

CONSEQUENCES DE L'APPORT DE CONTAMINANTS SUR LES LOMBRICIENS

II. ESTIMATION STATISTIQUE DES RISQUES

par Kimon HADJIBIROS, Léon FAYOLLE et Marcel B. BOUCHE⁽¹⁾

Mots-clés proposés : contaminants, polluants, pesticides, métaux lourds, estimation des risques, modèle log-probit.

Index taxonomique : Annelida, Oligochaeta, Megadrili.

Résumé : L'estimation des risques dûs aux contaminants agissant sur des peuplements lombriciens en conditions naturelles implique de disposer d'une connaissance fondamentale des relations dose/effets telles que pour toute dose une probabilité d'effet puisse être prévue. Le modèle log-probit de la dose/survie a été appliquée avec succès aux données expérimentales. Deux méthodes pour tester la signification des résultats ont été essayées et comparées. Les difficultés de mise en oeuvre du modèle proviennent de l'existence de mortalité dans les témoins et du choix, effectué indépendamment du modèle, des doses expérimentales testées.

CONSEQUENCES OF THE IMPACT OF POLLUTANTS ON EARTHWORMS

II. STATISTICAL ESTIMATION OF RISKS

by Kimon HADJIBIROS, Léon FAYOLLE and Marcel B. BOUCHE⁽¹⁾

Suggested key-words : pollutants, pesticides, heavy metals, earthworms, risk assessments, log-probit model.

Taxonomic index : (see above).

Summary : Assessment of risks arising from the effects of pollutants on earthworm populations under natural conditions require fundamental knowledge of relationships between chemical doses and biological effects. The log-probit model has been tried with success on proportion/survival experimental data. This model leads to the prediction of the survival probability for any chemical concentration. Significance tests were carried out following two procedures which were compared. Difficulties in use of the model arose from mortality in the controls and from choice of inadequate dose rates.

(1) Adresse : Laboratoire de zooécologie du sol, I.N.R.A., 17, rue Sully
F-21034-DIJON (France)

I. INTRODUCTION

Les lombriciens font partie, présentement, de la faune spontanée de pratiquement tous nos milieux agricoles, cultivés, prairiaux ou forestiers. Ils constituent la première biomasse animale. Leur rôle écologique et économique est énorme (voir 1ère partie), et leur protection est une nécessité impérieuse.

D'une façon générale, l'apport d'éléments dangereux (pesticides, métaux lourds, polluants organiques, etc.) ou l'usage de pratiques agricoles nocives peuvent avoir divers effets sur les populations lombriciennes (modification du métabolisme, de la croissance, de la fécondité, de la survie) se traduisant souvent par un abaissement du niveau de celles-ci.

Apprécier l'effet d'un contaminant sur les peuplements lombriciens implique de connaître d'une part la relation dose du contaminant/effet, et d'autre part de pouvoir apprécier les conséquences de cet effet : pour un même effet les conséquences varient en fonction du contexte (voir Bouché, 1ère partie, § 3.1).

Le principal objectif des études toxicologiques a été porté sur la protection de l'homme ; il s'agit idéalement d'établir des normes de sorte que l'on ne prenne "aucun risque" (en fait, un risque de probabilité quasi nulle). La situation est toute différente pour envisager un effet contaminant/lombriciens. Il ne peut être question de s'interdire l'usage de certaines techniques importantes pour ne prendre aucun risque vis à vis de ces animaux : il y a lieu de connaître les risques pris en chaque circonstance. L'appréciation de l'effet contaminant/lombriciens doit tenir compte de deux éléments :

1) obtenir un effet positif ou s'il est négatif, pas plus négatif que les conséquences positives attendues de la technologie conduisant à la contamination (= bilan global positif de cette technologie).

2) assurer la survie des diverses espèces de lombriciens présentes à des fins de protection de la nature : il s'agit de la sauvegarde d'un capital.

La deuxième condition est apparemment plus simple à satisfaire, en pratique, c'est celui d'un cas extrême qui malheureusement existe actuellement.

L'appréciation de l'effet contaminant/lombriciens doit, dans le premier cas, être inclus dans le contexte naturel et socio-économique où la contamination a lieu pour porter un jugement correct sur l'aspect plus ou moins négatif, ou positif, de la contamination. Ceci implique normalement de disposer de trois types d'informations :

- une connaissance "pure" de l'effet contaminant/lombriciens, c'est ce que peuvent nous donner, si ils sont bien conçus, les essais de laboratoire.

