

NACAN
(BOUCHERVILLE)

EVALUATION ECOTOXICOLOGIQUE SUR L'EFFLUENT
A LA SORTIE DU TRAITEMENT DE L'USINE
NACAN (BOUCHERVILLE)

ENVIRONNEMENT CANADA
CENTRE SAINT-LAURENT
LABORATOIRES CAPITAINE BERNIER
LONGUEUIL, QUEBEC
JANVIER 1990

RESUME

Une évaluation écotoxicologique a été réalisée sur un échantillon composé de l'effluent à la sortie du traitement de l'usine Nacan (Boucherville). L'approche expérimentale comprenait 1) une série de bio-tests mesurant les effets létaux, sub-létaux et chroniques sur des bactéries, algues, crustacés et poissons, 2) l'analyse chimique organique et inorganique des paramètres caractérisant les procédés industriels de cette usine. Des effets létaux, sub-létaux et chroniques ont été observés. Les résultats indiquent une forte toxicité létale ($> 10 \text{ UTl}$) pour les 2 espèces de poissons et le cladocère *Ceriodaphnia*. Les effets sub-létaux se traduisent par l'inhibition de la croissance en poids chez la tête-de-boule (25 UTsl), l'altération du métabolisme énergétique chez la truite arc-en-ciel ($13-18 \text{ UTsl}$), l'inhibition de la croissance de la population algale (17 UTsl), et l'inhibition de l'émission de lumière de la population bactérienne (4 UTsl). La reproduction chez les cladocères (toxicité chronique) est fortement affectée (588 UTC). L'échantillon d'effluent contenait également des substances génotoxiques, tel que suggéré par les résultats du SOS Chromotest.

L'ammoniaque, les solides en suspension, le zinc et les cyanures ont été identifiés comme sources majeures de la toxicité de l'effluent. Il est à noter que les caractéristiques chimiques de l'effluent sont très similaires à celles des évaluations précédentes (1985, 1978). Les effets écotoxicologiques, bien que plus difficilement comparables, sont très semblables à ceux observés lors de la dernière évaluation (1985).

INTRODUCTION

Pour évaluer le danger potentiel que représentent les résidus liquides industriels pour l'environnement, une approche expérimentale en laboratoire est préconisée. Celle-ci a comme objectifs majeurs 1) de dépister les effets toxiques, 2) renseigner sur la nature et la persistance des polluants, 3) établir les relations possibles entre les substances identifiées et les effets observés, 4) identifier les problèmes environnementaux autres que toxiques (eutrophisation, perturbations physico-chimiques, contamination bactérienne). Selon les connaissances préalables de l'échantillon visé (origine industrielle, type de procédé, bilan écotoxicologique antérieur), l'approche peut être réduite ou modifiée.

La stratégie de dépistage des effets toxiques repose sur l'utilisation d'organismes représentatifs de plusieurs niveaux trophiques (bactéries, algues, crustacés, poissons). Trois niveaux de toxicité sont analysés: 1) létal (mortalité), 2) sublétal (inhibition de croissance d'une population, stress physiologique altérant les fonctions vitales telles l'équilibre énergétique et la croissance), 3) chronique (inhibition de la reproduction, lésions du matériel génétique, bioaccumulation). L'évaluation des effets sur le réseau trophique est complétée par l'étude des interactions algales et des processus de biodégradation des substances. L'analyse chimique organique et inorganique offre le support nécessaire à l'interprétation des résultats.

MATERIEL ET METHODES

1- Echantillonnage

La procédure d'échantillonnage est celle d'Environnement Canada (Vezeau 1982). Tous les échantillons sont maintenus à 4 °C durant la période d'échantillonnage, de transport et d'entreposage. Les échantillons suivants ont été prélevés à la sortie du traitement (point #3):

- 1 échantillon de 35 L, composé sur 24 heures dans un contenant de verre, servant aux analyses biologiques, et physico-chimiques.

- 6 échantillons de 60 L, composés sur 24 heures dans des réservoirs opaques de type Rubbermaid doublés intérieurement de sacs en polyéthylène, servant aux tests de toxicité avec poissons et crustacés.

2- Procédure analytique

Les tests et mesures sont réalisés à partir de portions filtrées ou non-filtrées de l'échantillon, d'après les objectifs et les contraintes analytiques (Env. Canada 1989a).

a) Physico-chimie

Les paramètres physico-chimiques sont mesurés selon les méthodes normalisées (APHA et al. 1985) et les protocoles analytiques développés dans nos laboratoires (Env. Canada 1989a).

b) Tests biologiques

1- Bioessais létaux (poissons, crustacés)

La létalité des composantes physiques, chimiques et bactériologiques de l'effluent est déterminée par des bio-tests avec truites arc-en-ciel (Salmo gairdneri), tête-de-boule (Pimephales promelas) et le crustacé Ceriodaphnia reticulata. La durée des tests est respectivement de 4, 7 et 7 jours. Les méthodes normalisées (Env. Canada 1989b, EPA 1985a, b) sont utilisées. Le degré de toxicité létale de l'effluent est déterminé par une CL50. Les résultats sont exprimés sous forme d'unités toxiques létales ($UTl = 100/CL50$).

2- Bioessais sublétaux (bactéries, algues, crustacés, poissons)

Les tests ci-dessous mesurent quelques aspects des fonctions vitales d'un organisme ou d'une population pouvant être altérées, diminuant ainsi les probabilités de survie à plus ou moins long terme.

- Le test Microtox (Beckman Instruments 1982) mesure l'inhibition de lumière émise par la bactérie Photobacterium phosphoreum exposée à l'échantillon durant 5 minutes. La CI50 (concentration inhibitrice) est déterminée et les résultats exprimés sous forme d'unités toxiques sublétales (UTsl).

- Le test algal avec Selenastrum capricornutum (Blaise 1986) mesure l'inhibition de croissance d'une population exposée durant 96 heures. La CI50 est déterminée et les résultats exprimés en UTsl.

- Le test de stress énergétique (Blaise et al. 1986) sur la truite arc-en-ciel mesure les teneurs en ATP du muscle squelettique d'individus exposés durant 96 heures. Les résultats sont calculés en umole d'ATP/g de muscle et exprimés sous forme de concentration minimale de stress (CMS).

- Le test de croissance sur la tête-de-boule (EPA 1985a) mesure l'inhibition de croissance en poids de larves exposées durant 7 jours. La concentration maximale de l'effluent (% v/v) ne produisant pas d'effet et la concentration minimale produisant un effet sont déterminées. La moyenne géométrique de ces valeurs est calculée et exprimée en UTsl.

3- Bioessais chroniques (bactéries, crustacés)

- Reproduction

Le test sur le cladocère Ceriodaphnia reticulata (EPA 1985b) mesure l'inhibition de la reproduction d'individus exposés durant 7 jours. Le traitement des données est identique au précédent. Les résultats sont exprimés en unités toxiques chroniques (UTC).

- Génotoxicité

Les lésions du matériel génétique sont le résultat de cette forme non-apparente de toxicité. Les altérations du génôme sont mises en évidence à l'aide d'un bio-test, le SOS chromotest (Quillardet et al. 1982). Une souche bactérienne de Escherichia coli, modifiée génétiquement pour permettre un dosage colorimétrique, est utilisée pour évaluer le potentiel génotoxique d'un effluent. Le test peut être réalisé sur l'échantillon original ou sur un concentré des substances de l'échantillon. L'ajout

d'un extrait enzymatique de foie de rat (+S9) permet de déceler la présence de substances pro-mutagènes activables par les produits de l'activité métabolique de mammifère (et par inférence, de tout organisme). Les résultats sont exprimés par une relation dose-réponse des concentrations de l'effluent vs les facteurs d'induction (voir Quillardet et al. 1982) et un seuil minimal génotoxique (SMG).

c) Biodégradation

Ce test permet d'évaluer la biodégradabilité des substances présentes dans l'effluent et les modifications de la toxicité résultant de l'activité microbiologique. Pour accélérer le processus de biodégradation, un mélange bactérien standardisé (Env. canada 1989c) est ajouté à l'échantillon. Après 5 jours, le pH, l'indice biologique (concentrations en ATP produites par l'activité biologique de l'échantillon) et le carbone organique total sont mesurés et comparés aux valeurs obtenues avant biodégradation.

