

Plan de rapport final d'un projet de recherche financé dans le cadre du plan Écophyto II+

Remarques concernant ce document

- La mise en forme de ce rapport, hormis sa partie scientifique et les annexes, doit être respectée. Ce format imposé permettra au service de la recherche une copie automatique vers d'autres documents à usage interne ou externe.
- Tous les fichiers doivent être déposés en 2 formats : au format PDF et dans des formats éditables (DOC, ODT, RTF, XLS, ODS, etc.) pour les besoins du co-pilotage de l'axe recherche et innovation. Le rapport doit être envoyé à l'équipe animation (animation-ecophyto@inrae.fr) avec copie aux copilotes ministériels (antoine.legal@agriculture.gouv.fr, manon.michaut@agriculture.gouv.fr , marie-camille.soulard@developpement-durable.gouv.fr), et à l'OFB (ecophyto@ofb.gouv.fr) en indiquant en objet l'acronyme de votre projet.
- Un envoi sous forme électronique suffit dans un premier temps.
- Les documents de ce rapport, en dehors de l'éventuelle partie confidentielle, serviront aussi bien pour l'évaluation finale du projet que pour la valorisation des résultats.
- Les versions électroniques des résumés et de la synthèse de votre rapport doivent impérativement nous parvenir sous format modifiable afin de pouvoir être réutilisés pour valorisation ou publiés (après relecture de votre part), ainsi que sous format PDF.



SYNBIOTox

SYNCHRONISMES ET ANTAGONISMES DANS LES RELATIONS ENTRE ENVIRONNEMENT AGRICOLE, BIODIVERSITÉ ET FONCTIONS ÉCOLOGIQUES DANS LES ZONES TAMPONS HUMIDES ARTIFICIELLES

Travaux de thèse d'Alexandre Michel

« Plan Ecophyto II+ »

Rapport final V1 [MICHEL A., LEBRUN J.]

Date de la version du rapport : 13/02/2025

Nom du responsable de projet : Jérémie D. LEBRUN, Aliénor JELIAZKOV, Julien TOURNEBIZE

Adresse : INRAE Ile-de-France - Jouy-en-Josas – Antony, 1 Rue Pierre Gilles de Gennes, 92160 Antony

Courriel : jeremie.lebrun@inrae.fr ; alienor.jeliazkov@inrae.fr ; julien.tournebize@inrae.fr ; alexandre.michel.97@gmail.com

Action pilotée par les Ministères chargés de la Transition écologique, de la Biodiversité, de la Forêt, de la Mer et de la Pêche (MTEBFMP), de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire (MASA), du Travail, de la Santé, des Solidarités et des Familles (MTSSF), et de l'Éducation nationale, de l'Enseignement supérieur et de la Recherche (MENESR) avec l'appui financier de l'Office Français pour la Biodiversité (OFB), par les crédits issus de la redevance pour pollutions diffuses attribués au plan Écophyto II+.

Table des matières

SYNTHÈSE	5
Contexte général et enjeux scientifiques et techniques	6
Objectifs généraux du projet.....	9
Quelques éléments de méthodologie (et difficultés éventuelles rencontrées)	10
Résultats obtenus	13
Implications pratiques, recommandations, réalisations pratiques, valorisation.....	15
Partenariats mis en place, projetés, envisagés	17
Pour en savoir plus (quelques références)	17
Liste des opérations de valorisations issues du contrat (articles de valorisation, participation à des colloques, enseignement et formation, communication, expertises...)	18
Résumés	21
RAPPORT SCIENTIFIQUE	24
Annexe : textes des publications	50

SYNTHÈSE

(Destinée aux utilisateurs et gestionnaires publics : environ 10 pages, hors liste des publications et autres valorisations)

Merci de rédiger l'ensemble de cette partie de manière à ce qu'elle soit aisément compréhensible par un utilisateur non spécialiste.

Vous mettrez en évidence les points qui vous paraissent les plus porteurs pour l'élaboration, le suivi ou la mise en œuvre de politiques publiques de diminution des risques environnementaux liés aux pesticides et notamment pour le plan Écophyto.



SYNBIOTox

SYNCHRONISMES ET ANTAGONISMES DANS LES RELATIONS ENTRE ENVIRONNEMENT AGRICOLE, BIODIVERSITÉ ET FONCTIONS ÉCOLOGIQUES DANS LES ZONES TAMPONS HUMIDES ARTIFICIELLES

Travaux de thèse d'Alexandre Michel

« Plan Ecophyto II+ »

Synthèse pour les décideurs V1 [MICHEL A., LEBRUN J.]

