

RESPONSABLE SCIENTIFIQUE

Fabrice **MARTIN-LAURENT**
fabrice.martin@dijon.inra.fr
INRA-AGRO SUP DIJON-
UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE
UMR Agroécologie

PARTENAIRES

INRA VERSAILLES
UR Physicochimie et Ecotoxicologie
des SolS Agrosystèmes Contaminés
(PESSAC)

INRA-AGROPARISTECH GRIGNON
UMR Environnement et Grandes Cultures
(EGC)

IRSTEA VILLEURBANNE
UR Milieux Aquatiques,
Ecologie et Pollutions

**DÉVELOPPEMENT D'INDICATEURS MICROBIENS POUR
L'ÉVALUATION DE L'IMPACT DES PESTICIDES SUR DES
FONCTIONS ÉCOSYSTÉMIQUES TERRESTRES ET
AQUATIQUES**

2012 - 2016



MOTS-CLÉS

Pesticides, écotoxicologie microbienne



EN QUELQUES MOTS

Les dernières évolutions réglementaires incitent les agriculteurs à diminuer le recours aux pesticides mais les pratiques agricoles en dépendent encore largement. Les conséquences environnementales de l'application de pesticides sont constatées par la détérioration de la qualité des masses d'eau. L'impact de la contamination des agrosystèmes par des résidus chimiques sur les fonctions remplies par la biodiversité reste peu décrit. Le projet IMPEC vise à développer des méthodes pour évaluer l'impact produit par des pesticides sur les communautés microbiennes terrestres et aquatiques ainsi que sur les fonctions écosystémiques qu'elles assurent.



CONTEXTE ET OBJECTIF

Dans les compartiments terrestres et aquatiques des agrosystèmes, les microorganismes sont abondants, diversifiés et actifs. Ils sont impliqués dans différentes fonctions écosystémiques telles que le cycle des nutriments et le rôle filtre des sols. Bien que le concept d'assurance écologique attribue une valeur positive à la biodiversité, les conséquences de la contamination des agrosystèmes par des pesticides sur le fonctionnement des microorganismes demeurent controversées. Les avancées récentes de l'écologie microbienne ont permis le développement de nouveaux marqueurs pouvant rendre compte des effets de pesticides sur des fonctions écosystémiques remplies par les microorganismes. Ces marqueurs pourraient s'avérer intéressants pour évaluer/prévoir le risque environnemental de nouveaux pesticides mais aussi suivre la restauration de milieux contaminés, via l'évolution des fonctions écosystémiques rendues par les différents compartiments de l'environnement (sol et eau).

Dans ce contexte, le projet IMPEC vise à développer des indicateurs microbiens, en utilisant entre autres de nouvelles approches moléculaires utilisées en écologie microbienne, pour estimer l'impact des pesticides sur des fonctions écosystémiques terrestres et aquatiques: (i) la dégradation de différents composés carbonés et la nitrification, qui sont liées au service cycle des nutriments et (ii) la dégradation de différents composés pesticides liée au service filtre.



MÉTHODES

Le projet IMPEC est composé de trois actions : Typologie des pesticides pour définir les différents scénarios d'exposition des communautés (a), évaluation *a priori* (b) et *a posteriori* (c) de l'impact des pesticides sur des fonctions écosystémiques.

Le choix des pesticides testés (action a) dans l'évaluation *a priori* a été établi en utilisant la méthodologie TyPol (Servien et al., 2014). Cette méthodologie a été appliquée pour classer les pesticides (i) retrouvés dans le contexte viticole de la Morcille et (ii) appliqués sur des systèmes de grandes cultures



(dispositif PIC adventice, Dijon) sur la base du registre des pesticides détectés dans la Morcille et de l'historique des pesticides appliqués sur le dispositif PIC, respectivement.