RESULTATS ET DISCUSSION

Analyses chimiques: caractérisation et propriétés toxiques des principaux éléments de l'effluent

Les valeurs élevées de DBO5 (1313 mg/L) et de DCO (6593 mg/L) traduisent la nature organique de l'effluent et suggèrent une faible concentration en oxygène dissous (Env. Canada 1980). Parmi les paramètres chimiques mesurés (Annexe 1), les solides en suspension, l'azote ammoniacal, le zinc et les cyanures ont été retenus comme éléments majeurs de la toxicité observée. La concentration d'ammoniaque sous forme non-ionisée (NH3, forme la plus toxique, EPA 1973, Env. Canada 1985) était de 0.38 mg/L. Elle a été calculée d'après les équations suivantes:

$$pK_{NH3} = 0.09018 + 2729.92/T \text{ (Emerson et al. 1975)}$$

$$[NH3] = 1/(1 + 10^{pK_{NH3}-pH}) \text{ Broderius et Smith (1979).}$$

où T est la température en degrés Kelvin.

La concentration de NH3 augmente avec l'augmentation de pH et détermine la toxicité aiguë de l'azote ammoniacal (Williams et al. 1986). Cependant, il est possible qu'à de faibles pH (6.5 et moins) l'accroissement en ions H+ augmente la toxicité du NH3, ou que les fortes concentrations de NH4+ exercent un effet toxique (Thurston et al. 1981a). Sur une base moléculaire comparative, la toxicité du NH3 est de 300 à 400 fois plus élevée que celle du NH4+ (Thurston et al. 1981b). Par ailleurs, la toxicité aiguë de l'ammoniaque augmente avec la baisse de la teneur en oxygène dissous (Lloyd 1961, Alabaster et al. 1979, Thurston et al. 1981b), la présence d'autres produits toxiques (Broderius et Smith 1979), et dans une moindre mesure avec la diminution de

température (EPA 1985, Env. Canada 1985c, mais voir Thurston et Russo 1983).

Les cyanures sont également plus toxiques en milieu faiblement oxygéné (Smith et al. 1978). Aux pH inférieurs à 8.0 ce sont surtout les formes libres (CN^- , HCN), les plus toxiques, qui sont présentes (Env. Canada 1980). A faible concentration, la toxicité des cyanures augmente avec la diminution de température (Kovacs et Leduc 1982, Smith et al. 1978). La combinaison de cyanure et d'ammoniaque produit un effet de synergie tout comme celle du complexe cyanure-zinc (Broderius et Smith 1979). La toxicité du zinc augmente avec le pH et la réduction de l'oxygène dissous (Lloyd 1961) mais diminue avec l'augmentation de la dureté de l'eau (Env. Canada 1980). Cette dernière était assez élevée dans ce cas-ci ($> 100 \text{ mg/L}$).

L'analyse détaillée des substances organiques indique des concentrations très faibles (< 0.001 à $< 0.006 \text{ ppm}$) pour la majorité des substances analysées, sauf pour l'éthylbenzène (0.06 ppm), le 1,1,1-trichloroéthane (0.03 ppm) et le butylbenzylphthalate (1.0 ppm). Malgré leur faible concentration, ces substances ne doivent pas être négligées. L'action conjointe de nombreux composés en faibles concentrations dans un effluent a déjà été mise en évidence (Deneer et al. 1988) au niveau de toxicité létale. Elle doit donc, à plus forte raison, être considérée pour les niveaux de toxicité sub-létale et chronique.

Tests biologiques

Le tableau 1 résume les effets létaux, sublétaux et chroniques observés.

1- Toxicité létale

Une forte toxicité létale a été observée avec truites arc-en-ciel (> 10 UTL), tête-de-boule (21.7 UTL) et les cladocères Ceriodaphnia (14.9 UTL). Les trois organismes montrent une réponse du même ordre de grandeur, suggérant une sensibilité équivalente. La perturbation des fonctions respiratoires et des échanges gazeux semble l'hypothèse la plus probable pour expliquer la mortalité observée. Les solides en suspension en concentration élevée sont susceptibles de produire le colmatage des branchies et des voies respiratoires (Env. Canada 1987). Ce mode d'action mécanique a vraisemblablement plus d'impact chez les cladocères. Le niveau marginal des valves et la surface des membres sont les principaux sites d'échanges gazeux (Pennak 1978), mais possèdent de nombreux cils et soies où peuvent s'agglomérer les particules en suspension et donc interférer dans le processus respiratoire. Chez les poissons, la survie à court terme n'est affectée généralement qu'à de fortes concentrations de solides en suspension ($> 100,000$ mg/L, EPA 1973). Smith et al. (1965) ont rapporté cependant une concentration de 2000 mg/L de particules en suspension d'origine végétale, produisant 78% de mortalité chez des tête-de-boule exposés durant 96h.

Par ailleurs, la toxicité de plusieurs éléments, notamment l'ammoniaque, le zinc et les cyanures, est associée à une perturbation du métabolisme respiratoire et/ou à des lésions de l'épithélium branchial. Chez les salmonidés exposés à l'azote

ammoniacal pour de courtes périodes (24 à 96h), les concentrations létales de NH_3 varient de 0.056 à 0.70 mg/L (Alabaster et Lloyd 1980), 0.16 à 1.1 mg/L (Thurston et Russo 1983), 0.083 à 4.6 mg/L (EPA 1985c). Les mécanismes suivants pourraient expliquer les effets toxiques observés chez les poissons: une augmentation de la consommation d'oxygène (3.3 X) a été notée (Smart 1978) chez les truites arc-en-ciel exposées à des concentrations létales de NH_3 . Cette augmentation était associée à une augmentation du volume ventilatoire, de l'amplitude et de la fréquence respiratoire. L'auteur suggérait que le mode d'action du NH_3 chez les poissons pourrait être le même que chez les mammifères (altération du métabolisme énergétique produisant l'épuisement des composés hautement énergétiques du cerveau). De façon générale, les poissons apparaissent plus sensibles à l'ammoniaque que les invertébrés (Alabaster et Lloyd 1980) et le phytoplancton (Abelovich et Azov 1976).

La $\text{LC}_{50-96\text{h}}$ du zinc chez la truite arc-en-ciel varie de 0.24 à 7.21 mg/L selon la longueur du poisson et la dureté de l'eau (Env. Canada 1980), et de 0.78 à 0.96 mg/L (dureté = 20 mg/L) chez les tête-de-boule (Pickering et Henderson 1966). Benoit et Holcombe (1978) ont rapporté une mortalité significative (36 à 72%) chez des tête-de-boule exposés à une concentration de 0.295mg/L durant 8 semaines. Les lésions possibles de l'épithélium branchial, apparentées à une réaction inflammatoire (Skidmore et Tovell 1972), pourraient diminuer la perméabilité des branchies à l'oxygène par réduction de la surface fonctionnelle pour le transport de l'oxygène (Hughes 1973). L'interruption des échanges gazeux produit l'hypoxie des tissus

et entraîne la mort de l'organisme (Burton et al. 1972).

Les crustacés apparaissent plus sensibles que les poissons à une exposition au zinc. La LC50-48h chez Daphnia magna varie de 0.1 mg/L (sans alimentation) à 0.28 mg/L de zinc (avec alimentation) d'après Biesinger et Christensen (1972). Les mécanismes d'action du zinc chez les crustacés d'eau douce sont inconnus. Cependant, quelques travaux réalisés avec des crustacés marins indiquent que plusieurs métaux (Cd, Cr, Ni, Zn) sont des compétiteurs de cations majeurs (Ca^{++} , Mg^{++}) sur les sites d'absorption (Phillips 1980). Les effets létaux semblent imputables à une décroissance de la capacité osmorégulatrice (Jones 1975, McLusky et Hagerman 1987).

Les cyanures, bien qu'en faible concentration (0.01 mg/L), peuvent également contribuer à la toxicité létale observée. La toxicité moyenne aiguë chez la truite arc-en-ciel est de l'ordre de 0.45 ug/L (EPA 1985), et de 1.0 ug/L chez Daphnia (Cairns et al. 1978). Les poissons, notamment la truite arc-en-ciel, et les Daphnies sont particulièrement sensibles aux formes libres (HCN , CN^-) du cyanure. Il a été mentionné précédemment que la présence de ces formes libres est fortement dépendante du pH et que leur toxicité augmente avec la diminution de l'oxygène dissous (Smith et al. 1978, Doudoroff 1976), et de la température (Kovacs et Leduc 1982, Smith et al. 1978). Ces paramètres, bien que contrôlés en début d'expérimentation, sont sujets à des variations en cours de test (particulièrement l'oxygène dissous et le pH) dont les effets sont inconnus. On sait que des petites variations de pH modifient fortement la toxicité des complexes cyano-métalliques (Leduc et al. 1983).