Date de la version du rapport : 13/02/2025

Nom du responsable de projet : Jérémie D. LEBRUN, Aliénor JELIAZKOV, Julien TOURNEBIZE

Adresse : INRAE Ile-de-France - Jouy-en-Josas – Antony, 1 Rue Pierre Gilles de Gennes, 92160 Antony

Courriel : jeremie.lebrun@inrae.fr ; alienor.jeliazkov@inrae.fr ; julien.tournebize@inrae.fr ; alexandre.michel.97@gmail.com

Action pilotée par les Ministères chargés de la Transition écologique, de la Biodiversité, de la Forêt, de la Mer et de la Pêche (MTEBFMP), de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire (MASA), du Travail, de la Santé, des Solidarités et des Familles (MTSSF), et de l'Éducation nationale, de l'Enseignement supérieur et de la Recherche (MENESR), avec l'appui financier de l'Office Français pour la Biodiversité (OFB), par les crédits issus de la redevance pour pollutions diffuses attribués au plan Écophyto II+.

Contexte général et enjeux scientifiques et techniques

Les **Zones Tampons Humides Artificielles** (ZTHA) sont des zones humides aménagées par l'être humain et généralement conçues pour réduire les pollutions transitant de sources émettrices jusqu'à l'*hydrosphère* (i.e., l'ensemble des milieux aquatiques, aussi bien continentaux que maritimes, de surface, ou souterrains), tant en contexte urbain qu'en contexte agricole. Les bassins de rétention autoroutiers sont un exemple de ZTHA associées plutôt au milieu urbain, tandis que les mares artificielles, comme la ZTHA de Rampillon (Seine-et-Marne, France), sont associées au milieu agricole. Il existe également des zones tampons sèches, comme les dispositifs enherbés, mais ces zones tampons sèches ne font pas l'objet du projet présenté ici (voir <https://professionnels.ofb.fr/fr/node/1191> pour plus d'informations générales sur les zones tampons, humides ou sèches).

Dans les bassins versants agricoles, les ZTHA permettent de réduire les pollutions d'origine agricole (pesticides, nitrates et autres intrants) grâce à des propriétés épuratoires naturelles (ex. *biodégradation, photolyse ou dégradation par les radiations solaires, séquestration dans le sédiment, etc.*). Les ZTHA permettent de limiter les transferts de contaminants d'origine agricole vers les milieux naturels, diminuant ainsi le risque de contamination de l'environnement et du milieu aquatique, auquel les populations humaines sont très dépendantes notamment pour l'eau potable. En plus de présenter la capacité de « purifier » les eaux chargées en contaminants, ces milieux artificiels constituent également des refuges / abris pour la faune aquatique (amphibiens, poissons, oiseaux aquatiques, insectes et crustacés aquatiques, végétaux, etc.) et peuvent permettre de rétablir la continuité écologique dans les paysages agricoles. En effet, pour certaines espèces (pour les amphibiens notamment), se déplacer vers les lieux de reproduction, comme les mares, les étangs, ou les cours d'eau, est crucial pour accomplir leur cycle de vie, et ainsi assurer le maintien l'espèce. Au sein des paysages agricoles, les mares, l'architecture des réseaux qu'elles peuvent former, et leur densité au sein de l'espace agricole, jouent un rôle très important pour de nombreuses espèces aquatiques et semi-aquatiques. C'est en cela que l'implantation des ZTHA dans les paysages agricoles constitue un enjeu double, à la fois pour la conservation de la faune et pour la qualité de l'eau.

Cependant, les pesticides et les nitrates interceptés par les ZTHA, peuvent perturber la biodiversité qu'elles abritent, et les fonctions écologiques associées (*dégradation de la litière, cycles des éléments, etc.*), comme le montrent de nombreuses études en laboratoire et sur le terrain (**mésocosmes**¹, plans d'eau et cours d'eau naturels), en dehors du contexte environnemental des ZTHA. Le déclin de la biodiversité, incluant celui de la faune aquatique, et des fonctions écologiques associées, en lien avec l'utilisation systématique des pesticides, est susceptible de perturber l'équilibre des écosystèmes, et donc d'avoir des répercussions néfastes sur la société (ex. *mise en péril des services écosystémiques, définis comme « les*

¹ Les mésocosmes sont des dispositifs expérimentaux de type bassin et dont les conditions d'étude sont intermédiaires entre les conditions contrôlées de laboratoire et les conditions *in situ*, c'est-à-dire sur le terrain. Les études en mésocosmes permettent un compromis entre la répétabilité et la rigueur expérimentale applicable en laboratoire, et le réalisme des conditions environnementales du milieu naturel, sur le terrain. Ils sont définis précisément par l'INERIS comme « *des écosystèmes artificiels de grande taille placés dans des conditions environnementales naturelles. Ils permettent de simuler à moyenne échelle le fonctionnement d'un milieu aquatique, avec une représentativité écologique élevée, et ainsi d'évaluer le comportement, le devenir et les effets à long terme des substances chimiques sur l'écosystème* » (<https://www.ineris.fr/fr/mesocosmes-ineris-ecosystemes-artificiels>).

