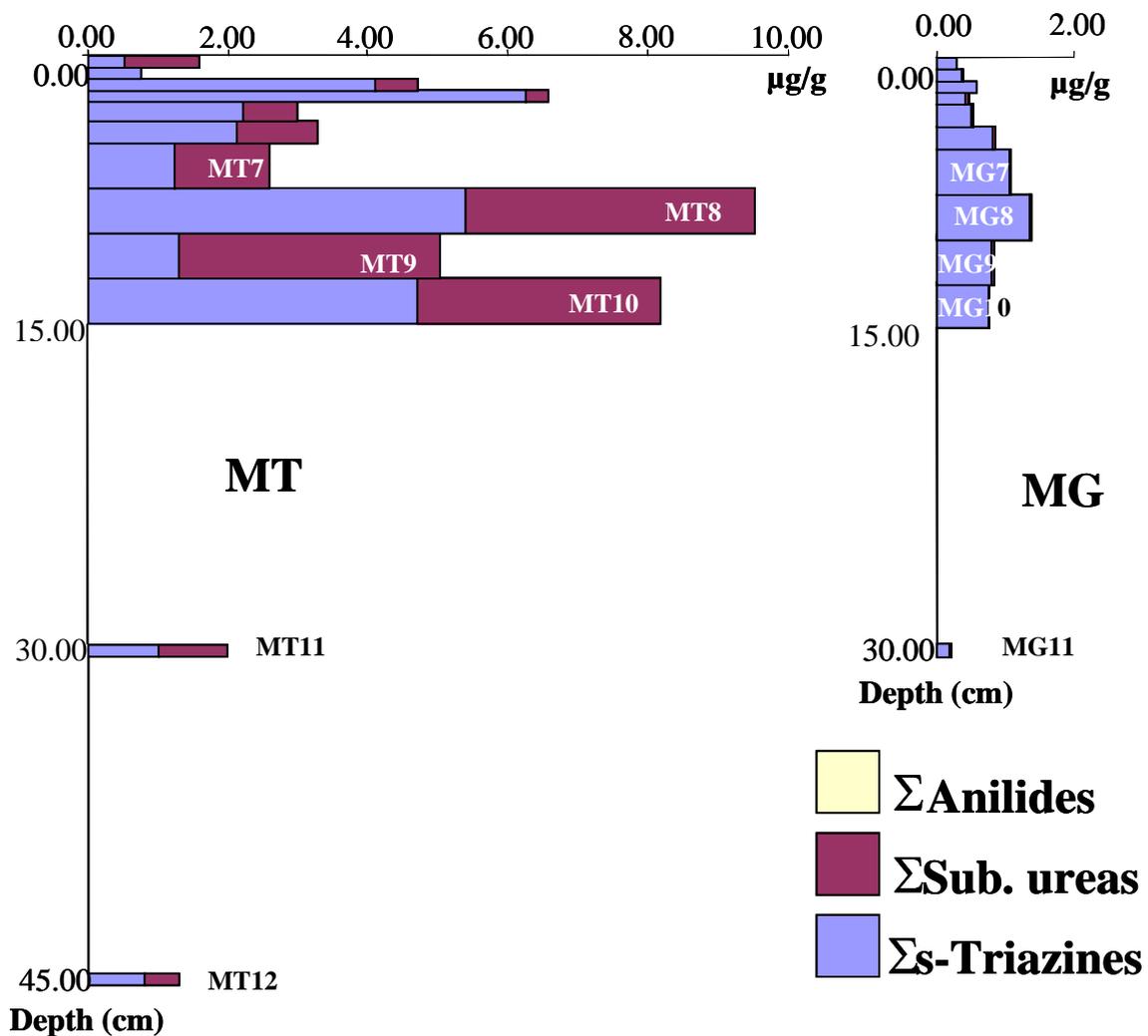


Figure IV-3: Vertical profile of sediment contamination for MT and MG cores. X-axis: herbicide families' concentrations (µg/g) of each layer. Y-axis: sediment depth axis (cm); to each sediment layer thickness correspond x-bar height. MT7 to MT10 and MG7 to MG10 mentions figure to legibility.

MT simazine, MG cyanazine and MG terbuthylazine presented two high levels: one at section 3 and one at section 9: on either side of a minimum at section 6. The only regular profile was found for MT sebuthylazine, increasing near the surface.

No global tendency could be inferred from the vertical herbicide profile. The random nature of the herbicide results could be due to the time patterns of the introduction of contaminated sediment into Malause reservoir depending on both flood events and herbicide spreading.

The levels of herbicide residues are correlated to the average remanence of each family. The MG and MT sampling sites are located just before the area where Garonne and Tarn water mix. Owing to the layout of the reservoir, sediment at the MG site is sampled after the transformation process whereas the MT core is at the beginning of the process. In the MG core, s-triazines, known to be more remanent than the two other families, dominated more than in the MT core.

Metoxuron and terbuthylazine are the only molecules strongly or exclusively associated to urban use. Terbuthylazine was used as for agriculture as for kitchen gardens. In France, the herbicide terbuthylazine can be used too on grapes, apples and, to a lesser extent, maize and sorghum. Its status is ambiguous because terbuthylazine was forbidden to sale since September 2002 except for vineyard (since October 1 2003) in France. However, it is mentioned as used again in France since 2006 to its precedent uses (Acta, 2006).

The herbicide metoxuron is exclusively used in France for non-agrarian applications (Dosanex C). The fact that these herbicides are found in greater proportions in the Garonne part of Malause reservoir suggests that they were released by the Toulouse urban area (population 1 million), 80 km upstream.

	DEA	simazine	cyanazine	terbuthylazine	sebuthylazine	atrazine	Σs-triazines	isoproturon	linuron	methabenz.	metoxuron	metobromuron	monolinuron	Σurées sub.	metolachlor	metazachlor	Σanilides	Total
MT1	0.554	0.040	0.185	0	0.005	0	0.784	0.472	0	0.018	0	0	0	0.490	0	0	0	1.274
MT2	0.365	0.025	0.303	0	0.004	0	0.696	0.901	0	0	0	0	0	0.901	0	0	0	1.598
MT3	2.479	0.201	1.120	0.101	0.002	0	3.902	3.376	0.073	0.030	0.051	0	0	3.529	0.002	0	0.002	7.433
MT4	T	0.084	0.730	0.192	0.001	0	1.006	3.659	0.008	0.022	0	0	0	3.689	0.002	0	0.002	4.698
MT5	3.621	0.096	1.031	0.351	0	0	5.100	4.134	0.001	0	0.064	0	0	4.199	0	0	0	9.298
MT6	0.418	0.028	0.340	0.438	T	0	1.225	1.323	0	0	0	0	0	1.323	0.001	0	0.001	2.548
MT7	1.577	0.029	0.376	0.140	0.001	0	2.123	1.126	0	0	0	0	0	1.126	0.001	0	0.001	3.251
MT8	0.464	0.096	1.358	0.143	0	0	2.061	0.706	0.035	0	0	0	0	0.741	0.017	0	0.017	2.819
MT9	5.371	0.087	0.522	0.111	0	0	6.090	0.306	0	0	0	0	0	0.306	0.001	0	0.001	6.397
MT10	0.728	0.393	2.651	0.161	0	0	3.933	0.572	0.002	0.015	0	0	0	0.590	0	0	0	4.523
MT11	0.062	0.029	0.151	0	0	0	0.243	0	0.005	0	0	0	0	0.005	0.001	0	0.001	0.249
MT12	0	0	0.207	0	0	0	0.207	0.515	0.010	0.002	0	0	0.527	1.054	0 T	T	T	1.261
Wtd average	1.384	0.098	0.817	0.128	0.001	0.000	2.427	1.007	0.009	0.004	0.006	0.000	0.066	1.092	0.003	0.000	0.003	3.522
MG1	0	0.028	0.157	0	0	0	0.185	0	0.001	0.018	0.008	0	0	0.026	0.001	0	0.001	0.212
MG2	0.318	0.024	0.117	0.312	0	0	0.770	0.001	0.001	0	0	0	0	0.002	0.001	0	0.001	0.773
MG3	0	0.026	0.367	0.421	T	0	0.814	0	0.003	0.030	0.002	0	0	0.035	T	0	T	0.849
MG4	0.794	0.029	0.126	0.436	0	0	1.386	0	0.003	0.022	0	0	0	0.025	0.001	0	0.001	1.411
MG5	0.598	0.034	0.165	0.285	T	0	1.083	0	0.004	0	0.005	0	0	0.009	T	0	T	1.092
MG6	0.629	0.015	0.090	0.105	0	0	0.839	0	0.001	0	0.031	0	0	0.032	T	0	T	0.871
MG7	0.008	0.022	0.123	0.362	T	0	0.516	0	0.001	0	0.022	0	0	0.023	0.003	0	0.003	0.542
MG8	0	0.028	0.137	0.260	0	0	0.425	0.015	0.001	0	0.030	0	0	0.046	0.002	0	0.002	0.474
MG9	0	0.027	0.283	0.282	0	0	0.592	0	0	0	0	0	0	0	T	0	T	0.592
MG10	0	0.008	0.113	0.250	0	0	0.371	0.000	0	0.015	0.006	0	0	0.022	0.001	0	0.001	0.393
MG11	0	0.006	0.071	0.212	0	0	0.290	0	T	0	0.002	0	0	0.002	T	0	T	0.291
Wtd average	0.112	0.018	0.131	0.232	0.000	0.000	0.493	0.002	0.001	0.004	0.010	0.000	0.000	0.017	0.001	0.000	0.001	0.511
Tarn/Garonne	12.31	5.48	6.24	0.55	8882.7		4.92	517.83	8.48	1.06	0.55			64.57	2.34		90	6.90

Table IV-3: Herbicide concentration (µg/g) in sediment finer than 2 mm. MT1 to MT12 are samples from the MT core, MG1 to MG11 from the MG core. T: Traces = concentration lower than 0.01µg/g. No value: Undetectable concentration. Wtd average: Average herbicide contamination of each core weighted by considering the thickness of the heterogeneous layer. Metabenz: Metabenzthiazuron

3.2. Mineralisation of organic matter

Results are showed in figure IV-4. Concentrations of organic carbon varied between 1 and 2% within the MG core. The MT core exhibited higher concentrations and variations, with most values lying between 2 and 3% and with a maximum of 3.9% at 9 cm. Neither the MG nor the MT profiles showed any trend in the vertical distribution of organic carbon, suggesting low degradation rates and/or high transport intensities that would have homogenised the concentrations at depth.

Chl-*a* is considered as a marker of fresh organic matter (Sun *et al.*, 2002). Within the MG core, Chl-*a* was present from the surface to 5 cm below, with concentrations reaching $15 \mu\text{g.g}^{-1}$ at 2 cm. This subsurface peak may result from a discontinuous input of algae at the surface. Conversely, the profile of Chl-*a* in the MT core presented an exponential decrease of concentrations, from about $30 \mu\text{g.g}^{-1}$ near the surface to $1 \mu\text{g.g}^{-1}$ at 9 cm. This suggests a higher input of fresh organic matter in the MT sediment than in the MG sediment. Nevertheless, maximal degradation of Chl-*a* (and of fresh organic matter) occurred in the first four cm in both sediment cores. Using a conventional ratio of 50 between Chl-*a* and carbon, we can estimate that fresh organic carbon (labile fraction) represented less than 10% of the total organic carbon, confirming the non-labile nature of the majority of the organic matter in the sediments. This explains the absence of a vertical trend in the organic carbon profiles.

This can be confirmed by analysing the nutrients and methane profiles. First, nitrate concentration dramatically decreased in the first cm of sediment, from 200-300 μM to 1 μM at 1 cm. This indicates a high denitrification activity in the first cm. Hence, we can speculate that the aerobic mineralisation of organic matter occurs within the first 0.5 cm, and that denitrification is the first anoxic metabolism after the aerobic degradation in the vertical succession of mineralisation pathways (Froelich *et al.*, 1979). Ammonium production occurs from the surface to the bottom of the sediment cores, with higher concentrations at MT (maximal value about 6000 μM in the MT core versus 1300 μM in the MG core). The profiles adopt a conventional shape of increasing concentrations with depth, the lowest values being found in the first centimetres due to the release of ammonium into the water column by diffusion and bioirrigation (Delmotte *et al.*, submitted). In a similar manner, methane production was much higher in the MT core, with two subsurface peaks at 0.5 and 3 cm. Concentrations reached 5000 μM just below the surface, whereas maximal concentration was about 300 μM at MG. This indicates a higher degradation activity in the MT sediments, particularly in the first 4 cm. Finally, sulphate concentrations decreased in the first four centimetres of the sediments because of sulphato-reduction processes.

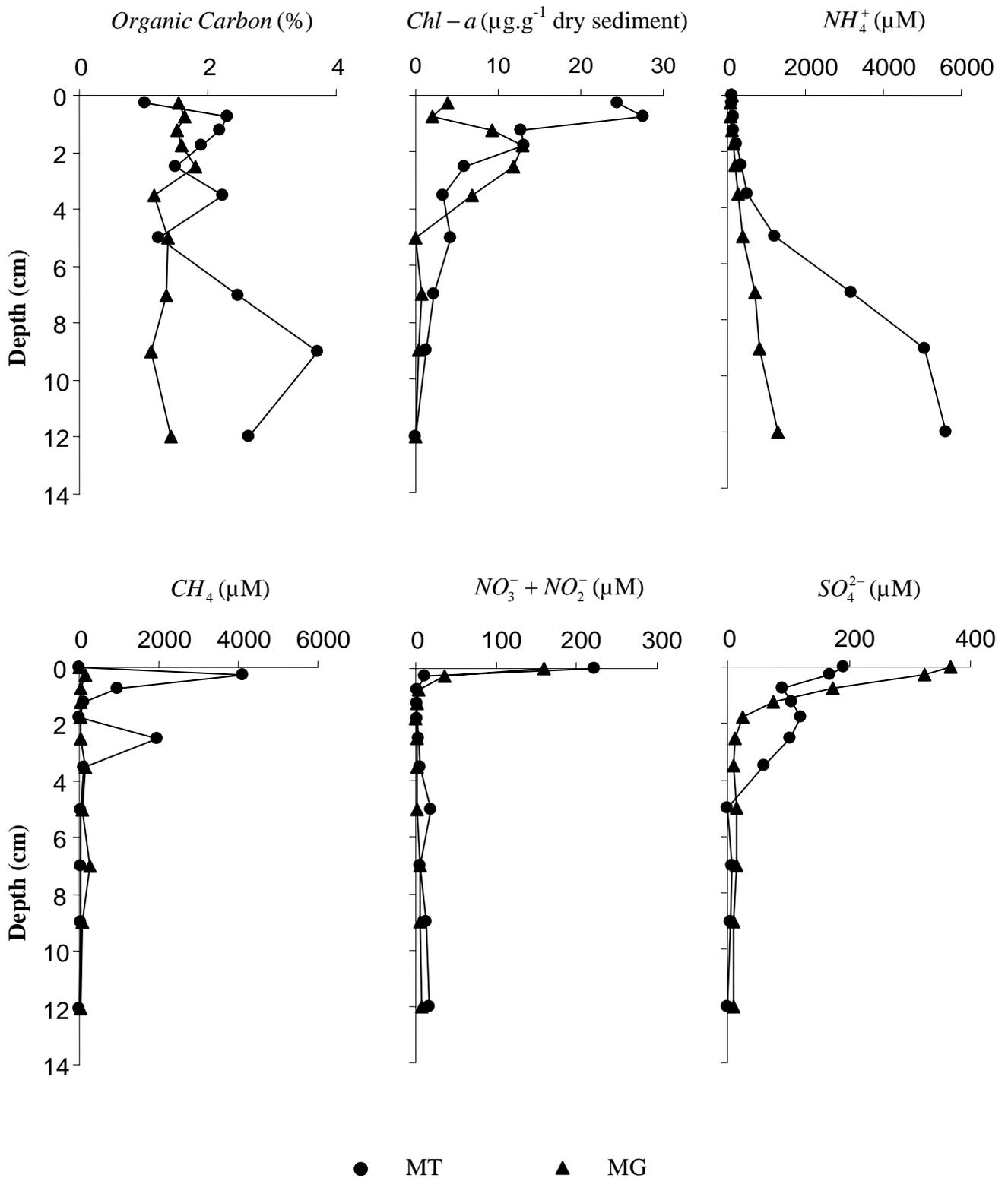


Figure IV-4 : Vertical profiles of various dissolved and solid compounds associated with the mineralization of organic matter in sediments. MT denotes the Tarn core and MG denotes the Garonne core.

To sum up, the analysis of these geochemical profiles shows that: (i) organic carbon is generally refractory in the sediments; (ii) degradation mainly occurs in the first 5 cm of the sediment column; (iii) the metabolic activity is higher in the MT sediments than in the MG sediments, probably due to a recent input of fresh organic matter as shown by the higher Chl-*a* concentrations; (iv) anoxic organic matter mineralisation is dominant. Moreover, the presence of Chl-*a* at depth in the MT core suggests a high transport intensity. As bioturbation is low at low temperatures (5°C here) (Delmotte *et al.*, submitted), strong sedimentation may have occurred due to recent hydrological events. Over the years, an average sedimentation rate of 5 cm.yr⁻¹ is given for the Malause reservoir, considering ¹³⁷Cs data (Etcheber, pers. comm.). This is an average value with strong heterogeneities due to massive deposition and erosion events. However, experiments since 2004 support the 5 cm.yr⁻¹ estimate.

4.2. Interaction diagenesis/herbicide profile

The herbicides resist the biologically active layers – the first 5 cm, i.e. one year of sedimentation – without major consequences from the multiple processes occurring there. This evident indifference to biological activity is supported by the lack of statistical relationship between early diagenesis indicators and herbicides. This is not the case for other molecules, such as organochlorine pesticides, known to be sensitive to various abiotic conditions and to the different microbiological consortia. No herbicide profile seems to depend on depth (except MT sebuthylazine), illustrating the independence of the early diagenesis parameters from the herbicide profile.

The random profile of the pesticides neither supports homogenisation nor any single explanatory phenomenon. Random profile opposes the assumption of intense transport within the sediment, at least for herbicide. It thus seems that degradation by the biota (bacteria and invertebrates involved in bioturbation) does not have a great impact on these herbicides whatever the chemical family considered. However, the lack of bioturbation impact on the herbicide profile could be due to the high intensity of sedimentation, quickly burying any fresh deposits. The study of sites with more limited sedimentation could help reach a firm conclusion.

