Colloque
RECHERCHE

Du 22 au 24 mars 2017

Développement d'indicateurs microbiens pour l'évaluation de l'impact des pesticides sur des fonctions écosystémiques terrestres et aquatiques

IMPEC

Fabrice MARTIN-LAURENT, UMR Agroécologie, INRA Dijon

AGRO-ÉCOLOGIE PRODUISONS AUTREMENT

Ministère de l'Environnement, de l'Énergie et de la Mer

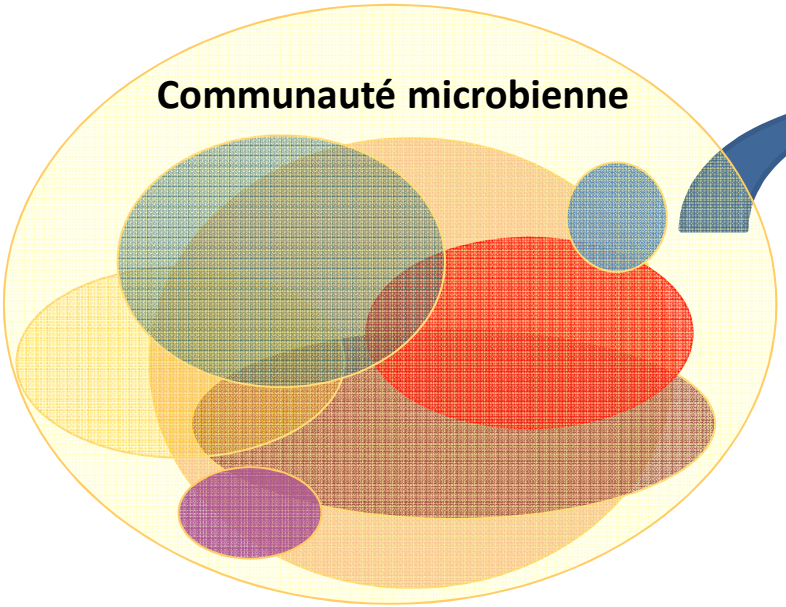
PESTICIDES

acta LES INSTITUTS TECHNIQUES AGRICOLES

FRB FONDATION POUR LA RECHERCHE SUR LA BIODIVERSITÉ

AGENCE FRANÇAISE POUR LA BIODIVERSITÉ
MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT

Contexte et objectifs



FONCTIONS ECOSYSTEMIQUES

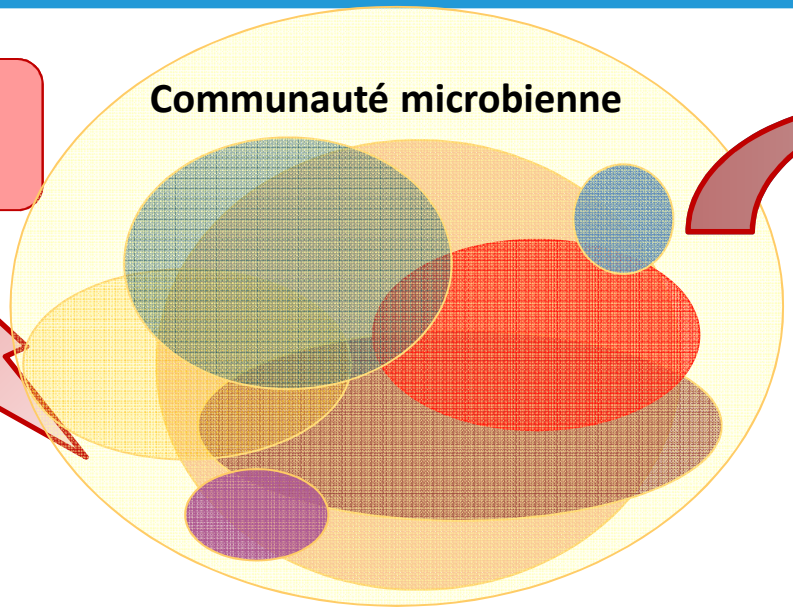
Cycle biogéochimique (C et N)
Biodégradation de polluants
Symbiose
…

