

**DIRECTION DE L'ENVIRONNEMENT
ET DES RECHERCHES OCEANIQUES**

**ETUDE DE LA DEGRADATION
ET DE LA TOXICITE DE LA ROTENONE
EN MILIEU MARIN**

C. MARCAILLOU-LE BAUT



DERO-87-12-MR

INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE POUR L'EXPLOITATION DE LA MER

IFREMER
CENTRE DE NANTES
B. P. n° 1049
44037 NANTES CEDEX 01
Tél. 40 74 99 81

DIRECTION DE L'ENVIRONNEMENT
ET DES RECHERCHES OCEANIQUES
DEPARTEMENT MILIEU ET RESSOURCES - NANTES

AUTEUR (S) : MARCAILLOU-LE BAUT C.		CODE : N° DERO- <u>8712</u> -MR
TITRE ETUDE DE LA DEGRADATION ET DE LA TOXICITE DE LA ROTENONE EN MILIEU MARIN		date : tirage nb : 80 Nb pages : 19 Nb figures : 6 Nb photos : /
CONTRAT <i>(intitulé)</i> N° _____		DIFFUSION libre <input checked="" type="checkbox"/> restreinte <input type="checkbox"/> confidentielle <input type="checkbox"/>

RÉSUMÉ

L'éradication des prédateurs dans les marais littoraux destinés à l'aquaculture de la crevette nécessite un traitement à la rotenone, produit très toxique pour les animaux à sang froid. Afin de définir les précautions nécessaires pour éviter la contamination du milieu marin par le rejet des eaux des marais traités, la dégradation et la toxicité de la rotenone ont été étudiées en laboratoire et in situ.

Il est apparu qu'un délai de 15 jours avant la vidange des bassins doit être respecté : c'est le temps nécessaire pour observer une disparition totale de la toxicité résiduelle.

ABSTRACT

The use of rotenone as a means of predators eradication is necessary for the success of shrimps culture. Because this compound is a fish toxicant, some precautions have to be taken in order to avoid the contamination of marine environment by the residual waters ; so the dissipation and the toxicity have been studied together in laboratory and in field assays.

It appears that a delay of 15 days should be respected : this time is required for a total disappearing of the residual toxicity.

mots-clés : Aquaculture crevette - rotenone - toxicité -
dégradation.

key words : Shrimps culture - rotenone - toxicity - degradation.

© IFREMER - Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer,



ETUDE DE LA DEGRADATION ET DE LA TOXICITE

DE LA ROTENONE EN MILIEU MARIN

Participants à cette étude :

- Coordination et rédaction :

Mme MARCAILLOU-LE BAUT
Laboratoire "Effets biologiques des Nuisances" (Nantes)

- Analyses chimiques :

M. TRUCHOT
Laboratoires associés de recherches agricoles
(LARA - Toulouse)

- Expérimentations sur le terrain :

M. CALVAS
Aqualive (Noirmoutier)

- Expérimentations en laboratoire :

M. LE DEAN et M. TRUQUET
Laboratoire "Effets biologiques des Nuisances" (Nantes)

- Correspondant CSRU* :

M. BERTHOME
Bureau Central Contrôle et Suivi du Milieu

* Cette étude a été réalisée à la demande du département CSRU "Contrôle et Suivi des Ressources et de leur Utilisation" qui en a assuré le financement.

Sommaire

I - INTRODUCTION

II - TRAITEMENT DES PLANS AQUICOLES

II.1 - Descriptif des bassins

II.2 - Caractéristiques des produits utilisés et du composé actif

II.3 - Traitement des bassins

III - DEGRADATION DE LA ROTENONE DANS L'EAU

III.1 - Méthodologie
. au laboratoire
. sur le terrain

III.2 - Résultats

III.3 - Discussion

IV - TOXICITE DU PRODUIT UTILISE (AGRI 2001)

IV.1 - Tests de laboratoire

a) sur une algue unicellulaire

b) sur des crustacés
- tests aigus
- tests sur la production larvaire

c) sur les poissons

d) discussion

IV.2 - Essais sur le terrain

V - CONCLUSION

I - INTRODUCTION

Composé toxique pour les animaux à sang froid, la roténone est le principe actif de nombreux produits commerciaux à usages divers : insecticides domestiques ou agricoles, traitement des parasitoses humaines ou animales, désinfection des locaux, etc. D'origine végétale elle est extraite de la sève de légumineuses tropicales ou subtropicales (genre Derris, Lonchocarpus ..) ; dans ces régions ses propriétés toxiques vis à vis des poissons sont connues depuis des siècles et la pêche est encore pratiquée par simple agitation des racines de ces plantes dans l'eau. De même, actuellement, elle est utilisée dans la gestion des populations piscicoles des lacs, des cours d'eau et des zones littorales, par exemple pour l'élimination et/ou le contrôle d'une espèce indésirable ou pour l'échantillonnage dans l'estimation de la biomasse (KRUMHOLZ, 1948 ; MATLOCK et al., 1982).

Enfin son emploi en aquaculture extensive ou intensive se justifie pour détruire les prédateurs dans les marais destinés à cet effet : c'est une condition indispensable à la réussite des élevages. Sur le littoral français, jusqu'à maintenant, cette pratique était limitée à des zones expérimentales circonscrites et était toujours surveillée par des gens avertis ; mais après l'obtention de résultats satisfaisants, concluant à la rentabilité de la production de crevettes en marais ou bassins littoraux, il faut s'attendre à une extension de cette activité au niveau professionnel et donc à une utilisation à grande échelle de produits à base de roténone.

Le traitement à la roténone doit s'accompagner de certaines précautions car bien qu'abrités et généralement aménagés, les marais littoraux sont en relation les uns avec les autres et en communication avec la frange côtière. Il faut donc éviter impérativement que par contact le traitement mette en péril d'autres cultures marines ou la faune littorale. En conséquence, une utilisation à grande échelle de la roténone ne peut être autorisée qu'après une étude vérifiant que les modalités du traitement sont sans effet sur le milieu extérieur. On ne peut donc raisonnablement appliquer le mode d'emploi proposé par les fabricants sans vérifier cette innocuité et s'être intéressé au devenir du toxique après le traitement, ceci d'autant plus qu'il n'existe aucune réglementation, ni "code de bonne conduite" dans ce domaine. C'est pourquoi les autorités compétentes ont demandé de leur fournir les éléments à partir desquels elles pourront définir des conditions d'utilisation et élaborer une réglementation s'y rattachant. La présente étude a été lancée dans cette perspective.