The herbicides considered have a much longer lifespan *in situ* than suggested by *in vitro* experiments. Considering the MT core, MT12 presented a total herbicide concentration (1.261µg/g) corresponding to 13.6% of the maximum observed (9.298 µg/g, MT5). Assuming constant pesticide input (which is false, since the use of these molecules has shown a decreasing trend in recent years, (personal comm. U.I.P.P.)), these two layers separated by

42 cm of a sediment settling at a rate of 5 cm per annum lead to an estimate of height years. MT includes organic matter more recently introduced into the reservoir and MG had already largely degraded organic matter: the labile carbon concentration was higher in MT than in MG. The same was found for herbicides, suggesting that they are adsorbed on labile organic matter and not on refractory substrates. Likewise, methanogenesis is more intense in MT. In MG, degradation was less intense probably because of the lower level of labile carbon. The slow residual activity illustrates clearly that the MG sediment is more refractory, i.e. degradation is more advanced, than in MT sediment. This is supported by the presence of a decreased abundance of substituted ureas and anilides in MG than in MT. However, the generally accepted relationship between the level of labile organic carbon and the herbicide concentration should also take the half-life into consideration. Substituted urea and anilide MT/MG ratios are clearly higher than that of s-triazines, in agreement with the higher remanence of s-triazines compared to the two others.

Early diagenesis indicators showed that the sediment had an undisturbed structure. Moreover, degradation of organic matter (half-life 2 - 3 months) is faster than degradation of the adsorbed herbicide (half-life 2 - 3 years). However, the organic matter content of the sediment was too low for the herbicide concentration to become significantly increased.

Conclusion

The present study indicates the indifference to biological activity of herbicides adsorbed onto sediment. Owing to the long global half-life observed (3 years), the transformation measured must be due to physicochemical processes (hydrolysis). In contrast, the general literature reports a relatively high lability for these three herbicide families. Although the degradation is much slower than hoped for, transformation does occur as confirmed in older sediment from the MG core which presented less herbicide, the decrease being most marked for the substituted ureas and anilides.

Résumé du chapitre IV

A l'issue du chapitre II, la question de la rémanence *in situ* des herbicides dans le sédiment s'est posée. L'intégration chronologique dans ce contexte de terrain ne pouvait s'adosser sur des analyses réalisées en laboratoire déjà effectuées qui avaient pour biais d'être de courte durée et intégraient une durée de demi-vie des herbicides de l'ordre d'un à trois mois. De même, cette question en amenait d'autres sur la dégradation des herbicides ainsi que sur les stocks d'herbicides piégés dans les sédiments fluviaux en général et les discontinuités en particulier.

L'adaptation de la technique du carottage s'est avérée nécessaire pour élucider ces questions relatives à la durée de vie des herbicides dans le sédiment *in situ*. Elle a permis l'investigation des profils verticaux en des points signalés par les études précédentes : Les lacs de Mancies et Malause, la retenue d'Empalot et le bras mort de Bourret. Les trois premiers sites sont ceux ayant présenté la plus forte accumulation dans les études préliminaires, les lacs dans un contexte rural, la retenue dans un contexte urbain. Le bras mort a été choisi comme témoin du système ouvert autant que pour la faiblesse de la sédimentation en son sein.

Les carottes du lac de Mancies, de la retenue d'Empalot et du bras mort de Bourret, réalisées en des points à la sédimentation contrastée illustraient des échelles chronologiques différentes. Imbriquées, elles ont permis de confirmer la rémanence des herbicides (plusieurs années) dans le sédiment et la supériorité de la contamination de la fraction fine mais également le peu de transport des molécules herbicides adsorbées au sédiment. Elles ont également mis en avant le DEA comme un acteur important de la contamination *in situ*.

Le même exercice réalisé dans Malause en deux points (un inféodé au flux de la Garonne, l'autre à celui du Tarn) couplé au suivi de la diagénèse précoce s'est révélé contradictoire : le DEA n'y a présenté qu'une importance secondaire. Les valeurs observées à mi-profondeur (couches correspondant aux zones ayant sédimenté il y a plus d'un an mais inférieures à six) présentaient les valeurs les plus élevées. Les découpages les plus fins ont permis de constater des contrastes importants entre couches adjacentes, laissant supposer un transport limité au sein du sédiment (vecteur d'homogénéité) de même que de la faible influence de la bioturbation. Dans ce site à la sédimentation élevée (5 cm par an environ, c'est-à-dire l'épaisseur dans laquelle l'activité biologique a lieu), le recouvrement rapide des couches anciennes par du sédiment frais peut minimiser l'influence de la biodégradation au profit de

processus plus longs. Pourtant, les résultats concordants dans les trois autres carottes laissent supposer que la prédominance de la transformation des herbicides du fait de leurs caractéristiques intrinsèques (demi-vie d'hydrolyse) semble plus plausible.

PARTIE 3

Discussion

Devenir des pesticides dans les sédiments

Les résultats présentés dans les chapitres II et III de la partie 2 illustrent la qualité du sédiment en tant qu'intégrateur des contaminants du milieu aquatique. Toutefois, les processus d'adsorption/désorption et la capacité d'épuration du compartiment considéré restent à caractériser. La ségrégation du sédiment réalisée au cours de la présente thèse entre fraction fine ($>63\mu\text{m}$) et fraction grossière (comprise entre $63\mu\text{m}$ et 2mm) peut permettre une investigation du devenir de ces herbicides en fonction de la nature de leur substrat mais aussi de comprendre la nature du lien entre les composantes du sédiment et les herbicides associés. Ces considérations permettront l'analyse spatiale de la contamination en discriminant les sources d'herbicide. Enfin, quel impact écotoxique relatif aux herbicides peut être attribué à ce compartiment ?

1. Spatialisation de la contamination

1.1. Imbrication des bassins versants agricoles et contamination des sédiments

Les résultats obtenus (données non montrées) dans les bassins versants gigognes indiquent un accroissement de la concentration du sédiment avec l'accroissement de l'ordre des rivières observées. Les rivières d'ordre 1 se sont ainsi avérées moins contaminées que la Garonne. Elles admettent des valeurs comparables à celles de la littérature correspondante (Gao *et al.*, 1998 ; Muller *et al.*, 2000 ; Moore *et al.*, 2006).

L'attribution de la part des divers processus envisagés dans la globalité de ce phénomène n'est pas encore réalisée. Il peut s'expliquer par la combinaison de facteurs :

-Hydrologiques : les petits cours d'eau sont plus sujets à des événements pluviométriques violents et localisés, induisant des crues ponctuelles importantes à l'échelle du cours d'eau. Ceux de plus grand volume sont moins concernés dans la mesure où leur importance relativise les événements locaux par rapport à la globalité du bassin versant. Il n'y a qu'un effet « tampon » limité entre les précipitations et le débit d'un drain, d'autant plus sur un sol nu dans le contexte de l'usage des herbicides de pré-levée. Les sédiments en sont donc expulsés à intervalles irréguliers. Dans le contexte de pays développés à forte composante agricole comme la France, de nombreux barrages, chaussées et autres obstacles entravent les cours d'eau. Ils sont autant de sites de sédimentation et d'accumulation potentielle de polluants.

Dans le cadre de notre étude, les cours d'eau considérés ne font pas exception et présentent nombre d'ouvrages qui peuvent contribuer à augmenter le bruit de fond de la contamination du sédiment par les herbicides au fur et à mesure de la progression de la masse sédimentaire vers l'aval. La dégradation des herbicides au sein de ces retenues est hétérogène comme l'illustrent Mancies et Malause.

Il faut aussi souligner que les lits de ces modestes cours d'eau, ne jouissant pas de soutien d'étiage, sont souvent à sec durant l'été. Dès lors, les sédiments hors d'eau sont exposés à la chaleur et au soleil (photolyse) mais aussi au lessivage lors des précipitations.

-Physiques : il faut un certain temps pour que les pesticides en phase dissoute s'adsorbent sur le sédiment ou les matières en suspension. L'étude réalisée à l'aval de Toulouse indique qu'en condition d'étiage, une quarantaine de kilomètres est nécessaire avant que les processus physico-chimiques aboutissent à la disparition des herbicides dans la fraction dissoute comme dans la fraction particulaire des eaux de surface (cf. Sanchez-Perez *et al.*, 2007). L'adsorption complète des herbicides sur le sédiment demande entre 4 et 8 heures (Gao *et al.*, 1997), 3 à 8 jours d'après Lerch *et al.* (2007). Le temps de résidence de l'eau dans les drains en période de culture peut ainsi être trop court pour que l'adsorption se réalise, surtout en période de crue. Une grande partie des herbicides peut ainsi être expulsée en phase dissoute de ces drains pour n'intégrer le sédiment que plus tard.

-Chimiques : la dégradation des herbicides se fait dans les sédiments plus lentement que la matière organique labile sur lequel ils sont adsorbés, comme l'illustrent leurs profils dans les carottes. Le phénomène de concentration observé peut être obtenu par réduction de la matrice adsorbante (la matière organique labile) et pas par seule accumulation du ligand.

-Usagers : Les résidus pesticides non lysés et n'ayant pas atteint leur cible sortiront des parcelles, en phase gazeuse, dissoute ou particulaire. Ceux qui se trouvent dans les rivières très en amont sont ceux appliqués récemment. Certains pesticides peuvent se maintenir plus en aval au gré de leur rémanence et de leur sédimentation derrière des ouvrages injustifiés en tête de bassin. La diversité des pesticides appliqués peut aussi diminuer en fonction de la spécialisation du bassin versant et du nombre réduit d'applicateurs.

1.2. Influence urbaine sur la contamination des sédiments par les herbicides

L'un des résultats principaux de la présente thèse réside dans le rôle des zones urbaines dans la contamination du milieu. Ce phénomène est en train d'être de mieux en mieux décrit par des articles s'intéressant aux usages des particuliers comme des collectivités, aux surfaces traitées (Blanchoud *et al.*, 2002), aux formulations commerciales disponibles (Mann & Bidwell, 2001), aux apports transfrontaliers et enfin à la formation et la protection des applicateurs (Baldi *et al.*, 2006).

Dans le cas de Midi-Pyrénées, 75% de la superficie de la région est couverte par des zones agricoles, 23% par des zones boisées ou impropres à la culture où se pratiquent des activités extensives (pacage caprin sur causses) et 2% en zones urbaines. D'un point de vue démographique, les zones rurales rassemblent 20% de la population, les zones périurbaines 50% et les zones urbaines 30% (Noyé&Guilluy, 2004).

Comme il a été précédemment signalé, l'habitat urbain en Midi-Pyrénées se résume essentiellement aux chefs-lieux de département et tout particulièrement l'agglomération jouxtant Toulouse. La consommation des pesticides se répartit essentiellement entre l'agriculture (90% du tonnage) et 10% pour le reste où se retrouvent les usages associés aux particuliers jardiniers, aux collectivités, aux entreprises d'embellissement urbain et aux golfs. Sur 2% de la surface vont être appliqués 10% des pesticides consommés, soit 4,17 fois plus de pesticide par unité de surface en zone urbaine qu'en zone agricole. Comme indiqué au chapitre 1, le taux de transfert admis de la parcelle cultivée à la rivière est estimée entre 0,5 et 5% en condition normale suivant les auteurs tandis qu'il est compris entre 50 et 100% sur des surfaces imperméables (béton, asphalte, dalles). De ce fait, l'impact du même épandage de pesticide sur une même superficie peut induire un transfert au milieu aquatique 41,7 à 833 fois plus important sur une surface urbaine que sur son équivalent agricole. L'absence d'encadrement et de formation de ces applicateurs ne peut être considérée que comme un facteur aggravant du mésusage des herbicides dans la mesure où, sur une population agricole sensibilisée et informée, Hennebert *et al.*, (2007) ont démontré que, pour la même culture (vigne) sur le même terroir (Champagne) et pour les mêmes rendements, les applications au champ pouvaient aller du simple au triple.

Ces surfaces ont elles-mêmes des taux de ruissellement compris entre 55% (graviers compactés) et 95% (béton, toiture) tandis que les friches et les bois n'ont qu'un taux de ruissellement de 10%. Ces matières imperméables ont, de plus, une capacité de rétention d'eau nulle. Les événements météorologiques génèrent donc plus fréquemment des

ruissellements significatifs, eux-mêmes plus violents. Enfin, les rinçages humains de ces surfaces sont autant d'occasions données aux pesticides (à 85% des herbicides d'après Braman *et al.*, 1995) de ruisseler. Ces paramètres sont difficilement appréhendables mais convergent vers une plus grande sensibilité du milieu aquatique à l'environnement urbain qu'à l'environnement rural. Ils justifient que le seul modèle de simulation I-Phy comprenant les chemins préférentiels de l'eau (proximité des routes et des fossés) soit le plus performant (Zahm *et al.*, 2007).

Les études comportementales sont rares, tant en milieu agricole qu'en milieu urbain. Elles soulignent l'encadrement des pratiques agricoles par opposition à une désinvolture dans les usages citadins ; le niveau de sensibilisation des particuliers est faible tandis qu'une étude réalisée sur les employés municipaux (communes de Rennes et de Toulouse) dévolus à l'entretien des voiries révèle leur manque de formation (Zadjian, 2004). Plus de 55% d'entre eux n'ont pas eu de formation de sensibilisation à l'emploi d'herbicides. D'autres études (Baldi *et al.*, comm. pers.) désignent les jardiniers des zones non agricoles comme étant trois fois plus exposés à la contamination par les pesticides qu'ils appliquent que les ouvriers agricoles. Globalement, les personnes oeuvrant de façon autonome (exploitants agricoles isolés, particuliers) sont trois fois plus exposées que ceux intégrés dans des structures ou des démarches de sécurité (Baldi *et al.*, 2006). Une étude équivalente à celle d'Hennebert *et al.* (2007) n'a pas été entreprise en zone urbaine. Cependant, il a été indiqué en partie introductive que les libellés des produits disponibles pour les particuliers s'avèrent peu clairs tant dans les dosages préconisés que dans les qualités des molécules actives impliquées. Enfin, l'estimation de la justification des doses appliquées est difficile car les outils disponibles ne sont pas adaptés à des zones à traiter plus linéaires (fissures ou jonctions de revêtement) que surfacique (Zadjian, 2004).

Un autre critère difficile à quantifier est le paramètre illicite, qui se complique avec la proximité des frontières. Les études scientifiques sont, dans ce cadre, moins pertinentes que les statistiques de prises douanières qui elles-mêmes présupposent une efficacité analogue des services concernés au fil des ans. Au-delà de l'importation frauduleuse, les stocks de pesticides des usagers peuvent suffire à alimenter la persistance de la possibilité d'une contamination du milieu par des molécules actives fraîchement épandues. Dans cette optique, la chambre d'agriculture de la Gironde a procédé à une campagne exceptionnelle de récupération des stocks d'arséniate de soude en 2006 (Montmartin, comm. pers.). L'arséniate de soude, produit interdit en novembre 2001 alors que l'application principale aurait du avoir

lieu le février suivant, nécessite en effet un recyclage spécifique. Sur les 8000 exploitants viticoles de Gironde, 2000 retourneront des restes de ce phytosanitaire pour un total de 220 tonnes. Des campagnes réalisées sur d'autres pesticides ont amené la restitution de plus de 700 tonnes de pesticides interdits conservés malgré tout par 5000 viticulteurs. Quoique ce nombre soit obtenu par le cumul des personnes ayant fait cette démarche et peut donc compter plusieurs fois la même personne, la conservation de pesticides interdits semble donc un usage courant.

La configuration urbanistique et géographique de la ville de Toulouse en font une zone-atelier privilégiée pour de prochaines études sur l'impact d'une ville importante sur un cours d'eau (Devault, 2007).

1.2.1. Eau

Les études successives ont montré que la Garonne semblait disposer d'un potentiel d'épuration discernable en période calme (Sanchez *et al.*, 2007). En période de crue, l'apport massif tant en eau qu'en matières en suspension induit une accélération du processus de ruissellement en fonction directe de celle du débit. Cette diminution du signal peut être due à plusieurs facteurs. Il a été observé tant pour les herbicides en phase dissoute qu'en eau brute. Il a aussi été noté sur des polluants organiques (PCBs, OCPs, HAP et phtalates) plus directement associés à l'activité industrielle et analysés conjointement en 2004.

Ce phénomène de chute des concentrations peut trouver six explications exposées ailleurs (Sanchez *et al.*, 2007) mais qui peuvent être résumées ici.

La biodégradation : l'eau, à l'étiage, a une vitesse moyenne de 0,5m/s (Sauvage, 1999) ce qui, sur le tronçon de la Garonne Moyenne de Toulouse à Malause (100km), induit un temps de transit de 2,31 jours. Le signal des herbicides se perd en 40km. Pour qu'une dégradation aussi complète soit constatée, il faudrait aux molécules une demi-vie de 2h10', ce qui est impossible. De la même façon, la photolyse peut être écartée.

La sédimentation des matières en suspension : si les herbicides sont adsorbés à la matière en suspension et que celles-ci sombrent ou sédimentent, une disparition artefactuelle du signal peut apparaître dans le cadre de nos prélèvements de surface. Cependant, 20 à 70% persisteraient en association avec les colloïdes (Caderbank, 1989) qui ne décantent pas dans les conditions d'étiage de la Garonne. Cependant, une part de la réduction observée peut être due à ce phénomène, bien que ce soit au niveau de Toulouse que la Garonne soit la plus lente.

La dilution : elle ne saurait expliquer cette diminution car elle est essentiellement le fait d'affluents eux-mêmes plus contaminés que la Garonne. Néanmoins, il ne faut pas omettre l'apport des sous-écoulements potentiellement plus purs que le cours d'eau et la diffusion passive des pesticides de la Garonne vers la nappe.

L'adsorption sur les sédiments. Il faut noter que les sites au niveau desquels l'écoulement est le plus lent sont aussi les plus contaminés. Giry&Ayele (2002) avancent que la cinétique d'adsorption des herbicides dissouts sur le sédiment serait de 1 jour maximum. Cette hypothèse correspondrait à ce qui s'observe dans le cadre de nos études. Cependant, les herbicides qui contaminent les eaux ne sont pas les mêmes que ceux présents dans le sédiment où les s-triazines prédominantes laissent supposer une intégration temporelle sur une plus longue échelle.

