

**ÉVALUATION ÉCOTOXICOLOGIQUE DE LA
TOXICITÉ DES EAUX SOUTERRAINES PRÉLEVÉES
AU TECHNOPARC (MONTRÉAL)**

Rapport ST-224

Évaluation écotoxicologique de la toxicité des eaux souterraines prélevées au Technoparc (Montréal)

Sylvain Trottier
Services Scientifiques et techniques

Centre Saint-Laurent
Conservation de l'environnement
Environnement Canada

Janvier 2003

COMMENTAIRES DES LECTEURS

Veillez adresser vos commentaires sur le contenu du présent rapport au Centre Saint-Laurent, Conservation de l'environnement, Environnement Canada – Région du Québec, 105, rue McGill, 7^e étage, Montréal (Québec), H2Y 2E7.

On devra citer la publication comme suit :

Trottier, S. 2003. *Évaluation écotoxicologique de la toxicité des eaux souterraines prélevées au Technoparc (Montréal)*. Environnement Canada - Région du Québec, Conservation de l'environnement, Centre Saint-Laurent. Rapport scientifique et technique ST-224, 22 pages.

Perspective de gestion

À la suite d'une étude de caractérisation environnementale réalisée en 1999 par la Ville de Montréal et d'une étude pour la construction d'un système d'interception et de récupération des phases flottantes d'hydrocarbures en provenance du Technoparc, le ministère de l'Environnement du Québec et Environnement Canada ont demandé à la Ville de Montréal de réaliser une étude de caractérisation de la toxicité des eaux souterraines. Dans ce contexte, la Direction de la protection de l'environnement (Environnement Canada), Section Intervention et Restauration, a mandaté le laboratoire du Centre Saint-Laurent (CSL) de procéder à une caractérisation bioanalytique des eaux souterraines de quatre portions du Technoparc ainsi que d'assurer le contrôle de la qualité pour les essais réalisés par des laboratoires privés.

Management Perspective

In 1999, the City of Montreal conducted an environmental characterization study of the Technoparc and undertook a feasibility study of the installation of an interception/recovery system for the floating hydrocarbons discharging at this site. The Quebec Environment Ministry and Environment Canada subsequently requested that the City of Montreal perform toxicity characterization study of the ground water at the Technoparc. The Environmental Protection Branch of Environment Canada, Intervention and Restoration Section, thus presented the St. Lawrence Centre laboratory with the mandate to conduct a bioanalytical characterization of the groundwater at four sectors of the Technoparc and to ensure the quality control of the assays performed by private laboratories.

Remerciements

Les personnes suivantes ont participé à la supervision et(ou) à la réalisation des bioessais :

*Laboratoire, secteur écotoxicologie
Section Services scientifiques et techniques
Centre Saint-Laurent
Environnement Canada*

Geneviève Farley, B. Sc
Manon Harwood, M. Sc.
Sylvain Trottier, M. Sc.
Brian Walker, B. Sc

Résumé

Des échantillons d'eaux souterraines ont été prélevés à deux reprises, soit les 26 et 27 juillet 2002 et les 16 et 17 août 2002, à chacune des quatre stations (99F117-9, PO99-4, PR-2 et PO-8) dans le secteur sud du Technoparc, pour un total de huit échantillons. Tous les échantillons ont été soumis à une caractérisation bioanalytique à l'aide de bioessais réalisés en laboratoire. La batterie bioanalytique était composée de quatre bioessais réalisés au Centre Saint-Laurent et (ou) dans des laboratoires privés. Les bioessais réalisés étaient le MicrotoxTM (*Vibrio fischeri*), l'essai d'inhibition de la croissance avec l'algue verte *Selenastrum capricornutum*, l'essai de létalité aiguë avec la Truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* et le test d'inhibition de la reproduction et de survie avec *Ceriodaphnia dubia*. De plus, deux mesures de biomarqueurs, les métallothionéines (MT) et les oxygénases à fonction mixte (OFM), ont été réalisées sur les échantillons prélevés. Ce rapport présente et discute sommairement des résultats de la caractérisation bioanalytique exécutée au Centre Saint-Laurent et intègre également certains résultats des bioessais effectués dans des laboratoires privés.

La batterie sélectionnée a permis d'évaluer le potentiel toxique des eaux souterraines à différents niveaux trophiques. Les échantillons présentent généralement un gradient de toxicité décroissant du secteur amont (99F117-9 et PO99-4) vers le secteur aval (PR-2 et PO-8). Plus particulièrement, des mortalités chez la Truite arc-en-ciel ont été observées aux stations 99F117-9 et PO99-4 alors qu'il y a absence de mortalité aux stations PR-2 et PO-8. Une tendance similaire se dégage des essais avec le cladocère *Ceriodaphnia dubia* réalisés par un laboratoire privé; les valeurs de CL₅₀ du secteur amont varient de 1,8 à 5,6 UT et celles du secteur aval sont inférieures à 1 UT. Des effets toxiques sublétaux ont été observés chez ce même organisme à chacun des points d'échantillonnage avec des valeurs rapportées variant de 3,6 à 13,5 UT. À un niveau sublétaux, une inhibition de la luminescence de la bactérie *V. fischeri* est dénotée aux stations PR-2 (9,9 UT) et PO-8 (2,0 UT), alors qu'un effet inhibiteur marginal est observé au puits d'observation PO99-4. La toxicité des eaux souterraines pour l'algue verte *Selenastrum capricornutum* lors des essais conduits avec les échantillons du secteur amont s'est avérée marginale à modérée. En ce qui concerne les échantillons du secteur aval, il y avait absence de toxicité chez cette algue verte. Des mesure des OFM et MT effectuées sur des truitelles exposées

vi

ont démontré une induction des OFM à 100 p. 100 v/v et des MT à 25 p. 100 pour les sites PO-8 et 99F117-9 respectivement.

Abstract

Samples of groundwater were collected on two occasions, June 26 and 27 and August 16 and 17, 2002, at each of four stations (99F117-9, PO99-4, PR-2 and PO-8) in the southern sector of the Technoparc, for a total of eight samples. All the samples were characterized by a bioanalytic test battery performed in the laboratory by the St. Lawrence Centre or by selected private labs. Four bioassays were used: The MicrotoxTM (*Vibrio fischeri*); a growth inhibition assay using the green alga *Selenastrum capricornutum*; an acute lethality assay on rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*; and a reproduction and survival inhibition assay on *Ceriodaphnia dubia*. The test samples were also measured for two biomarkers, metallothionein (MT) and mixed-function oxygenase (MFO). This report presents and briefly discusses the results of the bioanalytical characterizations performed by the St. Lawrence Centre and includes some of the results obtained by the private laboratories.

The test battery served to assess the toxic potential of the groundwater at different trophic levels. The samples exhibited a descending upstream-to-downstream toxicity gradient. More specifically, rainbow trout mortalities were observed at upstream stations 99F117-9 and PO99-4, whereas no deaths were reported at stations PR-2 and PO-8 located downstream. A similar trend was reported in assays conducted by one of the private laboratories using the cladocera *C. dubia*; the lethal concentration fifty (LC₅₀) values of the upstream sector ranged from 1.8 to 5.6 toxicity units (TU), while those of the downstream sector were below 1 TU. Sublethal toxic effects were observed in this same organism at each sampling point, with reported values ranging from 3.6 to 13.5 TU. At the sublethal level, light inhibition in the bacterium *V. fischeri* was noted at stations PR-2 (9.9 TU) and PO-8 (2.0 TU), while a marginal inhibitive effect was noted at observation well PO99-4. The toxicity of groundwater samples collected from the upstream sector proved to be marginal to moderate to the green alga *S. capricornutum*; samples drawn from the downstream sector were not toxic to this alga. Measured MFO and MT in exposed troutlings demonstrated 100% (v/v) MFO induction and 25% (v/v) MT induction for stations PO-8 and 99F117-9, respectively.