*bénéfices que la nature procure à l'être humain » ; <https://www.eib.org/fr/stories/ecosystem-service-nature>). Approfondir nos connaissances sur les effets non-intentionnels des contaminants d'origine agricole, notamment les pesticides, sur les organismes en milieu naturel, est nécessaire pour mieux prévenir les répercussions écologiques que ces substances peuvent avoir sur l'environnement, et donc sur les sociétés humaines. Aussi, trouver des outils et des méthodes scientifiques fiables, robustes, et répétables pour mesurer ces effets en milieu naturel est indispensable pour faire avancer la recherche scientifique sur ces problématiques. Un autre enjeu scientifique, plus localisé, en lien spécifiquement avec les environnements de type ZTHA agricoles, porte sur le raffinement de notre compréhension de leur rôle vis-à-vis de la faune aquatique. En effet, bien qu'elles semblent, au premier abord, permettre un gain net de biodiversité dans les paysages agricoles, paradoxalement, les ZTHA agricoles pourraient cependant être capables d'agir comme des **pièges écologiques** pour la faune aquatique, à cause de leurs fonctions d'interception et de séquestration des pesticides ; elles pourraient ainsi attirer et favoriser leur propre colonisation par les organismes, mais tout en les affaiblissant au fil du temps, à cause de la contamination en pesticides qui les caractérisent, menaçant la pérennité des espèces aquatiques qui les occupent. Les pièges écologiques peuvent ainsi être définis comme des habitats attrayants mais où l'intégrité des organismes qui les occupent est susceptible d'être affectée.*

La **ZTHA agricole de Rampillon** (construite en 2010 en Seine-et-Marne, France) est un site pilote instrumenté depuis 2012 (suivi de la qualité de l'eau en continu depuis 2012 et suivis faunistiques réguliers) qui intercepte pesticides et nitrates provenant d'un bassin versant agricole drainé de 355 ha caractérisé par la présence de grandes cultures (85 % de sa surface, principalement blé, maïs, betterave). La majorité des pesticides détectés dans la ZTHA, et donc provenant du bassin versant, sont des herbicides (50 %). Grâce à ce suivi sur le long-terme, les données acquises montrent que la ZTHA de Rampillon est un ouvrage relativement efficace qui permet de réduire en moyenne 37 % des flux de pesticides totaux, et 11 mg/L des concentrations en nitrates. En 2017, un inventaire faunistique a mis en évidence la présence de plus de 150 espèces dont certaines inféodées aux milieux humides dont les amphibiens. Ainsi, étudier les effets non-intentionnels de cette pollution sur la faune aquatique au sein d'une zone tampon humide artificielle agricole pourra permettre de mieux cerner le potentiel des ZTHA agricoles à répondre simultanément aux enjeux relatifs à la qualité de l'eau et à la préservation de la biodiversité en milieu agricole (*i.e., les ZTHA agricoles agissent-elles comme des refuges ou comme des pièges écologiques pour la faune aquatique ?*). L'autre enjeu porté par ce projet concerne l'amélioration de nos connaissances sur les risques liés à l'utilisation massive des pesticides pour la biodiversité et, plus largement, pour l'environnement agricole, dans l'optique de limiter et prévenir, autant que faire se peut, les effets non-intentionnels délétères de ces substances sur les milieux naturels, et indirectement sur les êtres humains. Aussi, dans ce type d'écosystème, le risque encouru pour la biodiversité va dépendre de dynamiques à la fois chimiques (saisonnalité des flux de pesticides en lien avec les pratiques agricoles et l'hydrologie du bassin) et écologiques (cycles de vie des espèces, stades en milieu aquatique). Il est donc indispensable d'évaluer les synchronismes et antagonismes entre ces dynamiques temporelles pour une gestion intégrée du paysage alliant ainsi efficacité d'abattement des pesticides, support de biodiversité et services écosystémiques.