Les études réalisées dans le cadre de cet ouvrage soulignent la dichotomie entre la contamination de la colonne d'eau due aux matières en suspension (MES) et celle du sédiment (Sanchez *et al.*, 2007). Une première réponse peut résider dans le fait que les MES sont intrinsèquement une fraction particulaire (sol ou sédiment) mobilisée, les MES trouvés en un lieu venant donc nécessairement du lieu lui-même ou de l'amont. Dans la mesure où nous prélevons le sédiment en condition hydrologique calme (étiage), la proportion de MES autochtones peut donc être considérée comme mineure devant celle allochtone. Ensuite, les MES présentent des caractéristiques physico-chimiques particulières (surface spécifique relative élevée, forte teneur en carbone organique...) et ne sont donc pas représentatives du sédiment dans sa complexité granulométrique. Gao *et al.* (1997) se sont intéressés à la répartition granulométrique de la contamination du sédiment. La fraction $>2\mu\text{m}$, c'est-à-dire celle contribuant essentiellement aux MES, se trouve présenter un potentiel élevé de mise en réserve d'herbicides. Cependant, l'adsorption des herbicides sur cette fraction dépend de paramètres physico-chimiques aspécifiques pouvant fortement varier suivant les molécules observées d'une part et la nature du sédiment d'autre part, notamment la nature des argiles : kaolinite et montmorillonite. Cette dernière sorte d'argile a une telle affinité pour les s-triazines que Zarpon *et al.* (2006) proposent de l'utiliser dans des colonnes de pré-concentration. Les paramètres de l'environnement aquatique (pH, température) peuvent enfin influencer également sur le comportement global des molécules (Kovaios *et al.*, 2006).

La volatilisation et d'autres phénomènes difficilement quantifiables peuvent toucher des molécules actives, notamment les chloro-anilides à la constante de Henry élevée (Schomburg&Glotfelty, 1991). Cependant, la diminution de la concentration à l'aval de

Toulouse ne concerne pas les seules molécules facilement volatilisées mais d'autres au comportement inverse.

Le piégeage mécanique des matières en suspension dans la circulation hyporhéique sous les radiers et dans l'abondant biofilm associé peut induire une diminution notable de la contamination de la Garonne Bonvallet-Garay (2002) et les métaux (Cd-Zn de l'hydrosystème Riou-Mort/Lot hydrosystem ; Morin 2007). Il peut donc en être de même pour les herbicides. Cette rétention en conditions d'étiage peut cependant induire une libération massive de ces particules contaminées en crue. Entre-temps, les processus de dégradation auxquels sont sujettes ces molécules labiles peuvent avoir lieu. Les herbicides en phase dissoute peuvent aussi trouver leurs cibles physiologiques les algues constitutives du biofilm.

1.3. Devenir des herbicides dans le sédiment

1.3.1. Conditions générales du milieu

Gao *et al.* (1998b) ont défini l'influence du pH dans l'adsorption et la désorption des pesticides et ont établi que le pH environnemental ne modifie pas les cinétiques d'adsorption et de désorption. Il est établi que deux facteurs conditionnent la capacité de dégradation des sols : Leur taux d'humidité et leur température (Baer *et al.*, 1996). Plus un sol est humide (à 90% de sa capacité de rétention maximale plutôt que 50) et chaud (28°C plutôt que 15°C), plus la biodégradation y est favorisée d'après les expériences *in vitro*. Le sédiment étant une matrice saturée en eau, la biodégradation devrait ainsi y être accrue. Cependant, la température de l'eau est moins sujette à des amplitudes importantes que l'atmosphère, au contraire des horizons superficiels du sol. En 2005, les températures se sont échelonnées entre 2.7°C et des températures de plus de 25°C avec une moyenne de 15,4°C. Ces dernières sont sujettes à caution car la baisse générale du volume estival des rivières a pu exonder la sonde. Néanmoins, la température de l'eau a été limitante pour le métabolisme bactérien (inférieure à 15°C, Medigue *et al.*, 2005 ; Alletto *et al.*, 2007) durant 175 jours en 2005 tout en n'atteignant pas les hautes températures constatées dans l'atmosphère ou au sol durant la période chaude. Guimont (2004) souligne que les mésophiles impliqués dans les processus de dégradation ont une température optimale comprise entre 25 à 40°C. Ainsi, la température du milieu aquatique où se trouvent les sédiments est tamponnée par l'inertie thermique de l'eau et son écoulement, ce qui peut avoir pour effet de minimiser la température du milieu et, donc, l'activité microbienne. De ce fait, il n'est pas possible, sans analyses complémentaires, de savoir si le sédiment est une matrice plus réactive que le sol ou non. *In vivo*, la dégradation de la matière

organique labile dans le sédiment en période hivernale est 8 fois inférieure à celle observée en été pour notre bassin d'étude et pour la période de nos expérimentations (Delmotte, 2007).

Le sédiment est une matrice moins oxygénée que le sol. Si la ressource en substrat de respiration ne semble pas interférer dans le profil vertical des sédiments, il ne faut pas omettre que ceux-ci sont essentiellement anoxiques. L'oxygène dissout ne diffuse que dans les seuls premiers millimètres pour laisser place à des substrats métaboliquement moins rentables, ce qui limite très probablement les processus de biodégradation. Si l'oxygénation de l'eau fut globalement bonne (rarement en dessous de 8mg/l dans l'eau libre) pendant la période d'étude d'après les bulletins de veille de l'AEAG, cette donnée n'informe pas de la quantité disponible au fond qui reste donc, pour l'ensemble de l'étude, ignorée.

1.3.2. Analyse de la répartition granulométrique des herbicides

La campagne de dosage des herbicides du sédiment en 2005 s'est accompagnée d'une caractérisation des deux fractions granulométriques du sédiment, incluant le carbone organique total, l'azote organique total, le phosphore assimilable et calcimétrie de la matrice. Outre les sites de prélèvement d'Empalot (G2) et de l'Aussonnelle (A1) trop fortement anthropisés, les valeurs de C/N dans la fraction grossière du sédiment de l'étude furent comprises entre 17,7 et 12,8 et 7,0 et 5,5 pour la fraction fine. Ces valeurs sont en accord avec celles d'autres rivières (Balakhrisna & Probst, 2005). Une valeur de C/N entre 4.6 et 7.5 est attribuable au cycle endogène de la matière organique, sous l'influence du phytoplancton dulçaquicole dominé par les Diatomées qui présente un C/N de l'ordre des protéines qui s'y trouvent, tout comme l'essentiel des Animaux (Muller, 1977). Des valeurs plus élevées peuvent être associées à un apport récent de sol érodé pouvant charrier des débris de plantes supérieures dont les molécules structurales, fortement polymérisées, ont un C/N nettement supérieur (Garon-Boucher, 2003). Dans ce travail de thèse, la valeur moyenne de C/N de la fraction grossière du sédiment est significativement supérieure ($15,1 \pm 3,2$) à celle de la fraction fine ($6,2 \pm 1,0$). Cette valeur est celle d'un sol récemment érodé ou à de la matière végétale humifiée (Garon-Boucher, 2003). La première possibilité est invalidée dans cette fraction grossière par le tamisage lui-même. Cette valeur ne peut donc être attribuée qu'aux débris végétaux, seule matière organique et donc seule matrice susceptible d'être significativement contaminée par des polluants organiques dans une fraction granulométrique minérale caractéristique de sables inertes vis-à-vis de ceux-ci.

Quelques études se sont intéressées à la répartition granulométrique sédimentaire des pesticides (Karickhoff *et al.*, 1979, Gao *et al.*, 1997, 1998 a et d, Garon-Boucher, 2003) et d'autres polluants organiques comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques (H.A.P. ; Gao *et al.*, 1998b). Tous corroborent la contamination plus importante de la fraction fine. Gao *et al.* (1998a) identifient les argiles de taille inférieure à 2 μ m comme le compartiment le plus propice à l'adsorption suivies des limons fins (2 μ m à 6,3 μ m) puis des sables fins (63 μ m à 200 μ m). La contribution du sédiment plus grossier que 200 μ m n'a pas été étudiée par cette équipe qui a éludé l'influence de la fraction grossière et la raison de la présence des herbicides considérés en faveur de la fraction fine pour laquelle une explication préexistait. Cette présomption a même amené des études à n'être réalisées que sur la fraction fine (<63 μ m) en considérant comme nulle la capacité de rétention des polluants organiques du sédiment plus grossier (Vigano *et al.*, 2003) contrairement à nos résultats. Pour autant, les résultats de la présente thèse démontrent que la contamination de la fraction grossière n'est pas toujours négligeable devant celle de la fraction fine.

Gao *et al.* (1997) ont en effet constaté que la fraction fine, constituée d'argiles et de limons, avait la plus grande capacité de rétention de pesticides, attribuée à une adsorption aspécifique associée à sa surface spécifique (surface déployée relative à une quantité donnée) et à son aromaticité, toutes deux supérieures à celles de la fraction grossière (Gao *et al.*, 1998c) constituée de sables et de débris organiques d'origine végétale. Néanmoins, les concentrations observées dans la fraction grossière ne sauraient être négligées : Le niveau relatif de concentration de la fraction grossière du sédiment de la Garonne et de ses affluents par rapport à celui de la fraction fine (3 : 1) est en accord avec ceux présentés par Gao *et al.*, 1998a (3,5 : 1) à l'exception notable des barrages. Dans ces lieux d'accumulation préférentielle, la contamination de la fraction grossière peut dominer celle de la fraction fine aux entrées et évoluer jusqu'à ne plus être décelable en sortie (cf. Malause). Ce résultat est paradoxal s'il est rappelé que la fraction grossière est théoriquement essentiellement constituée de sable. Pourtant, la valeur de carbone organique total observé dans cette fraction reste plus élevé que celui d'un sable strictement minéral puisqu'il est même plus élevé que celui de la fraction fine. Le C/N de la fraction grossière plaide pour la présence significative de débris végétaux en cours de dégradation. Karickhoff *et al.* (1979) ont obtenu les résultats qui leur permirent de considérer insignifiante la contribution de la fraction grossière à la contamination totale dans un sédiment constitué d'une fraction grossière pauvre en matière organique. Les molécules dosées étaient des polluants organiques persistants (POPs) bien plus hydrophobes ($K_{ow} > 4$) que les molécules étudiées dans ce travail, surtout les urées substituées

($\approx 2,5$). Gao *et al.* (1998a) n'ont pas cherché à élucider les raisons de la répartition granulométriques des herbicides de leur étude. Ils ont néanmoins démontré la relation entre la charge de l'eau interstitielle en carbone organique dissout et la mobilité des pesticides.

La capacité d'adsorption de la fraction grossière n'a pas fait l'objet de beaucoup d'études et il n'est possible d'en trouver qu'en marge d'études réalisées surtout sur la fraction fine. Celles qui ont été réalisées ont associé cette capacité d'adsorption aux débris organiques riches en lignine dans la mesure où il s'agit du composé présentant le plus haut degré d'aromaticité (Beck & Jones, 1996). Ce faisant, elles n'ont fait que transposer des processus connus pour la fraction fine à la fraction grossière. Les débris végétaux ont un coefficient d'adsorption d'herbicides trente à cinquante fois supérieur à celui du sédiment tandis que la cinétique de désorption est moitié moindre (Garon-Boucher, 2003). Chefetz *et al.* (2004) ont associé des résultats similaires dans les sédiments, à la présence d'atomes de chlore dans les molécules de s-triazines, favorisant les liaisons hydrogènes aux groupements carboxyl du substrat. Or ces groupements carboxyl sont portés dans le sédiment principalement par les molécules organiques (biota dégradé ou non). Ces données valident le potentiel d'accumulation de cette matrice vis-à-vis de ces molécules. Pour autant, en contradiction avec les travaux de Beck & Jones (1996), Garon-Boucher (2003) signalait que la capacité d'adsorption n'était pas corrélée à la taille des particules. Elle confirme les travaux de Gaillardon (1983) qui n'avait pas trouvé de différence significative entre la capacité d'adsorption de tiges de paille entières et des tiges de paille réduites en petits morceaux, à la surface spécifique nécessairement plus importante. Or, dans le cadre d'une adsorption aspécifique, la surface spécifique a un rôle prépondérant dans la capacité d'adsorption totale. De même, Brouard (1995) et Garon-Boucher (2003) ont démontré que l'isotherme d'adsorption d'urées substituées sur le sédiment et les débris organiques indiquaient une compétition pour les sites d'adsorption. Ces éléments (indifférence de la capacité d'adsorption et du niveau de fragmentation de l'adsorbant, compétition plutôt qu'adsorption) contreviennent à l'hypothèse de l'adsorption aspécifique unique due au comportement hydrophobe des herbicides. Les herbicides actuels sont justement sélectionnés pour ne plus présenter une telle tendance et sont de ce fait toujours plus solubles pour éviter tout phénomène de bioaccumulation et de bioamplification. Les familles d'herbicides les plus solubles sont d'ailleurs plus représentées dans la fraction grossière que dans la fraction fine, ce qui désavoue d'autant plus l'hypothèse d'une association exclusivement de nature hydrophobe entre le sédiment grossier et les herbicides.

La lignine est un composé organique particulièrement stable et susceptible de perdurer dans l'environnement durant plusieurs années. Or l'étude réalisée dans les retenues de Malause et

de Mancies a montré que dans Malause, la contamination par les herbicides de la fraction grossière peut être complètement éliminée (RM10 et 11) tandis que le C/N de la fraction grossière n'est pas significativement différent en entrée du barrage comparée à la sortie, démontrant que le contenu de lignine n'est pas plus dégradé qu'en amont. Ce constat est corroboré par la limitation de la dégradation de la lignine en milieu anoxique. Le contenu en lignine de la fraction grossière n'est donc pas le facteur le plus pertinent pour expliquer la présence des herbicides.

La contamination du point « DS » peut aider à comprendre le devenir des herbicides. Il est situé en aval du barrage de Malause et ne reçoit de lui que des eaux préalablement décantées au sein de la retenue sortant des buses de l'ouvrage. Il ne fut possible de prélever qu'au sein d'un herbier de *Potamogeton perfoliatus* (L.), constituant de ce fait une zone de sédimentation, afin de pouvoir échantillonner à la fois du sédiment fin et du sédiment grossier sur une section de la Garonne où son fort débit interdit la sédimentation. La fraction fine ne peut provenir que de la retenue tandis que la fraction grossière est liée à la sénescence de l'herbier. La concentration de la fraction fine en herbicide était nulle. Celui-ci n'est donc soumis qu'à la contamination par les herbicides dissous dans l'eau et franchissant la retenue. Or, si la fraction fine est exempte d'herbicides, tel n'est pas le cas de la fraction grossière. Dans cet exemple, la matière organique fraîche pourrait être contaminée par les herbicides de la fraction dissoute. Cette observation est à rapprocher de la relation entre la solubilité relativement élevée des herbicides retrouvés dans la fraction grossière comparée à ceux abondamment trouvés dans la fraction fine du sédiment. Il convient également de mentionner l'interprétation du profil statistique observé dans l'analyse en composantes principales (figure II-4). Celle-ci notait que l'axe secondaire ségrégait les molécules en fonction de la cible de chaque famille de pesticide. Parmi les pesticides, les molécules les plus solubles auront ainsi tendance à davantage se retrouver dans la fraction grossière ($R^2=0,99$) mais aussi en fonction de leur cible métabolique, membranaire pour les urées substituées et les s-triazines, cytosolique pour les anilides. L'intégration de ces deux constats n'est pas encore réalisée. Une expérience en canaux serait nécessaire à la meilleure compréhension des processus mis en jeu.

1.2.3. Passage des herbicides de la fraction grossière à la fraction fine : proposition d'un scénario

Les éléments de réflexion exposés précédemment ont amené à l'élaboration d'une hypothèse de passage des herbicides de la fraction grossière à la fraction fine. Cette voie de

contamination se conjuguerait avec celle de l'apport de matériaux fins au sédiment par décantation de MES vectrices de pesticides adsorbés par adsorption aspécifique.

Un scénario peut être proposé quant au devenir des herbicides, sans statuer quant à l'origine des herbicides adsorbés dans la fraction grossière. Il n'est pas encore possible de déterminer si les herbicides sont présents dans les débris végétaux *a priori* (lorsqu'ils étaient intégrés à un végétal vivant, aquatique ou terrestre) ou *a posteriori* (contaminés par les molécules présentes dans la fraction dissoute).

La question du devenir des herbicides qui peuvent y être associés se pose donc et, à travers elle, celle de la possibilité de la rémanence de molécules dans des circonstances particulières. Le squelette ligneux des débris organiques offre une protection relative contre l'intrusion bactérienne et mycélienne mais pas de l'eau. Cela pourrait justifier la rareté du DEA, produit de la dégradation bactérienne aérobie de l'atrazine, dans la fraction grossière. La solidarité des macromolécules dégradée et de leur ligand phytosanitaire expliquerait tout ou partie de la présence de pesticides à des profondeurs où il paraissait improbable de les retrouver d'après la littérature. Elle permettrait leur rémanence (notamment de certaines molécules labiles comme les urées substituées) dans le milieu et plus particulièrement dans la fraction grossière et expliquerait (i) la dichotomie entre la contamination de la fraction fine et de la fraction grossière, notamment en métabolites et (ii) la présence dans la fraction fine de molécules peu hydrophobes.

La dégradation des débris organiques par les micro-organismes dans le milieu anoxique qu'est le sédiment, laisse intact le squelette ligneux. Elle libère lors de l'humification, essentiellement par hydrolyse, des composés contribuant au carbone organique dissous (COD) dans l'eau interstitielle du sédiment. L'interaction entre les acides humiques et deux herbicides, respectivement l'atrazine et le triallate, a été démontrée par Oesterreich *et al.*, 1999 et D'orazio *et al.* (1999) mais dans des circonstances différentes. Les travaux de Gao *et al.* suggèrent que le COD et la charge en herbicide de l'eau interstitielle sont fortement corrélés. Ces auteurs aboutissent à la conclusion (1998b) que le COD est un transporteur des herbicides. Si le dosage brut de l'eau interstitielle peut avérer la présence d'herbicides, ceux-ci sont en fait associés au COD d'après ces auteurs. Ce COD donnerait donc leur apparente solubilisation aux herbicides. Cependant, ils attribuent aux herbicides ainsi véhiculés une capacité de contamination longue distance des compartiments sur-jacents (eau libre, biota) alors que les concentrations observées dans l'eau interstitielle induiraient un épuisement rapide des herbicides du sédiment. De plus, leurs propres observations signalent un stock

d'atrazine et de bifenox dans le sédiment vieux de 3 et 7 ans (1998b). Le COD est lui-même composé de molécules ayant une faculté d'adsorption avec la matière organique en fonction de leurs propres propriétés. Ce faisant, un herbicide fortement associé à une protéine désolidarisée du reste du complexe photosynthétique et devenant du COD pourrait avoir *in situ* en pratique le comportement de son vecteur, l'amenant donc à une apparente lipophilie induisant l'adsorption à la fraction fine si celui-ci est lipophile. Si le COD est le vecteur des herbicides, il semble donc que l'hypothèse soutenue par Gao *et al.* (1998b) de molécules organiques remis durablement en solution déplaçant les phytosanitaires sur de grandes distances contaminant massivement la colonne d'eau soit moins plausible que celle de molécules organiques fugacement solubilisées ne permettant que des transports d'herbicides sur de courtes distances (hystérésis). Les résultats présentés par Oesterreich *et al.* (1999) abondent dans ce sens, soulignant que la translocation de l'eau vers le sédiment d'amtrole marqué au ^{14}C associée au COD était majoritaire (80,6%). Plus de 30% de l'amtrole y trouvait à se lier de façon non extractible alors que, dans le sol, le COD favorise la minéralisation et le lessivage.