L'évaluation *a priori* (action b) de l'impact de différents pesticides seuls ou appliqués en mélange, à des doses réalistes, sur des fonctions microbiennes a été conduite sur des microcosmes de sols ou de sédiments incubés en conditions de laboratoire. Dans chacune de ces études la dissipation des pesticides a été suivie afin de définir l'évolution du scénario d'exposition des communautés microbiennes. Des méthodes ont été appliquées pour estimer l'impact des pesticides sur des fonctions microbiennes du cycle des nutriments (C et N) et de la capacité épuratrice. Ces méthodes visent à quantifier des marqueurs d'abondance, de structure et d'activités des populations microbiennes impliquées dans ces fonctions.

L'évaluation *a posteriori* (action c) de l'impact de pesticides sur des fonctions écosystémiques remplies par des microorganismes des sols ou des sédiments sera menée dans deux contextes agricoles différents : grandes cultures (dispositif PIC) et viticulture (Morcille). Les méthodologies seront similaires à celles employées en (b) mais les mesures seront effectuées sur des échantillons de sol et/ou de sédiments prélevés à différentes périodes de l'année, caractérisées par des chroniques d'exposition contrastées, en fonction des calendriers de traitement.



PRINCIPAUX RÉSULTATS INTERMÉDIAIRES LIEN AVEC LE PLAN ÉCOPHYTO

1- Choix des molécules et des mélanges de substances actives par approche TyPologique

La TyPologie des pesticides détectés dans le suivi chimique de la Morcille (contexte viticole) et appliqués sur le dispositif PIC de l'INRA de Dijon (contexte grandes cultures) a été réalisée à l'aide de l'outil TyPol afin de définir les différents scénarios d'exposition des communautés microbiennes. Au total 68 pesticides (35 herbicides, 17 fongicides et 16 insecticides) et 41 métabolites ont été analysés avec TyPol selon deux options :

- Option 1 : Classement avec tous les paramètres environnementaux (Sw, Kow, pression de vapeur, constante de Henry, Koc, DT50 et BCF) et tous les descripteurs moléculaires ;
- Option 2 : Classement avec 2 paramètres environnementaux clefs, Koc et DT50, et tous les descripteurs moléculaires.

Les deux options de classification ont abouti à une classification similaire des pesticides en 5 groupes (Figure 1).

L'appartenance à des groupes distincts sera un des éléments du choix des composés à considérer dans les mélanges étudiés dans la suite du projet.

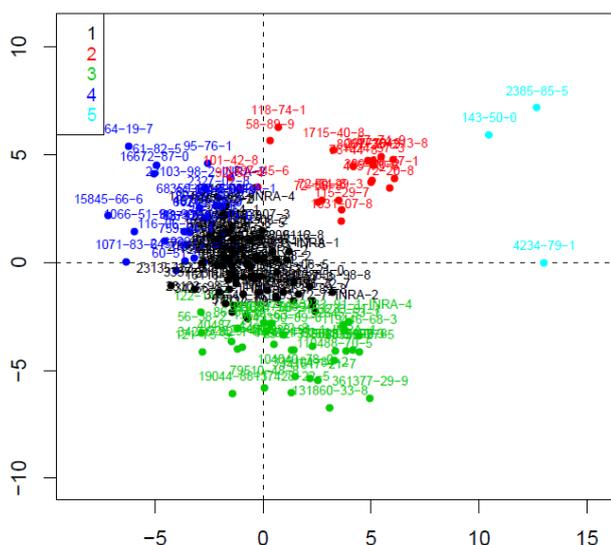


Figure 1 : Classification des pesticides en cinq groupes à l'aide de l'outil TyPol (option 2, régression PLS).

