

PROPRIETES GENERALES ET TOXICITE A L'EGARD DES POISSONS DE CERTAINS FONGICIDES UTILISES DANS LES CRESSONNIERES

Incidence sur les piscicultures
et méthodologie d'étude

R. BELAMIE D. LINTIGNAT

avec l'aide de

D. RIDET O. GARAT

C.T.G.R.E.F.

Division Qualité des Eaux, Pêche et Pisciculture
14, Av. de St-Mandé — 75012 PARIS.

RESUME

A la suite de mortalités observées dans certaines piscicultures situées en aval de cressonnières une étude a été entreprise sur la toxicité de fongicides employés récemment en cressiculture : les dithiocarbamates.

Les propriétés générales de ces composés (solubilité, dégradation, toxicité...) ont été résumées à partir de données recueillies dans la littérature scientifique.

Les effets sublétaux peu connus à ce jour ont fait l'objet d'une description détaillée fondée sur de nombreuses observations de terrain. Les conséquences de cette toxicité sur l'exploitation d'une pisciculture ont en outre été mentionnées.

Une méthodologie d'étude des dithiocarbamates est proposée, basée sur l'analyse des organes de poisson et des sédiments, en raison des difficultés de leur identification à de faibles concentrations dans les eaux libres.

1 — INTRODUCTION

Les fongicides du groupe des dithiocarbamates sont largement utilisés en agriculture pour la protection de diverses cultures : arbres fruitiers, vignes, cultures maraîchères, céréales, etc.

Leur introduction remonte à 1930 pour le ZIRAME, 1937 pour le THIRAME tandis que d'autres produits comme le ZINEBE, le MANEBE et le MANCOZEBE sont apparus plus récemment, respectivement en 1943, 1950 et 1961.

Depuis plusieurs années, certains d'entre eux (ZINEBE notamment) sont employés dans les cressonnières en remplacement du sulfate de zinc dans le traitement des maladies du cresson (racines tordues et tâche jaune).

Bien que ces produits soient utilisés en traitement direct du milieu aquatique, peu d'études ont été entreprises pour déterminer leurs effets. A la suite de divers accidents mineurs, notamment dans des piscicultures situées en aval des cressonnières, la Division Qualité des Eaux, Pêche et Pisciculture a été amenée à examiner de façon approfondie ce problème.

Les travaux ont été conduits à partir de données fragmentaires trouvées dans la littérature scientifique et de tests et analyses complémentaires réalisés par la Division avec le concours de la Fédération Départementale des Associations de Pêche et de Pisciculture de l'Essonne et des pisciculteurs concernés.

2 — CARACTERISTIQUES GENERALES DES DITHIOCARBAMATES

2.1 — Composition chimique.

Les dithiocarbamates sont des produits de synthèse dérivés de l'acide dithiocarbamique et des thiurames. Ils entrent dans la composition de nombreux fongicides et également d'herbicides (diallate triallate E P T C) et d'insecticides (Carbaryl).

Les fongicides commercialisés en France sont les suivants :

— Dérivés de l'acide dithiocarbamique :

di-méthyl	— dithiocarbamate de fer	ferbame
di-méthyl	— dithiocarbamate de zinc	zirame
éthylène-bis	— dithiocarbamate de sodium	nabame
éthylène-bis	— dithiocarbamate de zinc	zinèbe
éthylène-bis	— dithiocarbamate de manganèse	manèbe
éthylène-bis	— dithiocarbamate de manganèse et de zinc	mancopper
éthylène-bis	— dithiocarbamate de zinc et de manganèse	mancozèbe
propylène-bis	— dithiocarbamate de zinc	propinèbe
méthyl	— dithiocarbamate de sodium	métam-sodium
bis-chlorure di-méthyl	— dithiocarbamate tri cuivreux	cuprobame

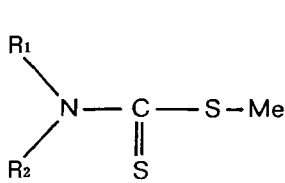
— Dérivés des thiurames :

disulfure de bis diméthyl-thiolcarbamyle disulfure de tétraméthyl thiurame } thiurame

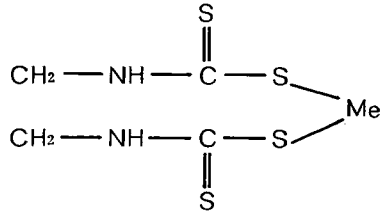
mélange de sulfures de polyéthylène thuirame
complexe de zinèbe et de disulfure de polyéthylène
thiurame
(d'après ACTA. 1975)