Table des matières

RÉSUMÉ	V
LISTE DES FIGURES	X
LISTE DES TABLEAUX	XII
DÉFINITIONS	XIII
LISTE D'ABRÉVIATIONS	XIV
1 INTRODUCTION	1
2 MÉTHODOLOGIE	2
2.1 PRÉLÈVEMENT, MANUTENTION, TRANSPORT ET ENTREPOSAGE DES ÉCHANTILLONS	2
2.2 PRÉPARATION, TRAITEMENT ET SUBDIVISION DES ÉCHANTILLONS	4
2.3 PARAMÈTRES DE SOUTIEN À L'INTERPRÉTATION BIOANALYTIQUE	4
2.4 BIOESSAIS	6
2.4.1 Bioessai avec bactéries luminescentes (<i>V. fischeri</i>)	6
2.4.1.1 Méthode	6
2.4.1.2 Traitement des données	7
2.4.2 Bioessai avec algues (<i>S. capricornutum</i>)	8
2.4.2.1 Méthode	8
2.4.2.2 Traitement des données	8
2.4.3 Bioessai avec Truites arc-en-ciel (<i>O. mykiss</i>)	9
2.4.3.1 Méthode	9
2.4.3.2 Traitement des données	9
2.5 BIOMARQUEUR DE MESURE DE L'INDUCTION DES MÉTALLOTHIONÉINES (MT) ET DES OXYGÉNASES À FONCTION MIXTES (OFM)	9
2.5.1 Mesure de l'induction des métallothionéines	10
2.5.1.1 Méthode	10
2.5.1.2 Traitement des données	10
2.5.2 Biomarqueur de mesure de l'induction des oxygénases à fonction mixte	10
2.5.2.1 Méthode	10
2.5.2.2 Traitement des données	11
3 RÉSULTATS ET DISCUSSION	13
3.1 PHYSICO-CHIMIE	13

		ix
3.2	BIOESSAIS	14
3.2.1	Toxicité chez la bactérie <i>V. fischeri</i>	14
3.2.2	Toxicité pour l'algue <i>S. capricornutum</i>	14
3.2.3	Toxicité pour la truite <i>O. mykiss</i>	16
3.2.4	Toxicité pour le microcrustacé <i>Ceriodaphnia dubia</i>	17
3.2.5	Mesure d'induction des OFM et des MT chez les truites exposées	18
3.2.6	Contrôle de la qualité	18
4	CONCLUSION	20
	RÉFÉRENCES	21

Liste des figures

1	Plan du site et localisation des points d'échantillonnage	3
2	Préparation et division en laboratoire des échantillons d'eaux souterraines destinés aux bioessais et aux analyses physico-chimiques	5

Liste des tableaux

1	Caractéristiques descriptives des bioessais utilisés pour l'évaluation de la toxicité	7
2	Principales conditions d'essai	12
3	Résultats des paramètres physico-chimiques mesurés des eaux souterraines : échantillons recomposés au laboratoire	13
4	Sommaire des résultats bioanalytiques des échantillons du Technoparc (Montréal) pour les essais réalisés au Centre Saint-Laurent	15
5	Taux moyen d'inhibition de la luminescence chez <i>V. fischeri</i> pour les essais réalisés sur les eaux souterraines	16
6	Taux d'inhibition de la croissance cellulaire chez <i>S. capricornutum</i>	16
7	Pourcentage de mortalité après 96 heures pour les essais réalisés avec la truite arc-en-ciel	17
8	Résultats d'analyse des produits toxiques de référence et données statistiques des diagrammes de contrôle	19

Définitions

Bioessai - Test permettant de déterminer l'effet d'une matière ou d'une matrice (p. ex. un échantillon d'effluent industriel) sur un groupe d'organismes choisis d'une même espèce (p. ex. *Vibrio fischeri*), dans des conditions bien définies. Un test de toxicité sert normalement à mesurer soit la proportion des organismes atteints, soit l'intensité de l'effet observé, après l'exposition à une matière ou une matrice expérimentale donnée.

CI₅₀ - Concentration inhibitrice médiane. Il s'agit de l'estimation ponctuelle de la concentration de sédiments qui provoque une inhibition de 50 p. cent d'une fonction biologique quantitative (p. ex. l'activité estérasiq), par rapport à des organismes de contrôle, après une période d'exposition donnée.

CL₅₀ - Concentration létale médiane. Il s'agit de la concentration d'effluent (% v/v) qui est considérée létale chez 50 % des organismes soumis à l'essai. La CL50 est dérivée ici par l'analyse statistique des mortalités survenues à différentes concentrations expérimentales, après une période d'exposition donnée (p. ex. 96 h).

CMEO - Concentration minimale avec effet observé. Il s'agit de la concentration la plus faible d'une matrice expérimentale à laquelle des organismes sont exposés et qui provoque des effets nocifs chez ces organismes.

Contrôle de qualité - Ensemble de techniques et moyens de mesure et d'évaluation de la qualité des données et, le cas échéant, des correctifs à appliquer lorsque les objectifs de qualité ne sont pas atteints.

CSE - Concentration seuil d'effet. Il s'agit de la moyenne géométrique de la CSEO et de la CMEO.

CSEO - Concentration sans effet observé. Il s'agit de la plus forte concentration d'un échantillon expérimental qui, chez les organismes exposés, ne provoque aucun effet nocif observé et statistiquement significatif.

Diagramme de contrôle - Diagramme des valeurs de toxicité moyennes préparé en vue des essais de produits toxiques de référence. Les résultats d'une série d'essais consécutifs sont tracés sur un diagramme dont l'abscisse indique la date des essais et l'ordonnée, la concentration correspondant à un effet précis. Le diagramme indique également la variabilité prévue des résultats bioanalytiques.

Limite d'avertissement - Valeur équivalant à plus ou moins 2 écarts types d'une moyenne géométrique historique d'un bioessai avec un produit toxique de référence. Elle est calculée sur une base logarithmique.

Test de toxicité - Voir bioessai.

Toxicité - Capacité propre d'une substance ou d'une matrice (p. ex. un échantillon d'effluent industriel) de provoquer des effets nocifs chez l'organisme exposé.

Unité toxique - Unité relative de toxicité d'un échantillon expérimental. Pour un effluent, le calcul est effectué comme suit :

$$\text{Unité toxique} = \frac{100 \%}{\text{résultat de toxicité (p.ex. CI}_{50} = x \%)}$$

Liste d'abréviations

°C	degré Celsius
cm	centimètre
CMEO	concentration minimale avec effet observé
CSE	concentration-seuil d'effet
CSEO	concentration minimale sans effet observé
CSL	Centre Saint-Laurent
CV	coefficient de variation
h	heure
L	litre
LIA	limite inférieure d'avertissement
LSA	limite supérieure d'avertissement
mL	millilitre
mL	microlitre
mm	micromètre
nm	nanomètre
% v/v	pourcentage volume sur volume
rpm	rotation par minute
s	écart type
<	plus petit que
>	plus grand que
GDG	GDG Laboratoire Inc.

1 Introduction

Depuis 1991, plusieurs études de caractérisation des résurgences en provenance du Technoparc ont été réalisées. À la suite de l'examen des rapports de ces études, la Ville de Montréal a effectué des travaux complémentaires, à la demande du ministère de l'Environnement du Québec et d'Environnement Canada, afin de caractériser la toxicité des eaux souterraines.