SERVICES ECOSYSTEMIQUES

Régulation du climat ($C0_2$ et N_20)
Capacité épuratrice des sols
Production primaire
…

Contexte et objectifs

PESTICIDES



FONCTIONS ÉCOSYSTÉMIQUES

Cycles biogéochimiques
Biodégradation des pesticides
Symbioe
…

Evaluation de l' impact écotoxicologique des pesticides sur les microorganisms du sol (EU directive 1107/2009)
Minéralisation N [OCDE 216]
(Minéralisation C [OCDE 217])

Test global ne renseignant pas de l'impact des pesticides impact sur les fonctions microbiennes

SERVICES ÉCOSYSTÉMIQUES

Régulation du climat
Capacité épuratrice des sols
Production primaire
…

Récemment développements de nombreuses méthodes ciblant les fonctions microbiennes
→intérêt pour l'évaluation de l'écotoxicité des pesticides vis-à-vis des communautés microbiennes?

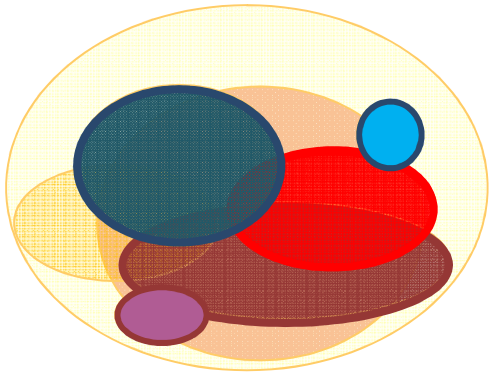
Contexte et objectifs

Tester et développer des marqueurs microbiens innovants pour identifier des bioindicateurs pertinents pour évaluer l'impact écotoxicologique des pesticides sur des fonctions microbiennes supportant des services écosystémiques (sol et sédiment):

<u>Fonctions microbiennes ciblées</u> :

- **Cycle des nutriments : mesure d'activités enzymatiques du sol (ISO 20130) liées aux cycles du**
  Carbone (β-glucosidase)
  Phosphore (phosphatase)
  Azote (urease et nitrifiante [ISO 14238])

Fonctions ubiquistes, populations microbiennes abondantes et diversifiées



- **Epuration du sol: mesure de la minéralisation de pesticides (ISO 14239)**
  2,4-D
  atrazine
  diuron,..

Fonction spécifique, populations microbiennes peu abondantes et peu diversifiées (représentant moins de 0,01 % du microbiote du sol)

<u>Abondance et composition de la communauté bactérienne</u> (sol et sédiments):

- Extraction directe de l'ADN d'échantillons environnementaux (ISO 11063)
- Quantification de l'abondance de la communauté bactérienne (abondance) et de 11 groupes microbiens (composition) (ISO 17601)

Contexte et objectifs

Méthodologie employée

1- Choix des pesticides et définition des scénarios d'exposition:

-***Inventaire des pesticides :*** -Domaine de Bretenière (essai PIC, historique des traitements phytosanitaires)
- ZABR Morcille et bassin versant du Trec (qualité du cours d'eau)

-***Classification* in silico *des pesticides:*** TyPol pour grouper les pesticides appliqués ou détectés dans les sites expérimentaux ⇨Choix des pesticides à tester seuls et en mélange

2- Evaluation* a priori *de l'impact des pesticides sur les microorganismes du sol et des sédiments:

Expérimentations en microcosmes (plusieurs sols/sédiments, 3 pesticides différents (seul ou en mélange)
⇨ Effet sur des marqueurs d'abondance, de composition et d'activités microbiennes

3- Evaluation* a posteriori *de l'impact des pesticides :