2- Toxicité sublétales

Les effets observés traduisent une toxicité sublétales élevée pour 2 des 3 niveaux trophiques considérés. L'analyse au Microtox (population bactérienne) indique une réponse relativement faible ($CI_{50} = 4 \text{ UTsl}$), alors que les effets sublétales chez les algues (inhibition de croissance de la population) et chez les poissons (inhibition de la croissance en poids et stress énergétique) sont du même ordre de grandeur (13 à 25 $UTsl$, Tableau 1). Ces résultats reflètent l'importance de réaliser divers types de bioessais (van Coillie et al. 1989, Giesy et al. 1988, Greene et al. 1985).

L'ensemble des éléments doit être considéré pour expliquer la toxicité sublétales. Néanmoins, certains éléments parmi ceux mesurés peuvent être envisagés plus spécifiquement puisqu'ils sont connus pour produire des effets toxiques même en faible concentration. Barlett et al. (1974) ont noté une inhibition de la croissance algale à une concentration de zinc de 30 $\mu\text{g/L}$. Parmi les substances organiques contenues dans l'effluent (Annexe 1), le butylbenzylphthalate doit être signalé. La concentration toxique de cet élément pour S. capricornutum se situe à 110 $\mu\text{g/L}$ (EPA 1978, Gledhill et al. 1980). Chez les poissons, une concentration de 6.0 $\mu\text{g/L}$ de NH_3 produit l'hyperplasie des branchies (Burrows 1964). Diverses pathologies hépatiques et sanguines sont également notées à ces faibles concentrations ammoniacales, e.g. augmentation du volume urinaire excrété (Lloyd et Orr 1969), réduction de la capacité de l'hémoglobine à se combiner à l'oxygène (Env. Canada 1987, 1980).

Outre les divers éléments déjà mentionnés, les fortes concentrations de solides totaux dissous (7064 mg/L) peuvent jouer un rôle important pour la population algale. Visser et Couture (1981) notent que la matière dissoute peut avoir des effets stimulateurs (disponibilité d'éléments essentiels au métabolisme algal) ou inhibiteurs (présence de substance toxiques et/ou complexation de substances organiques ou inorganiques devenant non-disponibles). Les variations d'abondance de la population algale en fonction de la concentration (%v/v) d'effluent (Fig. 1) indiquent les effets toxiques avant et après biodégradation de l'échantillon. Lorsque fortement dilué, l'effluent a un effet stimulateur ("hormesis effect", Stebbing 1982). Une réduction notable du nombre cellulaire est observée dans la gamme des concentrations comprises entre 5 et 25% v/v. Aux concentrations supérieures à 25% on observe à nouveau un effet stimulateur probablement dû à l'augmentation des éléments nutritifs disponibles. Le nombre cellulaire demeure cependant nettement inférieur au témoin. Les CI50 avant (17 UTsl) et après biodégradation (4-6 UTsl) ont été calculées sur la portion linéaire de la dose-réponse. La diminution de la valeur de CI50 après biodégradation indique que certaines substances de l'échantillon ayant une action toxique ont été dégradées. Cependant, le nombre cellulaire suit la même tendance à la baisse suggérant la persistance de substances partiellement responsables de la toxicité.

L'inhibition significative de la croissance en poids chez les tête-de-boule est observée à une concentration de 5% v/v de l'échantillon (Fig. 2, Annexe 2). Les perturbations du métabolisme énergétique (ATP) chez la truite arc-en-ciel sont observées

à une concentration de 7.5% v/v de l'échantillon (Fig. 3). L'analyse de variance hiérarchisée (Tableau 2) indique une diminution significative à cette concentration ($F = 2.56$, $p < 0.05$). La similitude des résultats obtenus pour ces deux variables (poids sec et ATP) suggèrent un lien entre stress énergétique et fonctions d'alimentation (modification du comportement alimentaire, réduction de l'efficacité d'assimilation, etc.).

Toxicité chronique

a) Reproduction

La reproduction de Ceriodaphnia constitue la variable la plus sensible à l'agression toxique de l'échantillon. La valeur de toxicité chronique obtenue (588 UTc) est au moins d'un ordre de magnitude supérieure aux valeurs de toxicité létale et sub-létale. La reproduction est inhibée significativement à partir d'une concentration de 0.3% v/v de l'échantillon (Fig. 4, Annexe 2). Parmi les possibles modes d'action des substances toxiques chez les organismes filtreurs, l'altération des fonctions alimentaires a été suggérée. En effet, Borgmann et al. (1989) ont émis l'hypothèse d'une réduction de l'efficacité de conversion de la biomasse, entraînant la diminution des taux de production chez Daphnia exposée à de faibles concentrations de cadmium. Par ailleurs, McKee et Knowles (1986) ont établi un lien entre le contenu protéinique chez Daphnia magna et l'inhibition de la reproduction, supportant l'hypothèse d'une perturbation du métabolisme associé à la fonction alimentaire. En d'autres termes, il est possible qu'en conditions de stress, l'organisme investisse l'énergie obtenue pour les besoins de sa survie individuelle au

détriment du maintien de la population.

Génotoxicité

Une dose-réponse génotoxique (Fig. 5) a été obtenue avec (+S9) et sans activation métabolique (-S9), indiquant la présence de substances mutagènes (-S9) et pro-mutagènes (+S9) activables par les systèmes enzymatiques animaux (Env. Canada 1989). L'intensité de cette réponse est cependant assez faible comme en témoignent les valeurs des facteurs d'induction (F.I) et des SOSIP (10X la valeur de la pente). Les seuils minimaux génotoxiques indiquent que des lésions du matériel génétique sont susceptibles de se produire à des concentrations de l'échantillon variant entre 11 et 16% v/v. Les substances potentiellement mutagènes étaient vraisemblablement contenues dans la fraction dissoute directement assimilable par les organismes. Aucune dose-réponse génotoxique n'a été obtenue après le test de biodégradation de l'échantillon, indiquant la nature biodégradable des substances potentiellement mutagènes. Il est à noter que l'eau du fleuve ayant servi pour les dilutions ne présente aucune génotoxicité.

REFERENCES

- Abelovich, A. et Y. Azov. 1976. Toxicity of ammonia to algae in sewage oxidation ponds. *Appl. Environ. Microbiol.* 31: 801-806.
- Alabaster, J.S., D.G. Shurben et G. Knowles. 1979. The effect of dissolved oxygen and salinity on the toxicity of ammonia to smolts of salmon, Salmo salar L. *J. Fish Biol.* 15: 705-712.
- et R. Lloyd. 1980. Water quality criteria for freshwater fish. Butterworth, London, England. 297 pp.
- APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association) et WPCF (Water Pollution Control Federation. 1985. Standard methods for the examination of water and wastewater, 16th ed. APHA (Ed.), Washington, D.C., USA.
- Barlett, L., F.W. Rabe et W.H. Funk. 1974. Effects of copper, zinc and cadmium on Selenastrum capricornutum. *Water Res.* 8: 179-185.
- Beckman Instruments Inc. 1982. Microtox System Operating Manual 015555879. Carlsbad, CA, USA. 62 pp.
- Benoit, D.A. et G.H. Holcombe. 1978. Toxic effects of zinc on fathead minnows Pimephales promelas in soft water. *J. Fish Biol.* 13: 701-708.
- Biesinger, K.E. et G.M. Christensen. 1972. Effects of various metals on survival, growth, reproduction, and metabolism of Daphnia magna. *J. Fish. Res. Board Can.* 29: 1691-1700.
- Blaise, C. 1986. Micromethod for acute aquatic toxicity assessment using the green alga Selenastrum capricornutum. *Toxicity Assessment: An International Quaterly* 1: 377-385.

Blaise, C., B. Trottier, R. van Coillie et P. Couture. 1986.

Evaluation de la toxicité sublétaie des effluents industriels vis-à-vis du poisson en mesurant l'ATP du muscle squelettique
Water Poll. Res. J. Canada 21: 71-90.