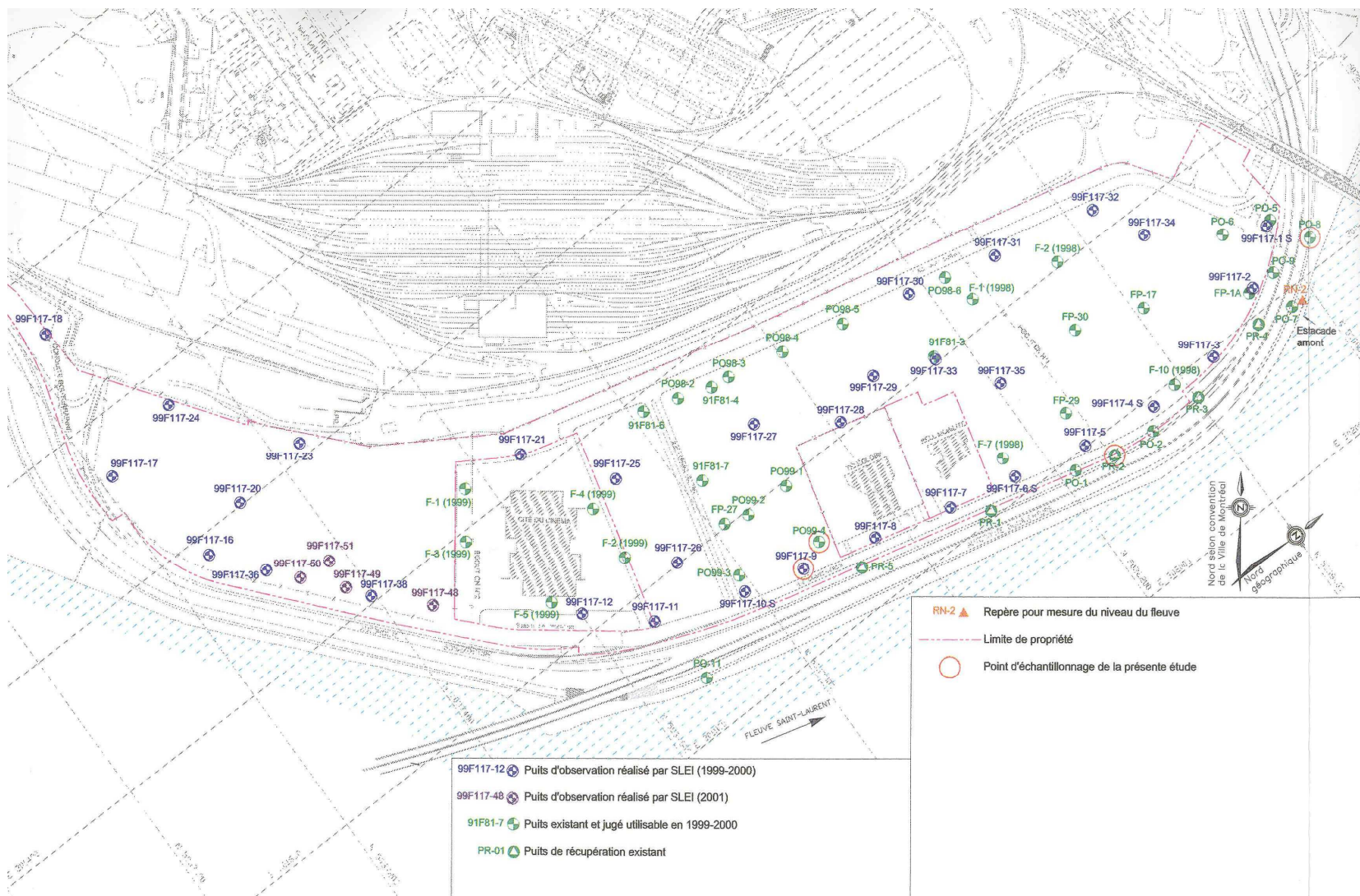
Le présent rapport est publié dans le cadre de ces travaux de caractérisation des eaux souterraines provenant de quatre puits d'observation situés dans secteur sud du Technoparc. Cette étude est le fruit d'une entente de collaboration entre Environnement Canada (Direction de la protection de l'environnement) et la Ville de Montréal. Elle vise à évaluer de l'impact du potentiel de contamination de ce secteur vers l'écosystème fluvial du Saint-Laurent. C'est dans ce contexte que la Direction de la protection de l'environnement a mandaté le laboratoire du Centre Saint-Laurent (CSL) de procéder à une partie de la caractérisation bioanalytique ainsi qu'à assurer le contrôle de la qualité d'échantillons testés dans les laboratoires privés.

Nous présentons ici les résultats de la caractérisation bioanalytique des échantillons des eaux souterraines analysées au laboratoire du CSL et rapportons sommairement les résultats de toxicité. Il importe de préciser qu'il n'est pas question dans ce rapport des niveaux de contamination, des causes possibles de la toxicité observée dans les bioessais, des effets sur le milieu récepteur, des facteurs environnementaux du milieu récepteur qui peuvent modifier la toxicité des contaminants (p. ex., la présence d'autres sources de contamination), ni des phénomènes de bioaccumulation.

2 Méthodologie

2.1 PRÉLÈVEMENT, MANUTENTION, TRANSPORT ET ENTREPOSAGE DES ÉCHANTILLONS

Les travaux de terrain, la manutention, le transport et l'entreposage ont été confiés au groupe SNC-Lavalin Environnement inc. Le personnel de la Direction de la protection de l'environnement a pris part à certaines de ces opérations. Les échantillons ont été recueillis dans quatre secteurs d'étude (99F117-9, PO99-4, PR-2 et PO-8) et ce, à deux périodes distinctes soit entre les 26 et 27 juillet 2002 et les 16 et 17 août 2002. La figure 1 montre l'emplacement des puits d'observation échantillonnés. Les stations 99F117-9 et PO99-4 sont localisées dans le secteur sud du Technoparc au nord de l'autoroute Bonaventure alors que les stations PR-2 et PO-8 sont situées à l'est des deux premières stations et en bordure de cette autoroute. Les échantillons ont été prélevés des puits d'observation existants après stabilisation des paramètres suivis en continu (pH, conductivité et température) ou après le retrait d'un volume jugé suffisant. Les échantillons ont été soutirés à l'aide de pompes pneumatiques à vessie fournies par la ville de Montréal ou à l'aide d'une pompe électrique submersible de marque Grundfos et dédiées dans chaque puits d'observation pour la durée des deux campagnes. Pour chaque secteur d'étude, trois échantillons instantanés de 60 L et un échantillon de 1 L ont été prélevés et livrés le jour même au laboratoire du Centre Saint-Laurent (Section services scientifiques et techniques). Les types de récipients utilisés et les conditions d'entreposage respectaient les recommandations émises par Environnement Canada. Les échantillons ont été maintenus à 4 ± 3 °C jusqu'à la réalisation des analyses. Toutes les analyses ont été entreprises à l'intérieur des délais prescrits dans les protocoles.



Source : Image tirée du rapport des « Résultats des deux campagnes d'échantillonnage pour la caractérisation de la toxicité des eaux souterraines au Technoparc, Montréal », SNC Lavalin Environnement

Figure 1 Plan du site et localisation des points d'échantillonnage

2.2 PRÉPARATION, TRAITEMENT ET SUBDIVISION DES ÉCHANTILLONS

Avant les analyses, les échantillons ont été mélangés (ou recomposés) au laboratoire du CSL. La figure 2 illustre la préparation et la division de l'échantillon composé. Une caractérisation physico-chimique sommaire de chacun des échantillons a été réalisée aussitôt les mélanges préparés (voir 2.3). Des portions aliquotes de 100 mL de l'échantillon ont été filtrées à 0,45 µm (polycarbonate, Nuclepore™) et conservées à 4 °C pour la réalisation des microbioessais avec algue. Les paramètres physico-chimiques ont été mesurés avant et après la filtration.

