

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

Fabrice Martin-Laurent, Marion Devers, Stéphane Pesce

Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)

Mail : fabrice.martin@dijon.inra.fr

Responsables des équipes impliquées :

Martin-Laurent F. : UMR1347 Agroécologie, INRA Dijon (INRA)

Pesce S. : UR Maly, Institut national de recherche en sciences et technologies pour l'environnement et l'agriculture (Irstea)

Mots clefs : zone tampon, bande enherbée, capacité épuratrice, biodégradation de pesticides

Résumé

Nos travaux réalisés sur le bassin viticole de la Morcille ont montré que les différents compartiments du paysage (sol de la parcelle, bande enherbée et sédiments) présentaient une aptitude à minéraliser le diuron. La capacité épuratrice de ces différents compartiments évolue en fonction du niveau d'exposition au contaminant. L'importance du flux érosif de la parcelle viticole vers le cours d'eau pour l'adaptation des communautés microbiennes à la biodégradation du diuron a pu être mise en évidence. Ainsi, bien que la microflore des sédiments présente intrinsèquement la capacité à s'adapter à la biodégradation du diuron, cette faculté est améliorée par le flux érosif, suggérant le transfert du potentiel épurateur du compartiment terrestre au compartiment aquatique. L'évolution de la capacité épuratrice des sédiments de la Morcille en réponse à l'interdiction d'usage du diuron a permis de mettre en évidence l'amélioration de la qualité chimique des eaux et la diminution des capacités épuratrices des sédiments de la rivière. Des populations microbiennes appartenant au genre *Arthrobacter* transformant le diuron en 3,4-dichloroaniline ont été isolées du sol de la zone tampon et des sédiments. Un isolat bactérien appartenant au genre *Achromobacter* dégradant la 3,4-dichloroaniline a été isolé. Le consortium synthétique formé d'*Arthrobacter* sp. et d'*Achromobacter* sp. minéralise le diuron. Ces résultats suggèrent que la communauté bactérienne minéralisant le diuron dans le sol de la zone tampon et dans les sédiments repose sur la coopération métabolique de ces deux populations.

Contexte et objectif

Afin d'atteindre les objectifs fixés par la directive cadre Européenne sur l'eau, l'Etat Français s'est engagé à mettre en place le plan Ecophyto. Outre la réduction de 50% du recours aux pesticides, plusieurs mesures, telles que l'implantation de zones tampons, sont envisagées pour limiter la dispersion des intrants chimiques. Les zones tampons constituent une interface vierge d'intrants chimiques interceptant les flux de contaminants provenant de la parcelle agricole. Leur efficacité pour limiter les transferts de matières en suspension et d'intrants chimiques des zones agricoles vers les eaux est reconnue.

Cependant, les processus biotiques et abiotiques responsables de l'écodynamique des intrants chimiques dans ces zones tampons restent peu décrits. Dans ce contexte, nos travaux s'inscrivant dans l'axe 3 du plan Ecophyto 'Recherche : coordonner pour accélérer l'innovation' avaient pour objectif d'estimer les capacités épuratrices des sols afin de limiter la dispersion des produits phytosanitaires depuis les parcelles agricoles vers les compartiments environnementaux adjacents. Ils visaient à estimer le potentiel épurateur de différents éléments du paysage dans un bassin versant viticole (Morcille, Beaujolais), à appréhender l'importance de la connexion des compartiments terrestres et aquatiques via le flux érosif sur l'évolution de la capacité épuratrice des sédiments de la Morcille, à suivre l'évolution de la capacité épuratrice des sédiments de la Morcille suite à l'interdiction d'usage du diuron, et à caractériser les mécanismes d'épuration du diuron (isolement et caractérisation de populations microbiennes dégradant le diuron).

Méthodes

Ces travaux ont été menés sur le site Atelier Ardières - Morcille (69) (<http://www.graie.org/zabr/>)

Suivi de l'état chimique du cours d'eau

Des prélèvements d'eau ont été réalisés aux stations amont, intermédiaire et aval du site Morcille-Ardières trois fois par an sur la période de 2008 à 2011. Les échantillons d'eau ont été extraits en phase solide (SPE) et analysés par HPLC/MS/MS (HPLC 1100 LC Series instrument, Agilent, France ; MS API 4000, AB Sciex, France).

Estimation du potentiel de minéralisation du diuron du sol et des sédiments

Le potentiel de minéralisation du diuron des communautés microbiennes du sol et des sédiments a été déterminé par radiorespirométrie avec du ¹⁴C-diuron marqué uniformément (AS 567 MBq/mmol, Sigma Aldrich) selon Pesce *et al.* (2009).