Ainsi, après un traitement en grandeur réelle, tel qu'il a été mis au point à la station expérimentale d'Aqualive à Noirmoutier, nous avons suivi la dégradation de la roténone en laboratoire et sur le terrain puis nous avons étudié sa toxicité aigüe *in vitro* et les effets résiduels sur le terrain sur de petits organismes marins.

II - TRAITEMENT DES PLANS AQUACOLES

II.1 - Descriptif des bassins

Nous décrivons brièvement les caractéristiques des installations de la station expérimentale d'Aqualive où a été mise au point la production de la crevette et où l'étude a été réalisée (voir plan, fig. 1).

Le grossissement de la crevette est effectué, soit dans des bassins en terre creusés pour la circonstance, soit dans des marais anciens ou réaménagés. Ils sont alimentés en eau par l'intermédiaire de bassins de stockage, lesquels sont remplis à marée haute grâce à une prise d'eau donnant sur l'étier. De même les eaux de vidange des bassins d'élevage (ou de grossissement) sont collectées dans des bassins de vidange, où elles peuvent séjourner, avec d'être déversées dans un autre étier ; le rejet étant ainsi éloigné de la prise d'eau. La superficie de ces bassins est variable de 500 à 4 000 m² ; la hauteur d'eau y est d'environ 80 cm à 1 m.

Avant l'ensemencement en juvéniles, à la mi-mai, quand la température atteint 15°C, les bassins font l'objet d'un traitement à la roténone afin d'éliminer les prédateurs. En effet, malgré l'assec, les anciens marais, dont le fond vaseux assure la meilleure productivité, conservent toujours une humidité suffisante pour la survie des anguilles. Le traitement préalable à la roténone est donc indispensable.

II.2 - Caractéristiques des produits utilisés et du composé actif

Les fabricants proposent différentes formules dont le principe actif est la roténone, résine d'origine végétale, et qui se distinguent entre elles par le solvant et la concentration en roténone. HUSSENOT (1983) a dressé une liste des produits utilisés pour la pêche et l'aquaculture, nous la re prenons ici :

AQUATOX ou CUBEROL : poudre mouillable à 5 % de roténone

NOXFISH à 5 % de roténone U.S.A.

PRENTO à 2,5 % ou 5 % de roténone (3 formulations de disponibles dont 2 émulsifiables)

AGRI 2001 à 6,7 % de roténone, émulsifiable dans l'eau et dont le solvant est le terpène de menthe.

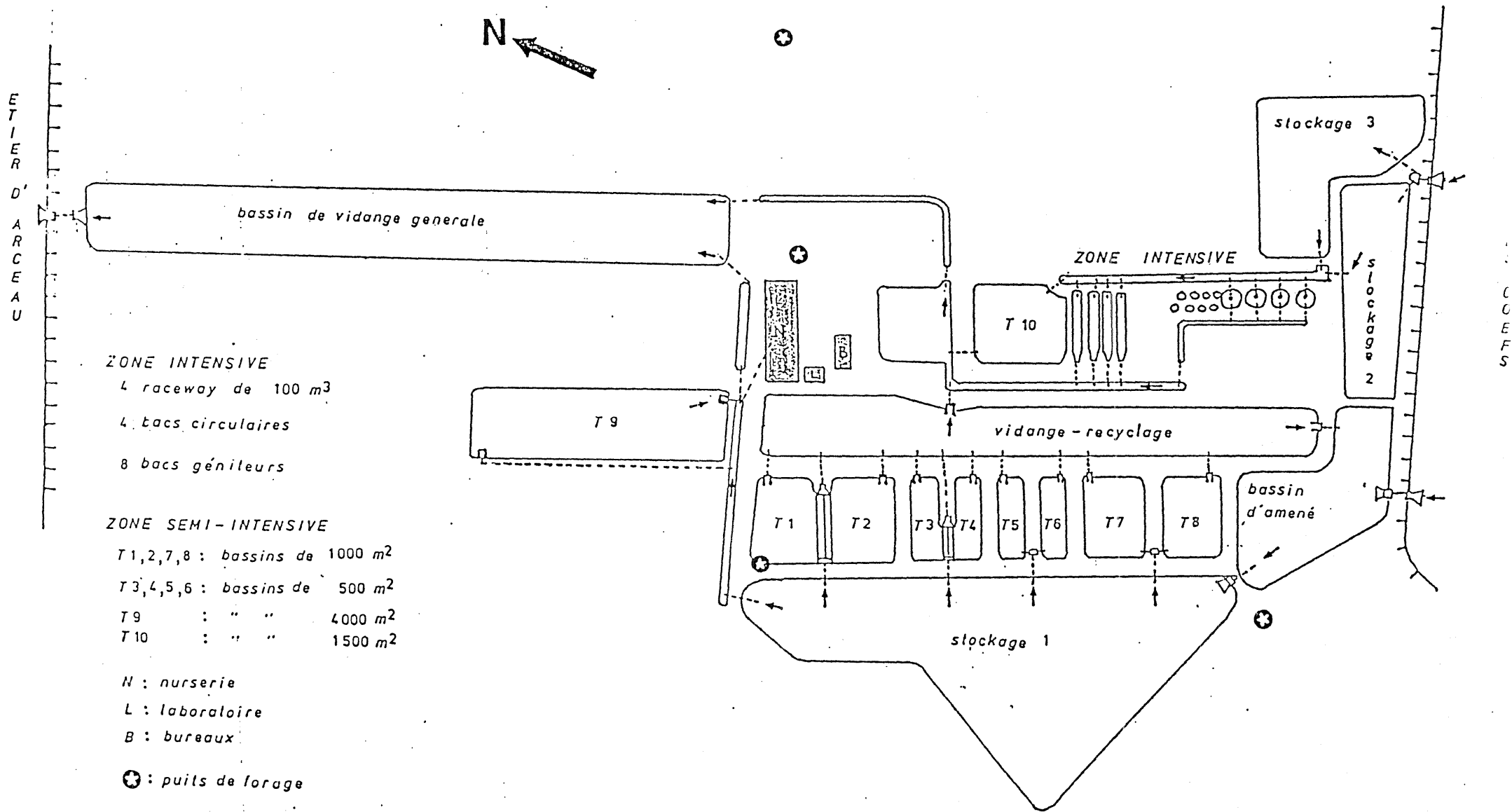
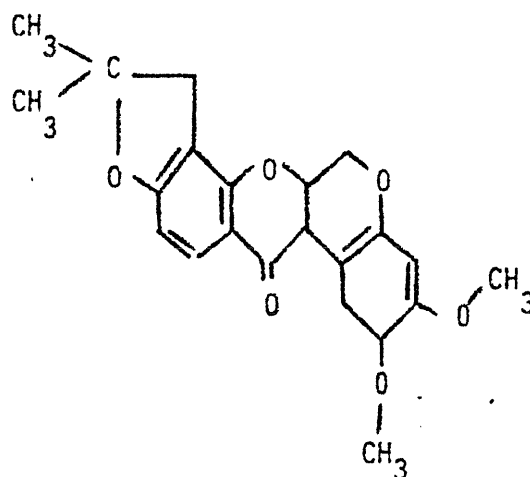


Figure 1

■ **PLAN GENERAL — AQUALIVE** (NOIRMOUTIER) ■

Ce dernier est utilisé actuellement pour les traitements expérimentaux sur le terrain et pour les essais toxicologiques.