- Expérimentations dans différents contextes agricoles (viticulture (ZABR Morcille) et grandes cultures (BV Coise et essai PIC) ⇨ Typologie de la contamination des cours d'eau
⇨ Effet sur des marqueurs d'activités microbiennes (capacité épuratrice)

Résultats majeurs et intérêt pour Écophyto

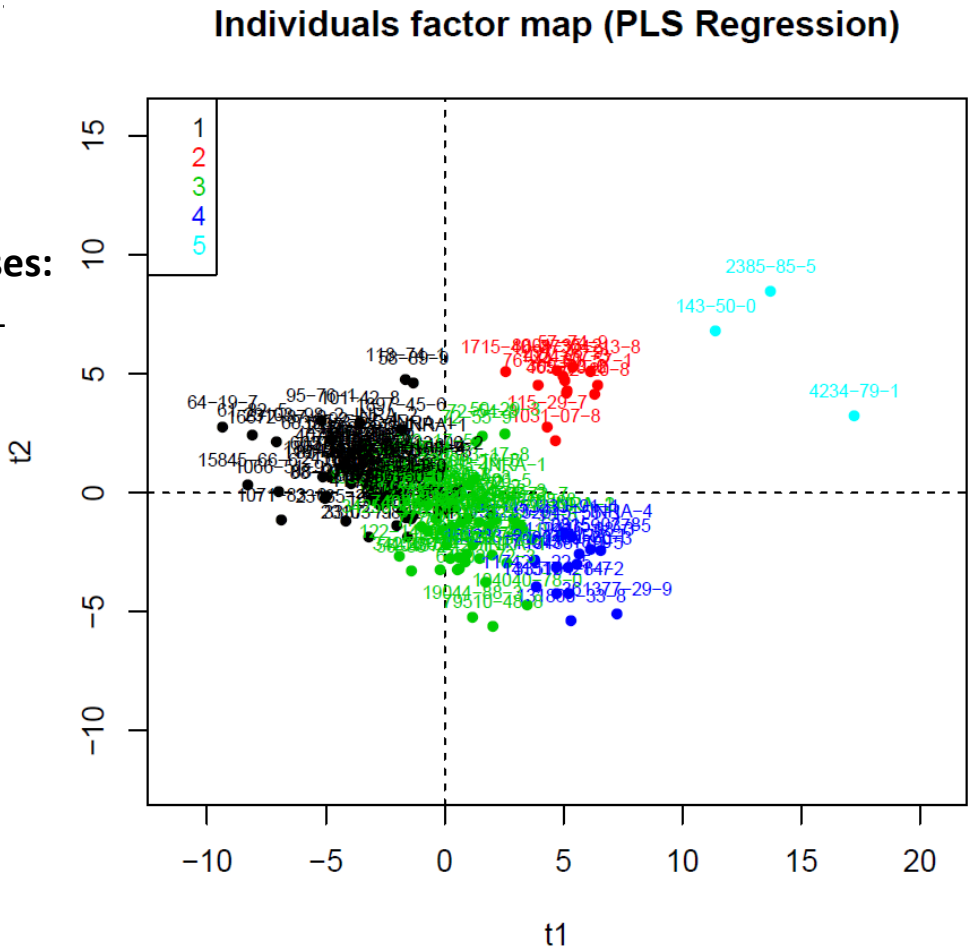
1- Inventaire et classement *in silico* (TyPol) des pesticides en 5 groupes:

- 144 composés inventoriés sur les sites expérimentaux
- 7 paramètres environnementaux : S*w*, K_{ow}, Pvap, KH, K_{oc}, DT_{50} et BCF
- 40 descripteurs moléculaires (nombre et type

Classification des pesticides en 5 classes

Choix de trois pesticides appartenant à 2 classes:
-Chlorpyrifos-methyl (CHL), insecticide, classe 1
-Tebuconazole (TBZ), fongicide, classe 3
-Isoproturon (IPU), herbicide, classe 1