- une connaissance "chronologique" de l'aptitude du peuplement lombricien à amortir l'effet "pur", dans le contexte écologique de ce peuplement (démographie notamment). Par exemple, la destruction de 20 % d'une population peut n'avoir aucun inconvénient s'il s'agit de l'élimination d'animaux en surnombre (cette destruction revenant, par exemple, à réduire une compétition nutritionnelle aiguë). Cette même perte aura de lourdes conséquences si d'autres actions dépressives se succèdent sur ce peuplement (cas de la multitude des interventions agronomiques, de la répétition des traitements pesticides, etc.).

- une connaissance "généralisée" des risques. Nous avons montré que la modification du niveau du peuplement lombricien entraîne de nombreuses conséquences économiques à court, moyen et long terme (voir Bouché, 1ère partie, § 1.2).

Une appréciation globale de ces conséquences écologiques, pédologiques, agronomiques, etc... doit pouvoir être faite de façon que l'effet "pur" remis dans son contexte "chronologique" soit apprécié dans toutes ses conséquences écologiques et économiques. Une modélisation aussi holistique que possible du rôle des lombriciens est alors indispensable.

En d'autres termes, l'utilisation de notre connaissance de l'effet contaminant/lombriciens dépendra du contexte propre au peuplement (dynamique) et à l'environnement. Les résultats de l'effet "pur" contaminant/lombriciens doivent donc être présentés sous une forme qui permette, quelles que soient les conditions socio-économiques et écologiques, de les utiliser.

Etablir une CL 50 vis à vis d'un contaminant n'est donc pas suffisant, car choisir à partir de celle-ci une marge de sécurité arbitraire, c'est ou bien insuffisant (la survie des espèces après une contamination n'est pas une sécurité, c'est l'ensemble des accidents annuels subis par cette espèce qui nous renseigne sur son état) ou bien excessif. En toxicologie classique, l'adoption d'une marge de sécurité normalement largement calculée, est souhaitable vis à vis de l'homme. En agronomie, par exemple, l'adoption d'une limitation excessive peut entraîner l'abandon d'une spéculation intéressante ; à l'inverse, un optimisme excessif (dose tolérée trop élevée, ou absence de contrôle) peut également entraîner l'abandon de culture intéressante en raison de déséquilibres rédhibitoires ainsi provoqués. Il nous faut disposer d'un moyen d'estimation souple et précis des effets des contaminants.

Dans la mesure où l'essai de laboratoire reflète les mécanismes d'action "pure" d'un contaminant, il est souhaitable de présenter l'effet/dose selon un graphe extrapolable aux faibles et fortes doses (expression simplifiée et d'usage général). La représentation directe des mortalités (en ordonnées) en fonction des doses (abscisses) conduit à des courbes grossièrement sigmoïdes qui se prêtent mal aux estimations des risques ; il est notamment difficile d'établir la CL 50.

Le modèle log/probit (logarithme base 10 des doses et probit des mortalités) permet une présentation globale, plus exactement une mesure précise des probabilités de mortalité aux diverses doses, y compris faibles, arrivant au sol (ce qui peut varier avec le mode d'application : Stringer et Lyons, 1977). Une telle présentation permet, dans un système de décision intégrant les diverses contraintes économiques (coût/gains) et les divers impacts écologiques des agrotechniques, de situer le poids d'une technique et de choisir les seuils tolérables.

Nous nous sommes, pour cela, inspirés des méthodes développées par Lowy (1977) et Lowy et al. (1977) au sujet de la toxicologie nutritionnelle. Comme le souligne Lowy (1977) « La grande originalité du modèle log-probit est d'associer à toute dose une probabilité d'effet telle qu'aucune dose, si ce n'est la dose nulle, ne peut provoquer, avec certitude, l'effet nul... Pour toute dose non nulle, il y a un risque d'effet non nul, et ce risque augmente avec la dose ».