Le molécule de roténone a des similitudes avec le noyau isoflavone.



Formule développée de la roténone.

Insoluble dans l'eau mais soluble dans les solvants organiques, la molécule de roténone est sensible à la lumière et à l'oxygène de l'air. Le dosage de la roténone peut être réalisé par une technique chromatographique en phase liquide dont le protocole est le suivant (laboratoire LARA) :

- prélèvement d'un sous-échantillon de 200 ml d'eau,
- fixation de la roténone sur micro colonne de silice C 18,
- récupération de la roténone à l'aide de méthanol,
- concentration éventuelle de la phase méthanolique sous courant d'azote,
- réalisation de deux dosages par échantillon.

D'un point de vue physiologique, la roténone a une toxicité neurale à rapprocher de celle du curare mais inversée puisqu'elle est active uniquement sur les animaux à sang froid. Elle agirait sur les ganglions cérébroïdes provoquant un effet de narcose sur différents organes dont les centres respiratoires ; mais l'effet peut être réversible. Les poissons y sont plus sensibles que les invertébrés.

II.3 - Traitement des bassins

Nous rappelons ici les modalités décrites par la station expérimentale d'Aqualive.

Le produit utilisé est l'AGRI 2001 à raison de 1 mg/l soit 0,067 mg de roténone pure par litre.

- 1) Remplir le bassin sur 20 ou 30 cm
(à ajuster en fonction de la topographie du fond).
- 2) Mesurer la hauteur moyenne de l'eau.
- 3) Calculer la quantité totale x de produit à utiliser :
quantité x en g = surface m² x hauteur moyenne d'eau en m.
- 4) Traitement de l'eau, suivant la taille du bassin, pulvériser en une ou plusieurs fois.
En cas de pulvérisations successives (n), à chaque fois diluer x dans 10 litres d'eau.
- 5) Traitement des berges 1/2 heure après.
Pulvériser sur les berges sèches une solution comprenant 1 g de produit dans 10 litres d'eau.
- 6) A la fin du traitement des berges, récupérer les anguilles montant en surface.
- 7) Attendre 15 jours (temps nécessaire à la dégradation du produit) et faire remonter l'eau à 80 cm avant le rejet de l'eau traitée.
- 8) Vérifier les systèmes de filtration.
- 9) Vidange et remplissage du bassin.

III - DEGRADATION DE LA ROTENONE

La dégradation de la roténone dépend de certains paramètres comme l'intensité lumineuse (et la présence de rayons ultra-violet), la température et la qualité de l'eau. Sur le terrain, l'éclairement, la température et à un moindre degré la salinité peuvent varier au cours d'un traitement ou entre deux traitements. C'est pourquoi ces trois paramètres ont été retenus dans l'étude de la dégradation de la roténone en laboratoire. La qualité de l'eau de mer (pH, oxygène dissous, teneurs en sels nutritifs) a été la même pour tous les essais.

III.1 - Méthodologie

Au laboratoire

Des aquariums parallépipédiques d'une contenance de 100 l ont été remplis d'une solution en eau de mer filtrée contenant 100 µg de

roténone par litre, ce qui est un peu plus élevé que la dose utilisée sur le terrain (67 µg/l). Les paramètres suivants ont été mesurés :

Teneur en nitrates : 37 mol/l
nitrites : 0,7 mol/l
phosphates : 1,5 mol/l
silicates : 25 umol/l

Ces cuves ont été stockées dans des salles thermostatées à l'obscurité totale ou en éclairage continu aux trois températures suivantes : 12, 18 et 24°C.

L'éclairage continu a été assuré par des tubes fluorescents "lumière naturelle" dont l'intensité a été contrôlée (860 lux) ; un autre essai a été réalisé en lumière ultra-violette dont l'intensité n'a pu être mesurée faute d'appareil de mesure.

Un prélèvement d'un litre a été effectué immédiatement après le remplissage des aquariums puis tous les jours pendant environ un mois. Les échantillons ont été congelés en attendant l'analyse chimique.

Sur le terrain

Deux bassins ont été traités : l'un à une dose de 1 mg/l, l'autre à 2 mg/l d'AGRI 2001 comme cela a été décrit précédemment. Il a été procédé à des prélèvements quotidiens d'eau brute qui ont été congelés avant l'analyse chimique.

III.2 - Les résultats

Les résultats bruts obtenus aussi bien en laboratoire que sur les bassins sont regroupés dans les annexes 1 et 2.

Pour les résultats obtenus en laboratoire, nous avons tracé les courbes de dégradation de la roténone en fonction du temps.

Action de la température (fig. 2)

Les premiers jours, la vitesse de dégradation est plus rapide à 18 et 24°C qu'à 12°C. Elle se stabilise après le 20ème jour, temps au bout duquel la quantité dégradée est plus importante à 24°C qu'à 18 et 12°C. Pour ces deux dernières températures, la quantité de roténone retrouvée au 30ème jour ne diffère pas significativement.