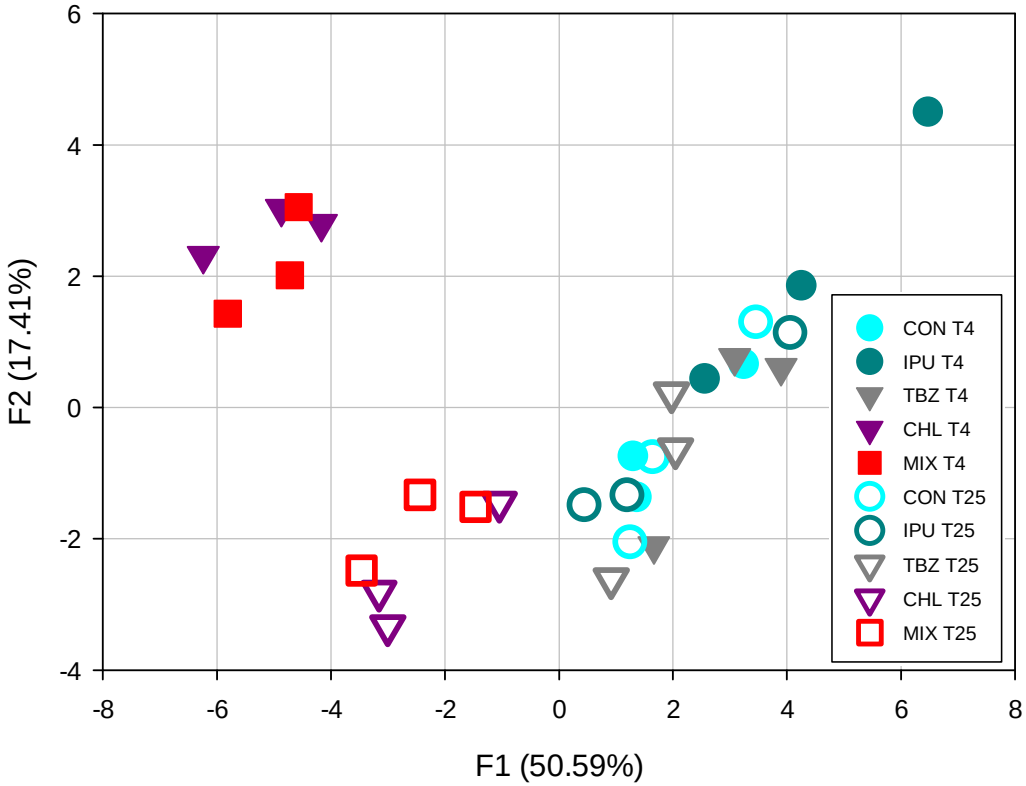
- Appliqués en grandes cultures conduites en conventionnel



Résultats majeurs et intérêt pour Écophyto

2- Evaluation* a priori *de l'impact des pesticides sur les microorganismes du sol :

Microcosmes du sol de 'La Cage'



Expérience en microcosmes (3 sols; 5 traitements [contrôle, IPU, TBZ, CHL, MIX]; 23 paramètres microbiens ; 2 temps T4 et T25; paramètres cinétiques de transformation des pesticides]