La dichotomie entre les pesticides présents dans la fraction grossière et la fraction fine soulignent que l'adsorption aspécifique ne semble pas régir les interactions entre les ligands et les débris végétaux de la fraction grossière. Quel pourraient être les sites d'adsorption, et sous quelle modalité les molécules actives s'y ligueraient-elles ?

L'hypothèse des macromolécules membranaires se base sur une stricte observation de l'interaction aspécifique, probablement prédominant en milieu sec mais qui semble invalide ou minoritaire en milieu saturé d'eau. Les macromolécules en question sont en effet fortement hydrophobes et présentent nombre de sites disponibles pour une adsorption aspécifique (-OH...). Les macromolécules peuvent ainsi être des protéines, qui expliqueraient l'indifférence de l'adsorption des herbicides vis-à-vis de la surface spécifique des végétaux (déjà exposée par Gaillardon, 1983, et Garon-Boucher). L'accumulation des herbicides a déjà été bien décrite avec l'isoproturon par Feurtet-Mazel *et al.* (1996) et Grollier *et al.* (1997), le linuron par Crum *et al.* (1999), l'atrazine dans les Lemnacées par Huckins *et al.* (1986) et sur *Spartina alterniflora* par Lytle&Lytle (1998). L'accumulation dans les Phanérogames aquatiques n'est pas souvent recherchée, ce qui l'amène à n'être que rarement mentionnée ; Il semble néanmoins probable qu'un grand nombre d'herbicides ait cette propriété de par leur activité phytosanitaire même.

Parmi les macromolécules se trouvent les cibles physiologiques des herbicides, ne serait-ce qu'en relation avec la charge en herbicide déjà en place.

Les limites maximales de résidus admis pour les herbicides d'étude sont de 20 à 500µg/g (1000µg/g dans le cas du linuron) (Acta, 2005), ce qui indique que de telles concentrations peuvent se trouver dans les aliments et, donc, dans les débris végétaux. Ceux-ci peuvent représenter jusqu'à 30% de la fraction grossière. Il est donc plausible de n'expliquer quantitativement la contamination de la fraction grossière que comme celle de ses débris de végétaux terrestres. Néanmoins, il reste possible que les débris végétaux se contaminent une fois dans la rivière : il y a en moyenne 2000µg/g de chlorophylle a et 750µg/g de chlorophylle b dans un organe photosynthétique (feuille...) alors que cette seule famille de molécules n'est pas seule dans les photosystèmes qui impliquent également des caroténoïdes (carotènes et xanthophylles) en plus grand nombre encore. L'accumulation d'herbicides parfois purs rapportée ailleurs sur phanérogames aquatiques (Huckins *et al.*, 1986 ; Feurtet-Mazel *et al.*, 1996 ; Grollier *et al.*, 1997 ; Lytle&Lytle, 1998 ; Crum *et al.*, 1999) indique qu'une molécule active continue à avoir une affinité pour ses sites d'action (chlorose) et pourrait s'adsorber sur les débris végétaux. Il n'y a pas assez de données pour infirmer ou affirmer qu'à une contamination terrestre pourrait se rajouter une contamination aquatique.

Si la dégradation des photosystèmes est un processus rapide (celle de la chlorophylle est réalisé au bout de quelques heures suivant les conditions du milieu (température...), elle laisse des phéopigments au sujet desquels nulle étude ne s'est penchée pour caractériser le comportement des herbicides. Néanmoins, le maintien de l'association entre le ligand et le phéopigment issu de son site d'action initial reste plausible et l'hydrolyse de ce dernier l'amène nécessairement à sortir du débris végétal sous forme de COD. Cette hypothèse exige d'être validée par des expériences complémentaires.

1.4. Archivage des herbicides dans les sédiments

La durée de demi-vie des herbicides dans les sédiments est en effet plus importante (trois ans) que celle dans les sols (trois mois, BCPC 2006) d'après les résultats présentés en chapitre 3. Cette transformation n'est pas pour autant à attribuer systématiquement à l'activité biologique puisque cette dernière se concentre dans les 5 premiers centimètres de la surface. D'autres processus, de nature physico-chimique, sont donc probablement impliqués comme l'hydrolyse ou la dégradation sous l'effet du pH dans la disparition progressive de la charge sédimentaire en herbicide. Les travaux de Gao *et al.* (1997) comprennent une estimation de la charge sédimentaire en fonction de la profondeur dans un jeu d'échantillons prélevé à l'aide d'un

carottier. Pourtant, les distinctions verticales restent trop imprécises : La ségrégation de trois couches (0 à 2, 2 à 10 et 10 à 15 cm) n'est pas justifiée par des considérations sédimentologiques ni par une estimation du taux de sédimentation sur leur site d'étude. Toutefois, les investigations de cette équipe sont celles qui se rapprochent le plus de celles menées dans ce travail de thèse.

Les études réalisées sur les carottes de Mancies, Empalot, Bourret et Malause peuvent permettre une estimation chronologique de la rémanence des molécules considérées en fonction du taux de sédimentation de chaque contexte hydrologique. Dans le cadre de leur analyse, ne fut considéré que la capacité des micro-organismes à dégrader ces molécules en fonction de la flore présente mais aussi de son activité. Les profils observés semblent plus en rapport avec le taux de sédimentation qu'avec l'activité *in situ*. Elle était identique entre Mancies, Empalot et Bourret alors que les trois sites présentent des variations de profil importantes tandis qu'elle était faible dans la carotte MG alors que la charge en herbicide y était bien moindre que dans MT. Les profils d'accepteurs d'électron dans Malause informaient de l'intensité de l'activité bactérienne des sédiments *via* leur respiratoire et il n'a pu être distingué aucune corrélation entre une activité et la réduction de la charge en herbicide du sédiment. Si la charge en herbicides semble associée à la matière organique labile, elle est indifférente à l'activité microbienne.

Ensuite, la porosité même du sédiment conditionne la capacité de transfert du compartiment sédimentaire à l'eau libre. Un sédiment meuble permet un plus grand échange entre la colonne d'eau et la matrice sous-jacente par sa porosité même. De ce fait, les processus d'adsorption mais surtout de désorption s'en trouvent facilités. Cet aspect n'a pas été analysé au cours des expérimentations mais, bien qu'en première analyse (rapports granulométriques respectifs) les sédiments étaient comparables. Néanmoins, le profil des herbicides croisé à celui des indices d'activité biologique dans les carottes sédimentaires semblent indiquer que les molécules actives peuvent être piégées dans les sédiments suffisamment longtemps (en fonction des conditions locales) pour que l'hypothèse de la biodégradation soit invalidée par les conditions de profondeur (carence en substrat respiratoire, compacité du sédiment). Ces molécules, où ne dominant pas toujours les métabolites, ne sont dès lors soumises qu'à des transformations à longue échéance dans un milieu peu propice aux échanges (compacité) et aux réactions même passives. Cette rémanence peut se justifier par la présence de l'atome de chlore de nombre de molécule mères et, donc, de l'essentiel de leurs métabolites possibles. Chefetz *et al.* (2004) soulignent combien, dans cette matrice saturée d'eau, les atomes de chlore peuvent établir des

liaisons H avec les groupements carboxyliques. Les POPs doivent leur rémanence aux forces de Van der Waals qui sont des liaisons plus faibles que les liaisons H. Il peut en être ainsi des herbicides plus solubles ($K_{ow} \leq 3$) qui pourraient néanmoins être ainsi tant associés au sédiment qu'ils seraient moins disponibles à toute transformation et, donc relativement protégés au sein de la matrice sédimentaire.

2. Influence sur le biota

L'intérêt porté aux pesticides en général et aux herbicides en particulier réside notamment dans leurs propriétés toxiques pour les êtres vivants en général et l'Homme en particulier. Il est rapporté dans le présent document que le sédiment pouvait représenter un stock élevé de ces produits. Au sein de cette matrice, intrinsèquement extraite en permanence par l'eau, sa biodisponibilité reste pourtant sujette à caution. Dans quelles circonstances pourrait se manifester son potentiel toxique sur le milieu aquatique ?

2.1. Le sédiment en place

Tout d'abord, il convient de rappeler que les POPs ont un comportement encore moins soluble que les herbicides étudiés et une rémanence admise dans la littérature comme étant plus importante. Pour autant, la contamination directe du biota aquatique induite par leur présence dans le sédiment est abondamment décrite. (Van der Oost *et al.*, 1996 ; 1998). De ce fait l'innocuité de contaminants organiques sous prétexte qu'ils seraient associés aussi fortement à la matrice sédimentaire que l'hystérésis du sol semble trouver ses limites. Sans être une réponse au mode d'action de ces molécules sur le biota, cette précision semble nécessaire pour la clarté du raisonnement.

Les études menées par Gao *et al.* (1997, 1998a, 1998b, 1998c), Garon-Boucher (2003), Chefetz *et al.* (2004) et Lerch *et al.* (2007) montrent l'importance de la désorption des herbicides du sédiment vers la colonne d'eau mais aussi le rôle de l'eau interstitielle. La contamination par voie directe de la faune et de la flore peut s'opérer de deux façons : Par contact (imbibition) et par ingestion/nutrition racinaire.

Les études réalisées sur les Lemnacées sans contact avec le sédiment (Feurtet-Mazel *et al.*, 1996) montrent que la contamination par voie racinaire (ici vestigiale) et par imbibition à partir de la seule eau contaminée par les herbicides suffit à assurer la bioaccumulation des molécules actives. Dans l'état actuel des connaissances, il n'est pas possible de ségréger les deux modes de contamination si tant est qu'elles ne se confondent pas dans le milieu

aquatique. Vis-à-vis de la faune, trois comportements alimentaires sont à séparer : Les individus benthiques (en contact permanent avec le fond), les démersaux (en contact intermittent avec le fond) et les individus pélagiques (en permanence présents dans la colonne d'eau).

Les individus benthiques forment, par excellence, la faune la plus exposée au sédiment et à l'eau interstitielle connexe. Ils contribuent aussi au remaniement du sédiment par leur activité de fouissage ; Cette bioturbation peut elle-même avoir un effet significatif sur la structuration des contaminations (homogénéisation ou stratification) d'après Cuitat *et al.*, 2005, 2006 et Delmotte *et al.*, 2007 ; mais aussi de la libération des toxiques piégés dans cette matrice (Cuitat *et al.*, 2003) ce qui tend à les exposer au premier chef (Mazik&Elliott, 2000). En dehors d'une activité chtonienne de déplacement avec (Annélides, helminthes...) ou sans creusement de galerie (Copépodes, entomofaune), la faune benthique se compose également d'individus saprophages pouvant se mouvoir par ingestion du sédiment pour évoluer en son sein. Ces Oligochètes hypogées (terme anglo-saxon -Agosti *et al.*, 2000) ou endogées (terme francophone, Passera, 1984) sont donc exposés, au travers de leurs excavations, très intimement à la matrice et à ses contaminants. Dans le tube digestif des Animaux considérés, ceux-ci sont placés dans des conditions chimiques (pH) et biochimiques (enzymes impliquées dans la digestion catalysant l'hydrolyse) propices à l'extraction des résidus fortement liés (hystérésis). Cette hypothèse a été formulée suite aux travaux de Capowiez *et al.* (2007) sur les cholinestérases des populations d'*Allolobophora chlorotica* (L.) et *Lumbriscus terrestris* (L.) exposés à des organophosphorés et à des carbamates. Les caractéristiques de certains parasites justifient leurs effets ravageurs, comme les différentes Tordeuses (dus à des Tortricidés divers comme *Chloristoneura fumiferana* Clem. ; *Cydia molesta*... en fonction des espèces végétales parasitées). La lutte contre leurs déprédations s'inspire en effet de leur comportement puisque la voie d'infestation de certains agents ou antiparasitaires (*Bacillus thuringiensis*, virus de la granulose...) est digestive. Il en va de même pour les matières actives (diflubenzuron, Boyle *et al.*, 1996). En l'absence d'une preuve formelle, cette voie de contamination reste à explorer et son impact sur la faune concernée à quantifier.

La faune démersale est essentiellement soumise à une contamination cutanée (au sens large du terme). Dans la mesure où le sédiment sourd des contaminants vers la colonne d'eau au travers de la désorption passive ou active de micropolluants, l'eau à l'interface avec le sédiment peut être plus chargée que l'eau sur-jacente (Jover *et al.*, 2007). Le courant comme l'activité animale peut aussi soulever des particules sédimentaires. Enfin, la faune démersale,

notamment dans ses maillons les plus élevés (Poissons), est impliquée dans un réseau trophique en étroite association avec le benthos (animal ou végétal). Dans la mesure où le benthos serait plus contaminé que le pelagos, une éventuelle bioaccumulation ne manquerait pas d'induire une bioamplification dont ces populations seraient plus exposées que leurs congénères au comportement plus pélagique. Pour se prémunir du pouvoir abrasif du sédiment, ce sont souvent des espèces sécrétant un abondant mucus. Ce dernier peut avoir une influence réductrice sur l'imbibition cutanée directe mais les muqueuses circonvoluées (branchiale, gastrique) sont davantage exposées tant à une potentielle contamination par les micropolluants tant en phase dissoute (surface de contact accrue) qu'en phase particulaire (piégeage des solides en suspension dans les circonvolutions) (Macdonald *et al.*, 2001).

Le plancton et le necton, eux, ne peuvent être concernés qu'indirectement soit au travers de leur réseau alimentaire potentiellement connecté avec des espèces démersales ou benthiques soit au travers d'événements exceptionnels (crues...) susceptibles de remettre en suspension de grands volumes de sédiment.

2.2. Le sédiment remobilisé

Ce sédiment, lors de crues sur l'hydrosystème naturel ou lors des lâchers d'ouvrages (volontaires ou non), peut être remis en suspension (Sanchez *et al.*, 2007). La concentration du sédiment en herbicide, *a fortiori* dans les sites les plus contaminés (retenues d'obstacles), est essentiellement le fait de la fraction fine (<63µm), plus susceptible d'être emportée sur une grande distance car elle ne sédimente en pratique presque pas sur les sections ouvertes de cours d'eau. En cas de remise en suspension massive de sédiment, la faune serait dès lors soumise aux pesticides contenus dans ce compartiment sans que les conséquences de cette exposition soient clairement appréhendées. Sturm *et al.* (2007) sont la seule équipe à avoir publié sur ce sujet à notre connaissance. Ils ont simulé des épisodes turbides et les ont comparé à une contamination par voie dissoute puis ont exposé des individus engagés de l'écotype local de Truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss* L.) sur site. Leur dispositif expérimental ne tenait pas compte de l'accroissement du flux global de pesticides en cas de crue et la répartition entre la fraction dissoute et la fraction particulaire mais considérait les phénomènes annexes à l'accroissement de la turbidité (modification du pH, de la conductivité et de l'oxygénation du milieu). Si l'expérience en milieu reconstitué n'a pas donné de résultats probants, une crue limitée (d'une durée d'une heure) a généré un accroissement significatif de l'activité acétylcholinestérasique dans le muscle. Ce résultat dans le muscle peut être associé à l'effort nécessaire pour résister au courant. Les auteurs conseillent donc

aux études ultérieures de se focaliser sur l'activité acétylcholinestérasique cérébrale car elle est restée stable indépendamment des efforts fournis.

La voie de contamination cutanée ou branchiale n'a pas été estimée pour les molécules considérées, tandis que les données de contamination trophique de la faune aquatique par les herbicides considérés dans la présente étude restent rares (voir <http://www.pesticideinfo.org/Index.html>). Cette donnée sera d'autant plus difficile à obtenir que la remise en suspension de sédiments susceptibles de contenir une charge en herbicide se conjugue avec la mobilisation d'autres polluants potentiellement adsorbés au sédiment connus pour leur rémanence et potentialisés par les conditions turbides car se surajoutant à un stress oxygène et à des conditions mécaniques exigeantes : Résister au courant exige un effort violent et donc de puiser dans des réserves pouvant elles-mêmes contenir des contaminants dès lors libérés. Ce phénomène a été observé chez des Oiseaux ou consécutivement à des régimes amaigrissants (réduction drastique de l'alimentation, efforts violents) trop brutaux chez les Hommes (Iwaniuk *et al.*, 2006).

Conclusion

Ce travail a abouti à l'élaboration d'un protocole de dosage des herbicides dans le sédiment et à son application à la Garonne Moyenne. Dans cette région fortement agricole, elle a permis de mettre en évidence le rôle significatif de l'agglomération toulousaine et des discontinuités dans la contamination du biotope aquatique (eau et sédiment) par les herbicides.

Une analyse plus détaillée des deux retenues cernant la Garonne Moyenne a mis en lumière que bien que les sédiments de la retenue à l'aval (Malausse) de ce segment « céréalier » de la Garonne soient plus contaminée que celle en amont (Mancies), elle présentait une capacité d'épuration de ses sédiments bien supérieure.

Malgré une étude plus poussée pour déterminer la nature de ce processus, il n'a pas été possible d'identifier une caractéristique de la retenue de Malausse qui puisse à elle seule expliquer cette propriété. Néanmoins, son hétérogénéité d'oxygénation et ses hauts fonds semblent jouer un rôle majeur dans la multiplicité de conditions que l'on peut y rencontrer. Les différents milieux induits peuvent permettre une diversité de réponses physico-chimiques et biologiques aptes à transformer les molécules actives.