Borgmann, U., E.S. Millard et C.C. Charlton. 1989. Effect of cadmium on a stable, large volume, laboratory ecosystem containing Daphnia and phytoplankton. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 46: 399-405.

Broderius, S.J. et L.L. Smith, Jr. 1979. Lethal and sublethal effects of binary mixtures of cyanide and hexavalent chromium zinc or ammonia to the fathead minnow (Pimephales promelas) and rainbow trout (Salmo gairdneri). J. Fish. Res. Board Can. 36: 164-172.

Burrows, R.E. 1964. Effects of accumulated excretory products on hatchery reared salmonids. Bureau of Sports Fisheries and Wildlife Research. Report 66: 1-11.

Burton, D.T., A.H. Jones et J. Cairns, Jr. 1972. Acute zinc toxicity to rainbow trout (Salmo gairdneri): confirmation of the hypothesis that death is related to tissue hypoxia. J. Fish. Res. Board Can. 29: 1463-1466.

Cairns, J., Jr., A.L. Buikema, Jr., A.G. Heath et B.C. Parker. 1978. Effects of temperature on aquatic organism sensitivity to select chemicals. Bull. 106, Virginia Water Resources Research Center, Blackburg, Virginia.

Deneer, J.W., T.L. Sinnige, W. Seinen et J.L.M. Hermens. 1988. The joint acute toxicity to Daphnia magna of industrial organic chemicals at low concentrations. Aquatic Toxicology 12: 33-38.

- Doudoroff, P. 1976. Toxicity to fish of cyanides and related compounds: A review. U.S. Environmental Protection Agency, EPA-600/3-76-038. 154 pp.
- Emerson, K., R.C. Russo, R.E. Lund et R.V. Thurston. 1975. Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. J. Fish. Res. Board Can. 32: 2379-2383.
- Environnement Canada. 1989a. Approche intégrée pour l'évaluation écotoxicologique de rejets industriels. Conservation et Protection, Région du Québec. 17 pp.
- . 1989b. Acute lethality test using rainbow trout (Salmo gairdneri). Conservation and Protection, Ottawa. 54 pp.
- . 1989c. Essai de biodégradation. Protocole interne, Service de la Protection de l'Environnement, Région du Québec. 3 pp.
- . 1987. Vie aquatique d'eau douce. Pages 3-1 à 3-59 in: Recommandations pour la qualité des eaux au Canada. Conseil canadien des ministres des ressources et de l'environnement, Ottawa.
- . 1985. L'ammoniac. Collection Enviroguide, Service de la Protection de l'Environnement, Ottawa. 136 pp.
- . 1980. Zinc. Guidelines for surface water quality. Vol.1. Inorganic chemical substances. Inland Waters Directorate, Water Quality Branch, Ottawa. 52 pp.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1985a. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. EPA/600-14.
- . 1985b. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater organisms. EPA/600-13.

- . 1985c. Ambient Water Quality Criteria for Ammonia. 1984. Criteria and Standards Division, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C. EPA-440/5-85-001.
- . 1978. In-depth studies on health and environmental impacts of selected water pollutants. U.S. Environmental Protection Agency. EPA Contract No, 68-01-4646.
- . 1973. Water Quality Criteria 1972. Environmental Studies Board Nat. Acad. Eng., Washington, D.C. EPA.R3.73.033.
- Giesy, J.P., C.J. Rosiu, R.L. Graney, J.L. Newsted, A. Benda, R.G. Kreis et F.J. Horvath. 1988. Toxicity of Detroit river sediment interstitial water to the bacterium Photobacterium phosphoreum. J. Great Lakes Res. 14: 502-513.
- Gledhill, W.E., R.G. Kaley, W.J. Adams, O. Hicks, P.R. Michael et V.W. Seager. 1980. An environmental safety assessment of butylbenzyl phtalate. Environ. Sci. Technol. 14: 301-305.
- Hughes, G.M. 1973. Respiratory responses to hypoxia in fish. Am. Zool. 13: 475-489.
- Jones, M.B. 1975. Synergistic effects of salinity, temperature and heavy metals on mortality and osmoregulation in marine and estuarine isopods (Crustacea). Mar. Biol. 30: 13-20.
- Kovacs, T.G. et G. Leduc. 1982. Acute toxicity of cyanide to rainbow trout (Salmo gairdneri) acclimated at different temperatures. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 39: 1426-1429.
- Leduc, G., R.C. Pierce et I.R. McKracken. 1983. Effets des cyanures sur les organismes aquatiques, notamment sur les poissons d'eau douce. Comité associé sur les critères scientifiques concernant l'état de l'environnement. Conseil National de Recherches du Canada, Ottawa. CNRC No 19247. 144pp.

- Lloyd, R. 1961. Effect of dissolved oxygen concentrations on the toxicity of several poisons to rainbow trout (Salmo gairdneri Richardson). J. Exp. Biol. 48: 84-94.
- et L.O. Orr. 1969. The diuretic response by rainbow trout to sublethal concentrations of ammonia. Water Res. 3:335-344.
- McLusky, D.S. et L. Hagerman. 1987. The toxicity of chromium, nickel and zinc: effects of salinity and temperature, and the osmoregulatory consequences in the mysid Praunus flexuosus. Aquatic Toxicology 10: 225-238.
- McKee, M.J. et C.O. Knowles. 1986. Protein, nucleic acid and adenylyl levels in Daphnia magna during chronic exposure to chlordecone. Environ. Pollut. Ser. A. 42: 335-351.
- Pennak, R.W. 1978. Freshwater invertebrates of the United States. 2d edition. John Wiley and Sons, New York. 803 pp.
- Phillips, D.J.H. 1980. The toxicity of cadmium to marine and coastal biota. Pages 450-483 in: J.O. Nriagu (Ed.). Cadmium in the environment. Part 1. Ecological cycling. Wiley-Interscience, New York.
- Pickering, Q.H. and C. Henderson. 1966. The acute toxicity of some heavy metals to different species of warm-water fishes. Int. J. Air Water Pollut. 10: 453-463.
- Quillardet, P., O. Huisman, R. D'Ari et M. Hofnung. 1982. SOS Chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in Escherichia coli K-12 to measure genotoxicity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79: 5971-5975.

- Skidmore, J.F. et P.W.A. Tovell. 1972. Toxic effects of zinc sulphate on the gills of rainbow trout. *Water Res.* 6: 217-230.
- Smart, G. 1978. Investigations of the toxic mechanisms of ammonia to fish: gas exchange in rainbow trout (Salmo gairdneri) exposed to acute lethal concentrations. *J. Fish Biol.* 12: 93-104.
- Smith, L.L., R.H. Kramer et J.C. MacLeod. 1965. Effects of pulpwood fibers on fathead minnows and walleye fingerlings. *J. Water Pollution Control Fed.* 37: 130-140.
- , Jr., S.J. Broderius, D.M. Oseid, G.L. Kimball et W.M. Koenst. 1978. Acute toxicity of hydrogen cyanide to fresh water fishes. *Arch. Environ. Contamin. Toxicol.* 7: 325-337.
- Stebbing, A.R.D. 1982. Hormesis - The stimulation of growth by low levels of inhibitors. *Sci. Total Environ.* 22: 213-234.
- Thurston, R.V., R.C. Russo et G.A. Vinogradov. 1981a. Ammonia toxicity to fishes: effect of pH on the toxicity of the unionized ammonia species. *Env. Sci. Technol.* 15: 837-840.
- , G.R. Phillips, R.C. Russo et S.M. Hinkins. 1981b. Increased toxicity of ammonia to rainbow trout (Salmo gairdneri) resulting from reduced concentrations of dissolved oxygen. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38: 983-988.
- et R.C. Russo. 1983. Acute toxicity of ammonia to rainbow trout. *Trans. Am. Fish. Soc.* 112: 696-704.
- Van Coillie, R., N. Bermingham, C. Blaise, R. Vezeau et J.S.S. lakshminarayana. 1989. Integrated ecotoxicological evaluation of effluents from dumpsites. Pages 161-191 in: J.A. Nriagu (Ed.). *Aquatic Toxicology and Water Quality Management*. John Wiley and Sons, New York.