$\left. \begin{array}{l} \text{carbatène} \\ \text{m-éthirame} \end{array} \right\} \text{— zinc}$

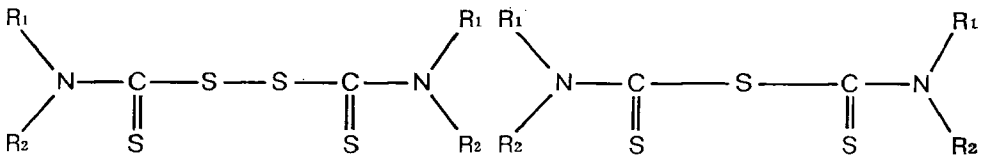
— Les principales structures chimiques utilisées sont les suivantes :



Dithiocarbamate



Ethylène-bis — dithiocarbamate



Disulfure de thiurame

Monosulfure de thiurame

R₁ = alkyle R₂ = H ou alkyle Me = métal

2.2. — Solubilité, dégradation et rémanence.

Les dithiocarbamates sont très peu solubles dans l'eau.

Le MANCOZEBE et le MANEBE sont pratiquement insolubles, le ZINEBE et le THIRAME ont des solubilités respectivement de l'ordre de 10 mg/l (à 20°C) et de 30 mg/l (MARTIN Hubert, 1971).

La dégradation des dithiocarbamates en deux dérivés majeurs : EBIS (Ethylène — Bis — Isothiocyanate Sulfide*) et ETU (Ethylène — Thio — Urea*) et l'accélération de cette transformation sous l'influence de la température et de l'humidité ont été mises en évidence par ENGST et SCHNAAK (1974).

Cette dégradation est donc susceptible de revêtir une grande importance lorsque les produits sont déversés directement dans le milieu aquatique (cas du traitement du cresson), elle peut même intervenir avant l'emploi et aboutir dans les formulations commerciales à la formation d'ETU dans une proportion atteignant 14 % (BONTOYAN W.R., LOOKER J.B., 1973).

D'après les travaux de MESHEIM et LINN (1968) sur le Thirame (cité par GORING Clève A.I. et HAMAKER J.W., 1972) les dithiocarbamates sont fortement absorbés par les matières organiques. Leur persistance dans les sols non immergés est fonction des conditions locales (humidité, potentiel d'oxydo-réduction, teneur en matière organique...) et peut atteindre plusieurs semaines.

* Nomenclature U.S.

3 — EFFETS TOXIQUES DES DITHIOCARBAMATES

3.1 — Données expérimentales

3.1.1 — Toxicité létale

L'expérimentation concernant les mammifères a été essentiellement réalisée sur le rat (tableau 1).

Tableau 1

Toxicité aiguë orale de différents dithiocarbamates et de leurs dérivés

Produit testé	DL ₅₀ * pour le rat (mg/kg)
MANEBE	7 500 ** 4 500 5 000
ZINEBE	5 200
NABAME	395
MANCOZEBE	8 000
PROPINEBE	14 000
EBIS { ETU } produits de dégradation	8 500 1 570 ** 1 832 900
FERBAME	5 700
ZIRAME	500
THIURAME	1 400 ** 450

d'après ENGST R. et SCHNAAK W., 1974.

Les résultats font apparaître une toxicité relativement faible, ils mettent en valeur le rôle non négligeable des composés de dégradation ETU et EBIS.

En ce qui concerne les poissons BARBIER B. et CHAMP P. (1975) ont réalisé des tests de toxicité à court terme sur le vairon (*Phoxinus phoxinus L.*) pour divers fongicides utilisés en cressonnières dont plusieurs dithiocarbamates : THIRAME, ZINEBE, MANEBE, MANCOZEBE.

Tous les produits testés se sont révélés toxiques pour le poisson, certains étant particulièrement actifs comme le THIRAME avec une CL₅₀ 96 h de 0,0159 mg/l à la température de 17°C, tableau 2. (CL₅₀ 96 heures : concentration létale provoquant une mortalité de 50 % des effectifs testés au bout d'une durée de 96 heures).

* DL₅₀ : dose provoquant la mortalité de 50 % des sujets testés.