Des expériences de carottage ont néanmoins montré la longévité des herbicides dans le sédiment. Elles laissent craindre que cette matrice intégrative en ait piégé de grandes quantités notamment dans les zones d'accumulation sans que l'on sache l'effet de ces herbicides « archivés » sur la biocénose, que ce soit dans le cadre d'une contamination sur le long terme ou suite à une perturbation majeure du sédiment.

Enfin, les débris végétaux de la fraction grossière (comprise entre 2mm et 63µm) semblent porter l'essentiel de la contamination de cette fraction, ce qui peut représenter une voie de contamination trophique de la faune aquatique.

Perspectives

Une question récurrente est l'échange d'herbicide à l'interface eau sédiment afin de comprendre comment le sédiment peut se contaminer et quelles interactions il entretient avec l'eau sur jacente. Cela conditionne la bonne compréhension du caractère nodal de cette matrice : sa capacité intégrative dans le temps. Une attention particulière devrait être portée à ce critère à l'avenir tant pour le quantifier que pour le qualifier : quels vecteurs pour quels herbicides ? Des expériences *in vitro* peuvent être mises en œuvre pour comprendre le rôle des matières en suspension, des colloïdes mais aussi de paramètres anthropiques comme la présence d'adjuvants, issus ou non des formulations initiales des pesticides.

Répartition spatiale. Dans le cadre d'une meilleure compréhension du devenir des pesticides en zone urbaine, l'effet de l'ensoleillement (insolation et accroissement de température peuvent induire la sublimation de résidus) et de l'interaction avec le substrat (résidus liés) restent à explorer. En effet, si Barruisso *et al.* (1996) et (2003) et Lerch *et al.* (2007) signalent qu'une part importante des pesticides appliqués se trouve fortement associée au sol après 8 jours, la donnée est manquante vis-à-vis de surfaces artificialisées. De même, les herbicides exposés à des températures et à un ensoleillement élevés peuvent subir une accrue qui n'a pas davantage été quantifiée.

Répartition granulométrique. La compréhension des raisons de la répartition des herbicides peut permettre de comprendre le devenir plus général des herbicides dans le sédiment et donc la nature de la contamination du milieu aquatique. Elle peut être approchée par diverses expériences.

-En canaux, pour observer la capacité des herbicides à passer de la fraction grossière contaminée à la fraction fine exempte par la phase dissoute. Un jeu de capteurs passifs POCIS pourrait suivre le transfert de la contamination de l'un vers l'autre et en qualifier la nature.

-Par échantillonnage sur le terrain et caractérisation plus poussée du contenu de l'eau interstitielle. Adosser cette expérience à l'enfouissement de capteurs passifs POCIS (dûment protégés du colmatage) dans le sédiment pourrait fournir une information plus complète sur ce procédé et ces phénomènes. De l'eau extraite par bougies poreuses peut aussi être utilisée.

-Par le suivi d'un herbier permanent en parallèle d'une estimation de la contamination de l'eau environnante pour mieux comprendre la façon dont l'herbier peut se contaminer et la rémanence des produits phytosanitaires pouvant s'y trouver captés.

Le suivi d'un herbier non vivace et d'un herbier vivace pourrait permettre d'estimer la part réciproque de chaque nature de contamination au travers de la concentration en herbicide des segments (racine, tige, feuilles) au cours de la croissance des parties aériennes immergées, correspondant donc à une surface de contact accrue avec l'eau. La contamination racinaire devrait voir la dilution de la contamination des racines dans l'ensemble de l'individu tandis que la contamination par l'eau devrait voir la concentration en pesticide de la plante se maintenir ou augmenter en relation avec celle de sa surface foliaire. L'adjonction de POCIS permettrait de connaître la teneur en herbicide de l'eau courante et interstitielle.

-Une expérience simple serait également de doser les débris végétaux isolément en les sélectionnant par flottaison afin de connaître leur teneur en herbicides.

Interaction avec le biota. Enfin, les sédiments et les matières en suspension ont vocation, soit au travers d'un transit lent soit au travers d'épisodes de déplacements violents (crues), à aboutir aux estuaires. Là, l'interaction entre les contaminants métalliques et les ions présents dans l'eau salée conduit à une compétition (Audry et al., 2004) induisant le relargage des métaux. Il n'en va pas de même pour les dérivés organiques d'après Foster *et al.*, 2000 (appuyé par Wurl *et al.*, 2006). Ceux-ci soutiennent que le flux de POPs vers le large est essentiellement le fait de la matière en suspension et que les Poissons présents dans la baie de la Chesapeake sont contaminés par ces MES chargés de polluants. Pour autant, l'interaction entre ces produits très lipophiles et les matières en suspension reste très importante du fait de la très forte hydrophobicité des POPs, ce qui n'est pas le cas des herbicides étudiés dans la présente thèse. Elle compile pourtant des résultats démontrant une grande rémanence de ces molécules actives présumées plus fugaces d'autant plus que Kovaïos et al. (2006) soulignent que, en fonction des matrices proposées, l'atrazine pouvait voir son adsorption accrue par l'accroissement de la charge ionique de la solution. Des expérimentations pourraient être envisagées pour connaître le comportement des herbicides confrontés à une forte charge ionique, tant par un suivi par capteur que par l'obtention de la concentration brute des Poissons en herbicides. L'établissement d'un protocole de dosage a d'ailleurs été réalisé de façon conjointe à ce travail sur les sédiments mais, faute d'avoir été achevé à temps, n'est pas présenté.

Références

- Aboul-Kassim TAT, Simoneit BRT. Pollutant-Solid Phase Interactions. Springer, Berlin, Germany; 2000.
- Abraham JP, Whicker FW, Hinton TG, Rowan DJ. 2000. Inventory and spatial pattern of ¹³⁷Cs in a pond: a comparison of two survey methods. *Journ. Environment. Radioac.* **51** (2) 157-171
- Acta 2000 Index Phytosanitaire 36^{ème} édition, Association de Coordination Technique Agricole, 724 pages.
- Acta 2001 Index Phytosanitaire 37^{ème} édition, Association de Coordination Technique Agricole, 724 pages.
- Acta 2006 Index Phytosanitaire 42^{ème} édition, Association de Coordination Technique Agricole, 822 pages.
- Adams CD, Thurman EM. 1991. Formation and transport of deethylatrazine in the soil and vadose zone. *J. Environ. Qual.* **20**, 540-547.
- Agarwall HC, Mital PK, Menon KB, Pillai MK. 1986. DDT residues in the River Jamuna in Delhi, India. *Water Air Soil Pollut.* **28** 89-94.
- Agreste Primeur, 2002, Enquête sur les pratiques culturales 2001, 4 pp.
- Agreste Primeur 2003 L'utilisation des produits phytosanitaires sur blé et maïs en 2001, 4 pp, n°137.
- Agreste 2004, Enquête de structure des exploitations en 2003, série « Données », 4 pp, n°20.
- Agosti D, Majer JD, Alonso LE, Schultz TR. 2000. Ants : standart methods for measuring and monitoring biodiversity. Smithsonian institution press, Washington D.C.
- Albanis TA., Pomonis PJ, Sdoukos AT. 1988. Movement of methyl parathion, lindane and atrazine through lysimeters in field conditions. *Toxicol. Environ. Chem.* **17**, 35-45.
- Ambrus A, Lantos J, Visi E, Csatos I, Sarvari L. 1981. General method for determination of pesticide residues in samples of plant origin, soil and water. *Assoc. Off. Anal. Chem.* **64** (3) 733-748.
- Andrews JE, Greenaway AM, Dennis PF. 1998. Combined Carbon Isotope and C/N Ratios as Indicators of Source and Fate of Organic Matter in a Poorly Flushed, Tropical Estuary: Hunts Bay, Kingston Harbour, Jamaica. *Estuar. Coast. Shelf Sc.* **46**, 743-756.

Angermeier PL, Winston MR. 1998. Characterizing fish community diversity across Virginia landscapes : prerequisite for conservation. *Ecol. Appl.* **9** : 335-349.

Araki Y, Bornatsch W, Brauner A, Clark T, Dräger G, Kuroguchi S, Sakamoto H, Vogeler K. (1994). Metabolism of imidacloprid in plants. 8th Int Congr Pestic Chem, Whashington, Poster session 2B, 157.

Armstrong DE, Chesters G, Harris RF. 1967. Atrazine hydrolysis in soil. *Soil Sci. Am. Proc.* **31** 61-66.

Armstrong JW, Thom RM, Chew KK. Impact of a combined sewer overflow on the abundance, distribution and community structure of subtidal benthos. *Marine Env. Res.* 1980; **4** (1), 3-23.

Armstrong DE, Chesters G, Harris RF. 1987. Atrazine hydrolysis in soils. *Soil Sc. Soc. America Proceed.* **31** 61-66.

Audry S, Blanc G, Schäfer J. **Cadmium** transport in the Lot–Garonne River system (France) – temporal variability and a model for flux estimation. *Sci. Tot. Env.* 2004. **319** (5), 197-213

Baer U. 1996. Comportement des pesticides dans les sols : simulation de la dissipation au champ. Thèse Institut National Agronomique Paris-Grignon, 155pp.

Balankrishna K, Probst JL. 2005. Organic carbon transport and C/N ratio variations in a large tropical river: Godavari as a case study, India. *Biogeochem.* **73**, 457-473.

Baldi I, Lebailly P, Jean S, Rougetet L, Dulaurent S, Marquet P. Pesticide contamination of workers in vineyards in France. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 2006, **16** (2), 115-24.

Baldi I, Lebailly P, Gruber A, Barrau M, Brochard P. Effets des pesticides sur la santé humaine : Etat actuel des connaissances épidémiologiques. 37^e congrès du Groupe Français des Pesticides. 21, 22, 23 mai 2007, Bordeaux.

Baker J. L. 1992 Effect of tillage and crop residue on field losses of soil-applied pesticides. P 175-187. In I. L. Schnoor (ed.) Fate of pesticides and chemicals in environment. John Wiley & sons, New York.

Bancon-Montigny Ch., Lespes G. and Potin-Gautier M., 2004 Organotin survey in the Adour–Garonne basin. 2004. *Wat. Res.* **38** (4), 933-946.

Barra R, Cisternas M, Urrutia R, Pozo K, Pacheco P, Parra O, Focardi S. 2001. First report on chlorinated pesticide deposition in a sediment core from a small lake in central Chile. *Chemosphere* **45** (6-7) 749-757.

Barruiso E, Schiavon M, Andreux F. 1991b, Localization of atrazine non-extractable (bound) residues in soil size fractions. *Chemosphere* **22** (12) 1131-1140.

Barruiso E, Calvet R, Schiavon M, Soulas G. 1996. Les pesticides et les polluants organiques des sols : transformation et dissipation. *Et. Gest. Sols* **3,4** 279-296.

Barth JAC, Steidle D, Kuntz D, Gocht T, Mouvet C, Von Tümpling W, Lobe I, Langenhoff A, Albrechtsen HJ, Janniche GS, Morasch B, Hunkeler D, Grathwohl P. 2007. *Sci. Tot. Env.* **376** 40-50.

Beck AJ, Jones KC. 1996, The effects of particle size, organic matter content, crop residues and dissolved organic matter on the sorption kinetics and isoproturon by clay soil. *Chemosphere* **32** (12) 2345-2358.

Belleudy P, Numerical simulation of sediment mixture deposition part 1: analysis of a flume experiment. *Journ. Hydraul. Res.* 2000; **38** (6):417-425.

Belleudy P. Numerical simulation of sediment mixture deposition part 2: a sensitivity analysis. *Journ. Hydraul. Res.* 2001; **39** (1):25-31.

Bending GD, Rodriguez-Cruz MS. Microbial aspects of the interaction between soil depth and biodegradation of the herbicide isoproturon. *Chemosphere* 2007; **66**, 664-671.

Bengen D. Contribution à la typologie fonctionnelle des bras morts de la Garonne, approches physico-chimiques et ichthyologiques. Thèse de 3^e cycle, I.N.P.T.,1992.

Benoit P, Barruiso E, Vidon P, Réal B. 1999. isoproturon sorption and degradation in a soil from grassed buffer strip. *Journ. Environ. Qual.* 121-129.

Berg H, Kiibus M, Kautsky N. 1992, *Ambio*, vol. **21** (5), 444-450

Best JA, Weber JB. 1974. Disappearance of s-triazines as affected by soil pH using a balance-sheet approach. *Weed Sci.* **22** 364-373.

Brett JB. 2001. UK Atlantic Margin Environmental Survey: Introduction and overview of bathyal benthic ecology. *Cont. Sh. Res.* **21** (8-10) 917-956.

Bianchi TS, Mitra S, McKee BA. 2002. Sources of terrestrially-derived organic carbon in lower Mississippi River and Louisiana shelf sediments: implications for differential sedimentation and transport at the coastal margin. *Marine Chemist.* **77** (2-3) 211-223.

Blanchoud H, Andreassian V, Ansard P, Mouchel JM, Fauchon N, Billen G, Chevreuil M. 2002. Utilisation et transfert de pesticides dans le bassin versant de la Marne, Rapport de synthèse 1998-2001, Piren-Seine 29 pages.

Blanchoud H, Farrugia F, Mouchel JM. 2004. Pesticide uses and transferts in urbanised catchments, *Chemosphere* **55**, 905-913.

Bornand M, Arrouays D, Baize D, Jamagne M. 1989. Cadre méthodologique d'une cartographie régionale des sols à une échelle du 1/250 000^e. *Sci. sol*, **27** (1), 17-20.

Bornand M., Menier D. (1989). Approche pédologique du milieu prairial en Margeride. *Agronomie* **9**, p.13-26.

Boyle TP, Fairchild JF, Robinson-Wilson EF, Haverland PS, Lebo JA. Ecological Restructuring in Experimental Aquatic Mesocosms Due to the Application of Diflufenzuron. *Environ.Toxicol.Chem.* 1996, **15** (10):1806-1814.

Braman, SK, Oetting RD, Florkowski AD. 1997. Assessment of pesticide use by commercial landscape maintenance and lawn care firms. *J. Entomol. Sci.* **32** 403-411.

Briand O, Bertrand F, Seux R, Millet M. 2002. Comparaison of different sampling techniques for the evaluation of pesticide spray drift in apple orchards. *Sci. Tot. Environ.* **288**, 199-213.

Broman D, Näf C, Axelman J Pettersen H. 1994. Time trend analysis of PAHs and PCBs in the northern Baltic proper. *Chemosphere* **29** (6) 1325-1331

Brouard C. 1995. Contribution à l'étude de la rétention des phénylurées (herbicides) par des adsorbants modèles et des sols. Thèse de troisième cycle. Université d'Angers, 200pp.

Brusseau ML, Jessup RE, Rao PSC. 1991. Nonequilibrium sorption of organic chemicals : elucidation of rate-limiting processes. *Environ. Sci. Technol.* **25** 132-142.

Camusso M, Galassi S, Vignati D. 2002. Assessment of river Po sediment quality by micropollutant analysis. *Wat. Res.* **36** (10) 2491-2504.

Carluer N, De Marsily G. 2004. Assessment and modelling of the influence of man-made networks on the hydrology of a small watershed : implications for fast flow components, water quality and landscape management. *J. Hydrol.* **285** 76-95.

Carpentier S, Jumeau S, Moilleron R, Thevenot DR. 2002. Mobilisation de polluants lors de la mise en dépôt de sédiments fluviaux contaminés. 42pp.

Carrera G, Fernandez P, Vilanova TM, Grimalt J. Persistent organic pollutants in snow from European high mountain areas. *Atm Environ* 2001; **35**, 245-254.

Carson R. Silent Spring. The Riverside Press ; Cambridge, Mass., U.S.A, 1962.

Cerejeira MJ, Viana P, Batista S, Pereira T, Silva E, Valerio MJ, Silva A, Ferreira M, Silva-Fernandes AM. 2003. Pesticides in Portuguese surface and ground waters. *Wat. Res.* **37** 1055–1063.

Cessna AJ, Elliott JA. 2001. Herbicide and nutrient transport in irrigation runoff water from the South Saskatchewan River irrigation District (1) dans The South Saskatchewan

River, Final Report to the irrigation Sustainability Technical Committee, Canada – Saskatchewan Agriculture Green Plan Agreement.

Chefetz B, Bilkis Y, Polubesova T. 2004. Sorption-desorption behaviour of triazine and phenylurea herbicides in Kishon river sediment. *Wat. Res.* **38**, 4383-4394.

Cherif Sémia. 1997. Etude au laboratoire et modélisation de la cinétique de volatilisation des pesticides adsorbés sur le sol. Thèse de doctorat de l'université de Strasbourg 1.

Ciutat A, Boudou A. 2003. Bioturbation effects on cadmium and zinc transfers from a contaminated sediment and on metal bioavailability to benthic bivalves. *Environment. Toxicol. Chem.* **22** 1574-1581.

Ciutat A, Anschutz P, Gerino M, Boudou A. 2005. Effects of bioturbation on cadmium transfer and distribution into freshwater sediments. *Environment. Toxicol. Chem.* **24** 1048-1058.

Ciutat A, Weber O, Gerino M, Boudou A. 2006. Stratigraphic effects of Tubificids in freshwater sediments : a kinetic study based on X-Ray images and grain-size analysis. *Acta Oecologica.* **30** 228-237.

Concha-Graña E, Turnes-Carou MI, Muniategui-Lorenzo S, López-Mahía P, Fernández-Fernández E, Prada-Rodríguez D. 2004. Development of pressurized liquid extraction and cleanup procedures for determination of organochlorine pesticides in soils. *J. of Chrom. A*, 1047, **1** (20) 147-155.

Connel DW, Hawker DW. 1988. *Ecotoxicol. Environment. Saf.* **16**, 242-257.

Cossu C., Doyotte A., Babut M., Exinger A., Vasseur P., 2000, Antioxidant Biomarkers in Freshwater Bivalves, *Unio tumidus*, in Response to Different Contamination Profiles of Aquatic Sediments, *Ecotoxicol. Environment. Saf.* **45** (2) 106-121

CORPEN, 1996. Qualité des eaux et produits phytosanitaires, propositions pour une démarche de diagnostic. Ministère de l'Environnement, Paris, France.

Coynel A. 2005. Erosion mécanique des sols et transferts géochimiques dans le bassin Adour-Garonne. Thèse de doctorat de l'université Bordeaux 1. 572 pp.

Crane M. 2003. Proposed development of Sediment Quality Guidelines under the European Water Framework Directive: a critique. *Toxic. L.* **142** 195-206.