- Vezeau, R. 1982. Protocoles d'échantillonnage, de préservation et de préparation des échantillons pour les analyses des polluants prioritaires. Environnement Canada, Service de Protection de l'Environnement, Région du Québec. 35 pp.
- Visser, S.A. et P. Couture. 1981. Les effets de la matière organique dissoute d'une eau douce sur la croissance de l'algue Selenastrum capricornutum. Water Res. 15: 1355-1361.
- Williams, K.A., D.W.J. Green et D. Pascoe. 1986. Studies on the acute toxicity of pollutants to freshwater macroinvertebrates. 3. Ammonia. Arch. Hydrobiol. 106: 61-70.

TABLEAU 1-Résultats des analyses biologiques (NACAN)

NIVEAUX DE TOXICITE	NIVEAUX TROPHIQUES					
	Bactéries		Algues	Crustacés	Poissons	
	1	2	3	4	5	6
1-LETAL (UTl)						
CL50				14.9	>10	21.7
2-SUBLETAL (UTsl)						
CI50 (Av.Biodeg)		3.8	17			
CI50 (Ap.Biodeg)		2.2	5.5			
Croissance						14.3
ATP stress ‡					13-18	
3-CHRONIQUE (UTç)						
Reproduction				588		
Génotoxicité §§						
-Echant.original						
(-S9)		15.9	Dose-réponse significative			
(+S9)		11.6	Dose-réponse significative			
-Biodégradation						
(-S9)		<5.0	Pas de dose-réponse			
(+S9)		<5.0	Pas de dose-réponse			
BACTERIES: 1= Escherichia coli, 2= Photobacterium phosphoreum						
ALGUES : 3= Selenastrum capricornutum						
CRUSTACES: 4= Ceriodaphnia reticulata						
POISSONS : 5= Salmo gairdneri, 6= Pimephales promelas						

‡ Concentration minimale de stress exprimée en UTsl

§§ Seuil minimal génotoxique exprimé en unités génotoxiques (UGT)

Tableau 2 - Analyse de variance hiérarchisée sur les effets de stress énergétique mesurés par la teneur en ATP dans le muscle squelettique de la truite arc-en-ciel. Le facteur Replica est emboîté dans le facteur Concentration. Pour chaque concentration, n=10.

Source de variation	SS	DF	MF	F
Concentration	61.66	5	12.33	2.56*
Replica	3.04	6	0.51	0.11ns
Erreur résiduelle	231.17	48	4.82	

* = $p < 0.05$

ns = non significatif

Selenastrum capricornutum

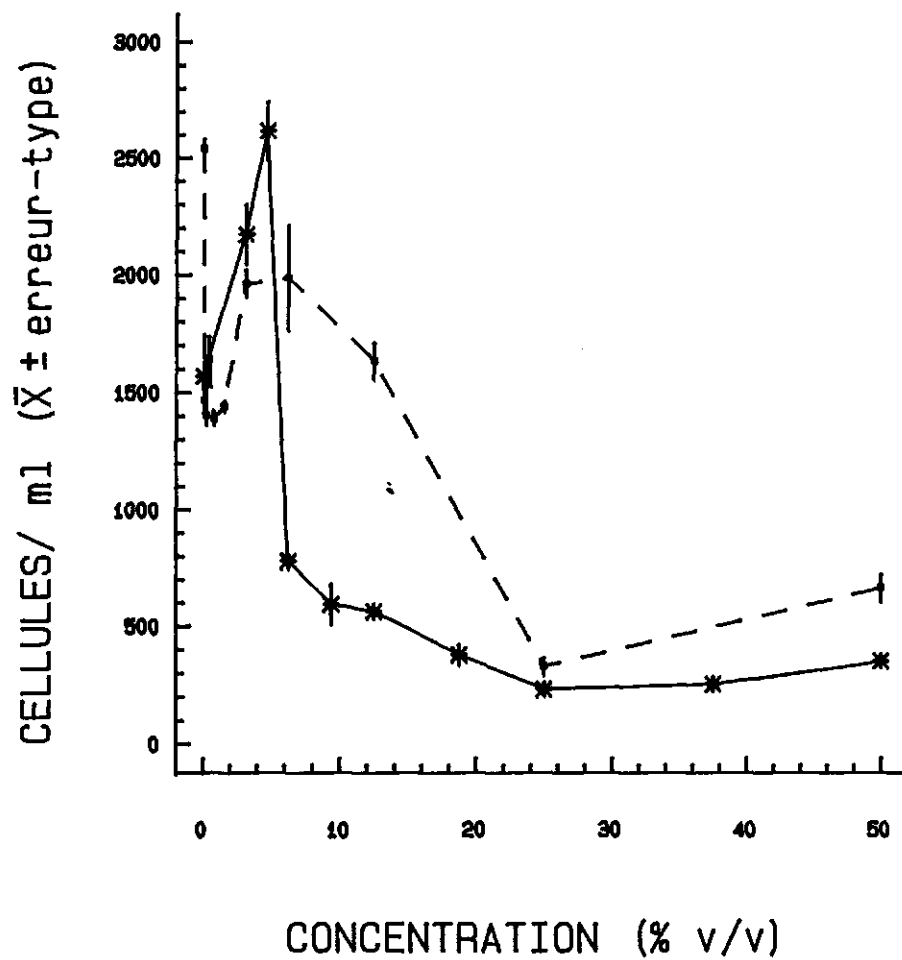


Figure 1. Inhibition de la croissance de la population algale exposée à diverses concentrations d'effluent.

* — * avant biodégradation
- - - après biodégradation

Pimephales promelas

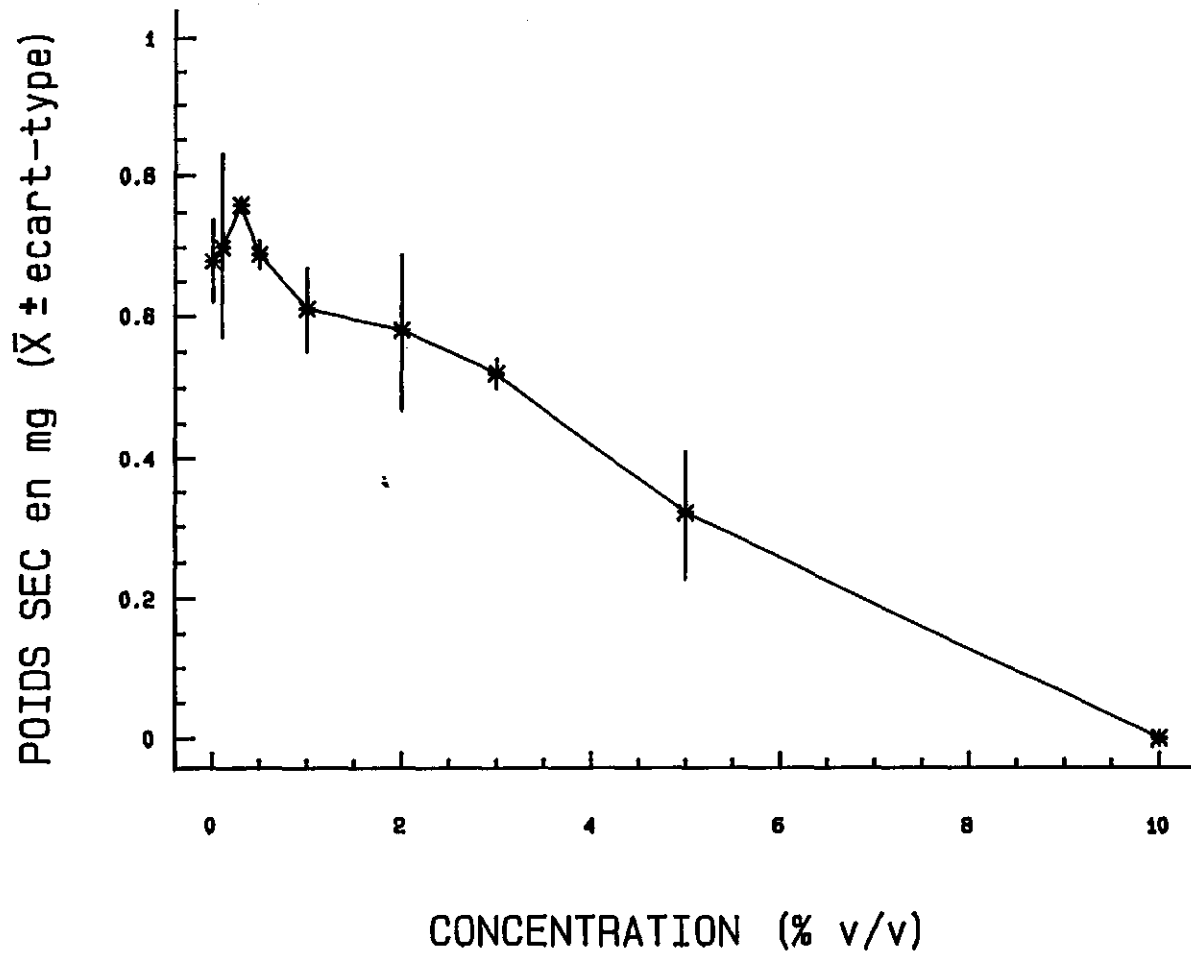


Figure 2. Inhibition de la croissance en poids chez les tête-de-boule exposés à diverses concentration d'effluent.