Isolement et caractérisation de populations microbiennes dégradant le diuron

• Culture par enrichissement

A partir d'échantillons de sol de la bande enherbée et de sédiments prélevés à la station intermédiaire de la Morcille, des cultures par enrichissement ont été initiées en utilisant un milieu minéral additionné de diuron comme seule source de carbone. La culture microbienne a été renouvelée à intervalles réguliers et la concentration résiduelle en diuron a été mesurée. Des isollements microbiens ont été conduits sur des milieux gélosés.

• Caractérisation phylogénétique

L'ADN génomique a été extrait des souches microbiennes dégradant le diuron. Il a été utilisé pour amplifier par réaction de polymérisation en chaînes (PCR) de l'ARNr 16S de l'opéron ribosomique bactérien. Le produit PCR a été cloné et séquencé. Sur la base de la séquence de l'ARNr16S une analyse phylogénétique a été menée.

• Caractérisation physiologique

Le potentiel dégradant des souches microbiennes transformant le diuron a été caractérisé sur des cultures microbiennes. La dissipation du diuron et l'apparition de la 3,4-dichloroaniline (3,4-DCA) dans le milieu de culture ont été évaluées par des analyses en chromatographie haute performance liquide (HPLC).

Principaux résultats obtenus et applications envisageables

• Capacité épuratrice du diuron de différents éléments du paysage

Nos travaux ont montré que les communautés microbiennes du sol de la parcelle viticole, du sol de la bande enherbée et des sédiments de la Morcille étaient adaptées à la minéralisation du diuron. Dans le compartiment terrestre, l'exposition au diuron a été identifiée comme étant le facteur principal influençant le potentiel de minéralisation. Ce facteur joue également un rôle primordial dans le compartiment aquatique où un gradient amont-aval en concordance avec le niveau de contamination chimique de l'eau a été observé.

• Importance de l'érosion sur la capacité épuratrice des sédiments

Nos expérimentations ont montré que bien que la communauté microbienne des sédiments présente intrinsèquement la capacité à s'adapter à la biodégradation du diuron, le flux érosif issu de la bande enherbée contribue à améliorer les capacités épuratrices des sédiments de la Morcille.

• Evolution des capacités épuratrices des sédiments suite à l'interdiction d'usage du diuron

Suite à l'interdiction du diuron, la qualité chimique des eaux de la Morcille s'est améliorée. Toutefois, le gradient amont-aval et les fluctuations saisonnières de la contamination des eaux de la Morcille par le diuron persistent. La résilience de la qualité chimique du cours d'eau s'accompagne de la diminution des capacités épuratrices des sédiments.

• Isolement et caractérisation de populations microbiennes transformant le diuron

La culture par enrichissement réalisée à partir du sol de la bande enherbée ou des sédiments a conduit à l'isolement et à la caractérisation de plusieurs isolats bactériens du genre *Arthrobacter* capables de transformer le diuron en 3,4-dichloroaniline (3,4-DCA). Un isolat bactérien appartenant au genre *Achromobacter* s'est montré capable de transformer le 3,4-DCA. Le consortium bactérien formé d'*Arthrobacter* sp. et d'*Achromobacter* sp. minéralise le diuron. Ces résultats suggèrent que la capacité de la communauté bactérienne à minéraliser le diuron dans le sol de la zone tampon et dans les sédiments repose sur la coopération métabolique entre ces deux populations.

Perspectives et conclusions

Pour conclure, ces travaux mettent en évidence que le sol de la parcelle viticole, le sol de la bande enherbée et les sédiments de la Morcille hébergent des communautés microbiennes capables de dégrader le diuron. Les capacités épuratrices de ces différents compartiments sont variables et l'un des paramètres affectant le plus ces capacités est le niveau d'exposition au contaminant. La capacité épuratrice des sols et des sédiments repose sur l'activité de populations dégradantes qui développent une coopération métabolique. Suite à l'interdiction d'utilisation du diuron, cette capacité a décliné continuellement sur la période 2008-2011, aussi bien dans le sol viticole que dans les sédiments de la rivière.

Références bibliographiques

- Pesce S., Martin-Laurent F., Rouard N. et Montuelle B., 2009. Potential for microbial diuron mineralisation in a small wine-growing watershed: from treated plots to lotic receiver hydrosystem. *Pest Manag. Sci.*, 65, 651–657.
- Pesce S., Martin-Laurent F., Rouard N., Robin A., Montuelle B., 2010. Evidence for adaptation of riverine sediment microbial communities to diuron mineralization: incidence of run-off and soil erosion. *J. Soils Sed.* 10, 698-707.
- Pesce S., Beguet J., Rouard N., Devers-Lamrani M., Martin-Laurent F., 2012. Response of a diuron-degrading community to diuron exposure assessed by real-time quantitative PCR monitoring of phenylurea hydrolase A and B encoding genes. *Appl. Microbiol. . Biotechnol.* DOI 10.1007/s00253-012-4318-3.