2- Evaluation *a priori* de l'impact des pesticides sur les fonctions écosystémiques ciblées

L'évaluation *a priori* de l'impact des pesticides a été menée sur des microcosmes de sédiments de la Morcille incubés au laboratoire. Le choix des pesticides testés a été raisonné en considérant (i) les pesticides retrouvés dans la Morcille et (ii) la TyPologie *in silico*. Trois composés ont été choisis : diméthomorphe, tébuconazole (fongicides) et glyphosate (herbicide). Ils ont été appliqués séparément ou en mélange dans les microcosmes. Des analyses (i) chimiques pour suivre la dissipation des pesticides, (ii) biochimiques pour mesurer l'activité microbienne des cycles du carbone et de l'azote, (iii) radiorespirométriques pour évaluer les capacités des communautés microbiennes à dégrader trois pesticides modèles, l'atrazine, le 2,4-D et le diuron, et (iv) moléculaires pour étudier la diversité et l'abondance de communautés microbiennes impliquées dans ces processus de biodegradation ont été réalisées.

L'analyse en cours des données générées montre que l'application de pesticides diminue à court terme certaines activités enzymatiques (notamment l'activité phosphatase et dans une moindre mesure l'activité β -glucosidase, Figure 2) ainsi que la capacité à dégrader l'atrazine et le 2,4-D (résultats non présentés).

Des expérimentations semblables seront menées sur différents types de sol présélectionnés en considérant un scénario d'exposition typique des grandes cultures.

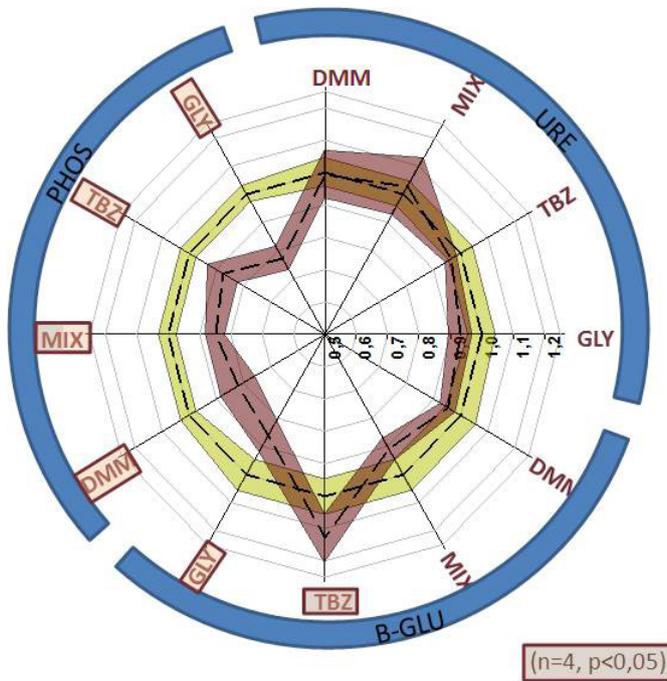


Figure 2 : Estimation de l'impact du tébuconazole (TBZ), du dimétomorphe (DMM), du glyphosate (GLY) et du mélange (MIX) sur les activités enzymatiques uréases (URE), β -glucosidase (B-GLU) et phosphatases (PHOS) des communautés microbiennes des sédiments 4 jours après le traitement.



PERSPECTIVES DE TRANSFERT

IMPEC applique des méthodologies standardisées ou pouvant être standardisées auprès de l'ISO (International Standard Organization) pour évaluer l'impact de pesticides sur différentes matrices environnementales (sol, sédiment). L'objectif est d'identifier parmi ces méthodes celles qui pourraient être transférées vers les utilisateurs pour évaluer l'impact *a priori* et/ou *a posteriori* des pesticides sur la composante microbienne des sols et sur les fonctions écosystémiques qu'elle accomplit.



PERSPECTIVES DE RECHERCHE

IMPEC repose sur la combinaison de la TyPologie *in silico*, d'études expérimentales en mésocosmes et sur des échantillons environnementaux pour évaluer l'impact *a priori* et *a posteriori* de pesticides sur la diversité, l'abondance et l'activité des microorganismes. Ces travaux complexes posent la question des interactions entre les différents pesticides appliqués au cours d'un cycle cultural et de leur impact sur les communautés microbiennes terrestres et aquatiques.