2.3 PARAMÈTRES DE SOUTIEN À L'INTERPRÉTATION BIOANALYTIQUE

Plusieurs facteurs abiotiques peuvent influencer les résultats des tests de toxicité effectués avec des organismes aquatiques. Par exemple, les changements de pH peuvent affecter la solubilité, la polarité, la volatilisation et la spéciation des composés chimiques et par le fait même modifier leur biodisponibilité et leur toxicité. Par ailleurs, la température et l'oxygène dissous sont mesurés de façon routinière dans la plupart des tests de toxicité puisque des changements importants de ces paramètres peuvent modifier les résultats des bioessais (Rand, 1995).

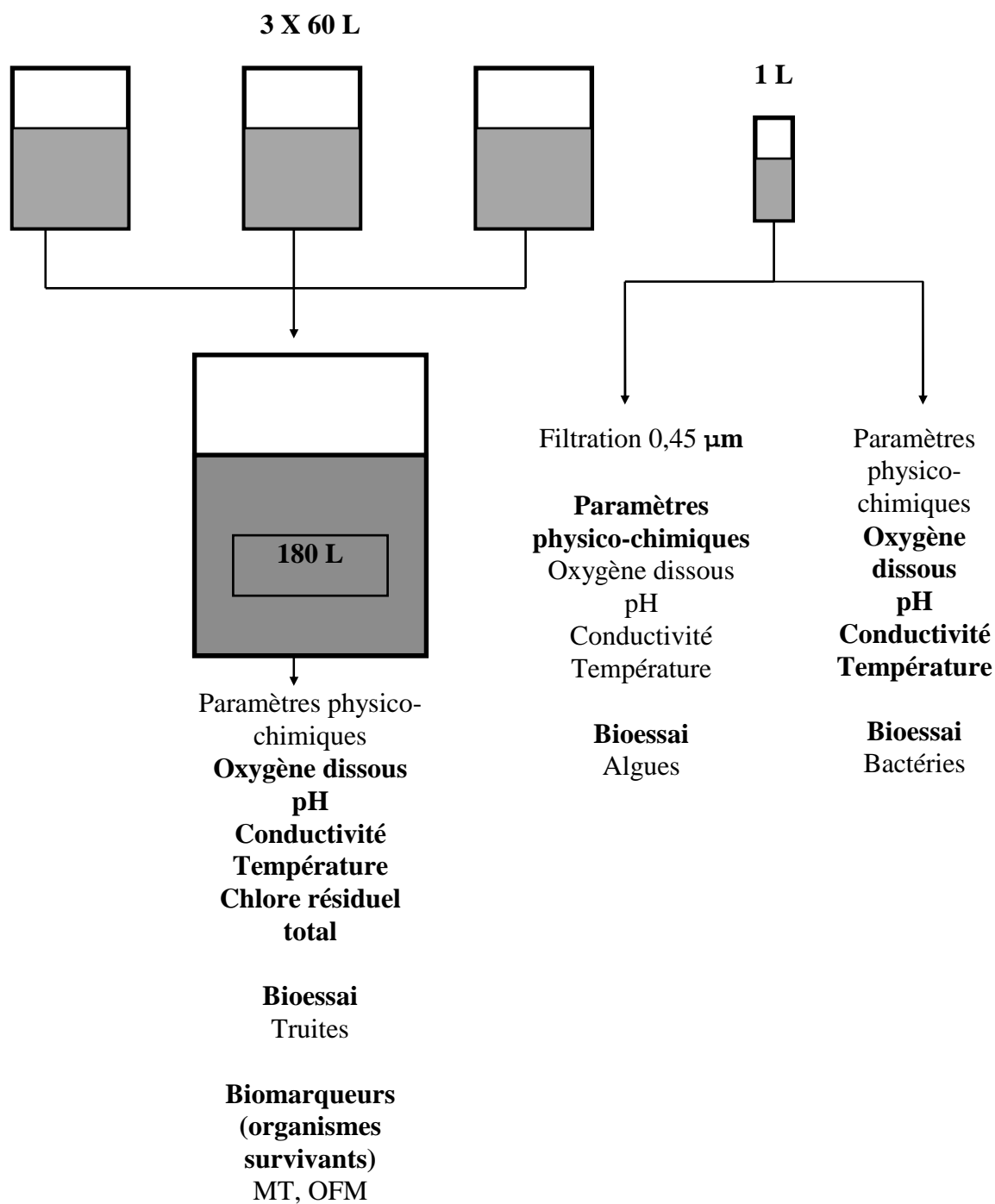


Figure 2 Préparation et division en laboratoire des échantillons d'eaux souterraines destinés aux bioessais et aux analyses physico-chimiques

2.4 BIOESSAIS

La liste des bioessais réalisés au CSL lors de cette étude est présentée au tableau 1. Comme l'indique ce dernier, les espèces utilisées occupent des échelons trophiques variés : décomposeurs, producteurs primaires, ainsi que consommateurs primaires. Trois groupes taxinomiques y sont représentés : bactéries, algues et poissons. Le type d'effet mesuré, plus particulièrement le niveau d'organisation biologique qu'il représente, varie également. Au niveau de l'organisme, les paramètres incluent l'inhibition de croissance et la mortalité, alors qu'au niveau cellulaire, l'inhibition de la luminescence et l'induction de l'activité enzymatique sont mesurées. Par ailleurs, différents niveaux de toxicité (sublétalité aiguë et chronique, létalité) sont évalués. Il est justifié de croire que le spectre relativement large d'organismes, de types d'effet et de niveaux de toxicité considérés par la présente batterie d'essais permet d'évaluer adéquatement le potentiel écotoxique des eaux souterraines.

Quoique les protocoles expérimentaux de chaque bioessai diffèrent, il n'en demeure pas moins qu'une démarche commune s'applique à tous. Il s'agit d'exposer, en conditions contrôlées, des organismes vivants à une série de dilutions de l'échantillon, puis à observer et à quantifier les effets toxiques. Les principales conditions d'essais sont présentées au tableau 2.

2.4.1 Bioessai avec bactéries luminescentes (*V. fischeri*)

2.4.1.1 Méthode

L'essai avec la bactérie marine *Vibrio fischeri* (souche NRRL B-11177) est commercialisé sous le nom Microtox™ par la compagnie Strategic Diagnostics Inc. Ce biotest repose sur la capacité de *V. fischeri* à émettre de la lumière, un processus métabolique qui implique une série d'enzymes, dont la luciférase (Woodland Hastings *et al.*, 1985). L'essai Microtox™ offre une excellente concordance avec de nombreux autres bioessais (Kaiser et Palabrica, 1991). Les effets toxiques mesurés à l'aide de la bactérie *V. fischeri* sont de type sublétaux aigus. Le tableau 2 présente les caractéristiques descriptives du bioessai et énumère les principales conditions d'essai.

Le test Microtox™ a été effectué sur les eaux souterraines selon le protocole établi par Environnement Canada (1992a) et suivant certaines modifications apportées au nombre de concentrations et de répétitions testées ainsi qu'à l'emplacement des cuvettes dans l'incubateur du photomètre. Ces modifications sont décrites dans la procédure d'opération normalisée LB-MIL-931007 (Environnement Canada, 1995).