Cross JV, Walkate PJ, Murray RA, Richardson GM. 2001a. Spray deposits and losses in different sized apple trees from an axial fan orchard sprayer: effect of spray liquid flow rate, *Crop Protec.* **20**, 13-30.

Cross JV, Walkate PJ, Murray RA, Richardson GM. 2001b. Spray deposits and losses in different sized apple trees from an axial fan orchard sprayer: 2. Effects of spray quality. *Crop Protec.* **20**, 333-343.

Coquet Y. 2002. Spatial variability of pesticide adsorption within the topsoil of a small agricultural catchment. *Agronomie* **22** (4) 389-398

Cooke M, Shaw G, Collins CD. 2004. Determination of solid-liquid partition coefficients (Kd) for the herbicides isoproturon and trifluralin in five UK agricultural soils. *Environ Pollut* **132** 541-552.

Côté IM, Vinyoles D, Reynolds JD, Doadrio I, Perdices A. 1999. Potential impact of gravel extraction on Spanish populations of river blennies *Salaria fluviatilis* (Pisces, Blenniidae). *Biologic. Conserv.* **87**, 359-367.

Covaci A, Gheorghe A, Voorspoels S, Maervoet J, Steen Redeker E, Blust R, Schepens P. 2005. Polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in sediment cores from the Western Scheldt river (Belgium): analytical aspects and depth profiles. *Env. Intern.* **31** (3) 367-375

Cullington JE, Walker A. 1999. Rapid biodegradation of diuron and other phenylurea herbicides by a soil bacterium. *Soil Boil. Biochem.* **31**, 677-689.

Dabrowski L, Giergielewicz-Mozajska H, Biziuk M, Gaca J, Namiesnik J. 2002. Some aspects of the analysis of environmental pollutants in sediments using pressurized liquid extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journ. Chrom. A*, **957** 59-67.

Dalton RL, Evans AW, Rhodes RC. 1966. Disappearance of diuron from cotton fields soils, *Weeds* **14**, 14-31.

Dao TH. 1991, Field decay of wheat straw and its effects on metribuzin and s-ethyl metribuzin sorption and elution from crop residues. *Journ. Env. Qual.* **20**, 203-208.

Dauba, F., Lek, S., Mastorillo, S., and Copp, G.H., 1997. Long-term recovery of macrobenthos and fish assemblages after water pollution abatement measures in the river Petite Baïse (France). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **33**, 277-285.

Delmotte S, Papaleo E, Azemar F, Aller RC, Thebault JM, Gerino M. (submitted). Bioturbation and bioirrigation in a freshwater reservoir.

Delmotte S, Meysman FJR, Ciutat A, Boudou A, Sauvage S, Gerino M. Cadmium transport in sediments by tubificid bioturbation : an assessment of model complexity. *Geo. Cosmoch. Acta.* 2007. **71**, 844-862.

Delmotte S. 2007. Rôle de la bioturbation dans le fonctionnement biogéochimique de l'interface eau-sédiment : modélisation de la diversité des transports biologiques et effets sur la diagénèse précoce des sédiments d'une retenue.

Devault DA, Merlini G, Lim P, Probst JL, Pinelli E. Multi-residues Analysis of Pre-emergence Herbicides in fluvial Sediments: Application to the mid-Garonne river. *Journ Environment Monit* 2007. In Press..

Devault DA, Gérino M, Laplanche C, Julien F, Winterton P, Merlini G, Delmas F, Lim P, Sánchez Pérez JM, Pinelli E. Accumulation or elimination of herbicides by reservoirs (submitted).

Dionex. 1999. Extraction of Chlorinated Pesticides Using Accelerated Solvent Extraction (ASE), Application note 320, 3pp.

Doggett SM, Rhodes RG. 1991. Effects of a Diazinon formulation on unialgal growth rates and phytoplankton diversity. *Bull. Environ. Contam. Toxicol. J.* **47** (1) 36-42.

Dos Santos MA, Rosa LP, Sikar B, Sikar E, Dos Santos EO. 2006. Gross greenhouse gas fluxes from hydro-power reservoir compared to thermo-power plants. *Ener Pol.* **34** (4), 481-488

Dupas S, Scribe P, Etcheber H, Saliot A. 1993. Phenylurea and triazine herbicides in the Garonne River (France) during high flood and low water periods, 4th Workshop on Chemistry and fate of modern pesticides and related pollutants, Prague, 8-10 september, 1993.

Dur JC, Gouy V, Calvet R, Belamie R, Chaplain V. 1998. Influence of adsorption-desorption phenomena on pesticide runoff measured under controlled conditions, *C. R. Acad. Sci. Paris, Earth&Planetary Sciences*, **327**, 405-411.

EEC directive, 1980. EEC council directive on drinking water (80/778/EEC). *Off. J. Eur. Commun.* **L**. 229.

Eke, K. R., Barnden, A. D. and Tester, D. J.: 1996, 'Agricultural Chemicals and the Environment: Impact of Agricultural Pesticides on Water Quality', in: R. E. Hester and R. M. Harrison (eds), *Environmental Science and Technology*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, pp. 43-56.

El-Deeb BA., Soltan SM., Ali AM., Ali KA. 2000. Detoxification of the herbicide diuron by *Pseudomonas* sp., *Folia Microbiol.* **45**, 211-216.

El-Deeb BA, Ali AM, Ali KA. 2000b, Some evidence for the involvement of plasmid in diuron herbicide degradation, *Acta Microbiol.* **45**, 63-73.

El-Dib MA, Abou-Waly HF, Biodegradation of some triazines and phenylureas in surface waters. *Wat Res* 1996; **32** (6), 1881-1887.

El Kadi Abderrezzak K, 2002. Evolution of riverbed according to contributions (in French). Université Claude Bernard –Lyon I PhD. 179pp.

Elliott, JA, Cessna AJ. 2001. Tillage Systems and Surface Runoff Water Quality and Quantity. Progress report. Canada-Saskatchewan Agri-Food Innovation Fund, Agriculture and Agri-Food Canada, Saskatoon, Saskatchewan. 6 pp.

Ellis PA, Camper ND. 1982, Aerobic degradation of diuron by aquatic micro organisms, *J. Environ. Sci. Health B* **17**, 277-289.

Emans HJB, Beek MA, Linders JBHJ, 1992. Evaluation system for pesticides (ESPE) 1. Agricultural pesticides. National Institute of Public Health and Environmental Protection (RIVM), report n°679101004, Bilthoven, Pays-Bas.

Emeis KC, Struck U, Leipe T, Pollehne F, Kunzendorf H, Christiansen C. 2000. Changes in the C, N, P burial rates in some Baltic Sea sediments over the last 150 years—relevance to P regeneration rates and the phosphorus cycle, *Marine Geol.* **167** (1-2) 43-59.

Ertli T, Marton A, Földényi R. 2004. Effects of pH and the role of organic matter in the adsorption of isoproturon on soils. *Chemosphere* **54** (8) 771-779.

Etchanchu D, Probst JL. 1988. Evolution of the chemical composition of the Garonne river during the period 1971-1984. *Hydrol. Sci. J.*, **33**, 243-256.

Feurtet-Mazel A, Grollier T, Grouselle M, Ribeye F, Boudou A. 1996. Experimental Study of Bioaccumulation and Effects of the Herbicide Isoproturon on Freshwater Rooted Macrophytes (*Elodea densa* and *Ludwigia natans*). *Chemosphere.* **32** (8) 1499-1512.

Frery N, Maury-Brachet R, Maillot E, Deheeger M, De Merona B, Boudou A. Gold-Mining Activities and Mercury Contamination of Native Amerindian Communities in French Guiana: Key Role of Fish in Dietary Uptake. *Environment Health Persp* 2001; **109** (5), 449-456.

Froelich PN, Klinkhammer GP, Bender ML, Luedtke NA, Heath GR, Cullen D, Dauphin P, Hammond D, Hartman B, Maynard V. 1979. Early oxidation of organic-matter in pelagic sediments of the Eastern Equatorial Atlantic- suboxic diagenesis. *Geochim. Cosmochim. Acta.*; 43, 1075-1090.

Foght J, April T, Biggar K Aislabie J. 2001. Bioremediation of DDT-contaminated soils: A Review. *Bioremed. Journ.*; 5 (3), 225-246.

Fournier J. 1988, Chimie des Pesticides, Cultures et Techniques, 346 pp.

Gaillardon P, Calvet R, Rougetet E, Gaudry JC. 1978. Etudes preliminaries du rôle de la nature des matières organiques dans les phénomènes d'adsorption des herbicides. *Ann. Agron.* **29** (3) 243-256.

Gaillardon P, Gaudry JC, Calvet R. 1983. Effet des matières organiques ajoutées au sol sur l'adsorption des herbicides. Influence de la composition des matières organiques. *Weed Res.* **23**, 333-338.

Gaillardon P, Dur JC. 1995. Influence of soil moisture on short-term adsorption of diuron and isoproturon by soil, *Pest. Sci.* **45** 297-303.

Gaillardon P. 1996. Influence of soil moisture on long-term sorption of diuron and isoproturon by soil. *Pesti. Sci.* **47** 347-354.

Gao JP, Maguhn J, Spitzauer P, Kettrup A. 1997. Distribution of pesticides in the sediment of the small Teufelsweiher pond (Southern Germany), *Wat. Res.* **31** (11), 2811-2819.

Gao JP, Maguhn J, Spitzauer P, Kettrup A. 1998a Sorption of pesticides of the Teufelsweiher pond (Southern Germany). I: Equilibrium assessments, effect of organic carbon content and pH. *Wat. Res.* **32**, 1662-1672.

Gao JP, Magulin J, Spitzauer P, Kettrup A. 1998b, Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (HAPs) in soil on their biodegradability and extractability. *Environ. Sci. Technol.* **29**, 537-545 .

Gao JP, Maguhn J, Spitzauer P, Kettrup A. 1998d, Sorption of pesticides of the Teufelsweiher pond (Southern Germany). II: Competitive adsorption, desorption and aged residues and effect of dissolved organic carbon, *Wat. Res.* **32** (7) 2089-2094.

Garmouma M. Transfert d'herbicides (triazines et phénylurées) et de produits de dégradation dans le bassin versant de la Marne. Thèse de doctorat de l'Université de Paris VI, 1996, 217pp.

Gamourma M, Blanchard M, Chesterikoff A, Ansart P, Chevreuil M. 1997. Seasonal transport of herbicides (triazines and phenylureas) in a small stream draining an agricultural basin : Mélarchez (France). *Wat. Res.* **31** (6) 1489-1503.

Gärdenas AI, Simunek J, Jarvis N, Van Genuchten MTh. 2006. Two dimensional modelling of preferential water flow and pesticide transport from ac tile-drained field. *Journal of Hydrology* **329**, 647-660.

Garon-Boucher/Margoum C. Contribution à l'étude du devenir des produits phytosanitaires lors d'écoulements dans les fossés : Caractérisation physico-chimique et hydrodynamique, Thèse Cemagref de 3^e cycle, Université Joseph Fourier-Grenoble, 2003.

Geissbuhler H. 1973. The substituted ureas. In : Kearney, P.C., Kaufman D.D. (Eds). *Degradation of Herbicides*. Marcel Dekker, New York, pp. 79-111.

Gerecke, AC, Schrärer M, Singer HP, Müller SR, Schwarzenbach RP, Sägesser M, Ochsenbein U, Popow G. 2002, Source of pesticides in surface waters in Switzerland: pesticide load through waste water treatment plants-current situation and reduction potential. *Chemosphere* **48**, 307-315.

Gerino M, Tackx M, Mastrorillo S, Salles D, Etcheber H, Rodriguez F. 2004 - Fonctionnalités du milieu et enjeux économiques de la retenue de Malause. Dans Cahier Thématique N°3 « La Garonne dans son bassin ». Ed. AEAG et GIS ECOBAG. Publications de l'Agence de l'Eau Adour Garonne. 4 p.

Giaccomazzi S. 2002. Mise au point et validation des techniques d'évaluation des communautés microbiennes dans les milieux complexes de type sol, Thesis, université de Technologie de Compiègne, France.

Gish TG, Shirmohammadi A, Wienhold BJ. 1991. Field-scale mobility and persistence of commercial and starch-encapsulated atrazine and alachlor, *J. Environ. Qual.*, **23**:355-359.

Goring CAI, Hamaker JW (eds.) *Organic chemicals in the soil environment*. Marcel Dekker, Inc., New York, 1972.

Götz R, Bauer OH, Friesel P, Roch K. 1998. Organic trace compounds in the water of the river Elbe near Hamburg part II, *Chemosphere* **36** (9) 2103-2118.

Goux SJ, Ibanez M, Van Hoorick M, Debongnie P, Agathos SN, Pussemier L. Biodegradation of atrazine in sand sediments and in a sand-filter. *Appl Microbiol Biotech* 2000; **54**, 589-596.

Gouy V. 1993. Contribution de la modélisation à la simulation du transfert des produits phytosanitaires de la parcelle agricole vers les eaux superficielles. Thèse de doctorat de l'Université Louis Pasteur, Cemagref, Groupement de Lyon.

Gouy V, Garon-Boucher C, Ravanel P, Tissut M. 2001. Les produits phytosanitaires : de la parcelle au cours d'eau. Actes du colloque Lyon-Fleuves : Scientifiques et décideurs, agir ensemble pour une gestion durable des systèmes fluviaux, organisation Agence de l'Eau RMC. Lyon. 9 pages.

Gozlan RE., Mastrorillo S, Dauba F, Tourenq JN, Copp GH. 1998. Multis-scale analysis of habitat use during late summer for 0+ fishes in the River Garonne (France). *Aquat. Sci.* **60**, 99-117.

Griffini O, Bao ML, Barbieri C, Burrini D, Pantani F. 1997. Occurrence of pesticides in the Arno river and in potable water- A survey of the period 1992–1995, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **59**, 202–209.

Grollier T, Feurtet-Mazel A, Boudou A, Ribeyre F. Role of Temperature on Isoproturon Bioaccumulation and Effects on Two Freshwater Rooted Macrophytes: *Elodea densa* and *Ludwigia natans*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 1997. **36**, 205-212.

Grouselle M, Grollier T, Feurtet-Mazel A, Ribeyre F, Boudou A. Herbicide Isoproturon-Specific Binding in the Freshwater Macrophyte *Elodea densa* - A Single-Cell Fluorescence Study. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 1995. **32** (3), 254-259.

Guimont S. 2005. Devenir des pesticides dans les sols en fonction de l'état d'humidité et du mode de circulation de l'eau dans le sol. Institut National Polytechnique de Lorraine. Nancy. 223 pages.

Gunkel G, Lange U, Walde D, Rosa JWC. The environmental and operational impacts of Curuá-Una, a reservoir in the Amazon region of Pará, Brazil. *Lak&Reser: Res Manag* 2003; **8** (3), 201-216.

Gustafson DI. 1989. Groundwater ubiquity score : a simple method for assessing pesticide leachability, *Environ. Toxicol. Chem.* **8** : 3398-357.

Gyau-Boakye P. 2001. Environmental impacts of the Akosombo dam and effects of climate change on the lake levels. *Environ., Develop. Sustain.* **3** (1) 17-29.

Hamaker J. W., 1972, Decomposition : quantitative aspects, Organic chemicals in the soil environment, ed. Goring C.E.I. & Hamaker J. W.

Haynes K. F. (1988). Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. *Ann. Rev. Entomol.* **33** 149-168.

Heezen BC, Ericson DB, Ewing M. 1953. Further evidence for a turbidity current following the 1929 Grand banks earthquake. *Deep Sea Research* **1** (4) 193-202

Heger W, Jung S-J, Martin S, Peter H. 1995. Acute and prolonged toxicity to aquatic organisms of new and existing chemicals and pesticides: 1. Variability of the acute to prolonged ratio 2. Relation to logPow and Water Solubility. *Chemosphere* **31**, (2) 2707-2726.

Herczeg AL, Smith AK, Dighton JC. 2001. A 120 year record of changes in nitrogen and carbon cycling in Lake Alexandrina, South Australia: C:N, $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in sediments, *Applied Geochemistry*, **16** (1) 73-84.

Heppell CM Chapman AS. 2006. Analysis of a two-component hydrograph separation model to predict herbicide runoff in drained soils. *Agricultural Water Management* **79** (2) 177-207

House WA, Leach D, Long JLA, Cranwell P, Smith C, Bharwaj L, Meharg A, Ryland G, Orr DO, Wright J. 1997. Micro-organic compounds in the Humber rivers, *Sci. Tot. Env.* **194/195**, pp. 357-371.

- Hunt E. EG. & Bishop A. I. 1960. *Californian Fish and Game*. **46**, 91-106.
- Hutagalung, RA, Lim P, Belaud A, Lagarrigue T. 1997. Effets globaux d'une agglomération sur la typologie ichthyenne d'un fleuve: cas de la Garonne à Toulouse (France). *Ann. Limnol.* **33**, 263-279.
- Hutagalung RA, Lim P, Belaud A, Lagarrigue T. 1997. Global effects of an agglomeration on fish typology of a river: case of the Garonne in Toulouse (France) (in French). *Ann. Limnol.* **33** 263-279.
- Ibarra AA, Dauba F, Lim P. 2005. Influence of Non-point Source Pollution on Riverine Fish Assemblages in South West France, *Ecotoxicol.* 573-588.
- Ibarra AA. 2003. Les Peuplements de poissons comme outil pour la gestion de la qualité environnementale du réseau hydrographique de la Garonne. Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse.
- IFEN. 2002. Les pesticides dans les eaux - Bilan annuel 2002. Etudes et Travaux **36**. 25pp.
- IFEN. 2006. Les pesticides dans les eaux - Données 2003 et 2004. (n° D5).
- INSEE 2004, L'année économique en Midi-Pyrénées, ref. DCONJ10376, n°121, 44 pages.
- Isaac RA, Johnson WC. 1983. High speed analysis of agricultural samples using inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* **38** (1-2), 277-282
- Iwaniuk AN, Koperski DT, Cheng KM, Elliott JE, Smith LK, Wilson LK Wylie DRW. The effects of environmental exposure to DDT on the brain of a songbird: Changes in structures associated with mating and song. *Behaviour. Brain Res.* 2006. **173** (1), 1-10.
- Jaunky A. 2000. Etude de la volatilisation des pesticides incorporés dans un sol agricole : études expérimentales et modélisation. Thèse de doctorat de l'université de Strasbourg 1.
- Jones JG. 1985. Microbes and microbial processes in sediment. *Phil. Trans. R. soc. Lond. A.* 315, 3-17
- Jover E, Gómez-Gutiérrez A, Albaigés J, Bayona JM. 2007. Transport of organic contaminants through salinity stratified water masses. A microcosm experiment. *Chemosphere* **66** (4), 730-737.
- Kahn SU. 1982. Bound pesticides residues in soils and plants, *Resid. Rev.* **84**.
- Karickhoff SW, Brown DS, Scott TA. 1979. Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Wat. Res.* **13** 241-248.