Concentration en roténone

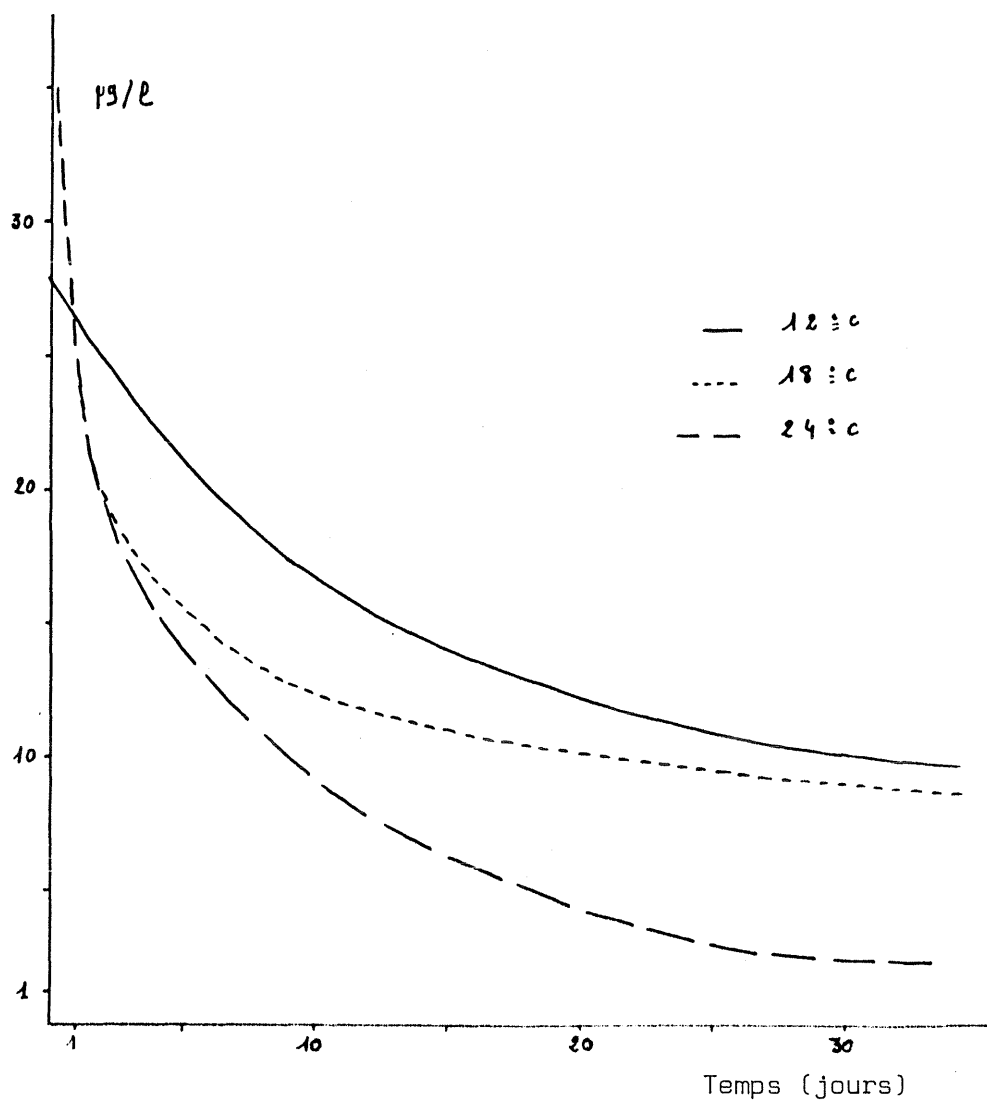


Fig. 2 - Dégradation de la roténone à 3 températures à l'obscurité.

Action de la lumière (fig. 3)

Bien que ce soit surprenant, les courbes de dégradation ne mettent pas en évidence un effet de la lumière. Si à 12°C la lumière semble favoriser la dégradation de la roténone, on observe un effet inverse à 24°C.

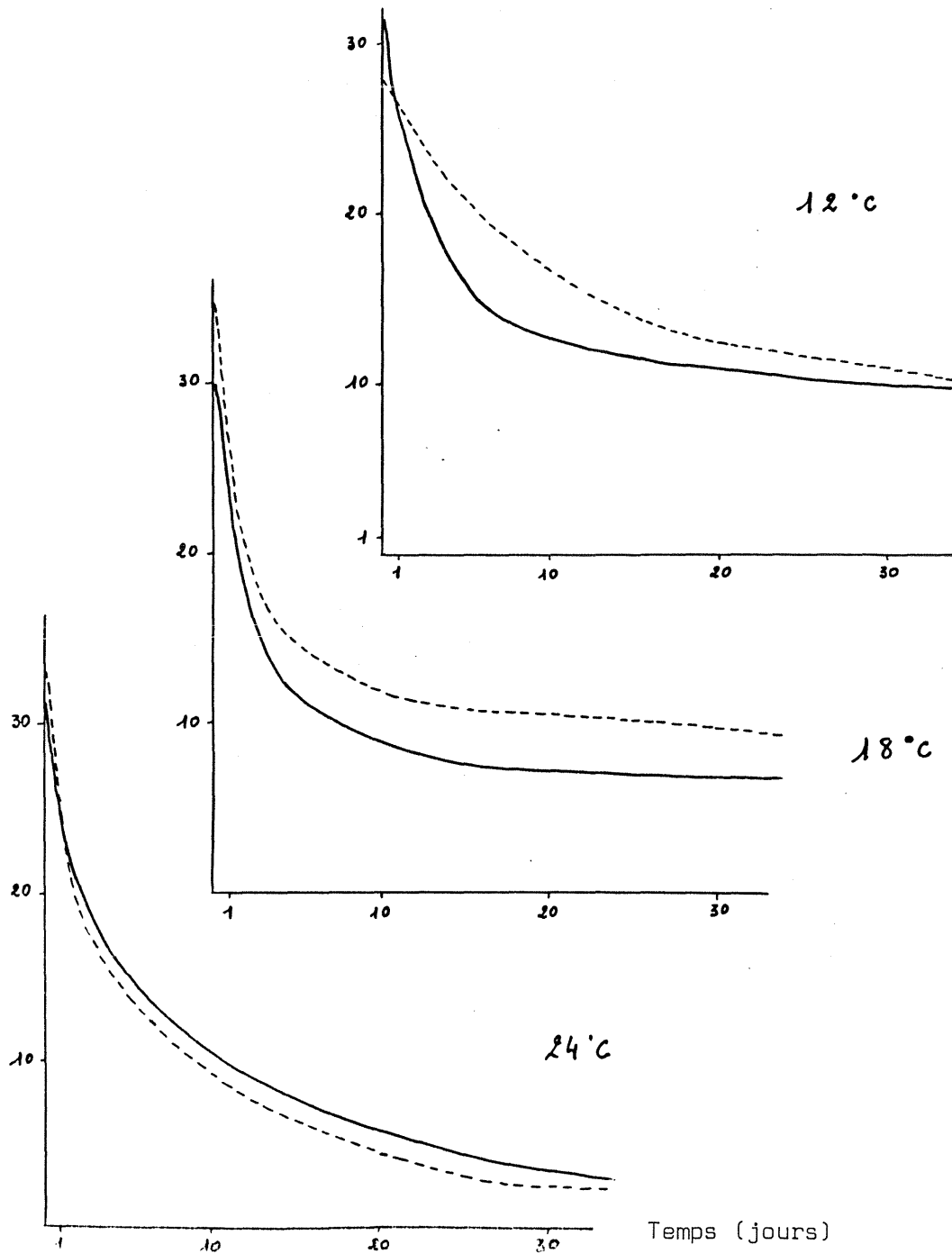
Concentration en roténone ($\mu\text{g}/\text{l}$)

Fig. 3 - Dégradation de la roténone à l'obscurité (---) en éclaircissement continu (—).