Un autre intérêt d'un modèle statistique défini (ici log-probit) est celui de nous guider dans l'organisation de nos essais. Souvent un essai préliminaire léger, dont les résultats traités sommairement (par exemple avec du papier graphique log/probit), permettra d'organiser un plan d'expérience répondant aux exigences statistiques des objectifs de l'essai (cf. § 2.4)

II. METHODE DE CALCUL DES RISQUES

Pour le calcul d'une relation log-probit d'un effet contaminant/lombriciens nous avons utilisé l'effet létal de pesticides agricoles. La transformation probit étant fondée sur l'hypothèse que la fréquence des doses létales minimales individuelles est répartie selon une courbe normale (cloche de Gauss), il faut que les données, relatives à la mortalité (effet), suivent une distribution normale. La mortalité n'est pas entièrement due au traitement car il existe une mortalité spontanée (naturelle ou résultant de manipulations de laboratoire) ; la distribution observée est alors dissymétrique et nous devons travailler sur des données corrigées pour normaliser la distribution. Pour effectuer cette opération, plusieurs transformations peuvent être utilisées. Nous avons comparé la transformation classique de "mortalité corrigée" à celle de "probabilité de χ^2 " ; cette dernière procédure, inhabituelle dans ce domaine, nous a été proposée par Monsieur Manchon (C.N.A.M., Paris).

2.1 Calcul de la mortalité corrigée

La mortalité étant le nombre d'individus morts rapportés au nombre initial d'individus traités exprime, pour les animaux testés, la probabilité de mourir. La mortalité corrigée se calcule à partir de la correction d'Abbott (1925) :

$$P_d' = (P_d - P_o) / (1 - P_o)$$

où P_d est la mortalité observée du traitement d ; P_o la mortalité du témoin ; P_d' la mortalité corrigée du traitement d.

Cette formule résulte de l'égalité de Poincaré pour la somme P_d des deux probabilités élémentaires P_d' et P_o considérées comme non incompatibles et indépendantes :

$$P_d = P_d' + P_o - (P_d' \times P_o)$$

Dans le cas où la mortalité corrigée est négative, on admet qu'elle est nulle (cet artifice est pratiqué lorsque les doses et le produit choisi excluent l'hypothèse d'un effet bénéfique du contaminant du type "oligoéléments". Si cette hypothèse pouvait être retenue, une étude indépendante de cet effet positif aux faibles doses devrait être conduite. En pratique, nous avons étudié des effets toxiques et les différences observées entre le témoin et les faibles doses sont très réduites).

La mortalité corrigée est ensuite transformée en survie corrigée (100 % - % mortalité) puis en unités probit. La valeur des probits a été calculée par une méthode d'essais et erreurs à l'aide d'une calculatrice (Olivetti Programma 652) programmée à cet effet.

2.2 Transformation χ^2_C

Nous avons utilisé pour le calcul le χ^2 corrigé établi selon la formule de Yates (In Snedecor, 1967) qui corrige les discontinuités. Il s'agit de la comparaison de deux proportions : la mortalité du lot témoin comparée à celle de chacun des traitements :

$$\chi^2 \text{ corrigé} = \frac{(|ad - bc| - T/2)^2 T}{PQRS}$$

où l'on utilise le nombre de survivants du témoin (a), du traité (b), de morts du témoin (c), et du traité (d) ; et les nombres $P = a + c$; $Q = b + d$; $R = a + b$; $S = c + d$; $T = R + S = P + Q$. On a calculé pour chaque traitement, la probabilité de l'hypothèse nulle (= effet nul) qui décroît d'autant plus que les doses sont très mortifères ($P\chi^2_C$). Puis on transforme celle-ci en unité probit.

2.3 Probabilité de survie

Afin de linéariser la relation dose/effet, l'effet est exprimé en probit (cf. § 2.1 et 2.2) et la dose en logarithme (régression linéaire : $y = ax + b$; y : survie en probit ; x : log de la dose). De cette manière le graphe recoupe l'axe des abscisses pour une probabilité de survie très proche de l'extermination (7 chances de survie sur 10^7). On a calculé la régression linéaire entre les log des doses et les probits correspondants sur les données transformées par l'une et l'autre méthodes (cf. § 2.1 ; 2.2). On a établi les coefficients de corrélation r de la droite de régression et classé ces coefficients par rapport aux seuils de signification à 1 % (++) et 5 % (+) (test de r) (Tableau I).