** Conditions expérimentales différentes.

Tableau 2

Toxicité aiguë de plusieurs dithiocarbamates
à l'égard du vairon

Produit	CL ₅₀ 96 heures à 17°C en mg/l
THIRAME	0,0159 (0,0099 — 0,0255)
MANEBE	2,71 (2,14 — 3,44)
MANCOZEBE	2,31 (1,91 — 2,81)
ZINEBE	73,8 (53,6 — 102)

(les chiffres entre parenthèses expriment les limites de confiance au seuil de 0,95)
d'après BARBIER B. et CHAMP P., 1975.

3.1.2 — Toxicité sublétales

Des effets de cet ordre ont été étudiés sur la Caille soumise à une intoxication par le THIRAME utilisé en traitement des semences. Au cours de cette expérimentation LORGUE G. et coll., 1975 ont observé des troubles de la fonction de reproduction avec atteinte testiculaire chez les mâles et un blocage de la ponte chez les femelles, ces modifications étant réversibles.

3.2 — Observations *in situ*

3.2.1 — Constatations en pisciculture

Divers accidents observés dans des piscicultures situées à l'aval immédiat de cressonnières ont pu être attribués aux dithiocarbamates confirmant la nocivité de ces produits à l'égard des poissons.

Les dithiocarbamates aux concentrations sublétales provoquent un engourdissement du poisson suivi d'une léthargie de plus en plus prononcée se traduisant par la mort des sujets atteints au bout de quelques jours.

Comme pour la Caille, ces effets sont réversibles et disparaissent lorsque les poissons sont placés dans un milieu exempt de pollution. Les géniteurs paraissent les plus sensibles, ils sont affectés les premiers ; toutefois les « truites portion » et les « truitelles » peuvent être également atteintes.

Enfin, des déversements importants de dithiocarbamates occasionnés par des erreurs de manipulation peuvent être à l'origine de mortalités brutales.

Le tableau n° 3 établi d'après les renseignements fournis par l'exploitant d'une pisciculture touchée par ce type de pollution fait apparaître la progression de la contamination au fil des années et donne une évaluation des dommages subis.

Les pertes ne concernent que les mortalités à l'exclusion du ralentissement observé dans la croissance. Elles sont en constante augmentation pour atteindre un niveau très élevé au cours de la dernière année et reflètent une contamination chronique, mais fluctuante, présentant des pics accentués pendant les périodes froides correspondant à une intensification d'emploi des dithiocarbamates dans les cressonnières situées en amont.

La recherche des causes entraînant les mortalités n'a été orientée que tardivement vers l'identification des dithiocarbamates, faute d'une connaissance suffisante de leurs effets sur le poisson.

Le pisciculteur a d'autre part observé, à la suite de l'engourdissement même passager des truites, un retard de croissance pouvant atteindre deux mois et provoquer de ce fait une baisse de production importante parmi les sujets ayant survécu à l'intoxication.

Des observations semblables ont été rapportées par d'autres pisciculteurs.

Tableau 3

Pertes observées dans une pisciculture
soumise à une pollution par des dithiocarbamates

Période	Pertes par mortalités	Observations effectuées
Hiver 69/70	non chiffrées	Mortalité inexplicable des reproducteurs, les sujets meurent après quelques jours de somnolence.
Hiver 70/71	— id —	— id —
Hiver 71/72	400 kg	— mêmes symptômes. — recherche des maladies éventuelles : examens bactériologiques et virologiques négatifs.
Hiver 72/73	Total des pertes 600 kg	— mêmes observations. — symptômes d'engourdissement chez les truites de 100 à 200 g (fin février 1973).
Hiver 73/74	2 000 kg	— même symptômes. — identification des dithiocarbamates dans les poissons.
Hiver 74/75	Mai 1975 Total des pertes 2 910 kg	— mêmes symptômes. — pertes importantes chez les truites de 0,8 à 2,5 kg. — en mars 1975, somnolence des truites de toutes tailles (environ 10 tonnes). — mortalités prolongées jusqu'en mai. — identification des dithiocarbamates dans les poissons.

3.2.2 — Observations en rivière

Les mortalités, à moins d'être massives, sont moins visibles dans les eaux libres. Cependant quelques mortalités succédant à des états de léthargie ont pu être observées dans la rivière alimentant la pisciculture étudiée.

Bien qu'aucun inventaire précis n'ait pu être effectué dans la rivière il semble que les manifestations de toxicité aient été plus atténuées que dans la pisciculture.