Salmo gairdneri

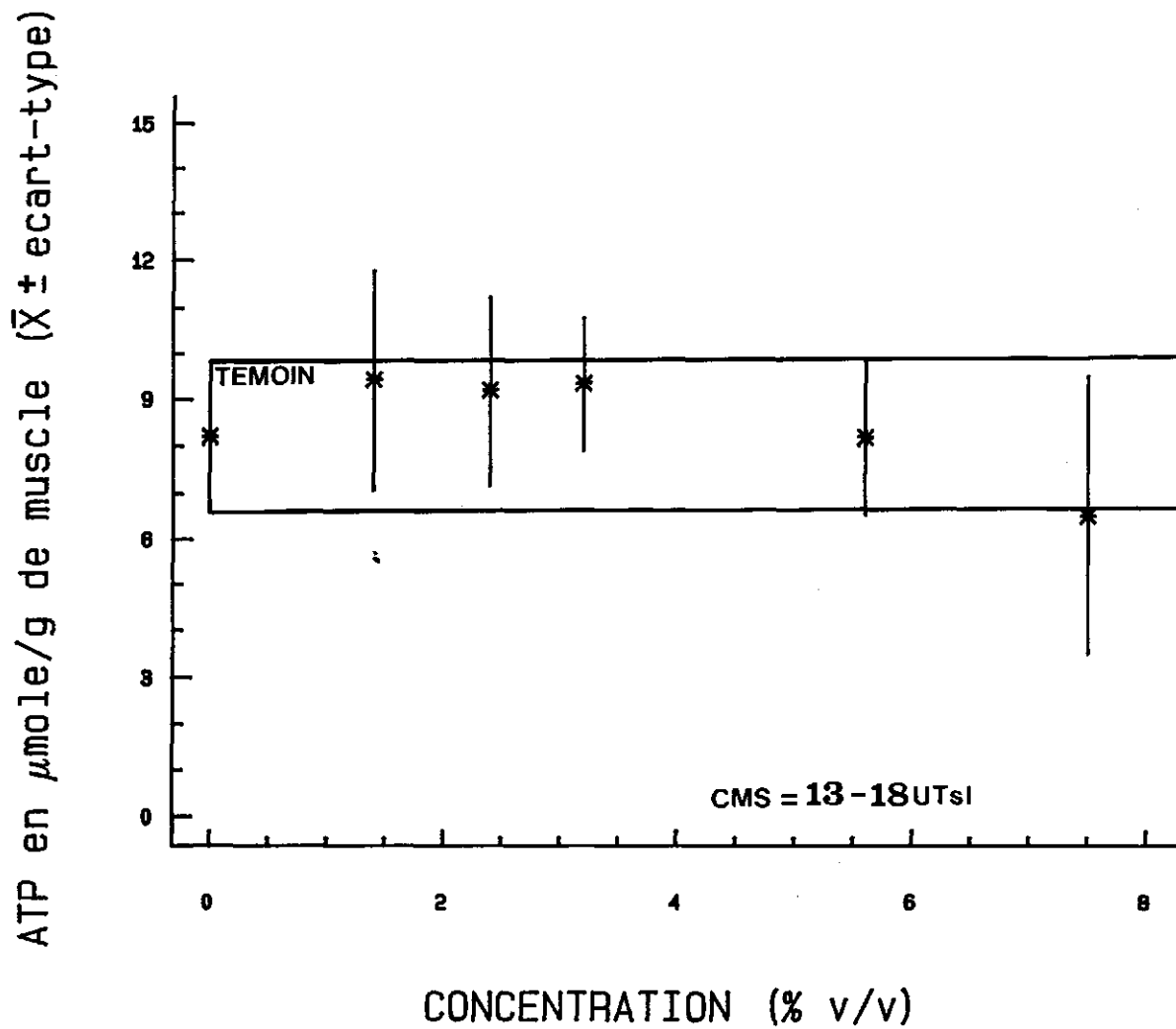


Figure 3. Stress énergétique chez la truite arc-en-ciel mesuré par la teneur en ATP dans le muscle squelettique des poissons exposés à diverses concentrations d'effluent.

Ceriodaphnia reticulata

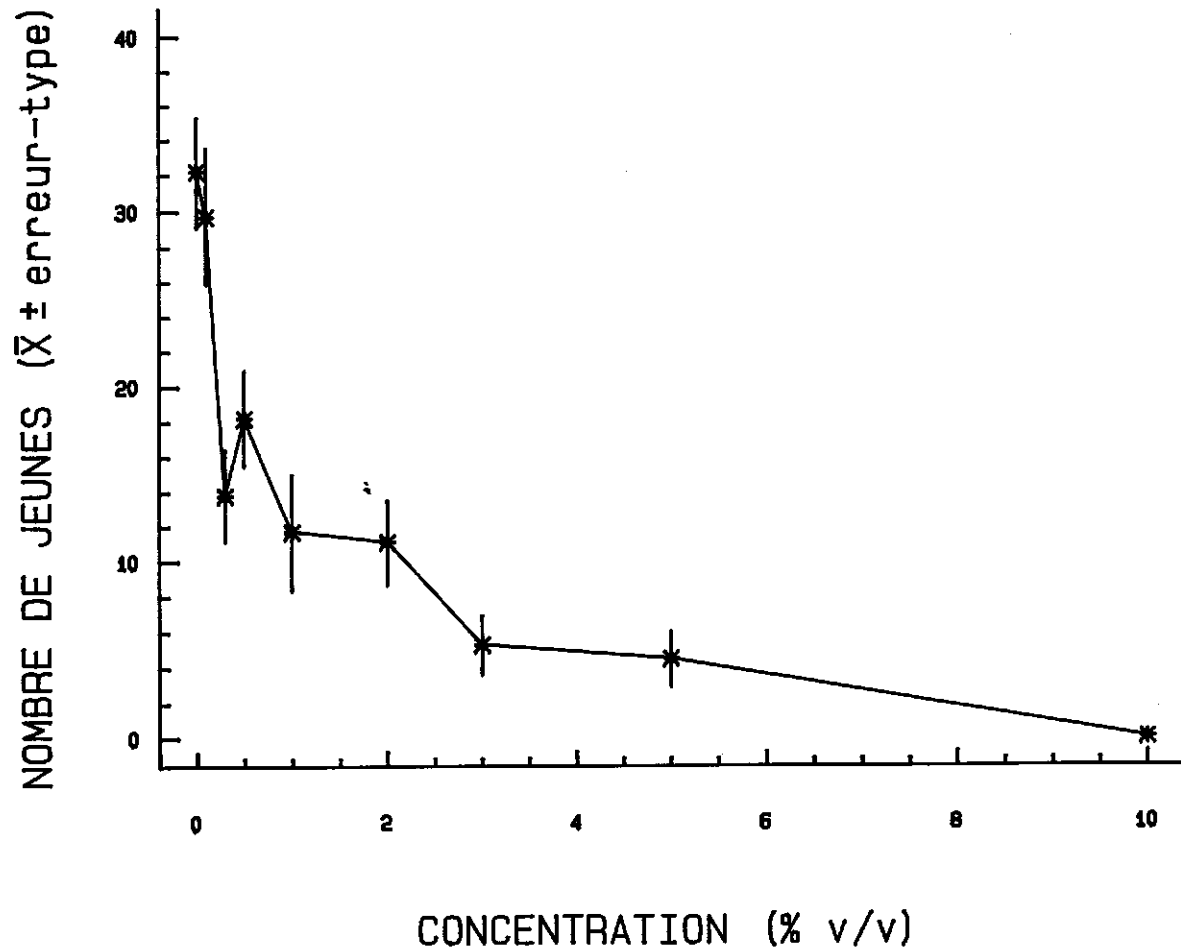


Figure 4. Inhibition de la reproduction des *Ceriodaphnia* exposées à diverses concentrations d'effluent.