Pesticides	$P\chi^2_C$			Mortalité corrigée		
	F	r	P.M.	F	r	CL 50 (TL 50)
DNOC	++	0,98 ++	4,8	++	0,92 ++	13,1
DNTBP	++	0,87 ++	0,2	++	0,83 ++	8,3
METHABENZTHIAZURON	++	0,89 ++	52,4	++	0,92 ++	214,8
PYRAZONE	++	0,92 ++	38,6	++	0,88 ++	47,4
NITROFENE	++	0,88 ++	212,0	++	0,93 ++	166,8
SIMAZINE	+	0,65 +	350,1	N.S.	0,58 N.S.	-
ALDICARBE	++	0,94 ++	0,8	++	0,94 ++	3,5
ETHYL PARATHION	++	0,90 ++	30,7	++	0,93 ++	80,1
METHIOCARBE	++	0,91 ++	2,7	++	0,84 ++	8,1
DIMETHOATE	++	0,92 ++	4,7	++	0,92 ++	18,2
LINDANE	++	0,84 ++	55,1	+	0,64 +	49,8
	+	0,71 +	7,9	+	0,70 +	4600,0
BENOMYL	++	0,99 ++	(6,3)	++	0,97 ++	(7,8)
	++	0,96 ++	(7,2)	++	0,96 ++	(8,0)
MANEBE	++	0,66 ++	34,2	++	0,75 ++	43,9
MERCURE	+	0,61 +	4,3	+	0,58 +	146,0
CUIVRE	N.S.	0,26 N.S.	-	N.S.	0,32 N.S.	-

TABEAU I : Comparaison des deux méthodes de calcul auxquelles ont été appliquées les tests r et F et l'interprétation des seuils de signification à 1 % (++) et 5 % (+) et non significatif (N.S.). Le point médian (P.M.) et la CL 50 sont exprimés en ppm. Deux études portant sur le temps létal (TL 50) du bénomyl aux doses 86,2 ppm (A) et 8,6 PPM (B) expriment ces temps en jours ().

Le test F de Fisher-Snedecor (Snedecor, 1967) a été également appliqué pour calculer la signification du coefficient de régression aux seuils de 1 % (++) et 5 % (+) compte-tenu du nombre de degrés de liberté de la variance résiduelle. Les résultats pratiques, basés sur la mortalité corrigée, sont présentés sous forme de droite de régression (et de son équation) avec l'interprétation de l'effet de chaque contaminant par Fayolle dans la 3ème partie.

2.4 Résultats

Le tableau I donne pour chaque contaminant testé les résultats des tests de signification portant sur la corrélation des droites (r) et le seuil de signification du coefficient de régression (F). Nous donnons en outre la valeur lue (en ppm) au niveau d'ordonnée probit 5 sur les droites construites à partir de la mortalité corrigée et du $P\chi_C^2$. Celle établie à partir de la mortalité corrigée correspond à la CL 50 ; celle lue sur la droite de régression $P\chi_C^2$ n'est qu'un point médian (P.M.) sans rapport direct avec la mortalité observée. En effet la variable χ_C^2 est un carré de la différence des survivants observés dans le témoin et dans un traitement (§ 2.2) ce qui ne permet plus une lecture directe du paramètre "mortalité". En fait, la transformation χ^2 n'est pas applicable sous une forme simple à un calcul de CL 50 ou d'autres seuils critiques. Toutefois la différence du point médian avec la CL 50 nous renseigne sur la distribution des effets des doses étudiées. Si dans celles-ci les effets intermédiaires (= survie partielle) sont nombreux, P.M. est beaucoup plus faible que la CL 50. C'est le cas de l'expérience Bénomyl, mortalité à 7 jours (Fig. 1), où seuls les effets intermédiaires ont été observés.