- Karr JR. 1999. Defining and measuring river health. *Freshwat. Biol.* **41** 221-234.
- Kaufman DD, Kearney PC. 1970. Microbial degradation of s-triazine herbicides. *Res. Rev.* **32** 235-265.
- Keith P, Allardi J. 2001. Atlas des poissons d'eau douce de France. *Patrim. Nat.* **47** 1-387.
- Kersanté, A., 2003. Rôle régulateur de la macrofaune lombricienne dans la dynamique de l'herbicide atrazine en sol cultivé tempéré. Thèse de doctorat Université de Rennes 1. 166 pp.
- Kimbrough RA, Litke DW. 1996. Pesticides in streams draining agricultural and urban areas. *Environ. Sci. technol.* **30** (3), 908-916.
- Koelmans AA, Gillissen F, Makatita W, Van Den Berg M. 1997. Organic carbon normalisation of PCB, PAH and pesticide concentrations in suspended solids, *Wat. Res.* **31** (3) 461-470.
- Konstantinou IK, Hela DG, Albanis TA. 2006. The status of pesticide pollution in surface waters (rivers and lakes) of Greece. Part I. Review on occurrence and levels. *Environmental Pollution*, **141** (3). 555-570
- Koreta R. 1996. Sur le devenir des herbicides dans le sol- Cas de l'atrazine et de la simazine en sol de boubènes, de la colonne de sol à la parcelle drainée. Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. 232 pages.
- Kulshrestha G. 1982. Hydrolysis of isoproturon in aqueous medium and its persistence in soil and plants. *Indian journal of Weed Sci.* **14** (2) 96-102.
- Kulshrestha G, Mukerjee SK. 1986. The photochemical decomposition of the herbicide isoproturon. *Pest. Sci.* **17** 489-494.
- Lamas F, Irigaray C, Oteo C, Chacón J. 2005. Selection of the most appropriate method to determine the carbonate content for engineering purposes with particular regard to marls. *Engin. Geol.* **81** (1) 32-41
- Lerch T, Dignac MF, Barriuso E, Mariotti A. 2007. Utilisation du traçage au ^{13}C à l'échelle moléculaire pour suivre le devenir des pesticides dans le sol. 37^{ème} congrès du Groupe Français des Pesticides. Bordeaux. .
- Leonard RA. 1990. Pesticides in the soil Environment : Processes, Impacts and Modelling (ed) Cheng H. H.
- Leonard, AW, Hyne RV, Lim RP, Leigh KA, Le J, Beckett R. 2001. Fate and Toxicity of Endosulfan in Namoi River Water and Bed Sediment. *Journ. Environ. Qual.* **30** 750-759.

Lim P, Belaud A, Labat R. 1985. Peuplement piscicole de la Garonne entre St Gaudens et Agen, *Ichthyophys. Acta* **9** 187-201.

Lányi K, Dinya Z. 2005. Photodegradation Study for Assessing the Environmental Fate of Some Triazine-, Urea- and Thiocarbamate-type Herbicides. *Microchem. J.* **80**. 79-87.

Loiseau L. 2001. Processus de stabilisation des pesticides dans les sols: mécanismes impliqués, caractérisation et bio-disponibilité des résidus liés (ou non-extractibles) de l'atrazine. Thèse de doctorat. Université Paris 6. 118pp.

Louchart X, Voltz M, Andrieux P, C. R. *Acad. Sci. Paris, Earth and Planetary Sciences.* 2000. **331** 475-481.

Lucas S, Pau Vall M. 1996. Pesticides dans l'Union européenne. http://ec.europa.eu/agriculture/envir/report/fr/pest_fr/report.htm.

Lund-Hansen LC, Morten P, Søren F. 2004. Pelagic and seabed fluxes of particulate matter and carbon, and C:N ratios resolved by sediment traps during a spring bloom, southwest Kattegat, *Journ. Sea Res.* **52** (2) 87-98

Macdonald A, Silk L, Schwartz M, Playle RC. 2002. A lead-gill binding model to predict acute lead toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol.* **133** (1-2) 227-242.

Mann RKH. 1996. Environmental requirements of European non-salmonid fish in rivers. *Hydrobiol.* **323** 223-235

Mann R.M, Bidwell JR. The acute toxicity of agricultural surfactants to the tadpoles of four Australian and two exotic frogs. *Environment. Poll.* 2001. **114** (2) 195-205.

Marston R. A., Bravard J.-P., Green T., 2003, Impact of reforestation and gravel mining on the Malnant River, Haute-Savoie, French Alps, *Geomorpho.* **55** 65-74.

Marston RA, Mills JD, Wrazien DR, Bassett B, Splinter DK. Effects of Jackson Lake Dam on the Snake River and its floodplain, Grand Teton National Park, Wyoming, USA. *Geomorpho* 2005; **71** (1-2), 79-98.

Martin A.J.P, Syngé RLM. 1941. A new form of chromatogram employing two liquid phases .1. A theory of chromatography. 2. Application of the microdetermination of the higher monoaminoacids in proteins. – *Biochem. J.* **35**, 1358-1368.

Marvin CH, Painter S, Charlton MN, Fox ME, Lina Thiessen PA. 2004. Trends in spatial and temporal levels of persistent organic pollutants in Lake Erie sediment. *Chemosphere* **54**, 33-40

Matsumura F, Murti CRK (eds). Biodegradation of pesticides. Plenum Press, New York. 1982. 312 p.

Mastrorillo S, 1997, Profils écologiques du Vairon *Phoxinus phoxinus* (L.), de la Loche franche *Barbatula barbatula* (L.) et du Goujon *Gobio gobio* (L.) à l'échelle du microhabitat dans trois rivières pyrénéennes. Thèse de doctorat de l'Institut Polytechnique de Toulouse.

Mastrorillo S, Tourenq JN, Dauba F. 1998b. Répartition dynamique des poissons du bassin de la Garonne. *Rev. AEAG* **72** : 11-15.

Matthews WJ. 1998. Patterns in freshwater fish ecology. Chapman & Hall, New York.

McLaughlin A, Mineau P, The impact of agricultural practices on biodiversity. *Agric, Ecosyst & Environ.* 1995; **55** (3), 201-212.

Memic M, Vrtacnik M, Vatrejak-Velagic V, Wissiak Grm KS, Comparative biodegradation studies of pre-emergence broadleaf and grass herbicides in aqueous medium. *Inter Biodet & Biodegr* 2005. **55**, 109-113.

Moore MT Jr., Lizotte RE, Knight SS Jr., Smith S, Cooper CM. 2007. Assessment of pesticide contamination in three Mississippi Delta oxbow lakes using *Hyaella azteca*. *Chemosphere* **67** (11) 2184-2191.

Mouchet J, 1994. Le DDT en santé publique. In : La lutte antivectorielle. Santé : Cahiers d'Etudes et de Recherches Francophones, 1994, 4 (4), p. 257-262. La Lutte Antivectorielle : Atelier, Genève (CHE), 1993/11.

Mrlina et al. 1992. Teneur s résiduelles de chloro-s-triazines en sol de Boulbènes – aspects physico-chimiques et microbiologiques. Congrès du Groupe Français des Pesticides, Nancy.

Mudd PJ, Hance RJ, Wright SJL. 1983. The persistence and metabolism of isoproturon in soil. *Weed Res.* **23** 239-246.

Muir WD, Zaugg WS, Giorgi AE, McCutcheon S. Accelerating smolt development and downstream movement in yearling chinook salmon with advanced photoperiod and increased temperature. *Aquac* 1994; **123** (3-4), 387-399.

Muller PJ. 1977. C/N ratios in Pacific deep-sea sediments: effect of inorganic ammonium and organic nitrogen compounds sorbed by clays. *Geochim. Cosmochim. Acta* **41** 765-776.

Müller JF, Duquesne S, Ng J, Shaw GR., Krrishnamohan K., Manonmanii K., Hodge M., Eaglesham G. K., 2000, Pesticides in Sediments From Queensland Irrigation Channels and Drains. *Marine Pol. Bull.* **41** (7-12) 294-301

Mwevura H, Othman OC Mhehe GL. 2002. Organochlorine pesticide residues in sediments and biota from the coastal area of Dar es Salaam city, Tanzania. *Marine Pol. Bull.* **45** (1-12) 262-267.

Niemirycz E, Kaczmarczyk A, Błażejowski J. 2005. Extractable organic halogens (EOX) in sediments from selected Polish rivers and lakes—a measure of the quality of the inland water environment. *Chemosphere* **61** (1) 92-97.

Noppe H, Ghekiere A, Verslycke T, De Wulf E, Verheyden K, Monteyne E, Polfliet K, P van Caeter, Janssen CR, De Brabander HF. 2007. Distribution and ecotoxicity of chlorotriazines in the Scheldt Estuary (B-Nl). *Environ. Poll.* **147** (3) 668-676.

Noyé C, Guilluy C. 2004. Atlas des nouvelles fractures sociales en France. Autrement eds. 63 pp.

OPECST, 2003, Rapport sur la qualité de l'eau et l'assainissement en France, 215, 195 pages.

OSPAR, 2003 (version revised in 2005), Stratégie pour un programme conjoint d'évaluation et de surveillance continue (JAMP), 2003-22.

Pang PC, Nriagu OJ. 1977. Isotopic variations of the nitrogen in Lake Superior. *Geochim. et Cosmochim. Acta*, **41** (6) 811-814

Pantani OL, Fusi P, Schiavon M, Dousset S. 1997. Adsorption of isoproturon on homoionic clays. *Chemosphere* **35** 2619-2626.

Passera, L. 1984. L'organisation sociale des insectes. Privat éditions, Toulouse.

Pavoni B, Berto D, Rigoni M, Salizzato M. 2000. Micropollutants and organic carbon concentrations in surface and deep sediments in the Tunisian coast near the city of Sousse. *Marine Environ. Res.* **49** (2) 177-196.

Perfect J. The Environmental Impact of DDT in a Tropical Agro-ecosystem, 1980, *Ambio* **9** (1), 16-21.

Peris E, Requena S, De la Guardia M, Pastor A, Carrasco JM. 2005. Organochlorinated pesticides in sediments from the Lake Albufera of Valencia (Spain). *Chemosphere* **60**, 1542-1549.

Persat H, Keith P. 1997. La répartition géographique des poissons d'eau douce en France : Qui est autochtone et qui ne l'est pas ? *Bull. Fr. Pêche Piscic.* **344/345** : 15-32.

Pimentel D. 1995. Amounts of pesticides reaching the target pests: environmental impacts and ethics. *J. Agric. Environ. Ethics* **8** 17-29.

Pimentel D, Levitan L. 1986. Pesticides: Amounts Applied and Amounts Reaching Pests. *BioScience* **36** (2) 86-91.

Poch RM, Hopmans JW, Six JW, Rolston DE, McIntyre JL. 2005. Considerations of a field-scale soil carbon budget for furrow irrigation, *Agriculture, Ecosystems and Environment*, In Press, 8 pages.

Pozo K, Urrutia R, Barra R, Mariottini M, Treutler HC, Araneda A, Focardi S. 2007. Records of polychlorinated biphenyls (PCBs) in sediments of four remote Chilean Andean Lakes. *Chemosphere* **66** (10) 1911-1921

Probst JL. Nitrogen and phosphorus exportation in the Garonne Basin (France), 1985, *J. Hydrol.* **76**, (3-4) 281-305.

Rahel FJ, Hubert WA. 1991. Fish assemblage and habitat gradients in a Rocky Mountain-Great Plains stream : biotic zonation and additive patterns of community change. *Trans. Am. Fish. Soc.* **120** 319-332.

Ramade F. 2000. Dictionnaire encyclopédique des pollutions, 690 pp, Ediscience international.

Rawn DFK, Lockhart WL, Wilkinson P, Savoie DA, Rosenberg GB, Muir DCG. 2001. Historical contamination of Yukon Lake sediments by PCBs and organochlorine pesticides: Influence of local sources and watershed characteristics. *Sci Tot Environ* **280** 17-37.

Rashad SM, Ismail MA, Environmental-impact assessment of hydro-power in Egypt. *Appl Ener* 2000; **65** (1-4), 285-302.

Richter B, Ezzell J, Felix D. 1994. Single Laboratory Method Validation Report: Extraction of TCL/PPL (Target Compound List/Priority Pollutant List) BNAs and Pesticides Using Accelerated Solvent Extraction (ASE) with Analytical Validation by GC/MS and GC/ECD, Document 116064.A, Dionex Corporation.

Ruttenberg KC, Goñi MA. 1997. Phosphorus distribution, C:N:P ratios, and $\delta^{13}C_{oc}$ in arctic, temperate, and tropical coastal sediments: tools for characterizing bulk sedimentary organic matter, *Marine Geology*, **139** (1-4) 123-145.

Umlauf G, Bierl R. 1987. Distribution of organic micropollutants in different size fractions of sediment and suspended solid particles of the River Rotmain. *Z. Wasser-Abwasser-Forsch.* **20** 203–209.

Safe S. 1990. *Critical Rev. Toxicol.* **21**, 51-88.

Sahagian D. 2000. Global physical effects of anthropogenic hydrological alterations: sea level and water redistribution. *Glob Planet Change* **25** (1-2) 39-48.

Sánchez-Pérez, J.M., A. Probst, M. Gerino, S. Sauvage, D. Aubert, D. Devault, M. Tackx, S. Boulêtreau, D. Dalger, F. Delmas, J.F. Dubernet, G. Durbe, M. Henry, F. Julien, P.

Lim, G. Merlina, M. Mamoudou, E. Pinelli, J.L. Probst, P. Vervier. Fluvial transport and transformation of heavy metals, pesticides and biogenic elements in the Garonne river continuum system. Man and River Systems II, Interactions among Rivers, their Watershed and the Sociosystem, Paris, France, 4-6 December 2006. Second set of extended abstract, pp. 49-51.

Sauvage S, Teissier S, Vervier P, Améziane T, Garabétian F, Delmas F, Caussade B. 2003. A numerical tool to integrate biophysical diversity of a large regulated river: hydrobiogeochemical bases. The case of the Garonne River (France). *River Res. Appl.* **19** 181-198.

SCEES, 2002, L'agriculture et l'agroalimentaire dans les régions, Agreste GraphiAgri Régions, 340 pp.

Schaller F. W., Bailey G. W. (ed.) Agricultural Management and Water quality, State University Press, Ames, Iowa, 1983.

Scheringer M, Salzmann M, Stroebe M, Wegmann F, Fenner K, Hungerbühler K. 2004. Long-range transport and global fractionation of POPs: insights from multimedia modeling studies. *Environ. Poll.* **128** 177-188.

Schiavon M. Données actuelles sur les transferts d'atrazine dans l'environnement. *Agronomie* **12** 129-139.

Schulz R. 2001, Rainfall-induced sediment and pesticide input from orchards into the Lourens river, western Cape, South Africa: Importance of a single event, *Wat. Res.*, **35** (8), 1869-1876.

Scott GR, Sloman KA. 2004. The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. *Aquat. Toxicol.* **68** (4) 369-392.

Sheets T. J., 1964, Review of disappearance of substituted urea herbicides from soils. *J. Agric. Food Chem.* **12** 30-33.

Simeoni-Sauvage S., Modélisation hydrobiogéochimique de la Garonne à l'étiage estival : cas de l'azote entre Toulouse et Agen (120 kilomètres), Thèse de 3^e cycle, I.N.P.T., 205 pages, 1999.

Smogor RA, Angermeier PL. 2001. Determining a regional framework for assessing biotic integrity of Virginia streams. *Trans. Am. Fish. Soc.* **130** 18-35.

Smokler PE, Young DR, KL Gard. 1979. DDTs in marine fishes following termination of dominant California input: 1970-77. *Marine Pol. Bull.* **10** (11) 331-334.

Söderdren A, 1984, *Ambio* **13** (3), pp. 206-210.

Sorensen SR, Aamand J, Biodegradation of the phenylurea herbicide isoproturon and its metabolites in agricultural soils. *Biodeg.* 2001. **12**, 69-77.

Sorensen SR, Bending GD, Jacobsen CS, Walker A, Aamand J. 2003. Microbial degradation of isoproturon and related phenylurea herbicides in and below agricultural fields, *FEMS Microbiol. Ecol.* **45**, 1-11.

Spalding RF, Snow DD. 1989. Streamlevels of agricchemicals during a spring discharge event, *Chemosphere* **19** (8-9) 1129-1140.

Steiger J, James M, Gazelle F. 1998. Channelization and consequences on floodplain system functioning on the Garonne river, SW France *Reg. Rivers Res. Manage.* **14** 13-23.

Steen RJCA, Evers EHG, Van Hattum B, Cofino WP, Brinkman UATh. 2002. Net fluxes of pesticides from the Scheldt Estuary into the North Sea: a model approach.

Stern GA, Braekevelt E, Helm PA, Bidleman TF, Outridge PM, Lockhart WL, McNeely R, Rosenberg B, Ikonomou MG, Hamilton P, Tomy GT, Wilkinson P. 2005. Modern and historical fluxes of halogenated organic contaminants to a lake in the Canadian arctic, as determined from annually laminated sediment cores. *Sci Tot Environ.* **342** 223-243.

Storner A, Wilson WT, Harvey J. 1983. Dimethoate (Cygon): effect of long-term feeding of low doses on honeybees in standard-size fields colonies. *Southwest. Entomol.* **8** 74-177.

Suchail S, Guez D, Belzunces LP. (2000). Characteristics of imidacloprid toxicity in two *Apis mellifera* subspecies. *Environ. Toxicol. Chem.* **19** 1901-1905.

Suchail S, Guez D, Belzunces LP. (2001). Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera*. *Environ. Toxicol. Chem.* **20** 2482-2486.

Suchan P, Pulkrabova J., Halslova J., Kocourek V., 2004, Pressurized liquid extraction in determination of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in fish samples. *Anal. Chim. Acta* **520**, 193-200.

Suckling DM, Walker JTS, Wearing CH. 1999. Ecological impact of three pest management systems in New Zealand apple orchards, *Agricul., Ecosyst. Environ.* **73**, 129-140.