Objectifs généraux du projet

L'objectif général du projet est de déterminer si la ZTHA de Rampillon peut constituer un piège écologique pour la faune aquatique, en évaluant l'impact de la dynamique des flux saisonniers de pesticides (et nitrates) transitant dans la ZTHA sur les organismes aquatiques. Deux taxons-clés de la faune aquatiques sont ciblés : les **amphibiens** et les **macroinvertébrés benthiques** (*les macroinvertébrés benthiques sont les invertébrés vivant dans l'eau, plus précisément sur le fond, d'une taille supérieure à 0,5 mm, par exemple : les larves de chironome, les sangsues, certains vers, certains coléoptères aquatiques, les crustacés, etc.*). Concrètement, dans ce contexte, et sur la base d'une étude de cas spécifique, le projet SynBioTox propose d'évaluer l'impact des pesticides sur le fonctionnement écologique d'un site pilote, la ZTHA de Rampillon (77), et sur l'état des populations sauvages et de la biodiversité qu'elle abrite. Il s'agira : (i) d'identifier les périodes d'expositions critiques d'espèces d'amphibiens et de macroinvertébrés face à la saisonnalité des flux de pesticides mesurés *in situ*, (ii) d'évaluer les processus écotoxicologiques sous-tendant les réponses fonctionnelles des communautés aux multi-expositions chroniques et leurs répercussions écologiques. Les effets temporels de l'exposome (dans ce cas précis, les fluctuations quantitatives et qualitatives du mélange chimique) seront caractérisés à différents niveaux d'organisation biologique, de la cellule aux fonctions écosystémiques des communautés, à travers le déploiement et le suivi *in situ* d'indicateurs multi-niveaux. Il vise également à déterminer la saisonnalité des transferts de pesticides en lien avec le fonctionnement du drainage et les pratiques agricoles qui vont conduire à des fluctuations temporelles et donc des périodes de vulnérabilité pour la biodiversité, selon les cycles de vie des organismes.

Ainsi, dans un premier temps, le risque représenté par les flux de contaminants d'origine agricole dans la ZTHA de Rampillon pour la communauté d'amphibiens est évalué. Dans un second temps, les effets potentiels de cette pression chimique sont caractérisés à différentes échelles d'organisation biologique chez les amphibiens et les macroinvertébrés benthiques, aux niveaux :

- (i) **cellulaire** (à l'échelle des molécules biologiques : les **enzymes** (voir « **Encart méthodologique sur les enzymes** », page 12), et de la cellule),
- (ii) **individuel** (comportement des animaux, caractéristiques morphologiques) et,
- (iii) **écologique** (structure des communautés : la composition en espèces, fonctions écologiques, à savoir les processus qui permettent le maintien du fonctionnement des écosystèmes, comme la structuration du sol, les échanges gazeux, et bien d'autres), le tout afin de détecter précocement des perturbations biologiques avant toute altération écologique sévère et irréversible.

Les travaux réalisés dans ce projet ont pour objectif global de mieux comprendre le rôle que les ZTHA agricoles peuvent jouer pour la faune aquatique et de déterminer si les ZTHA agricoles agissent comme des refuges ou comme des pièges écologiques pour la faune aquatique, c'est-à-dire soit comme des zones d'intérêt pour la préservation de la faune aquatique en paysage agricole ; soit comme des zones à risque, étant donné leur fonction de milieu intercepteur de contaminants d'origine agricole. Ce projet, dans un contexte d'utilisation généralisée des pesticides et des intrants azotés au

niveau de la parcelle agricole, a pour objectif aussi de mieux comprendre et mieux connaître les effets non-intentionnels des pesticides sur la faune aquatique, en conditions naturelles, et d'identifier les périodes critiques d'exposition des organismes, autrement dit, à risque pour la faune aquatique, afin de proposer des leviers d'action pour limiter au mieux les répercussions négatives potentielles des contaminants d'origine agricole sur les écosystèmes aquatiques.

Quelques éléments de méthodologie (et difficultés éventuelles rencontrées)

Le site d'étude central du projet SynBioTox est la ZTHA de Rampillon (Seine-et-Marne, France), suivie depuis 2012 pour la qualité de l'eau, et sujet à des suivis faunistiques réguliers (ciblant notamment les amphibiens et les invertébrés aquatiques). Plusieurs sites de comparaison (mares plus ou moins contaminées par les contaminants d'origine agricole, incluant les pesticides), localisés en Seine-et-Marne pour la plupart, ont été sélectionnés en vue d'avoir des éléments de comparaison et d'augmenter la robustesse statistique de nos résultats. Étudier des mares de comparaison permet en effet de comparer les réponses des organismes vivant dans la ZTHA de Rampillon avec des organismes soumis à différents niveaux de pression (sites témoins négatifs et positifs).