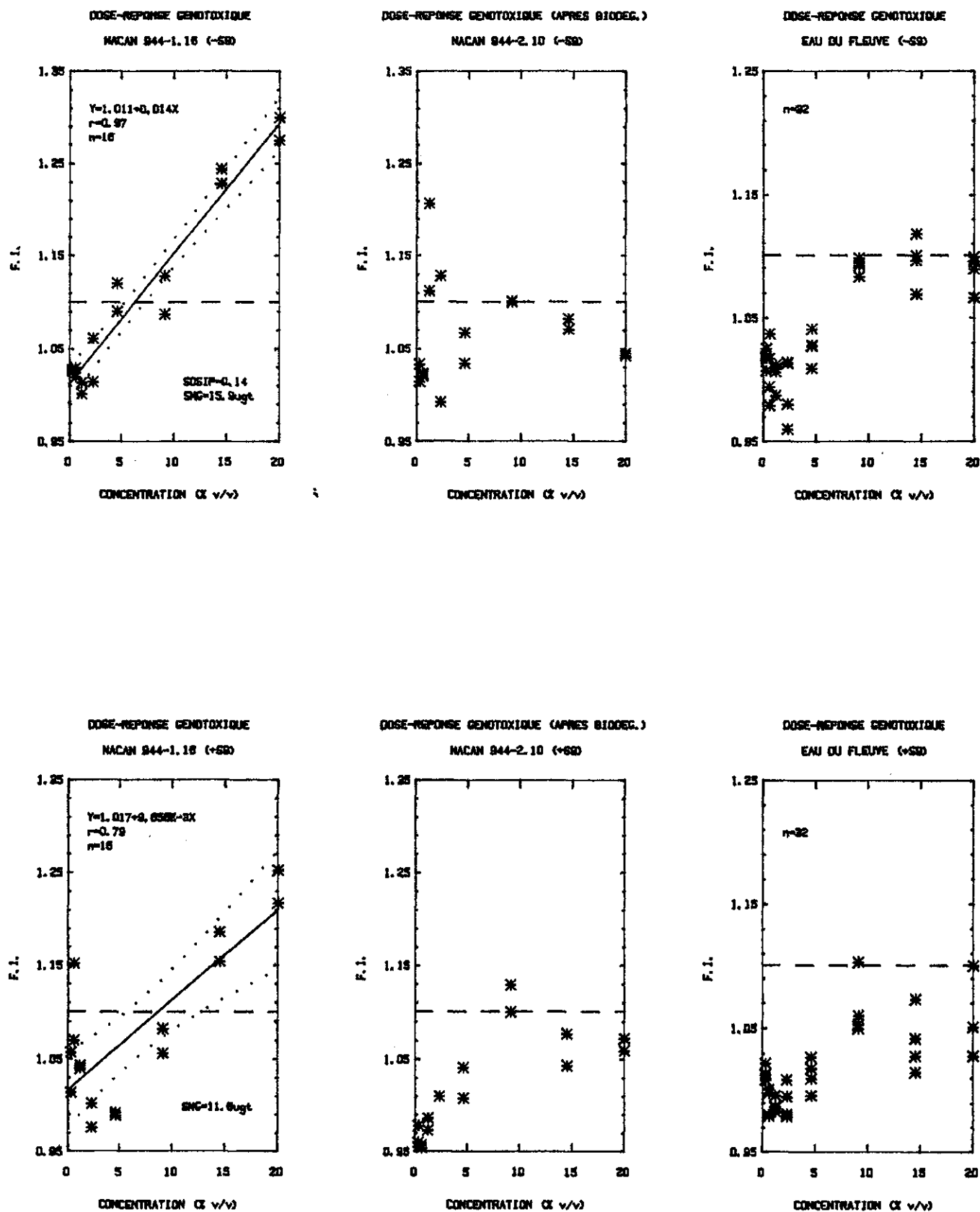


Figure 5. Dose-réponses génotoxiques obtenues avant et après biodégradation. Notez l'absence de génotoxicité dans l'eau du fleuve ayant servi aux dilutions.

ANNEXE 1

**Données analytiques de la firme Enviroservices
Echantillonnage du 29 au 30.03.89 pour l'évaluation
écotoxicologique de l'usine NACAN (Boucherville)**

TABLEAU 5.8

RESULTATS DES ANALYSES CHIMIQUES LES PRODUITS NACAN LIMITEE MUNICIPALITE DE BOUCHERVILLE POINT 3-SORTIE DU TRAITEMENT					
DATE: Du 28 au 31 mars 1989 PERIODE: 7H00 @ 7H00 FREQUENCE: Au 15 minutes					
CODE DU PARAMETRE (Environnement CANADA)	DESCRIPTION	JOUR 1 28 au 29 mars (mg/l)	JOUR 2 29 au 30 mars (mg/l)	JOUR 3 30 au 31 mars (mg/l)	MOYENNE 28 au 31 mars (mg/l)
00840	DBO5	1 212	3 313	1 485	1 337
00820	DCO	6 514	6 593	7 186	6 764
00110	MES	801	1 255	1 358	1 138
00100	ST	6 974	7 064	7 724	7 254
00671	P tot	0.75	1.70	0.60	1.0
00710	N-NH3	44.3	59.5	64.5	56.1
	Matières extractibles au fréon	8.1	13.8	12.6	11.5
	Hydrocarbures (Minéraux)	1.8	5.1	4.6 < 1.0	3.8
00330	Zinc	0.50	0.51	0.66	0.56
00631	Cyanures	0.02	0.01	0.05	0.03
00810	Phénol	0.046	0.040	0.139 0.022	0.075

**RESULTATS DES ANALYSES CHIMIQUES
SUBSTANCES ORGANIQUES VOLATILES
LES PRODUITS NACAN LIMITEE
MUNICIPALITE DE BOUCHERVILLE
POINT 3-SORTIE DU TRAITEMENT**

DATE: 29 au 30 mars
PERIODE: 7h00 @ 7h00
FREQUENCE: 1.5 litre/heure

CODE DU PARAMETRE (Environnement CANADA)	DESCRIPTION	CONCENTRATION	UNITE
Hydrocarbures halogènes			
02020	Bromodichloro-méthane	< 0.002	mg/l
02030	Bromoform	< 0.002	mg/l
	Tetrachlorure de carbone	< 0.002	mg/l
02090	Chloroforme	< 0.002	mg/l
02120	Dibromochloro-méthane	< 0.002	mg/l
02160	1,1-Dichloro-éthylène	< 0.002	mg/l
02140	1,1-Dichloroéthane	< 0.002	mg/l
02150	1,2-Dichloroéthane	< 0.002	mg/l
02170	Trans-1,2 -dichloro-éthylène	< 0.002	mg/l
02300	Dichlorométhane	< 0.002	mg/l
02180	1,2-Dichloropropane	< 0.002	mg/l
	Cis-1,2-Dichloro-propène	< 0.002	mg/l
	Trans-1,3-Dichloro-propène	< 0.002	mg/l
02220	1,1,2,2-Tétra-chloroéthane	< 0.002	mg/l
	Tétrachloroéthylène	< 0.002	mg/l
02250	1,1,1-Trichloroéthane	0.03	mg/l
02260	1,1,2-Trichloroéthane	< 0.002	mg/l

**RESULTATS DES ANALYSES CHIMIQUES
SUBSTANCES ORGANIQUES NON VOLATILES
LES PRODUITS NACAN LIMITEE
MUNICIPALITE DE BOUCHERVILLE
POINT 3-SORTIE DU TRAITEMENT**

DATE: 29 au 30 mars 1989
PERIODE: 7h00 @ 7h00
FREQUENCE: 15 minutes

CODE DU PARAMETRE (Environnement CANADA)	DESCRIPTION	CONCENTRATION	UNITE
Groupe des acides			
04100	Phenol	< 0.001	mg/l
	O-Chlorophenol	< 0.001	mg/l
04070	2-Nitrophenol	< 0.001	mg/l
04040	2,4-Dimethylphenol	< 0.001	mg/l-P
04030	2,4-Dichlorophenol	< 0.001	mg/l-N
	4-Chloro-3-Methylphenol	< 0.001	mg/l
04110	2,4,6-Trichlorophenol	< 0.001	mg/l
04060	2,4-Dinitrophenol	< 0.006	ppm
04080	4-Nitrophenol	< 0.006	ppm
	2-Methyl-4,6-Dinitrophenol	< 0.001	mg/l
04090	Pentachlorophenol	< 0.002	