Tableau 1
Caractéristiques descriptives des bioessais utilisés pour l'évaluation de la toxicité

Organismes	Espèce	Niveau trophique	Niveau de toxicité	Variabiles d'effet	Paramètres de mesure	Unité de mesure*
Bactéries	<i>Vibrio fischeri</i> (Microtox™)	Décomposeur	Sublétaleté aiguë	Inhibition de la luminescence	CI ₂₅ , CI ₅₀ , CMEO, CSEO, CSE	UT _{sa}
Algues	<i>Selenastrum capricornutum</i>	Producteur	Sublétaleté chronique	Inhibition de la croissance	CI ₂₅ , CI ₅₀ , CMEO, CSEO, CSE	UT _{sc}
Poissons	<i>Onchorynchus mykiss</i>	Consommateur	Létalité aiguë	Mortalité	CL ₅₀	UT _l
Poissons (MT et MFO)	<i>Onchorynchus mykiss</i>	Consommateur	Subcellulaire	Induction de l'activité enzymatique	Différence statistique significative	% v/v

* Consulter la liste des abréviations pour connaître leur signification

2.4.1.2 Traitement des données

L'intensité lumineuse des groupes traités et du groupe témoin est mesurée avec un photomètre (Microtox™ Toxicity Analyser, modèle M500). Ces mesures sont exprimées en unités relatives de lumière (URL). La quantité de lumière émise par les bactéries dans chacune des concentrations testées est comparée à celle mesurée dans le témoin. Les pourcentages d'inhibition et les valeurs gamma (γ , rapport lumière perdue/lumière restante) sont ensuite calculés afin de déterminer les paramètres de mesure. Il s'agit de la CMEO, qui est déterminée par le test de Mann-Whitney, de la CI₂₅ et CI₅₀ (concentration qui inhibe soit 25 % ou 50 % de l'activité lumineuse), qui est calculée par régression linéaire simple. Les paramètres de mesure sont rapportés en unités sublétales aiguës (UT_{sa}). Pour que la CMEO soit significative, le pourcentage de réduction de luminescence associé à cette concentration doit être égal ou supérieur au seuil de détection de la méthode. Ce seuil, déterminé expérimentalement, a été fixé à 10% d'inhibition et correspond en fait à la valeur arrondie de deux seuils définis expérimentalement, à savoir celui de 11 % calculé à partir de 98 données historiques recueillis a CSL (Environnement

Canada, 1993a) et celui de 12% rapporté par le Bureau de normalisation du Québec (1987) à partir de 236 données historiques.

2.4.2 Bioessai avec algues (*S. capricornutum*)

2.4.2.1 Méthode

Le bioessai avec algues a été réalisé sur les eaux souterraines, en microplaques de 96 puits selon la méthode mise au point par Environnement Canada (1992b) avec les modifications de 1996. Soumises à une étude d'intercalibration (Thellen *et al.*, 1989), cette méthode normalisée est maintenant reconnue et adoptée dans de nombreux laboratoires.

L'espèce utilisée, *Selenastrum capricornutum*, appartient à l'ordre des Chlorophycées. Cette algue verte non mobile et unicellulaire abonde dans les eaux douces presque partout en Amérique du Nord. Comme producteurs primaires, les algues jouent un rôle vital dans la chaîne alimentaire. Elles servent de nourriture à de nombreux organismes (par exemple les daphnies), et leurs sécrétions et leur activité photosynthétique participent de façon importante à l'apport d'éléments nutritifs et d'oxygène au milieu aquatique (Bold et Wynne, 1978). Par contre, lorsqu'elles sont trop abondantes, les algues peuvent entraîner l'eutrophisation des plans d'eau. *S. capricornutum* est particulièrement sensible aux métaux. Par exemple, les concentrations inhibitrices 50 % (CI₅₀) du cadmium, du cuivre, du nickel et du zinc sont inférieures à 100 µg.L⁻¹ (Blaise *et al.*, 1986 ; St-Laurent *et al.*, 1992).

2.4.2.2 Traitement des données

Le nombre de cellules est fixé par comptage électronique (CoulterTM, modèle ZM). Les pourcentages d'inhibition de croissance sont d'abord déterminés, puis la CI₅₀ et la CMEO sont calculées. La CI₅₀ est estimée par régression linéaire simple, tandis que la CMEO est déterminée par le test de Mann-Whitney (Zar, 1984). Le pourcentage d'inhibition associé à la CMEO doit cependant être égal ou supérieur à 20 (limite de détection pour ce test) qui représente en fait la valeur arrondie du seuil de 22 % calculé à partir de 586 données historiques (Environnement Canada, 1993b). Les résultats sont exprimés en unité de toxicité sublétales chronique (UT_{sc}).

2.4.3 Bioessai avec Truites arc-en-ciel (*O. mykiss*)

2.4.3.1 Méthode

La Truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) est une espèce qui appartient à la famille des Salmonidés, et son aire de distribution couvre tout le pays. La Truite arc-en-ciel est devenue dans le monde entier l'espèce de choix pour les tests de toxicité en eau douce et il existe une quantité importante de données toxicologiques à son sujet (Environnement Canada, 2000). Elle sert d'espèce étalon pour l'application des lois et des règlements.

Les essais avec truites servent normalement à mesurer les effets létaux aigus. À noter que depuis quelques années, on utilise les Salmonidés dans des recherches qui portent sur la mise en évidence d'effets sublétaux indicateurs de stress (Gagné et Blaise, 1993). Tous les bioessais avec Truite arc-en-ciel ont été réalisés selon les méthodes normalisées d'Environnement Canada (1990, 2000).

2.4.3.2 Traitement des données

Les mortalités sont notées quotidiennement, et le nombre de poissons morts par concentration testée est comptabilisé à la fin de l'essai. Le calcul de la CL_{50} s'effectue par l'utilisation d'une version du programme de C.E. Stephan, obtenue du laboratoire d'Environnement Canada de la région de l'Atlantique.

2.5 BIOMARQUEUR DE MESURE DE L'INDUCTION DES MÉTALLOTHIONÉINES(MT) ET DES OXYGÉNASES À FONCTION MIXTES (OFM)

À la fin de la période d'exposition des truites de l'essai de toxicité aiguë avec la Truite arc-en-ciel, les truites survivantes des groupes témoins et exposés ont été utilisées pour la réalisation des mesures de l'induction des métallothionéines (MT) et des mesures de l'induction des oxygénases à fonction mixtes (OFM). Il faut noter que les analyses ont été effectuées avec les foies de poissons provenant des truites survivantes et que les analyses n'ont pas été réalisées aux concentrations où il y avait 100 p. 100 de mortalité. De plus, les observations faites aux concentrations où l'on a observé des mortalités partielles pourraient moduler à la hausse ou à la baisse l'induction des MT ou des OFM mesurée.

2.5.1 Mesure de l'induction des métallothionéines

2.5.1.1 Méthode

La faune aquatique peut être exposée à des métaux lourds dans l'environnement. L'exposition des poissons à ce type de contaminants provoque des changements physiologiques et peuvent être considérés comme des mécanismes d'adaptation ou de protection contre la présence de métaux lourds.

Chez les poissons exposés à certains métaux, il peut résulter l'induction d'une protéine nommée métallothionéine (MT). Cette protéine est principalement localisée dans le foie, les branchies et les reins du poisson. En conditions physiologiques normales, la MT lie principalement le cuivre et le zinc et est responsable de leurs régulations physiologiques. Cette protéine est induite par les métaux comme le cadmium, le cuivre, le mercure et le zinc et a la capacité de les chélater selon leur affinités respectives. La mesure hépatique de la MT nous offre un indice sur la biodisponibilité des métaux et nous renseigne sur la réaction développée par le poisson contre leur présence dans le milieu.

L'activité des métallothionéines a été déterminée par mesure spectrophotométrique de la fraction purifiée obtenue par acidification (Viarengo, 1997). La concentration de cet extrait acidifié a été quantifiée à l'aide du réactif Ellman.

2.5.1.2 Traitement des données

Les concentrations sont normalisées selon la quantité de protéines totales présente dans la fraction S10. Les protéines sont quantifiées selon la méthode de Bradford (1976). Des analyses statistiques sont effectuées afin de détecter des différences significatives entre les groupes témoins et les groupes exposés.