La lumière ultra-violette accélère la dégradation (fig. 4).

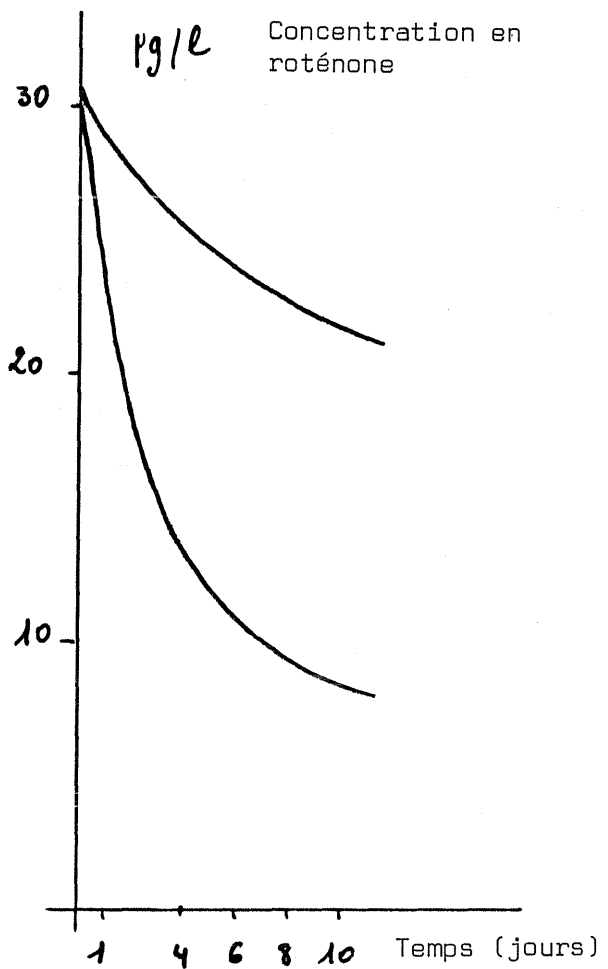


Fig. 4 - Action de la lumière ultra-violette.

Action de la salinité (fig. 5)

A 15 pour mille de salinité, la dégradation est totale à 12°C en absence de lumière.

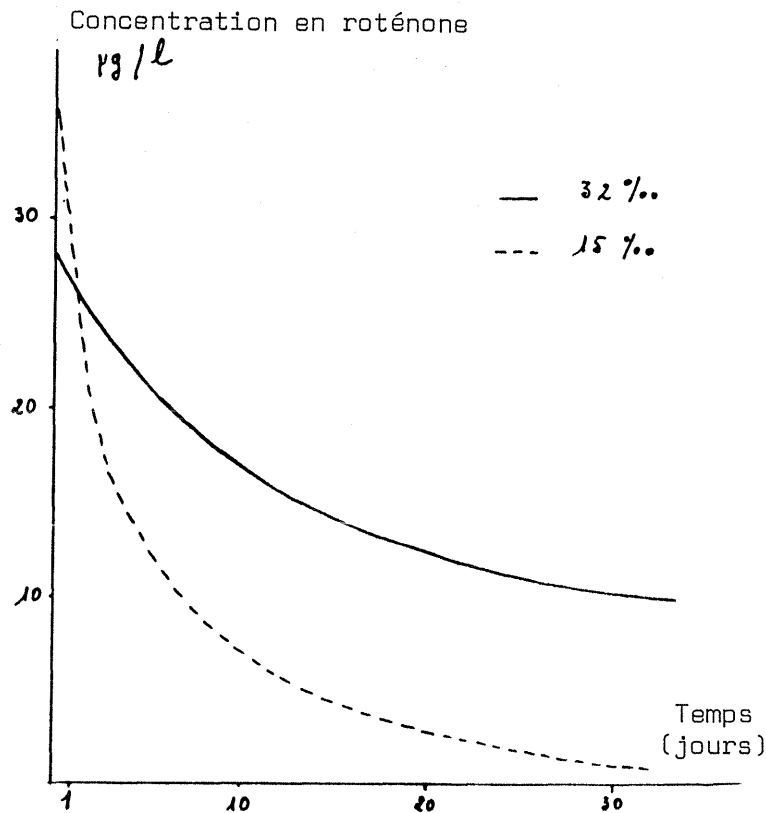


Fig. 5 - Dégradation de la roténone en fonction de deux salinités.

III.3 - Discussion

Les essais réalisés en laboratoire tendraient à montrer un effet prépondérant de la température bien qu'il ne soit pas particulièrement flagrant. Peut être parce que les températures étudiées ici sont trop proches. En effet, des expérimentations récentes en milieu naturel (GILDERHUS et ALLEN, 1986) réalisées à des écarts importants de température, ont montré que la roténone se dégrade plus vite à haute température : à 24°C, la concentration initiale de 0,15 est tombée à 0,02 mg/l en 48 heures alors qu'à 0°C la concentration initiale de 0,1 est passée à 0,02 mg/l en 11 jours.

Par contre, ces résultats montrent que la dégradation a lieu principalement les premiers jours sinon les premières heures, observation vérifiée d'une manière encore plus évidente sur le terrain où dès le deuxième jour, après le traitement à dose normale, la teneur est inférieure au seuil de détection analytique. Il est probable que dans les bassins, la matière en suspension et le fond vaseux jouent un rôle dans la rétention et/ou la dégradation de la roténone.

IV - TOXICITE VIS A VIS D'ORGANISMES MARINS

Nous distinguerons les tests standardisés, réalisés au laboratoire, des essais effectués sur le terrain visant à mettre en évidence la toxicité résiduelle.

IV.1 - Tests de laboratoire

Nous avons testé la toxicité de l'AGRI 2001 et dans quelques cas, le solvant dans lequel la roténone est dissoute : le terpène de menthe.

a) Sur une algue unicellulaire : Skeletonema costatum

Méthodologie

La croissance de la culture d'algue est suivie dans des ballons de 10 litres, contenant 6 litres d'eau de mer filtrée enrichie (par 12 ml de milieu E.S. Provasoli) et équipés d'un système d'aération et d'agitation (barreau aimanté). Après stérilisation de ces récipients, l'inoculum de S. costatum et le produit testé à la concentration voulue, sont introduits dans le ballon en atmosphère stérile. Les ballons sont maintenus dans une pièce thermostatée à 16°C et soumis à un éclairage nyctéméral. Des prélèvements sont effectués quotidiennement pendant 96 heures ; la concentration cellulaire est estimée par comptage au microscope sur cellule de Malassez. Il a été réalisé trois essais par concentration et trois témoins.