⇨pas d'impact de TBZ et IPU à T4 et T25

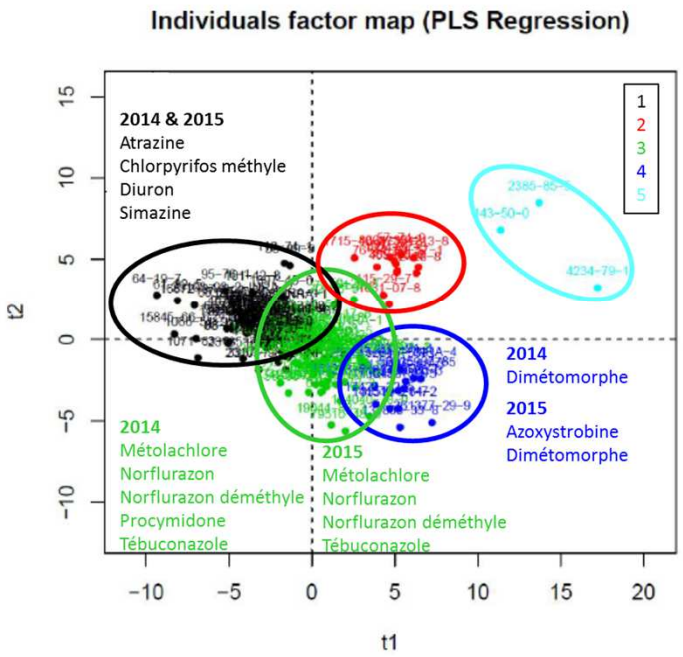
⇨impact de CHL et MIX à T4 :
↑ minéralisation acetate de sodium et uréase, abondance β-proteo et
↓ minéralisation 2,4-D, β-glucosidase, arylsulfatase, nitrification, abondance α-proteo et actino)

⇨ résilience partielle à T25 (indicateurs non-résilients: β-glucosidase, arylsulfatase, minéralisation 2,4-D, abondance α-proteo et actino)

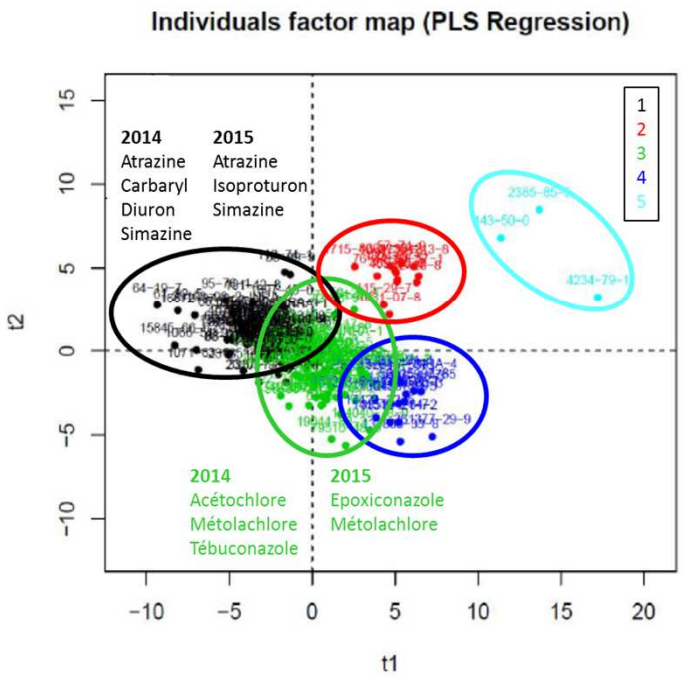
Résultats majeurs et intérêt pour Écophyto

3- Evaluation* a posteriori *de l'impact des pesticides sur la contamination environnementale de l'Ardières et de la Coise :