2.5.2 Biomarqueur de mesure de l'induction des oxygénases à fonction mixte

2.5.2.1 Méthode

Les contaminants organiques comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les biphenyls polychlorés (BPC) sont susceptibles d'engendrer des effets néfastes pour la faune aquatique. Lorsque le poisson est exposé à des composés organiques liposolubles, il les transformera en les rendant plus hydrosolubles par l'addition, l'exposition ou la conjugaison de groupements chimiques polaires, facilitant ainsi leur élimination. Le foie et le rein sont les

principaux organes de la biotransformation. Le principal complexe multienzymatique de la biotransformation se situe au niveau du cytochrome P-450. La présence de produits organiques dans l'organisme peut induire ce système enzymatique.

L'induction de ce système enzymatique constitue un événement précoce et critique dans le développement de la toxicité. Les métabolites peuvent entraîner dans certains cas, des dommages irréversibles. La mesure de l'induction des cytochromes P-450 ainsi que les activités enzymatiques s'y rapportant, constitue donc un indicateur sensible des effets toxiques potentiels des xénobiotiques organiques présents dans l'environnement.

L'activité de l'oxygénase à fonction mixte est mesurée selon la méthode de Prough et al. (1978). Cette enzyme catalyse la dééthylation de la 7-éthoxyrésorufine en 7-hydroxyrésorufine. Le produit hydroxylé est directement détecté par fluorescence à 582 nm lorsqu'excité à 535 nm. Le produit est ensuite quantifié à l'aide d'un standard externe de 7-hydroxyrésorufine.

2.5.2.2 Traitement des données

Les unités de fluorescence sont converties en activité enzymatique à l'aide d'une courbe standard et cette activité est normalisée selon la quantité de protéines totales présente dans la fraction S10. Les protéines sont quantifiées selon la méthode de Bradford (1976). Des analyses statistiques sont effectuées afin de détecter des différences significatives entre les groupes témoins et les groupes exposés.

Tableau 2
Principales conditions d'essai

Conditions d'essai	V. fischeri	S. capricornutum	O. mykiss*
Méthodes	Statique	Statique	Statique
Provenance des organismes	Strategic Diagnostic Inc. Newark, USA	Université du Texas (souche 1648)	Aquipro, St-Appolinaire, Québec
Durée	15 min	3 d	96 h
Température	15 ± 0,3	24 ± 2	15 ± 1
Type de récipient	Cuvettes de verre 12 X 50 mm	Microplaques 96 puits	Seaux de 60 L
Volume par récipient d'essai	1 mL	200 µL	60 L
Photopériode lumière / obscurité (h)	s.o.	24 / 0	6 / 8
Nombre de concentrations testées	6	10	5
Nombre de répétitions par concentration	4	3	1
Nombre d'organismes par récipient d'essai	1 x 10 ⁶	10 000	10

* Les truitelles survivantes ont été utilisés pour les mesures d'induction des OFM et des MT.

3 Résultats et discussion

3.1 PHYSICO-CHIMIE

Pour les raisons évoquées précédemment, une caractérisation physico-chimique sommaire a été réalisée sur les échantillons composés dès que les mélanges ont été préparés en laboratoire. À cette fin, la température, le pH, l'oxygène dissous, la conductivité et le chlore résiduel total (CRT) ont été mesurés selon des méthodes normalisées (APHA, AWWA et WEF, 1992) et des protocoles élaborés au CSL. Les résultats des paramètres physico-chimiques mesurés sur les échantillons recomposés sont présentés au tableau 3. À cet effet, les sites 99F117-9 et PO99-4 (amont) présentent une conductivité supérieure au site PR-2 et PO-8 (aval). Quant aux valeurs de pH mesurées, celles-ci se situent autour du point de neutralité pour l'ensemble des échantillons analysés.

Tableau 3
Résultats des paramètres physico-chimiques mesurés des eaux souterraines : échantillons recomposés au laboratoire

Période de prélèvement	Station	Température	pH	Oxygène dissous (%)	Conductivité	Azote Ammonical ¹	Chlore résiduel total (mg/L)
		°C			(µS/cm)	µg/L	
2002/07/26-27	99F117-9	9,3	7,0	45,0	3120	40 000	<0,02
	PO99-4	10,2	6,7	38,0	3510	65 000	<0,02
	PR-2	13,6	7,1	32,0	739	710	<0,02
	PO-8	8,8	6,8	46,5	412	90	<0,02
2002/08/16-17	99F117-9	13,7	6,9	52,0	3100	33 000	<0,02
	PO99-4	10,3	6,7	31,0	3510	71 000	<0,02
	PR-2	11,8	7,1	34,0	554	500	<0,02
	PO-8	13,6	7,4	60,0	369	20	<0,02

¹ Résultats d'analyse tirés du rapport des « Résultats des deux campagnes d'échantillonnage pour la caractérisation de la toxicité des eaux souterraines au Technoparc, Montréal », SNC Lavalin Environnement.

3.2 BIOESSAIS

Un sommaire des résultats des bioessais effectués sur les échantillons prélevés au Technoparc est présenté au tableau 4. Les résultats spécifiques à chacun des tests sont brièvement discutés et présentés sous forme de tableau dans les sections qui suivent.

3.2.1 Toxicité chez la bactérie *V. fischeri*

Lors des deux campagnes d'échantillonnage et en dépit des inhibitions de l'activité bioluminescente (tableau 5) observées avec les eaux souterraines des secteurs PO99-4 et PO-8, ces échantillons n'ont démontré qu'une toxicité marginale avec des valeurs de CI_{25} rapportées se situant entre 2 et 4,3 UT pour l'espèce bactérienne exposée. La même tendance est observée en prenant en compte les résultats obtenus avec les duplicatas et réalisés par des laboratoires privés (données non montrées). Seul l'échantillon PR-2 prélevé en août 2002 démontre une toxicité modérée avec une valeur de $CI_{50-15 \text{ min.}}$ de 9,9 UT. Les échantillons provenant de la station 99F117-9 n'ont pas été analysés au CSL mais les résultats d'analyse faites par un laboratoire privé montre une absence de toxicité aux concentrations testées avec un résultat rapporté de $CI_{50-15 \text{ min.}}$ inférieur à 2 UT. Une légère stimulation de la luminescence est observée aux plus faibles concentrations testées pour les échantillons PO99-4 et PO-8 mais celle-ci n'est pas significative.

3.2.2 Toxicité pour l'algue *S. capricornutum*

Parmi les trois échantillons acheminés au laboratoire du CSL, seule la station PO99-4 présente une toxicité marginale rapportée avec une valeur de CI_{25} se situant entre 1 et 2 UT. Quant aux stations PO-8 et PR-2, une stimulation de la croissance cellulaire chez cette algue verte a été observée avec des pourcentages de stimulation dépassant les 200 p. 100 en particulier pour l'échantillon PO-8 (tableau 6). Les analyses réalisées pour l'échantillon 99F117-9 l'ont été par des laboratoires privés et ceux-ci rapportent des valeurs de CI_{25} de 3,1 et 1,6 UT. Les échantillons provenant des puits d'observations amont (99F117-9 et PO99-4) présentent donc une toxicité marginale alors qu'il y a absence de toxicité dans les échantillons du secteur aval (PR-2 et PO-8). La conductivité élevée et l'interaction de certains métaux lourds pourraient expliquer la toxicité marginale retrouvée dans les échantillons du secteur amont.