**RESULTATS DES ANALYSES CHIMIQUES
LES PRODUITS NACAN LIMITEE
MUNICIPALITE DE BOUCHERVILLE
POINT 3-SORTIE DU TRAITEMENT**

DATE: 29 au 30 mars 1989
PERIODE: 7h00 @ 7h00
FREQUENCE: Au 15 minutes

CODE DU PARAMETRE (Environnement CANADA)	DESCRIPTION	CONCENTRATION	UNITE
Bases Neutres			
11140	Naphtalène	< 0.001	mg/l
11020	Acenaphthylène	< 0.001	mg/l
11010	Acenaphène	< 0.001	mg/l
11120	Fluorène	< 0.001	mg/l
11150	Phénanthrène	< 0.001	mg/l
11030	Anthracène	< 0.001	mg/l
11110	Fluoranthène	< 0.001	mg/l
11160	Pyrène	< 0.001	mg/l
11040	Benzo(a)Anthracène	< 0.001	mg/l
11050	Benzo(b)Fluoranthène	< 0.001	mg/l
11060	Benzo(k)Fluoranthène	< 0.001	mg/l
	Benzo(e)Pyrène	< 0.001	mg/l
11080	Benzo(a)Pyrène	< 0.001	mg/l
11070	Benzo(ghi)perylene	< 0.001	mg/l
11090	Chrysène	< 0.001	mg/l
	3-Méthylcholanthrène	< 0.001	mg/l
	Indeno(1-2-3cd) Pyrène	< 0.001	mg/l
11100	Dibenzo(ah)Anthracène	< 0.001	mg/l

**RESULTATS DES ANALYSES CHIMIQUES
LES PRODUITS NACAN LIMTEE
MUNICIPALITE DE BOUCHERVILLE
POINT 3-SORTIE DU TRAITEMENT**

DATE: 29 au 30 mars
PERIODE: 7h00 @ 7h00
FREQUENCE: Au 15 minutes

CODE DU PARAMETRE (Environnement CANADA)	DESCRIPTION	CONCENTRATION	UNITE
Esthers Phtalates			
14040	Diméthylphtalate	< 0.001	mg/l
14030	Diéthylphtalate	< 0.001	mg/l
14020	Di-n-butylphtalate	< 0.001	mg/l
14010	Butyl Benzylphtalate	1.0	mg/l-P
	Diéthylhexylphtalate	< 0.001	mg/l-N
14050	Di-n-octylphtalate	< 0.001	mg/l
Esthers Halogenes			
15030	Bis(2-chloroéthyl) éther	< 0.001	ppm
15040	Bis(2-chloroiso- propyl)ether	< 0.001	ppm
15050	4-Chlorophényl phényl ether	< 0.001	mg/l
15010	4-Bromophényl phényl ether	< 0.001	
Nitroaromatiques			
16110	Nitrobenzène	< 0.001	
16100	Isophorone	< 0.001	
16050	2,6-Dinitrotoluène	< 0.001	
16040	2,4-Dinitrotoluène	< 0.001	
Nitrosamines			
13030	N-Nitrosodi-N- propylamine	< 0.001	
13020	N-Nitrosodiphé- nylamine	< 0.001	

ANNEXE 2

**Résultats des analyses statistiques
effectuées par la firme Le Groupe Environnemental
sur les bioessais avec Ceriodaphnia et tête-de-boule**

INPUT DATA TABLE

Conc. Replicates -->

1	.63	.72
2	.61	.79
3	.75	.75
4	.70	.67
5	.56	.65
6	.65	.50
7	.50	.53
8	.25	.38

RESULTS OF SEQUENTIAL COMPARISONS USING THE DUNNETTS TEST

For this set of data, the minimum difference that can be
Detected as statistically significant is .208 .
This represents a 30.7% reduction in the mean.
Response from the control.
T = 2.81

CALCULATED T VALUES

Concentration Number	Ti
2	-.30
3	-1.01
4	-.10
5	.98
6	1.38
7	2.20
8	4.93

There is no significant difference between concentration 2 and control.
There is no significant difference between concentration 3 and control.
There is no significant difference between concentration 4 and control.
There is no significant difference between concentration 5 and control.
There is no significant difference between concentration 6 and control.
There is no significant difference between concentration 7 and control.

=> There is significant difference between concentration 8 and control.

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SUM OF SQ.	MEAN SQ.	CALC F	TAB F(0.05)
BETWEEN	7	.274	.039	7.142	5.320
WITHIN	8	.044	.005		
TOTAL	15	.318			

NOEC = 3/
LOEC = 5/
CHV = 3.9 = 4/.

Macan 944 - Ceniclophane

INPUT DATA TABLE

Conc. Replicates -->

1	40.00	21.00	36.00	42.00	39.00	36.00	41.00	30.00	22.00	15.00
2	33.00	15.00	40.00	2.00	34.00	28.00	32.00	37.00	34.00	37.00
3	19.00	2.00	13.00	23.00	1.00	23.00	17.00	19.00	5.00	16.00
4	5.00	15.00	21.00	9.00	28.00	21.00	16.00	20.00	34.00	13.00
5	29.00	23.00	9.00	16.00	17.00	1.00	2.00	.00	19.00	1.00
6	18.00	12.00	6.00	16.00	.00	1.00	4.00	18.00	15.00	21.00
7	.00	4.00	.00	12.00	.00	10.00	7.00	.00	8.00	12.00
8	6.00	5.00	.00	.00	5.00	13.00	12.00	.00	4.00	.00

RESULTS OF SEQUENTIAL COMPARISONS USING THE DUNNETTS TEST

For this set of data, the minimum difference that can be
Detected as statistically significant is 9.311.
This represents a 28.9% reduction in the mean.
Response from the control.
T = 2.39

CALCULATED T VALUES

Concentration Number	Ti
2	.82
3	4.72
4	3.59
5	5.26
6	5.42
7	6.90
8	7.11

There is no significant difference between concentration 2 and control.

- => There is significant difference between concentration 3 and control.
- => There is significant difference between concentration 4 and control.
- => There is significant difference between concentration 5 and control.
- => There is significant difference between concentration 6 and control.
- => There is significant difference between concentration 7 and control.
- => There is significant difference between concentration 8 and control.

NOEC = 0.11.

LOEC = 0.31.

CHV = 0.17%.

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SUM OF SQ.	MEAN SQ.	CALC F	TAB F(0.05)
AMONG	7	7297.552	1042.507	13.736	2.370
WITHIN	72	5464.398	75.894		
TOTAL	79	12761.950			

INPUT DATA TABLE

Conc. Replicates -->

1	.90	.90
2	.90	.90
3	.90	.80
4	1.00	1.00
5	1.00	1.00
6	1.00	.80
7	1.00	1.00
8	.60	.80

TRANSFORMED DATA TABLE

Note: Transformation number 4 was used for this set of data

Conc. Replicates -->

1	1.25	1.25
2	1.25	1.25
3	1.25	1.11
4	1.46	1.46
5	1.46	1.46
6	1.46	1.11
7	1.46	1.46
8	.89	1.11

RESULTS OF SEQUENTIAL COMPARISONS USING THE DUNNETTS TEST

For this set of data, the minimum difference that can be
Detected as statistically significant is .247 .
This represents a 27.5% reduction in the mean.
Response from the control.
 $T = 2.81$

CALCULATED T VALUES

Concentration Number	T1
2	.00
3	.65
4	-1.91
5	-1.91
6	-.31
7	-1.91
8	2.30

There is no significant difference between concentration 2 and control.
There is no significant difference between concentration 3 and control.
There is no significant difference between concentration 4 and control.
There is no significant difference between concentration 5 and control.
There is no significant difference between concentration 6 and control.
There is no significant difference between concentration 7 and control.
There is no significant difference between concentration 8 and control.

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SUM OF SQ.	MEAN SQ.	CALC F	TAB F(0.05)
BETWEEN	7	.375	.054	4.448	3.320
WITHIN	8	.096	.012		
TOTAL	15	.471			

NOEC = 5%
LOEC = 10%
CHV = 7%