VALORISATION

PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

- Mamy L., Patureau D., Barriuso E., Bedos C., Bessac F., Louchart X., Martin-Laurent F., Miege C., Benoit P. (2014) Prediction of the Fate of Organic Compounds in the Environment From Their Molecular Properties: A Review. *Critical Reviews in Environmental Sciences and Technology* (sous presse).
- Servien R., Mamy L., Li Z., Rossard V., Latrille E., Bessac F., Patureau D., Benoit P. (2014) TyPol – A new methodology for organic compounds clustering based on their molecular characteristics and environmental behavior. *Chemosphere*, 111: 613-622.
- Pesce S., Margoum C., Rouard N., Foulquier A., Martin-Laurent F. (2013) Freshwater sediment pesticide biodegradation potential as an ecological indicator of microbial recovery following a decrease in chronic pesticide exposure: A case study with the herbicide diuron. *Ecological Indicators* 29: 18-25.

COLLOQUES

- Pesce S., Martin-Laurent F. (2014) La biodégradation des pesticides: un paramètre fonctionnel sous-considéré en écologie et écotoxicologie microbienne ? UMR 6023 LMGE, Clermont-Ferrand, 26 mai 2014.
- Devers-Lamrani M., Pesce S., Rouard N., Crouzet O., Cheviron N., Martin-Laurent F. (2014) Impact écotoxicologique de pesticides sur les communautés microbiennes naturelles responsables de la biodégradation de pesticides dans les sédiments de rivière. 44^e congrès du Groupe Français des Pesticides. Schoelcher, Martinique, 26-29 Mai.
- Martin-Laurent F., Devers M., Rouard N., Crouzet O., Cheviron N., Pesce S. (2014) Ecotoxicological impact of pesticides on natural microbial communities responsible for pesticide biodegradation in river sediments. IUMS 2014, Montréal, Canada, 27 juillet-1er août 2014.
- Pesce S., Margoum C., Rouard N., Foulquier A., Martin-Laurent F. (2014) Freshwater sediment pesticide biodegradation potential as an ecological indicator of microbial recovery following a decrease in chronic pesticide exposure. IUMS 2014, Montréal, Canada, 27 juillet-1er août 2014.
- Foulquier S., Martin-Laurent F., Rouard N., Margoum C., Pesce S. (2014). Utilisation des mécanismes d'adaptation microbienne pour caractériser les conséquences écologiques de l'interdiction d'utilisation du diuron en zone viticole. Colloque d'Ecotoxicologie Microbienne. Banyuls-sur-mer, 21-23 mai 2014.

THÈSES

- Tadla Ch. (2013) La dégradation de l'atrazine: du champ au gène. Licence Professionnelle Microbiologie Industrielle et Biotechnologies. Université Claude Bernard Lyon I, France.
- Storck V. Estimation de l'impact écotoxicologique des pesticides sur les communautés microbiennes des sols agricoles : vers le développement de nouvelles recommandations et de nouvelles méthodes pour évaluer la toxicité des pesticides vis-à-vis des communautés microbiennes des sols (Financement du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, Ecole Doctorale E2S, Université de Bourgogne, 2013 – 2016, Directeur de thèse : Fabrice Martin-Laurent).

ARTICLE DE VALORISATION / VULGARISATION

- Martin-Laurent F., Devers M., Pesce S. (2013) Influence de la biodégradation dans l'atténuation des pesticides sur un bassin versant viticole : potentialité des différents éléments du paysage et rôle des zones tampons. Innovations Agronomiques 28 : 35-48.

EXPERTISES

- Coordination auprès de l'ISO SC4 WG4 de l'essai inter-laboratoire international pour valider le standard ISO/DIS 17061.
- Participation au titre d'expert externe au sous-groupe de travail 'Recovery' du groupe de travail 'Evaluation du risque environnemental' (ERA) de l'Agence Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA).

MÉTHODOLOGIE

- ISO/DIS 17601 Soil quality — Estimation of abundance of selected microbial gene sequences by quantitative realtime PCR from DNA directly extracted from soil.