Résultats

Les résultats bruts obtenus avec l'AGRI 2001 et le terpène de menthe sont donnés dans l'annexe 3.

On a calculé le pourcentage d'inhibition (I) par rapport aux témoins par la formule suivante :

$$I = \frac{Ac - At}{Ac} \times 100$$

Ac : aire de la courbe de croissance du témoin

At : aire de la courbe de croissance de chaque concentration

Ainsi la dose correspondant à une inhibition de croissance de 50 % est comprise entre 7 et 10 mg/l pour l'AGRI soit entre 0,47 et 0,67 mg/l de roténone pure et se situe aux environs de 1,5 mg/l pour le solvant qui se révèle être plus toxique pour l'algue.

b) Sur plusieurs espèces de petits crustacés

. Tests de mortalité aigüe

Des tests de ce type ont déjà été réalisés sur quelques espèces de crustacés, en 1981, par le laboratoire "Effets biologiques des nuisances" ; nous rappellerons ici les modalités et nous regrouperons les résultats avec ceux obtenus récemment (LASSUS, 1981).

Méthodologie

Les individus sont isolés un par un dans des petits cristallisoirs contenant la dilution à tester. Les essais sont réalisés à 16 ou 20°C selon que les espèces choisies proviennent d'élevage en laboratoire ou de pêche côtière. La mortalité est observée au bout de 96 heures sur 10 individus (30 pour les larves de crevette).

Résultats

Espèces testées	Température °C	DL 50 - 96 heures en mg AGRI/l
Crevette blanche : <u>Palaemonetes varians</u>	16	5 < DL 50 < 10
Crevette japonaise : <u>Paenaeus japonicus</u>	20	2 < DL 50 < 5
Artémie : <u>Artemia salina</u>	20	0,1 < DL 50 < 0,5
Copépode : <u>Tygrionus brevicornis</u>	20	DL 50 > 50
Larve de crevette rose : <u>Palaemon serratus</u>	20	0,5 < DL 50 < 1

. Test sur la production larvaire d'un copépode

Méthodologie

Les tests sont réalisés dans des cristallisoirs de 20 ml. Dans chaque récipient une femelle ovigère a été isolée. 30 femelles sont expérimentées par concentration. Deux lots, soit 60 femelles ovigères, sont réservés aux témoins. Ces tests nous permettent d'évaluer au bout de 10 jours la production larvaire par femelle ovigère soumise à l'expérience. On retire la femelle dès l'éclosion et on effectue, le 10ème jour, un comptage global sur cuve Dolfuss des nauplii et copépodites fixés au lugol.

Résultats

Les résultats sont consignés dans l'annexe 4. Nous avons par la méthode des "Log Probits" situé la CL 50 de la production larvaire à $404 + 2 \text{ ug l}^{-1}$ pour l'AGRI 2001 soit $27,07 \text{ ug l}^{-1}$ de roténone pure et à $98 + 2 \text{ ug l}^{-1}$ pour le terpène de menthe. Ceci corrobore les résultats obtenus avec l'algue Skeletonema costatum : la toxicité du solvant (terpène de menthe) est plus grande que celle de la roténone pure.

c) Sur quelques espèces de poissons

Les tests ont été réalisés par le laboratoire "Effets biologiques des nuisances" sur trois espèces de petits poissons.

Méthodologie

Elle est la même que pour les tests 96 heures réalisés sur les crustacés. Les résultats ne sont retenus que lorsque les témoins ne présentent, en 4 jours, aucune mortalité.

Résultats

Espèces testées	Température °C	DL 50 - 96 heures en mg AGRI/l
Gobie : <u>Pomatoschistus minutus</u>	16	0,1 < DL 50 < 0,5
Alevin d'anguille : <u>Anguilla anguilla</u>	16	0,01 < DL 50 < 0,5
Epinoche : <u>Gasterosteus aculeatus</u>	16	0,005 < DL 50 < 0,1

d) Discussion

Dans la bibliographie, on rencontre peu de résultats concernant la toxicité *in vitro* de la roténone sur la faune marine alors que ces résultats existent sur la faune d'eau douce (MARKING et BILLS, 1976 ; CHANDLER, 1982) nous discuterons donc par rapport à ces derniers. En accord avec ces références, on remarque que les poissons sont plus sensibles à la roténone que les invertébrés. Nous attirons l'attention sur la jeune anguille pour plusieurs raisons. C'est l'hôte le plus commun des marais (avec le crabe vert) et le plus difficile à éliminer puisqu'il peut séjourner dans la boue, hors d'eau, mais il est aussi le poisson le plus sensible à la roténone. La DL 50 est inférieure à 0,05 mg d'AGRI/litre soit environ 3 µg/l de roténone pure, ce qui correspond à ce que HINTON et al. (1979) ont trouvé en eau douce : la DL 50 96 heures (22°C) étant de 2,5 µg/l de roténone.

Cette espèce est donc la première visée par le traitement à la roténone mais elle représente aussi une ressource économique dans les zones marécageuses ; c'est pourquoi nous l'avons choisie pour la mise en évidence de la toxicité résiduelle sur le terrain.

IV.2 - Essais sur le terrain

Le but de ces essais était de mettre en évidence la durée de la toxicité rémanente après le traitement à la roténone car l'analyse chimique ne nous informe pas sur les produits de dégradation et/ou les

échanges éventuels qui pourraient prolonger la toxicité du milieu traité. A cet effet, nous avons utilisé de jeunes anguilles ou civelles, pêchées dans l'estuaire de la Loire.

Procédure

Aussitôt après le traitement à la roténone, deux cages contenant 20 jeunes anguilles chacune, ont été placées dans le bassin espacées l'une de l'autre et loin des bords. Quelques heures après (6 à 8 heures) on a procédé à l'immersion de deux autres cages à proximité des premières. Puis le deuxième jour et les jours suivants, soit $T_0 + 24$ heures, $T_0 + 48$ heures, etc... on immerge deux cages jusqu'à la survie de toutes les civelles. On a observé la mortalité tous les jours au début de l'expérience, puis toutes les 48 heures.

Résultats

Les résultats bruts sont reportés à l'annexe 2. Nous avons représenté la toxicité rémanente par un graphique donnant l'évolution du pourcentage de mortalité en fonction du temps (fig. 6).