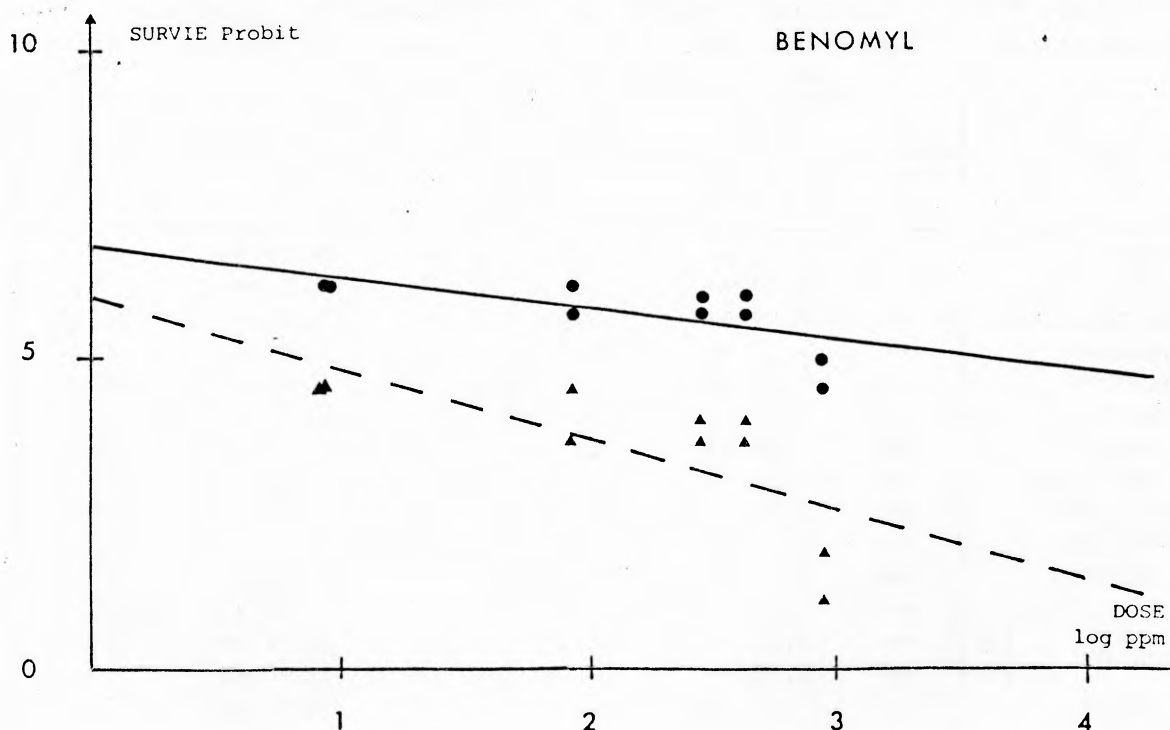


FIG. 1

A l'inverse, l'effet portant sur le nitrofène (Fig. 2) donne un faible écart entre P.M. et CL 50 car il n'y a qu'un point à effet intermédiaire et les probits calculés sur des survivances totales ou nulles coïncident pratiquement avec les deux méthodes de calcul.