Des études complémentaires approfondies seraient nécessaires pour confirmer ces constatations et en définir la cause (mode de vie différent des poissons par exemple).

4 — MISE EN EVIDENCE DES POLLUTIONS PAR LES DITHIOCARBAMATES

4.1 — Méthode d'analyse

La méthode d'analyse retenue pour le dosage en routine des dithiocarbamates est celle préconisée pour leur recherche dans les végétaux (CLARKE *et al.*, 1957 cité par ENGST et SCHNAAK, 1974) ou dans le vin (Répression des Fraudes, 1968).

Bien que peu sensible cette méthode est simple et ne met en œuvre que du matériel courant de laboratoire. Elle est très largement utilisée.

4.1.1 — Principe

La méthode est basée sur la détermination photométrique du sulfure de carbone libéré des dithiocarbamates par une hydrolyse acide et après son absorption par une solution alcoolique d'acétate de cuivre et de diéthanolamine.

La coloration obtenue (jaune) est mesurée à 435 nm avec une limite de sensibilité de 10 μg de CS_2 soit environ 20 μg en dithiocarbamates.

Généralement les dithiocarbamates ne se trouvent dans les eaux libres qu'à de faibles concentrations situées au-dessous du seuil de sensibilité de la méthode de dosage.

Les recherches de dithiocarbamates doivent donc être conduites de préférence à partir des sédiments ou de certains organes de poissons où se concentrent ces composés.

4.1.2 — Recherche des dithiocarbamates dans les poissons et les sédiments — Résultats

De nombreux essais préliminaires ont montré que les dithiocarbamates semblaient se concentrer essentiellement au niveau du foie et des reins chez les poissons.

Des prélèvements d'environ 10 grammes de ces organes sont hydrolysés par 100 ml d'acide sulfurique puis l'analyse est conduite comme indiqué en 4.1.1.

Le seuil de sensibilité est d'environ 40 μg de dithiocarbamate aussi est-il nécessaire de disposer d'une quantité d'organes relativement importante pour la caractérisation de ce type de pollution.

Les sédiments sont analysés dans les mêmes conditions.

Cette méthodologie a été appliquée sur le site étudié, voir figure (pisciculture polluée, rivière d'alimentation et cressonnières situées en amont).

A titre de comparaison, la recherche des dithiocarbamates a été également effectuée sur des organes de truites provenant de zones non polluées.

Les résultats sont consignés dans les tableaux 4 et 5.

Ils montrent la possibilité de détection des pollutions par les dithiocarbamates à partir d'analyses pratiquées sur les sédiments et les organes de poissons.

Les concentrations relevées aux divers points du site étudié mettent en évidence le transfert dans les eaux superficielles des dithiocarbamates des zones de traitement vers l'aval ainsi que leur rémanence dans les sédiments.

Tableau 4

Analyse des organes de truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*) affectés par les dithiocarbamates