Tableau 4
Sommaire des résultats bioanalytiques des échantillons du Technoparc (Montréal) pour les essais réalisés
au Centre Saint-Laurent

Bioessai	Unité de mesure	Paramètre de mesure	Date de prélèvement et identification des échantillons							
			26 et 27 juillet 2002				16 et 17 août 2002			
			99-F117-9	PO99-4	PO-8	PR-2	99-F117-9	PO99-4	PO-8	PR-2
<i>V. fischeri</i> (15 min.)	UT _{sa}	CI ₅₀		< 2,0	2,0					9,9
		CI ₂₅		entre 2,0 et 4,0	4,3					33,6
		CME0		2,0	8,0					32,0
		CSE0		4,0	16,0					64,0
		CSE		2,8	11,3					45,3
<i>S. capricornutum</i>	UT _{sc}	CI ₅₀		entre 1,0 et 2,0	< 1,0					< 1,0
		CI ₂₅		entre 1,0 et 2,0	< 1,0					< 1,0
		CME0		1,1	< 1,0					< 1,0
		CSE0		2,2	1,0					1,0
		CSE		1,6	< 1,0					< 1,0
<i>O. mykiss</i>	UT _L	CL ₅₀	3,7	7,5	< 1,0	< 1,0	2,8	6,1	< 1,0	< 1,0
Induction des OFM chez les truites exposées	% v/v		Nd	nd ¹	nd	100 ²	nd	nd	100 ²	nd
Induction des MT chez les truites exposées	% v/v		Nd	nd	nd	nd	25 ³	nd	nd	nd

1 nd : non détecté

2 représente la seule concentration (% v/v) ou une induction significative des MFO a été observée lorsque comparé au groupe poisson témoins

3 étant donné la toxicité élevée de cet échantillon aux concentrations de 50 et 100 % v/v, les analyses de MT ont été effectuées seulement sur les concentrations de 25, 12,5, et 6,25 % v/v. La concentration 25% v/v représente la seule concentration ou une induction significative des MT a été observée.

Tableau 5
Taux moyen d'inhibition de la luminescence chez *V. fischeri* pour les essais réalisés sur les eaux souterraines

Station	Échantillon	Concentration (% v/v)					
		50,0	25,0	12,5	6,25	3,13	1,56
99F117-9 ³		n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a
PO99-4 ¹	02-0723	30,3	8,5	1,9	-4,0 ⁴	-7,8	-8,9
PR-2 ²	02-0768	78,7	73,0	53,5	38,8	25,5	9,2
PO-8 ¹	02-0716	46,6	32,5	10,5	0,3	-4,5	-6,0

1 Prélèvement effectué les 26 et 27 juillet 2002

2 Prélèvement effectué les 16 et 17 août 2002

3 n.a. : non analysé

4 Les valeurs négatives indiquent une stimulation plutôt qu'une inhibition

Tableau 6
Taux d'inhibition de la croissance cellulaire chez *S. capricornutum*

Station	Échantillon	Concentration (% v/v)									
		100,0	50,0	25,0	12,5	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39	0,20
PO99-4 ¹	02-0724	67,6	7,7	-73,1	-144,6	-160,1	-177,0	-152,2	-113,9	-73,0	-45,7
PO-8 ¹	02-0722	-218,6	-223,8	-205,8	-225,9	-213,4	-210,1	-198,9	-214,9	-202,0	-217,3
PR-2 ²	02-0769	-102,0	-85,4	-81,4	-93,2	-87,1	-75,5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
99F117-9 ³		n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a

1 Prélèvement effectué les 26 et 27 juillet 2002

2 Prélèvement effectué les 16 et 17 août 2002

3 n.a. : non analysé

4 Les valeurs négatives indiquent une stimulation plutôt qu'une inhibition

3.2.3 Toxicité pour la truite *O. mykiss*

Chez la truite arc-en-ciel, des patrons de toxicité similaire ont été notés lors des deux campagnes d'échantillonnage réalisées en juillet et août 2002. En effet, les valeurs de létalité observées avec les eaux souterraines des échantillons PO99-4 et 99F117-9 (amont) démontrent que ces échantillons présentent une toxicité alors que les échantillons PO-8 et PR-2 (aval) n'ont occasionné aucune mortalité chez cette espèce de poisson (tableau 7). Les concentrations élevées

d'azote ammoniacal retrouvées dans les échantillons 99F117-9 et PO99-4 sont susceptibles d'avoir affecté cet organisme aquatique.

Tableau 7
Pourcentage de mortalité après 96 heures pour les essais réalisés avec la truite arc-en-ciel

Station	Échantillon	Concentration (% v/v)				
		100,0	50,0	25,0	12,5	6,25
26 et 27 juillet 2002						
99F117-9	02-0714	100	100	40	0	0
PO99-4	02-0713	100	100	100	40	0
PR-2	02-0712	0	0	0	0	0
PO-8	02-0715	0	0	0	0	0
16 et 17 août 2002						
99F117-9	02-0766	100	100	0	0	0
PO99-4	02-0765	100	100	100	10	0
PR-2	02-0764	0	0	0	0	0
PO-8	02-0767	0	0	0	0	0

3.2.4 Toxicité pour le microcrustacé *Ceriodaphnia dubia*

L'essai de survie et de reproduction sur le cladocère *Ceriodaphnia dubia* réalisé par les laboratoires privés (données non montrées) démontre une tendance analogue aux essais avec les truites. En effet, une mortalité marginale est observée pour les échantillons PO-99-4 et 99F117-9 prélevé en juillet 2002 avec des valeurs de CL_{50} de 2,0 et 1,6 UT respectivement. Au niveau subléthal (reproduction), les échantillons PO99-4 et PO-8 ont des effets inhibiteurs importants avec des valeurs rapportées de CI_{25} de 13,5 UT et 11,9 UT respectivement. Les échantillons PR-2 et 99F117-9 présentent des effets inhibiteurs moindres sur la reproduction du microcrustacé avec des CI_{25} calculées de 7,4 et 3,6 UT respectivement. Les échantillons prélevés en août 2002 présentent des effets délétères similaires aux échantillons prélevés en juillet 2002. Au niveau subléthal, les échantillons PO99-4 et PO-8 ont des effets inhibiteurs importants avec des valeurs rapportées de CI_{25} de 9,3 (GDG) et 12,0 UT (GDG) respectivement. L'échantillon 99F117-9 présente des effets inhibiteurs moindres sur la reproduction du microcrustacé avec une CI_{25} calculée de 4,5 UT alors que l'échantillon PR-2 ne présente aucun effet léthal ou subléthal.

À l'exception de l'échantillon PR-2 qui n'a présenté aucune toxicité létale ou sublétales lors de la deuxième campagne d'échantillonnage, tous les échantillons ont occasionné des effets létaux et(ou) sublétaux à l'une ou l'autre des périodes d'échantillonnage.

3.2.5 Mesure d'induction des OFM et des MT chez les truites exposées

Une induction significative des OFM chez les truites exposées à 100 p. 100 v/v de l'échantillon PO-8 est observée lors des prélèvements effectués en juillet et août. De plus, un accroissement des niveaux de MT est noté chez les truites exposées à 25 p. 100 v/v de l'échantillon 99-F117-9 lors de la deuxième campagne d'échantillonnage. Les analyses de MT ont été effectuées sur les truites exposées aux concentrations de 25, 12,5 et 6,25 p. 100 v/v puisque les concentrations supérieures ont provoqué 100 p. 100 de mortalité chez les organismes exposés aux concentrations de 50 et 100 p. 100 v/v.

3.2.6 Contrôle de la qualité

Les résultats des essais effectués avec des produits ou matériaux toxiques de référence sont présentés au tableau 8. La LIA (limite inférieure d'avertissement) correspond à la moyenne dont on a soustrait deux écart-types, alors que la LSA (limite supérieure d'avertissement) représente la moyenne à laquelle on a ajouté deux écart-types (Environnement Canada, 1990).