Plusieurs expérimentations et suivis écologiques et écotoxicologiques ont été réalisés dans la ZTHA et / ou dans les mares de comparaison pour évaluer les risques et les effets négatifs potentiels pour les amphibiens et les macroinvertébrés benthiques, en lien avec les flux de pesticides et nitrates circulant dans la ZTHA, le tout selon une approche multi-échelles (voir **Figure 1**). Le travail mené comprend ainsi quatre axes d'étude :

(i) une évaluation du risque pour la communauté d'amphibiens, en lien avec les dynamiques temporelles de flux de contaminants d'origine agricole (pesticides et nitrate) dans la ZTHA. Il s'agit notamment d'identifier des périodes de vulnérabilité de la communauté d'amphibiens sur la base de l'exploitation des données issues du suivi continu de la qualité de l'eau ayant débuté en 2012, et sur la base d'inventaires ciblant les amphibiens vivant dans la ZTHA, réalisés entre 2021 et 2022. Les **périodes de vulnérabilité de la communauté d'amphibiens** étaient définies en fonction du nombre d'espèces d'amphibiens susceptibles d'être exposées simultanément à la pression chimique dans l'eau (sur la base de l'étude de leur cycle de vie ou phénologie) ;

(ii) un **suivi écotoxicologique** innovant non létal et non-invasif (*n'impliquant ni la mort, ni d'acte chirurgical sur les animaux*) sur des espèces sentinelles en 2023. Ainsi, de la salive de deux espèces d'amphibiens autochtones au sein de la ZTHA, le crapaud commun (*Bufo bufo*) et la grenouille verte (*Pelophylax sp.*), a été recueillie par écouvillonnage buccal (à l'aide d'écouvillons stériles à pointe de visqueuse) pour réaliser des analyses biochimiques en laboratoire (mesure de l'activité des enzymes, *i.e.*, les *activités enzymatiques* ; voir « *Encart méthodologique sur les enzymes* », page 12) ; au cours de ce suivi, des mesures morphométriques (mesure de la longueur totale des individus, poids) ont aussi été réalisées sur les individus étudiés pour déterminer leur **condition corporelle** (*i.e.*, leur état de santé général) ;

- (iii) une expérimentation au sein de mésocosmes implantés dans la ZTHA, qui avait pour but de tester la toxicité d'un cocktail de pesticides (*i.e.*, une préparation composée de plusieurs pesticides), produit en laboratoire et représentatif de la pression chimique globale qui circule dans la ZTHA (ici, le cocktail était composé d'herbicides et de fongicides), sur une espèce d'invertébré aquatique modèle, **le gammare** (*Gammarus fossarum*) (*le Gammare est un petit crustacé d'eau douce commun, très étudié en écotoxicologie, pour évaluer les effets de divers types de pressions chimiques*). Les effets du cocktail de pesticides ont été étudiés sur certains traits comportementaux (la reproduction, la locomotion, l'alimentation), et sur certaines enzymes impliquées dans des fonctions vitales du gammare ;
- (iv) un suivi écologique, en 2022, ayant nécessité l'utilisation de sacs à litière pour recenser la richesse et la diversité des macroinvertébrés benthiques dans la ZTHA. Ce suivi avait pour but d'évaluer les effets potentiels de la dynamique des flux de pesticides et nitrates circulant dans la ZTHA sur la **structure de la communauté des macroinvertébrés benthiques** autochtones, et sur une fonction écologique associée, la dégradation de la litière aquatique².