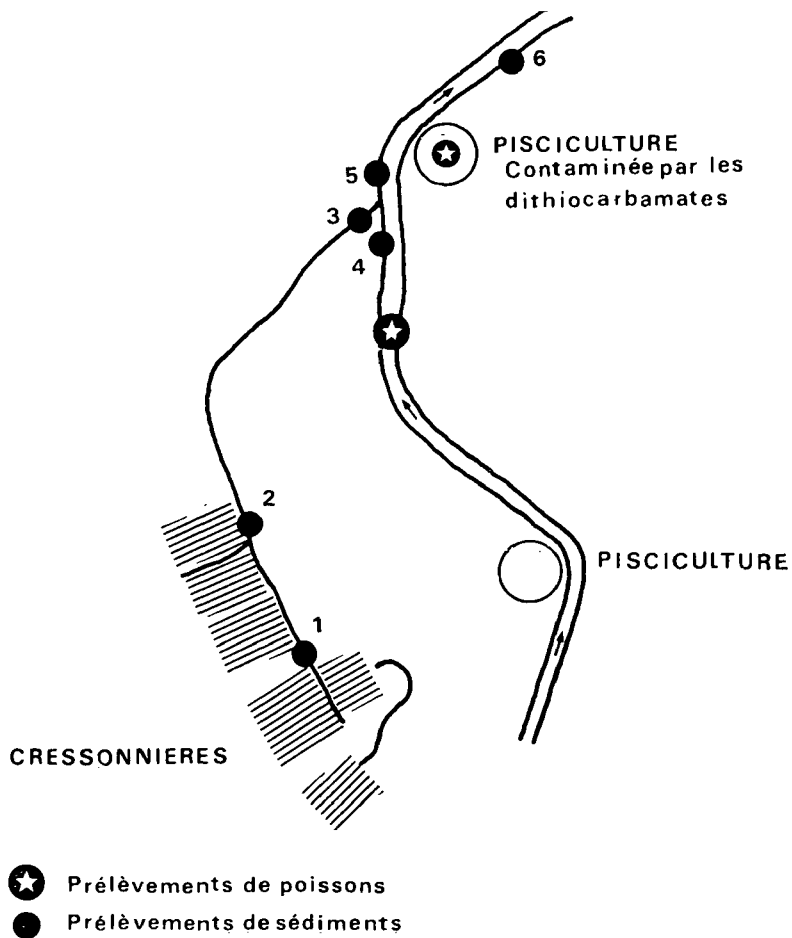
Date du prélèvement	Origine des poissons	Organes analysés	Concentration en « dithiocarbamates » (mg/kg de matière humide)
Lot de référence — truite provenant de zones non polluées	pisciculture	foie	nd
		reins	nd
		branchies	nd
Avril 1974 — 1 ^{er} lot	"	cerveau	nd
		foie	2,1
2 ^e lot	"	reins	nd
		cerveau	nd
		foie	4,1
		branchies	nd
		gonades	nd
3 ^e lot	"	foie	4,3
		reins	1,3
		branchies	nd
Février 1975	"	branchies	nd
		foie	1,4
Avril 1975	"	foie	0,4
		reins	0,8
		cerveau	traces
Avril 1975	"	foie	0,4
		reins	nd
Février 1976	rivière	foie	3
		reins	1,2
	pisciculture	foie	0,6
		reins	0

nd : non déterminé — teneurs inférieures au seuil de sensibilité de la méthode.

Tableau 5

Contamination des sédiments
par les dithiocarbamates

Situation des prélèvements		Concentration en dithiocarbamates (mg/kg de poids humide)
Exutoire des Cressonnières	1 - Aval d'un premier groupe de cressonnières	4,8
	2 - Aval d'un second groupe de cressonnières	1,2
	3 - Aval total des cressonnières	0,4
Rivière	4 - Amont de la confluence avec l'exutoire des cressonnières	0,6
	5 - Amont de la Pisciculture	0,6
	6 - Aval de la Pisciculture	0,3



6 — CONCLUSION

Les piscicultures situées fréquemment à proximité des cressonnières sont relativement exposées à la pollution par fongicides et notamment les dithiocarbamates.

L'engourdissement des poissons observé aux concentrations sublétales constitue un signal d'alarme auquel doit être attentif le pisciculteur.

L'identification de ce type de pollution est réalisable sans difficultés majeures à partir d'analyses portant sur les sédiments et les organes des poissons.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- A.C.T.A. 1975 (Association de Coordination Technique Agricole) Index des produits phytosanitaires, 12^e éd. 367 p.
- BARBIER B., CHAMP P., 1975. Toxicité à court terme à l'égard du vairon (*Phoxinus phoxinus L.*) de divers fongicides. Bulletin Français de Pisciculture, n° 258 — 3^e trimestre 1975 : 15 — 25.
- BONTOYAN W.R., LOOKER J.B., 1973. Degradation of commercial Ethylene Bisdithiocarbamate formulations to Ethylene thiourea under elevated temperature and humidity. *J. Agr. Food Chem.* 21 (3) 338 — 341.
- ENGST R., SCHNAAK W., 1974. Residue of dithiocarbamate fungicides and their metabolites on plant foods. *Res. Rev.* 52 : 45 — 67.
- GORING Clève A.I., HAMAKER J.W. 1972. Organic chemicals in the soil environment. DEKKER New-York 968 p.
- LORGUE G., DELATOUR P., COURTOT D., GASTELLU J., MACKOWIAK M., 1975. Etude sur la caille des effets toxiques du Thirame, fongicide du groupe des dithiocarbamates. *Revue Méd. Vét.* 126 (3) : 365 — 381.
- MARTIN Hubert, 1971. Pesticide Manual. British Crop. Protection Council — 2^e éd. — 495 p.
- MESHEIM O.N., LINN M.B. 1968. Trans. Illinois St. Acad. Sci. 61 : p. 26.
- Répression des fraudes 1968. Méthodes officielles de recherche des résidus de pesticides. J.O. Brochure n° 68 — 191.