Sun MY, Aller RC, Lee C, Wakeham SG 2002. Effects of oxygen and redox oscillation on degradation of cell-associated lipids in surficial marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* **66** 2003-2012.

Svendsen L.M., Rebsdorf A. and Nørnberg P., 1993, Comparison of methods for analysis of organic and inorganic phosphorus in river sediment, *Wat. Res.* **27** (1) 77-83.

Taylor CM. 1996. Abundance and distribution within a guild of benthic stream fishes : local processes and regional patterns. *Freshwat. Biol.* **36** 385-396.

Thompson DG, MacDonald LM, Staznik B. 1992. Persistence of hexazinone and metsulfuron-methyl in mixed-wood/boreal forest lake. *J. Agric. Food Chem.* **8** 1444-1449

Thompson S, Budzinski H, LeMenach K, Letellier M, Guarrigues P. 2002. Multi-residue analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorobiphenyls, and organochlorine pesticides in marine sediment, *Anal. Bioanal. Chem.* **372** 196-204.

Tissut M, Nurit F, Ravanel P. 1992. Le transfert des herbicides dans les plantes et dans l'eau du sol. Colloque Phyt'eau, Versailles.

Tissut M, Philippe Delval P, Mamarot J, Ravanel P. 2006. Plantes, herbicides et désherbage. Acta, 635pp.

Tixier C, Bogaerts P, Sancelme M, Bonnemoy F, Twagilimana L, Cuer A, Bohatier J, Veschambre H. 2000. Fungal biodegradation of a phenylurea, diuron: structure and toxicity of metabolites, *Pest Manage. Sci.* **56** 455-462.

Tixier C, Sancelme M, Bonnemoy F, Twagilimana L, Cuer A, Veschambre H. 2001. Degradation products of a phenylurea herbicide, diuron: ecotoxicity, and biotransformation. *Environ. Toxicol. Chem.* **20**, 1381-1389.

Tixier C, Sancelme M, Ait-Aissa S, Widehem P, Bonnemoy F, Cuer A, Truffaut N, Veschambre H. 2002. Biotransformation of phenylurea herbicides by a soil bacterial strain, *Arthobacter* sp. N2: structure, ecotoxicity and fate of diuron metabolite with soil fungi. *Chemosphere* **46**, 519-526.

Tron I, Piquet O, Cohuet S. 2001. Effets chroniques des pesticides sur la santé : état actuel des connaissances. Rennes-ORS Bretagne. 90pp.

Turnbull GA, Cullington JE, Walker A, Morgan JAW. 2001a. Identification and characterisation of a diuron-degrading bacterium, *Biol. Fertil. Soils* **33**, 472-476

Turnbull GA., Ousley M, Walker A, Shaw E, Morgan JAW. 2001b, Degradation of substituted phenylurea herbicides by *Arthobacter globiformis* strain D47 and characterization of a plasmid-associated hydrolase gene, *puhA*, *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 2270-2275.

Vandame R, Meled M, Colin ME, Belzunces LP. (1995). Alteration of the homing-flight in the honey bee *Apis mellifera* L. exposed to sublethal dose of deltamethrin. *Environ. Toxicol. Chem.* **14** 855-860.

Van der Werf HMG. 1997. Evaluer l'impact des pesticides sur l'environnement. *Courrier de l'environnement* 31.

Vila-Gispert A, Garcia-Berthou E, Moreno-Amich P. 2002. Fish zonation in a Mediterranean stream : Effect of human disturbances. *Aquat. Sci.* **64** 163-170.

Wackett. 2006. http://umbbd.msi.umn.edu/atr/atr_map.html.

Wafo E, Sarrazin L, Diana C, Schembri T, Lagadec V, Monod JL. 2006. Polychlorinated biphenyls and DDT residues distribution in sediments of Cortiou (Marseille, France). *Marine Pol. Bull.* **52** (1) 104-107.

Walker A, Zhimdahl RL. 1981. Simulation of the persistence of atrazine, linuron and metolachlor in soil at different sites in the U. S. A., *Weed Res.* **21** 255-265.

Walker A, Cotterill EG, Welch SJ. 1989. Adsorption and degradation of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl in soils from different depth. *Weed Res.* **29** 281–287.

Walker CH, Livingstone DR. (editors), 1992. Persistent Pollutants in Marine Ecosystems. A special publication of SETAC. Pergamon Press. Oxford.

Wang L, Lyons J, Kanehl P, Bannerman R, Emmons E. 2000. Watershed urbanization and changes in fish communities in southeastern Wisconsin streams. *J. Am. Wat. Res.* **36** 1173-1175.

Wauchope RD, Buttler TM, Hornsby AG, Beckers PWMA, Burt JP. 1992. The SCS/ARS/CES pesticide properties database for environmental decision making. REV. *Environ. Contam. Toxicol.* **123** 1-164.

Weber JB, Wilkerson GG, Reinhardt CF. 2004. Calculating pesticide sorption coefficients (Kd) using selected soil properties. *Chemosphere* **55** 157-166.

Weber JB, Warren RL, Swain LR, Yelverton FH. 2007. Physicochemical property effects of three herbicides and three soils on herbicide mobility in field lysimeters. *Crop Protec.* **26** 299-311.

Weigel S. 2003. Occurrence, distribution and fate of pharmaceuticals and further polar contaminants in the marine environment. Thèse de doctorat de l'université de Hamburg. 145.

Wolska L, Wiergowski M, Galer K, Górecki T, Namiesnik J. 1999. Sample preparation for GC analysis of selected pesticides in surface water, *Chemosphere* **39** (9) 1477-1486

Xue N, Zhang D, Xu X. 2006. Organochlorinated pesticide multiresidues in surface sediments from Beijing Guanting reservoir. *Wat Res.* **40** (2), 183-194

Zhou J.L., Hong H., Zhang Z., Maskaoui K., Chen W., 2000, Multi-phase distribution of organic micropollutants in Xiamen Harbour, China, *Wat. Res.* **34** (7) 2132-2150.

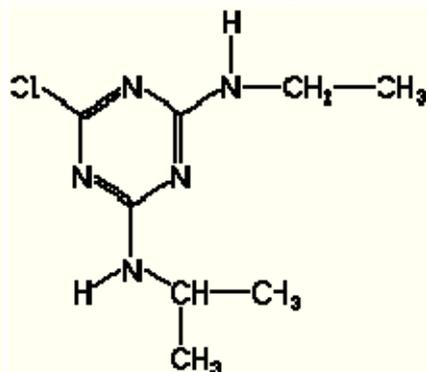
Zhuang W, McKague B, Reeve D, Carey J. 2004. A comparative evaluation of accelerated solvent extraction and Polytron extraction for quantification of lipids and extractable organochlorine in fish, *Chemosphere* **54**, 467-480.

ANNEXE - REFERENCES DES MOLECULES D'ETUDE

1-S-TRIAZINES - ATRAZINE

Statut :	ISO 1750 (publié)
IUPAC :	6-chloro- <i>N</i> ² -ethyl- <i>N</i> ⁴ -isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine
CAS :	6-chloro- <i>N</i> -ethyl- <i>N'</i> -(1-methylethyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine
Reg. No. :	1912-24-9
Formule :	C ₈ H ₁₄ ClN ₅
Activité :	Herbicides (chlorotriazine)

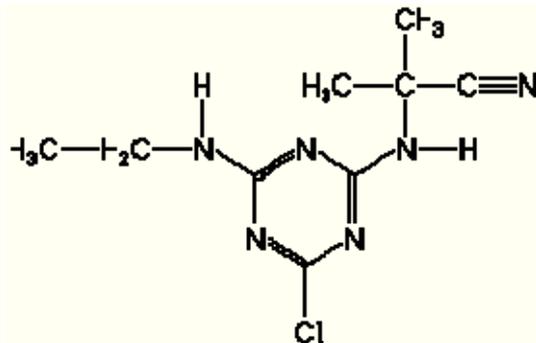
Structure :



CYANAZINE

Statut :	ISO 1750 (publié)
IUPAC :	2-(4-chloro-6-ethylamino-1,3,5-triazin-2-ylamino)-2-methylpropanitrile
CAS :	2-[[4-chloro-6-(ethylamino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-2-methylpropanenitrile
Reg. No. :	21725-46-2
Formule :	C ₉ H ₁₃ ClN ₆
Activité :	Herbicides (chlorotriazine)

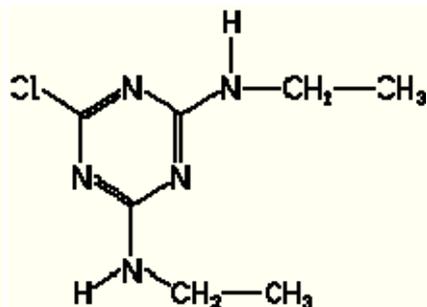
Structure :



SIMAZINE

Statut :	ISO 1750 (publié)
IUPAC :	6-chloro- <i>N</i> ² , <i>N</i> ⁴ -diethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine
CAS :	6-chloro- <i>N,N'</i> -diethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine
Reg. No. :	122-34-9
Formule :	C ₇ H ₁₂ ClN ₅
Activité :	Algicides herbicides (chlorotriazine)

Structure :



TERBUTHYLAZINE

Statut : ISO 1750 (publié)

IUPAC : *N*²-*tert*-butyl-6-chloro-*N*⁴-ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine

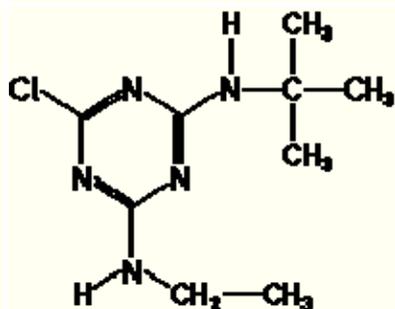
CAS : 6-chloro-*N*-(1,1-dimethylethyl)-*N'*-ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine

Reg. No. : 5915-41-3

Formule : C₉H₁₆ClN₅

Activité : Herbicides (chlorotriazine)

Structure :



SEBUTHYLAZINE

Statut : ISO 1750 (publié)

IUPAC : (*RS*)-*N*²-*sec*-butyl-6-chloro-*N*⁴-ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine

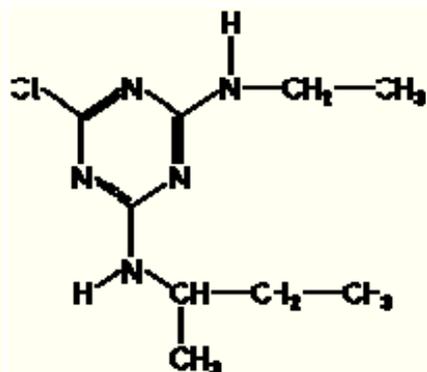
CAS : 6-chloro-*N*-ethyl-*N'*-(1-methylpropyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine

Reg. No. : 7286-69-3

Formule : C₉H₁₆ClN₅

Activité : Herbicides (chlorotriazine)

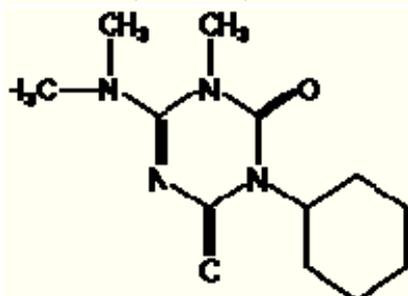
Structure:



HEXAZINONE

Statut :	ISO 1750 (publié)
IUPAC :	3-cyclohexyl-6-diméthylamino-1-méthyl-1,3,5-triazine-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-dione
CAS :	3-cyclohexyl-6-(diméthylamino)-1-méthyl-1,3,5-triazine-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-dione
Reg. No. :	51235-04-2
Formule :	C ₁₂ H ₂₀ N ₄ O ₂
Activité :	Herbicides (triazinone)

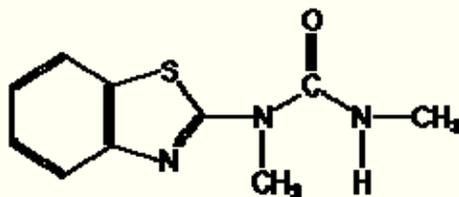
Structure :



2-URÉES - METHABENZTHIAZURON

Statut :	ISO 1750 (publié)
IUPAC :	1-(1,3-benzothiazol-2-yl)-1,3-diméthylurée ou 1-benzothiazol-2-yl-1,3-diméthylurée
CAS :	<i>N</i> -2-benzothiazolyl- <i>N,N'</i> -diméthylurée
Reg. No. :	18691-97-9
Formule :	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ OS
Activité :	Herbicides (urée)
Notes :	Le nom "methibenzuron" est approuvé par la Weed Science Society of America.

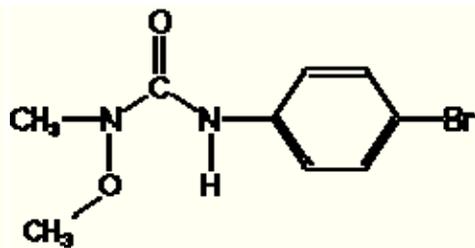
Structure :



METOBROMURON

Statut :	ISO 1750 (publié)
IUPAC :	3-(4-bromophényl)-1-méthoxy-1-méthylurée
CAS :	<i>N'</i> -(4-bromophényl)- <i>N</i> -méthoxy- <i>N</i> -méthylurée
Reg. No. :	3060-89-7
Formule :	C ₉ H ₁₁ BrN ₂ O ₂
Activité :	Herbicides (phénylurée)

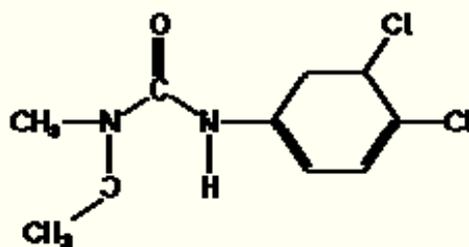
Structure :



LINURON

Statut :	ISO 1750 (publié)
IUPAC :	3-(3,4-dichlorophenyl)-1-methoxy-1-méthylurée
CAS :	<i>N'</i> -(3,4-dichlorophenyl)- <i>N</i> -methoxy- <i>N</i> -méthylurée
Reg. No. :	330-55-2
Formule :	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂
Activité :	Herbicides (phénylurée)

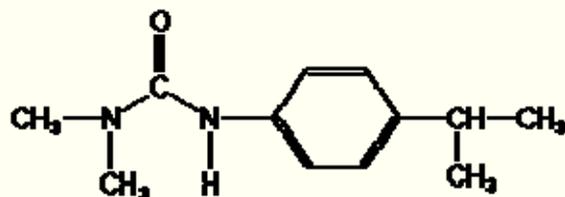
Structure :



ISOPROTURON

Statut :	ISO 1750 (publié)
IUPAC :	3-(4-isopropylphenyl)-1,1-diméthylurée ou 3- <i>p</i> -cuményl-1,1-diméthylurée
CAS :	<i>N,N</i> -diméthyl- <i>N'</i> -[4-(1-méthylethyl)phényl]urée
Reg. No. :	34123-59-6
Formule :	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O
Activité :	Herbicides (phénylurée)

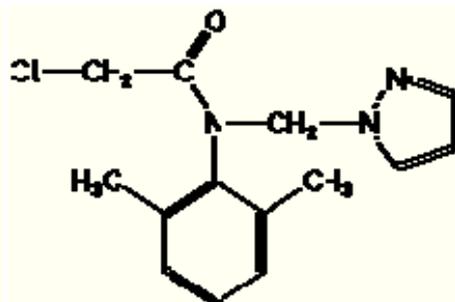
Structure :



3-ANILIDES - METAZACHLOR

Statut :	ISO 1750 (approuvé)
IUPAC :	2-chloro- <i>N</i> -(pyrazol-1-ylmethyl)acet-2',6'-xylidide
CAS :	2-chloro- <i>N</i> -(2,6-diméthylphényl)- <i>N</i> -(1 <i>H</i> -pyrazol-1-ylmethyl)acetamide
Reg. No. :	67129-08-2
Formule :	C ₁₄ H ₁₆ ClN ₃ O
Activité :	Herbicides (chloroacétanilide)

Structure :



METOLACHLOR

Statut : ISO 1750 (publié)

IUPAC : (*aRS,1RS*)-2-chloro-6'-ethyl-*N*-(2-methoxy-1-methylethyl)acet-*o*-toluidide

CAS : 2-chloro-*N*-(2-ethyl-6-methylphenyl)-*N*-(2-methoxy-1-methylethyl)acetamide

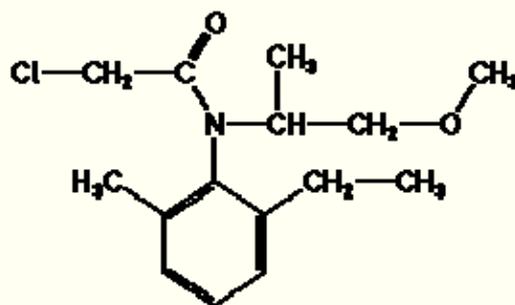
Reg. No. : 51218-45-2

Formule : C₁₅H₂₂ClNO₂

Activité : Herbicides (chloroacétanilide)

Notes : Le (*S*)-stéréoisomère de cette molécule a le nom commun *S*-metolachlor (ISO).

Structure :



RESUME

L'application au milieu naturel d'un protocole de dosage des herbicides dans le sédiment a permis de dresser une cartographie de la contamination des sédiments et des eaux de surface appariées par les produits phytosanitaires. Au travers de ce premier état de la contamination du biotope aquatique, l'étude identifiera et caractérisera les sites où la charge en pesticides est la plus élevée : dans un contexte urbain et dans les discontinuités majeures propices à l'accumulation du sédiment (barrages).

Des investigations furent alors menées pour comparer l'activité biologique du sédiment à sa charge en herbicides. Des carottages furent réalisés à des lieux marquants de la Garonne via la diagénèse précoce (Malause).

Application to the natural environment of a protocol of proportionning of the herbicide in sediment made possible to draw up a cartography of the sediment and surface water contamination paired by the plant health products. Through this first state of the aquatic biotope contamination, the study will identify and characterize the sites where the pesticides accumulation is highest: in an urban context and in major discontinuities favourable to the sediment accumulation (dams).

Investigations were carried out to compare the biological activity of the sediment with its herbicide concentration. Corings were carried out with the outstanding ones of the Garonne via the early diagenesis (Malause)