Ardières



Coise



<u>'Empreinte pesticide' (TyPol):</u>

⇨BV Ardières : fongicides (classe 4) et herbicides appliqués dans le Beaujolais

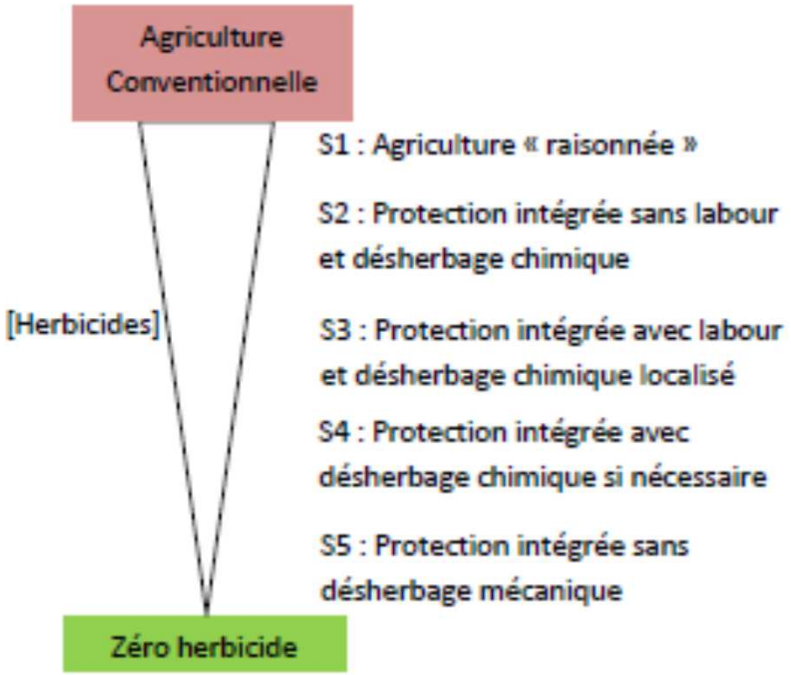
⇨BV Coise : herbicides et fongicides (classe 3) employés en grandes cultures

⇨Dans les deux BVs : détection de pesticides (et de leurs métabolites) interdits

⇨Pas d'impact de cette contamination sur la capacité des microorganismes des sédiments à minéraliser des pesticides (GLY, CHL, TBZ, DIU)

Résultats majeurs et intérêt pour Écophyto

3- Evaluation* a posteriori *de l'impact de pratiques de désherbage sur la capacité épuratrice des sols:



Mesure de la capacité épuratrice des sols (acétate de sodium, glyphosate, atrazine et 2,4-D)de l'essai PIC (Domaine Bretenière)

⇨ Minéralisation du glyphosate et atrazine :
- la plus élevée dans les sols S1
- la plus faible dans les sols S2

⇨ Minéralisation du 2,4-D:
- la plus élevée dans les sols S4
- la plus faible dans les sols S2 et S3

⇨la capacité épuratrice pourrait donc constituer un marqueur d'exposition de la communauté microbienne aux pesticides

Perspectives de transfert et de recherche

- Production de résultats scientifiques pour l'évaluation de l'impact *a priori* et *a posteriori* de pesticides sur des fonctions microbiennes

- Développements de nouvelles normes ISO TC190/SC4/WG4 (AFNOR T95E):
ISO 17601 Estimation of the abundance of microbial gene sequences by qPCR from soil DNA.
ISO 20130 Measurement of enzyme activity patterns in soil samples using colorimetric substrates.

- Révision de normes ISO:
ISO 14239 Laboratory incubation systems for measuring the mineralization of organic chemicals in soil.

- **Ecriture d'une opinion scientifique de l'EFSA:**
Scientific opinion on the temporal and spatial recovery on non-target organisms for environmental risk assessment (2016)

- Un des indicateurs microbiens (**capacité épuratrice**) sera appliqué dans le projet **IMPACT-CE** coordonné par V Gouy (Irstea Lyon, *Plan Ecophyto II, Axe 3, Action 14*) visant à développer des indicateurs de la qualité biologique des cours d'eau.

Remerciements

N Cheviron

O Crouzet

INRA Versailles

S Pesce

Irstea Lyon

L Mamy

P Benoit

INRA Grignon

M Devers

INRA Dijon

Questions ouvertes

Evaluation *a priori* :

- développer des indicateurs microbiens proposés par l'EFSA comme objectifs spécifiques de protection (champignon MA et microorganismes nitrifiants) de services écosystémiques remplis par les sols,

- acquérir des données sur les indicateurs microbiens sélectionnés pour définir des valeurs de référence (normal operating range, NOR).

Evaluation *a posteriori* :

- identifier et proposer des méthodes valides pour évaluer l'impact *a posteriori* des pesticides sur des fonctions microbiennes écosystémiques et suivre leur trajectoire de récupération.