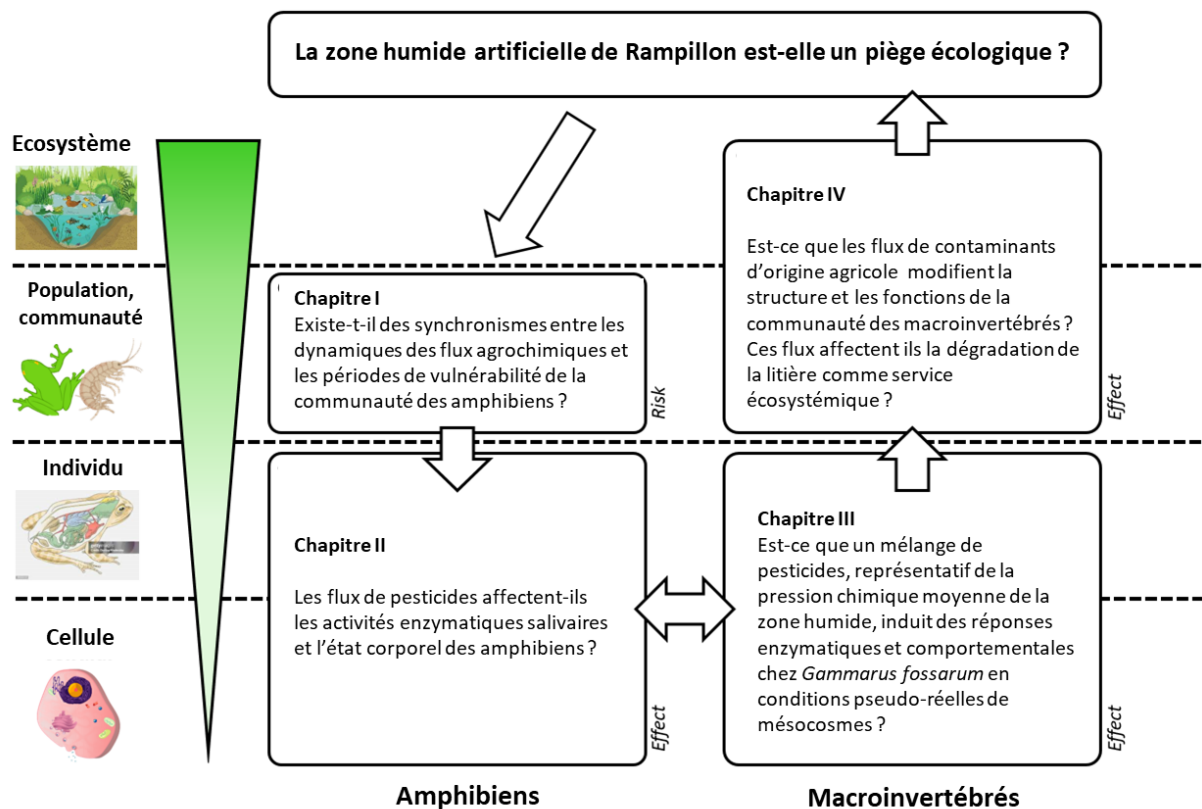


Figure 1 Diagramme présentant le cadre conceptuel de la thèse avec la question générale, et les différentes questions de travail correspondant aux objectifs de recherche.

² La dégradation de la litière est une fonction écologique. Il peut s'agir de la dégradation de la litière terrestre (dans le cas d'un sol forestier par exemple) ou aquatique (dans un cours d'eau, ou une étendue d'eau stagnante, comme une mare). La dégradation de la litière est assurée par de nombreux organismes incluant les invertébrés et les microorganismes (champignons, bactéries notamment).

Aucune difficulté expérimentale ou méthodologique particulière, ayant pu contraindre la progression du projet, n'est à signaler, mise à part les évidentes contraintes liées au travail sur le terrain (imprévisibilité, conditions climatiques parfois peu favorables, etc.). Il est cependant important de noter que certaines étapes ou tâches spécifiques dans le projet ont ajouté une certaine latence dans sa progression. Notamment, les analyses chimiques de l'eau qui ont permis de quantifier un très grand nombre de pesticides et leurs métabolites (plus de 500 molécules) sont des analyses lourdes demandant un certain temps d'attente. Un important investissement a été fait pour le développement de méthodes de mesures d'activités enzymatiques à partir de salives d'amphibiens collectées par écouvillonnage. De la même manière, les amphibiens sont protégés par la loi française, leur manipulation nécessite des demandes d'autorisation préfectorales particulières. Le projet a également nécessité du temps de formation pour que le doctorant en charge des travaux soit apte et qualifié à la manipulation des amphibiens sur le terrain. Aussi, des manipulations supplémentaires ont été implémentées au cours du projet : par exemple, une manipulation additionnelle d'inter-calibration pour les mesures morphométriques sur les amphibiens a été réalisée, bien que celle-ci n'était pas prévue dans le projet initialement. On notera également que ce projet de recherche s'est inscrit dans le cadre du projet de thèse de doctorat d'Alexandre MICHEL, impliquant donc un cadre de travail particulier (projet de 3 ans, volume horaire de formation pour valider la thèse conséquente, etc.), tâche que le doctorant a su entreprendre avec succès dans ces limites de temps.