Durant l'expérimentation, la température de l'eau a évolué entre 8 et 14°C, ce qui est un peu plus froid que les conditions habituelles de traitement) mais cet essai a été réalisé un peu plus tôt dans la saison (au mois d'avril) ce qui correspond à la fin de la remontée de la civelle. Le pH de l'eau s'est stabilisé autour de 8,1 ($\pm 0,1$) et la salinité autour de 30 pour mille (± 2).

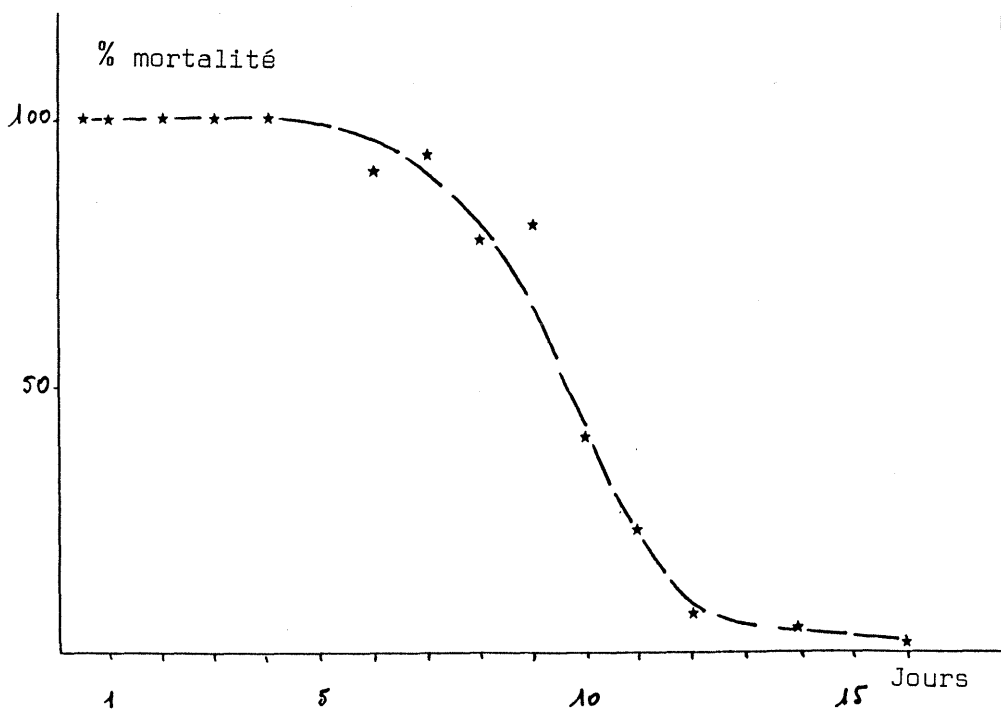


Fig. 6 - Pourcentage de mortalité des civelles au cours du temps.

Discussion

Bien que chimiquement, on observe une dégradation rapide de la roténone dans l'eau du bassin (3 ou 4 jours), la toxicité rémanente se fait sentir bien au-delà des premiers jours. Ceci est difficile à expliquer, sinon par une dégradation de la roténone en produits eux-mêmes toxiques et instables ou par une rétention puis un relargage du toxique par le sédiment.

La civelle semblerait être sensible dans les conditions naturelles à des seuils qui ne sont pas détectables à l'analyse. Ce qui n'est pas en contradiction avec les résultats obtenus in vitro. Car les DL 50 étant des valeurs théoriques qui ne tiennent pas compte de la dégradation, les doses réelles toxiques sont certainement inférieures.

V - CONCLUSION

La roténone et le produit émulsifiable AGRI 2001 ont donné satisfaction pour la production de crevettes en marais littoraux. Cependant, l'impact du rejet des eaux de traitement en milieu était fortement discuté. Qu'en est-il après la réalisation de cette étude ?

Le suivi de la disparition dans l'eau de la roténone, aussi bien en laboratoire que sur le terrain, montre que cette molécule se dégrade vite. En effet, la concentration dans l'eau décroît rapidement, on retrouve moins de 50 % du toxique 24 heures après sa mise en solution, quelque soit la température et l'éclairement ; la lumière ultra-violette accentuant encore plus ce phénomène. Sur le terrain, au travers des analyses dans l'eau, on peut conclure à une disparition totale au bout du deuxième jour si la dose utilisée est normale, c'est à dire 1 mg d'AGRI par litre.

Pourtant l'immersion, espacée dans le temps, de civelles vivantes dans le bassin a révélé une toxicité résiduelle (23 % de mortalité) 11 jours après le traitement, ce qui n'aurait pu être soupçonné aux seules vues des résultats de toxicologie in vitro et aux analyses chimiques dans l'eau. Il y a donc des interactions entre la molécule de roténone et le milieu que nous n'avons pas mises en évidence.

Cette observation doit attirer l'attention sur les précautions à prendre dans l'utilisation du produit : elles sont indispensables afin de ne pas mettre en péril la faune extérieure à la zone d'exploitation. Ainsi la civelle est une ressource économique importante dans des zones qui sont précisément limitrophes des marais littoraux susceptibles d'accueillir une activité aquacole.

Le mode opératoire du traitement tel qu'il a été mis au point et décrit par la station expérimentale d'Aqualive répond à ces

exigences car il prévoit un temps de résidence de 15 jours, temps au bout duquel nous avons observé une disparition de la toxicité résiduelle et une dilution des eaux traitées. De plus, le bassin de stockage qui reçoit les eaux de vidanges est une zone "tampon" entre le bassin traité et le milieu extérieur et représente donc une sécurité supplémentaire.

En conclusion, ce mode opératoire pourrait être agréé à condition qu'il soit appliqué dans des installations dont le principe de fonctionnement est analogue à celui que nous avons décrit et qu'il soit scrupuleusement respecté.