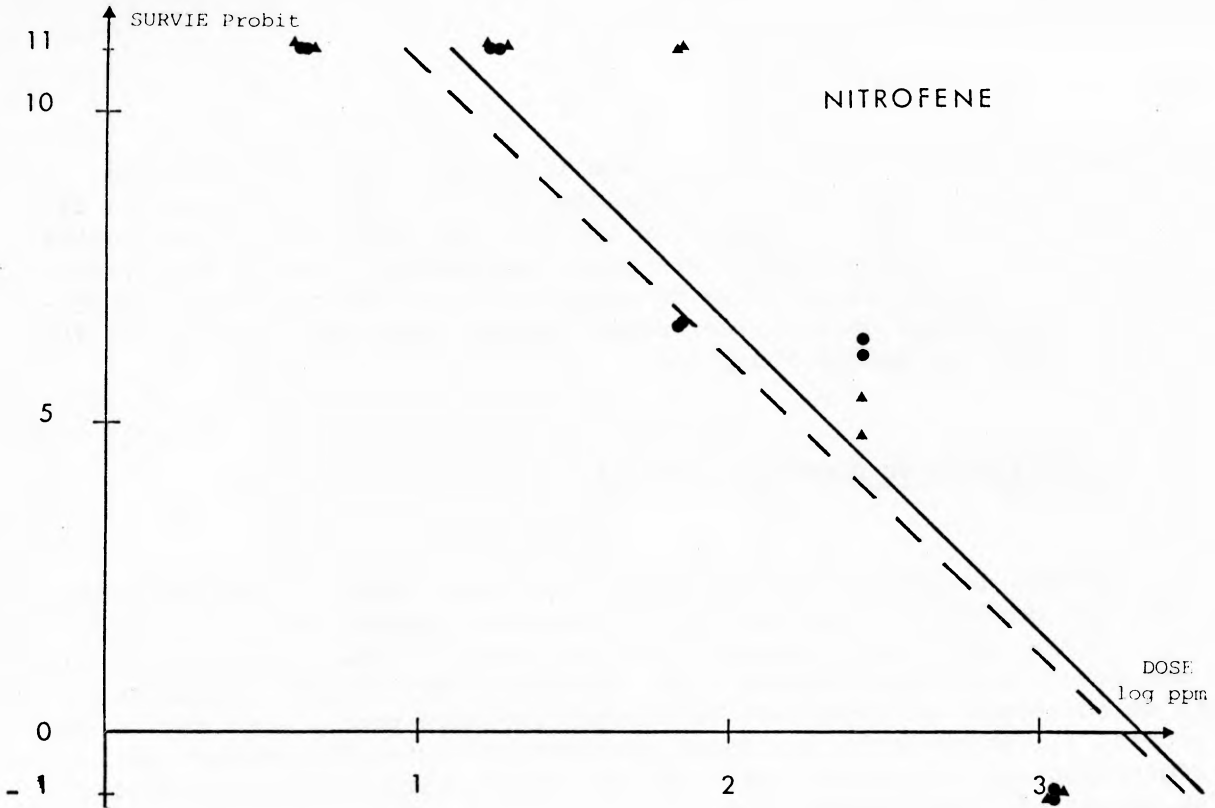


FIG. 2

Pour l'éthyl parathion, nos données se répartissent en deux groupes : intermédiaire et survie nulle, la droite $P\chi^2_C$ ne converge que vers la survie nulle avec la droite "mortalité corrigée" (Fig. 3) ; la différence P.M. - CL 50 demeure sensible.

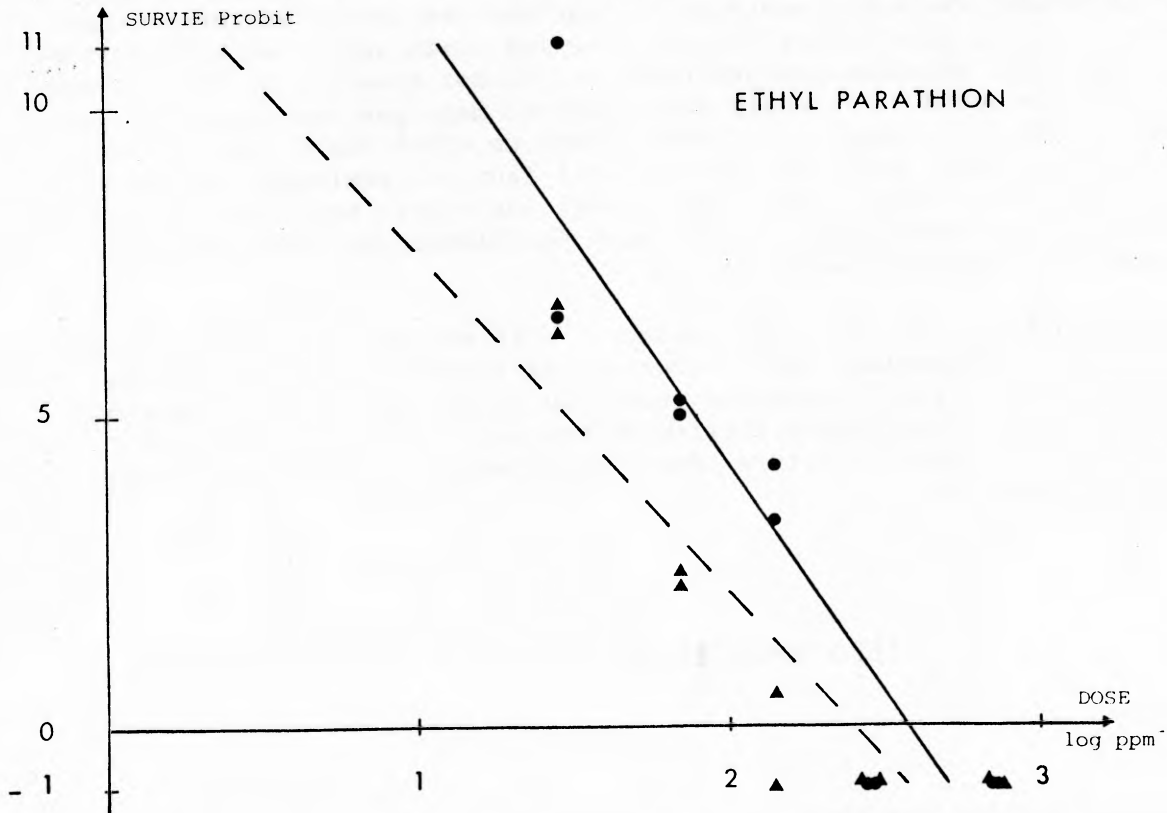


FIG. 3

LEGENDE DES FIGURES : Application du modèle log-probit à la survie, observée au bout de 7 jours, des lombriciens à partir des données de mortalité corrigée (traits pleins et ronds) et de $P\chi^2_C$ (tirets et triangles).