Encart méthodologique sur les enzymes

Les **enzymes** sont les protéines qui permettent d'assurer les réactions chimiques nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme. Elles sont universelles et ubiquistes dans le vivant, et sont présentes chez les microorganismes, les plantes, les champignons, et les animaux. Les enzymes sont qualifiées de « catalyseurs biologiques ». Elles permettent en effet d'augmenter la vitesse des réactions chimiques qui se produisent dans l'organisme, sans quoi, certaines réactions seraient bien trop longues, et donc incompatibles avec les besoins physiologiques de l'organisme. Les enzymes sont spécifiques d'un substrat, c'est la molécule sur laquelle l'enzyme agit, pour réaliser une fonction physiologique particulière ; par exemple, l'amylase, présente dans la salive et le suc pancréatique, permet de découper l'amidon comme polysaccharide provenant de l'alimentation en unités plus petites dans le cadre de la digestion. Il existe un très grand nombre d'enzymes, réparties en plusieurs classes et sous-classes en fonction de leurs caractéristiques. Les hydrolases, par exemple, sont un type d'enzymes qui catalysent des réactions d'hydrolyse (*i.e.*, *réaction au cours de laquelle un substrat est « découpé » en sous-produits par une molécule d'eau, par l'intermédiaire de l'action d'une enzyme*). Dans le cadre du projet, nous nous sommes focalisés sur des hydrolases digestives comme la **β -glucosidase** et la **β -galactosidase** qui interviennent dans l'acquisition énergétique en dégradant les disaccharides.

Il est possible de déterminer l'activité d'une enzyme, c'est-à-dire, la quantité de substrat transformée par l'enzyme par unité de temps. Beaucoup de paramètres environnementaux, comme certaines substances chimiques (pesticides, métaux, etc.) peuvent perturber le fonctionnement normal d'une enzyme, et donc modifier son activité. La modification des activités enzymatiques, étant à la base de nombreux processus physiologiques, peut entraîner des conséquences délétères

sur le fonctionnement de l'organisme. Les enzymes peuvent donc être de bons indicateurs de l'état de l'environnement dans lequel vit un organisme. Un milieu contaminé par les pesticides peut être responsable de perturbations dans l'activité de certaines enzymes chez les êtres vivants, et donc renseigner sur les répercussions néfastes des pesticides sur l'intégrité de la faune. Les enzymes sont aussi des indicateurs précoces avant toute manifestation de toxicité à une échelle biologique supérieure. C'est en cela que l'étude d'enzymes a été initiée dans le cadre de ce projet.

Dans ce projet, plusieurs enzymes ont été étudiées dans la salive du crapaud commun et de la grenouille verte, et le gammare, à savoir : l'**acétylcholinestérase** (intervient dans la transmission des signaux nerveux), la **β -galactosidase**, et la **β -glucosidase** (interviennent dans la nutrition), les **phosphatases acide, alcaline**, et les **peroxidases** (interviennent dans l'immunité non-spécifique). En plus, la **glutathion S-transférase** (détoxification de l'organisme), et la **chitobiase** (intervient dans la mue des crustacés et des insectes) ont été étudiées respectivement chez les deux espèces d'amphibiens, et le gammare (*le Gammare est un crustacé, il est donc sujet au phénomène de mue, qui lui permet de croître, à la différence des amphibiens*).

Résultats obtenus

Premièrement, l'évaluation du risque pour l'intégrité de la communauté d'amphibiens vivant dans la ZTHA, en lien avec les dynamiques de flux de pesticides et nitrates en contexte de drainage des grandes cultures, a permis de mettre en évidence des synchronismes (ou coïncidences) entre les dynamiques temporelles des niveaux de contamination dans la ZTHA avec les périodes où la communauté d'amphibiens est la plus vulnérable. Sur 10 ans de suivi de la qualité chimique de l'eau au sein de la ZTHA de Rampillon, les scientifiques en charge de l'étude de la zone ont déterminé qu'en moyenne les flux de pesticides et de nitrates s'élevaient respectivement à 1 $\mu\text{g/L}$ et 55-60 mg/L au cours de l'année, avec des pics de concentrations d'environ 10 $\mu\text{g/L}$ pour les pesticides, et de plus de 100 mg/L pour les nitrates durant les mois de mai et juin. Plus précisément, au sein de la ZTHA de Rampillon, les périodes où les plus fortes concentrations en pesticides et nitrates sont mesurées correspondent également aux périodes (i) où le plus d'espèces d'amphibiens sont présentes simultanément dans l'eau, (ii) à fort enjeu écologique (à savoir des périodes où les amphibiens se reproduisent, où les juvéniles se développent, correspondant donc au moment où les jeunes amphibiens sont le plus à même d'être sujet aux propriétés que certains pesticides empruntent aux perturbateurs endocriniens, etc.). Ces synchronismes temporels entre les périodes de vulnérabilité de la communauté d'amphibiens et les dynamiques des flux de pesticides et nitrates dans la ZTHA, en lien avec les pratiques agricoles saisonnières sur le bassin versant, sont à l'origine d'un risque écologique marqué pour la communauté d'amphibiens, particulièrement aux mois de mai et juin, où les transferts des fongicides du sol vers l'hydrosphère interviennent majoritairement couplés à ceux d'herbicides due à des pluies printanières.