Les résultats des essais effectués avec les produits ou matériels toxiques de référence montrent que la sensibilité des organismes et la reproductibilité des essais se situent à l'intérieur des limites historiques établies dans nos laboratoires.

Tableau 8
Résultats d'analyse des produits toxiques de référence et données statistiques des diagrammes de contrôle

Bioessais	Variables mesurés	Paramètres	Substance testée	Date d'analyse	Résultats	Données de contrôle		
						Moyenne historique	LIA	LSA
<i>V. fischeri</i>	Inhibition de la luminescence	CI ₅₀ mg.L ⁻¹	Zn ⁺⁺	2002/07/17	1,09	1,4	0,5	2,2
<i>S. capricornutum</i>	Inhibition de la croissance	CI ₅₀ µg.L ⁻¹	Zn ⁺⁺	2002/08/12	37,4	38,1	14,4	61,8
<i>O. mykiss</i>	Létalité aiguë	CL ₅₀ mg.L ⁻¹	Zn ⁺⁺	2002/07/15	0,47	0,55	0,23	1,09
				2002/08/26	1,19	0,55	0,23	1,09

4 Conclusion

Des échantillons d'eaux souterraines prélevés dans quatre secteurs du Technoparc de Montréal ont été soumis à une batterie bioanalytique afin d'évaluer leur potentiel toxique chez des espèces aquatiques appartenant à divers niveaux trophiques (bactérie, algue, poisson). L'objectif de la présente caractérisation était d'évaluer le potentiel toxique des eaux souterraines des quatre secteurs à l'étude.

Les échantillons d'eaux souterraines provenant des puits d'observation PO99-4 et 99F117-9 ont causé des effets délétères chez la truite arc-en-ciel *O. mykiss* alors que les échantillons provenant des puits d'observation PR-2 et PO-8 n'ont occasionné aucun effet léthal chez ce même poisson. De même, les résultats de létalité avec le cladocère *C. dubia* et soumis par le laboratoire externe démontrent une toxicité de faible à modérée pour les échantillons des secteurs PO99-4 et 99F117-9 respectivement alors qu'il y a absence de mortalité aux stations PR-2 et PO-8. Au niveau de la sublétalité, des effets nocifs sont observés dans les échantillons des quatre puits et cela dans l'un ou l'autre des essais de toxicité. Plus particulièrement, les échantillons des puits PO-8 et PR-2 inhibent l'activité bioluminescente de la bactérie *V. fischeri* alors que ceux des puits d'observation PO99-4 et 99F117-9 inhibent la croissance cellulaire algale de *S. capricornutum*. Les résultats des biomarqueurs indiquent une induction des OFM à 100 p. 100 v/v et des MT à 25 p. 100 pour les sites PO-8 et 99F117-9 respectivement.

En résumé, tous les échantillons d'eaux souterraines prélevés dans les puits PO99-4, 99F117-9, PO-8 et PR-2 ont présenté un potentiel toxique léthal et(ou) sublétal. Le patron de toxicité observé semble étroitement lié au lieu géographique de prélèvement des échantillons (amont vs aval), aux propriétés physico-chimiques observées (conductivité, azote ammoniacal) et à certaines propriétés physiques (effet potentiel d'une dilution de l'amont vers l'aval).

Références

- APHA, AWWA et WEF (1992). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 18th ed., American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation, Washington, D.C. 10 sections & figures
- Blaise, C., R. Legault, N. Bermingham, R. Van Coillie et P. Vasseur (1986). «A simple microplate algal assay technique for aquatic toxicity assessment», *Toxicity Assessment*, 1 : 261-281.
- Bold, H.C. et M.J. Wynne (1978). *Introduction to the Algae: Structure and Reproduction*, Prentice-Hall Inc., Englewood NJ. ISBN 0-13-477786-7, chapitre 1.
- Bradford, M.M (1976). «A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding » *Anal. Biochem.* 72, 248-251.
- Bureau de normalisation du Québec (1987). *Norme - eaux - détermination de la toxicité, méthode avec la bactérie bioluminescente Photobacterium phosphoreum*, Gouvernement du Québec, Ministère de l'Industrie et du Commerce, Québec. NQ 3600-205. 24 pages.
- Environnement Canada (2000). *Méthode d'essai biologique : méthode de référence pour la détermination de la létalité aiguë d'effluents chez la Truite arc-en-ciel*, Conservation et Protection, Ottawa, Rapport SPE 1/RM/13. 22 pages.
- Environnement Canada (1995). *Préparation et exécution des essais de toxicité sur la bactérie luminescente Vibrio fischeri - phase liquide*, Conservation et Protection de l'environnement, Région du Québec Centre Saint-Laurent, LB-MIL-931007-1. 21 pages (édition de mars 1995).
- Environnement Canada (1993a). *Procédures de contrôle de qualité : test de toxicité avec la bactérie bioluminescente Photobacterium phosphoreum*, Version 1, Région du Québec, Conservation et Protection de l'environnement, Centre Saint-Laurent. 22 pages.
- Environnement Canada (1993b). *Procédures de contrôle de qualité : test d'inhibition de croissance en microplaque avec l'algue verte Selenastrum capricornutum*, Version 1, Conservation et Protection, Région du Québec, Centre Saint-Laurent. 37 pages.
- Environnement Canada (1992a). *Méthode d'essai biologique : essai de toxicité sur la bactérie luminescente Photobacterium phosphoreum*, Direction du développement technologique, Environnement Canada, Ottawa, Ontario. 65 pages.

- Environnement Canada (1992b). *Méthode d'essai biologique: essai d'inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce Selenastrum capricornutum*, Conservation et Protection, Ottawa, Rapport SPE 1/RM/25. 43 pages.
- Environnement Canada (1990). *Méthode d'essai biologique : essai de létalité aiguë sur la Truite arc-en-ciel*, Conservation et Protection, Ottawa, Rapport SPE 1/RM/9. 53 pages.
- Gagné, F. et C. Blaise (1993). «Hepatic Metallothionein Level and Mixed Function Oxidase Activity in Fingerling Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) after Acute Exposure to Pulp and Paper Mill Effluents », *Water Research*, 27 : 1669-1682
- Kaiser, L.E. et V.S. Palabrica (1991). «*Photobacterium phosphoreum* toxicity data index», *Water Poll. Res. J. Canada*, 26 (3) : 361-431.
- Prough, R. A., Surke, M.D. et Mayer, R.T. (1978). «Direct fluorometric methods for measuring mixed-function oxydase activity », *Method in enzymology*, 52, 372-376.
- Rand, G.M. (1995). *Fundamentals of aquatic toxicology : effects, environmental fate, and risk assessment*, 2^e éd., Taylor & Francis, Washington, D.C. 1125 pages.
- St-Laurent, D., C. Blaise, P. MacQuarrie, R. Scroggins et B. Trottier (1992). «Comparative assessment of herbicides phytotoxicity to *Selenastrum capricornutum* using microplate and flask bioassay procedures», *Environmental Toxicology and Water Quality*, 7 : 35-48.
- Thellen, C., C. Blaise, Y. Roy et C. Hickey (1989). «Round robin with the *Selenastrum capricornutum* microplate assay», *Hydrobiologia*, 188/189 : 259-268.
- Woodland Hastings, J., C.J. Potrikus, S.C. Gupta, M. Kurfüst et J.C. Makemson (1985). «Biochemistry and physiology of bioluminescent bacteria», *Advances in Microbial Physiology*, 26 : 235-291.
- Viarengo, A, E. Ponzanon, F. Dondero et R. Fabbri (1997). « A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms : an application to Mediterranean and Antarctic molluscs », *Marine Environmental Research*, 44(1) : 69-84.
- Zar, J.H. (1984). *Biostatistical Analysis*, 2nd ed. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs NJ, ISBN 0-13-077925-3. 718 pages.