La comparaison des valeurs P.M. et CL 50 obtenues (Tableau I) ne nous renseigne donc que sur le poids relatif des points intermédiaires dans l'établissement de la courbe de survie. Les tests F et r obtenus par les deux méthodes donnent des seuils de signification cohérents avec toutefois des seuils différents pour la simazine et le lindane. En fait, il est souhaitable de ne retenir que les résultats significatifs au seuil de probabilité de 1 %, les autres données ayant une répartition des effets impropre à l'usage du modèle log-probit.

2.5 Contraintes du modèle log-probit

L'adoption du modèle log-probit, que nous avons fait, a été effectuée a posteriori sur des données qui partaient de l'approche pragmatique (cf. Bouché, 1ère partie, § 2.2.1). Cette approche privilégie une dose N d'usage agricole autour de laquelle des doses, multiples simples, sont choisies. Cette façon de procéder nous a permis de collecter des résultats de valeurs inégales pour l'application du modèle log-probit. Si, en général, les doses retenues ont permis d'obtenir des droites de régression satisfaisantes (cf. Fayolle, 3ème partie), certaines études ont donné des résultats insuffisants. Ainsi les effets du cuivre ont conduit à établir une courbe de mortalité/dose (en unité ordinaire) non sigmoïde, une seule dose ayant entraîné une mortalité nette. De même pour la simazine, aucune dose n'a permis d'observer d'effet net. A l'inverse, les essais de Fayolle (3ème partie) sur le DNTBP ont porté sur une longue série de doses à effet létal 100 %. En fait l'adoption du modèle log-probit revient à modifier la pratique des essais en introduisant un test préliminaire ayant pour objectif de repérer les doses ayant des effets décelables. A partir de cette connaissance préliminaire, il est possible de choisir une gamme de doses de telle sorte d'« avoir une majorité, mais pas une unanimité, de doses provoquant un effet. Le rapport : 4 doses ayant un effet sur 6, paraît convenable » (Lowy, sous presse). Nous précisons qu'il faut non seulement une bonne proportion de doses à effet significatif par rapport aux effets non significatifs, mais que les premières doivent appartenir de façon équilibrée aux doses intermédiaires et aux doses à mortalité observée 100 %.

En définitive, cet essai préliminaire, s'il est une contrainte, évite de multiplier des doses n'apportant pas d'informations (cas de la simazine et du DNTBP). Il permet également par l'usage convenable du modèle log-probit d'exprimer par une expression mathématique unique l'effet du contaminant quelles que soient ses conditions d'occurrence dans la nature (doses appliquées, contamination accidentelle ou chronique cumulative).

III. REMERCIEMENTS

Nous remercions Messieurs R. Lowy et Ph. Manchon (Conservatoire National des Arts et Métiers, Paris) pour l'aide matérielle et les suggestions stimulantes qu'ils nous ont apportées au cours de ce travail. Cette recherche, en raison de son caractère général, a bénéficié de l'aide de la Délégation Générale à la Recherche Scientifique, de l'Office National de la Chasse et du Ministère de l'Environnement.

IV. BIBLIOGRAPHIE

- ABBOTT, W.S., 1925 - Methods of computing effectiveness of an insecticide. J. econom. entomol., 18, 265-267.
- FISHER, R.A., 1915 - (cité par G.W. SNEDECOR, 1967).
- LOWY, R., 1977 - Emploi des méthodes statistiques en toxicologie nutritionnelle. Cahiers nutr. diet., 11, 37-43.
- LOWY, R., sous presse - Evaluation des effets métaboliques des pesticides. C.R. du IIIème symposium "Contamination des chaînes biologiques", Paris, C.N.A.M., 22-24 février 1978.
- LOWY, R., & Al., 1977 - Determination of the "No-effect levels" of two pesticides, Lindane and Zineb, on the microsomal enzyme activities of rat liver. Toxicol. appl. pharmacol., 42, 329-338.
- SNEDECOR, G.W., 1967 - Méthodes statistiques. Rédaction française par H. Boelle et E. Camhaji, éd. A.C.T.A., Paris, 1-649.
- STRINGER, A., & C.H. LYONS, 1977 - The effect on earthworm populations of methods of spraying benomyl in an apple orchard. Pestic. sci., 8, 6, 647-650.