BIBLIOGRAPHIE

- ANONYME, 1984.- Campagne 1984 de grossissement de P. japonicus sur la côte Atlantique. Résultats des essais conduits par la station IFREMER de Noirmoutier.
- CHANDLER (J.H.), 1982.- Toxicity of rotenone to selected aquatic invertebrates and frog larvae. Prog. fish. Cult. 44 (2) : 78-80.
- CONNEFROY (D.), 1985.- Grossissement de P. japonicus en élevage semi-intensif. DESS. Cult. Marines. Université de Caen. Mai-Octobre 1985.
- GILDERHUS (P.A.) and ALLEN (J.L.), 1986.- Persistence of rotenone in Ponds at different temperatures. Management briefs. Nat. Ameri. Journ. of Fish Marrag. 6 : 129-130.
- HUSSENOT (J.), 1983.- Destruction des poissons prédateurs par la roténone. Rapport technique 83 T 02. FRANCE AQUACULTURE.
- HINTON (M.J.) and EVERSOLE (A.G.), 1979.- Toxicity of ten chemicals commonly used in aquaculture to the black eel stage of the american eel. Proc. World Maricult. Soc. 10 : 554-560.
- KRUMHOLZ (L.A.), 1948.- The use of retonene in fisheries research. J. Wildl. Mgnt 12 3 : 305-317.
- LASSUS (P.), 1981.- Résultats d'analyses toxicologiques sur la roténone. Document ISTPM, 7 pp.
- MARKING (L.L.) and BILLS (T.D.), 1976.- Toxicity of retenone to fish in standardized Laboratory tests. U.S. : Fish. Wildl. Serv. Invest. Fish. Control 72, 11 pp.
- MATLOCK (G.C.), WEAVER (J.E.) and GREEN (A.W.), 1982.- Sampling Nearshore Estuarine Fishes with rotenone. Transactions of the American Fisheries Society 111 : 326-331.

ANNEXE 1. Essais au laboratoire. Dégradation de la roténone au cours du temps
(teneurs en roténone dans l'eau en microgrammes par litre).

Conditions expérimentales			Date de prélèvement de l'échantillon en jours à partir du traitement														
Température de l'eau	Eclairage (Intensité en Luxs)	Salinité															
			0	1	3	6	8	11	12	15	19	20	23	26	27	33	34
12°C	Néant	32 ‰	28.0	27.0	22.4	20.8	16.9	18.4	15.4	11.4	13.6	10.1	11.3	12.0	11.3	10.8	8.0
12°C	Continu (860)	32 ‰	30.0	30.0	21.2	14.6	9.5	12.1	13.0	11.4	8.1	9.6	9.3	11.5	12.4	9.2	8.8
12°C	Néant	15 ‰	40.0	36.0	16.5	10.8	8.5	5.5	5.1	3.8	3.8	3.2	2.8	2.9	2.9	< 0.8	< 0.8
18°C	Néant	32 ‰	35.0	35.0	16.0	13.6	13.6	11.0	12.1	11.8	11.5	10.2	9.1	11.7	12.0	7.2	6.8
18°C	Continu (860)	32 ‰	31.0	28.0	14.6	10.4	9.1	7.5	9.6	9.1	9.7	9.0	8.6	8.5	8.8	7.6	6.0
24°C	Néant	32 ‰	35.0	26.0	18.4	10.4	7.1	11.0	10.4	10.9	8.2	6.7	3.3	2.5	2.9	2.4	2.0
24°C	Continu (860)	32 ‰	33.0	25.0	18.4	13.6	12.2	8.7	10.4	10.5	10.3	5.7	5.9	3.6	3.6	2.4	2.4
			0	1	2	4	6	8	10								
20°C	Continu (860)	33 ‰	31.4	28.2	26.3	26.5	24.6	23.0	21.2								
20°C	Ultra Violet	33 ‰	31.3	24.5	19.6	12.4	11.9	9.7	8.1								

ANNEXE 2. Essais sur le terrain.

Dégradation de la roténone au cours du temps
(teneurs en microgrammes par litre d'eau)

Temps après le traitement	1 heure	1e jour	2e jour	3e jour	4e jour	5e jour	6e jour	7e jour	8e jour	9e jour
Dose initiale 1 mg AGRI/litre	6,6	2,7	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Dose initiale 2 mg AGRI/litre	36,9	12,3	7,3	5,0	1,8	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5

Taux de mortalité (nbre de morts/nbre total) des civelles au bout
de 24 ou 48 heures aux deux points A et B du bassin.

Durée écoulée après le traitement	6 heures	1e jour	2e jour	3e jour	4e jour	6e jour	7e jour	8e jour	9e jour	10e jour	11e jour	12e jour	13e jour	14e jour	16e jour
Point A	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	16/20	16/19	14/20	16/20	11/21	4/22	0/22	1/20	2/21	2/21
Point B	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	17/21	17/20	6/21	6/22	3/20	0/20	0/21	0/20

ANNEXE 3

Toxicité sur une algue unicellulaire : Skeletonema costatum.

Effet sur la croissance (exprimée en nombre de cellules par litre)
en fonction du temps (en heure) de :

1) AGRI 2001

	0	24	48	72	96	At	% inhibit.
Témoin	4,7	26	206	1 080	1 635	2 113	
1 mg/l	6	27	260	1 285	1 568	2 335	- 0,11
3 mg/l	2	19	209	1 210	1 556	2 205	- 0,04
5 mg/l	2,7	16,7	150	1 141	1 545	2 071	0,02
7 mg/l	2,7	13,7	110	754	724	1 230	0,42
10 mg/l	3	6,3	44,3	369	912	865	0,59

2) le terpène de menthe

	0	24	48	72	96	At	% inhibit.
Témoin	72	122	426	803	1 253		
1 mg/l	86	121	319	731	1 080		18,3
1,5 mg/l	76	78	193	447	823		50
2 mg/l	95	62	39	51	55		109
2,5 mg/l	71	63	43	31	36		105
3 mg/l	39	52	40	31	5		101
5 mg/l	4	1	0	0	0		101
7 mg/l	2	1	0	0	0		100

ANNEXE 4

Effets sur la production larvaire du copépode Tigriopus brevicornis

AGRI 2001

Concentration en $\mu\text{g l}^{-1}$	Pourcentage de mortalité	Log de la dose	Probit empirique	Probit probable
50	21,33	1,69897	4,211	3,967
100	24,22	2,000	4,294	4,32
500	38,00	2,69897	4,695	5,148
1 000	70,00	3,000	5,524	5,50
3 000	85,33	3,47712	6,058	6,067
5 000	94,00	3,69897	6,555	6,33

$$CL_{50} = 404 \pm 2 \mu\text{g l}^{-1}$$

Terpène de menthe

Concentration en $\mu\text{g l}^{-1}$	Pourcentage de mortalité	Log de la dose	Probit empirique	Probit probable
5	8,02	0,69897	3,595	3,280
10	14,56	1,0000	3,942	3,678
30	17,93	1,47712	4,085	4,309
50	17,09	1,69897	0,046	4,6022
70	20,04	1,84510	4,158	4,795
100	24,68	2,0000	4,310	5,000
120	52,32	2,07918	5,0875	5,105
140	74,26	2,14613	5,658	5,193
160	91,56	2,20412	6,372	5,270

$$CL_{50} = 98 \pm 2 \mu\text{g l}^{-1}$$