Dans un second temps, des modifications significatives des niveaux d'activités enzymatiques mesurées chez le crapaud commun et la grenouille verte ont été identifiées, en lien avec la contamination en pesticides, dans le cadre du suivi basé

sur le recueil de salive par écouvillonnage buccal, en prenant en considération l'ensemble des sites étudiés (incluant la ZTHA et les 5 mares de comparaison étudiées spécifiquement pour cet axe de recherche, avec un gradient de contamination compris entre 0 et environ 40 µg/L de pesticides en fonction des mares considérées). Cela signifie que les enzymes étudiées sont influencées par les pesticides en milieu naturel chez les amphibiens. De plus, puisqu'il a été possible de réaliser deux sessions d'échantillonnage distinctes séparées d'un mois (l'une fin mai, et l'autre fin juin) et hétérogènes en termes de niveaux de contamination en pesticides pour la grenouille verte au sein même de la ZTHA, des effets directs de la dynamique temporelle des flux de pesticides dans la ZTHA ont été mis en évidence sur les enzymes étudiées chez cette espèce. Concernant la condition corporelle des amphibiens, approximation de leur état de santé global, aucune différence significative n'a été observée entre les différentes mares, quel que soit leur niveau de contamination. Cela ne signifie pas que les pesticides n'ont aucun effet sur ce trait. En effet, beaucoup de facteurs environnementaux et intrinsèques aux individus étudiés (génétique) sont en mesure d'influencer la condition corporelle des amphibiens, et peuvent masquer des effets des pesticides. Des investigations plus poussées sont requises pour aller plus loin dans cette analyse. Cet axe souligne le caractère précoce des réponses enzymatiques, i.e., les enzymes sont des indicateurs très réactifs aux changements des conditions de l'environnement (ici, en lien avec la contamination en pesticides en particulier). Cela démontre également que certaines fonctions enzymatiques, chez les amphibiens, peuvent être perturbées par les dynamiques de flux de pesticides, en lien avec la temporalité des pratiques agricoles et de l'hydrologie du bassin versant, avec de possibles répercussions sur l'état de santé global des organismes aquatiques.

Troisièmement, nous avons pu montrer que l'exposition au cocktail de pesticides en mésocosmes extérieurs est responsable de modifications comportementales et biochimiques chez le Gammare. En effet, le cocktail de pesticides étudié a entraîné, chez le Gammare, une augmentation du taux d'amplexus (*i.e., accouplement en tant que première étape dans le cycle de reproduction du gammare*) et de l'activité locomotrice (*i.e., la quantité de déplacement du gammare par unité de temps*). Ces deux effets comportementaux peuvent correspondre à une réponse au stress induit par le cocktail de pesticides utilisé : l'augmentation du taux de reproduction peut correspondre à une stratégie visant à prévenir les effets létaux du cocktail, délétères pour la survie de la population (plus se reproduire a pour conséquence d'endiguer le déclin de la population), tandis que l'augmentation de l'activité locomotrice peut correspondre à une stratégie d'évitement de la pression chimique. Des effets significatifs ont été détectés également au niveau biochimique (*i.e., au niveau des enzymes*). Par exemple, l'enzyme chitobiase, qui intervient dans la mue chez les crustacés et les insectes notamment, est partiellement inhibée par le cocktail de pesticides. Étant donné que la mue permet au gammare de croître, l'inhibition de la chitobiase par les pesticides dans le milieu naturel est susceptible de perturber leur croissance, et donc de perturber la dynamique et la structure de la population autochtone.

À une autre échelle, le suivi basé sur l'utilisation des sacs à litière démontre les effets néfastes que peuvent avoir les flux de contaminants d'origine agricole sur les communautés de macroinvertébrés dans les ZTHA. Des effets négatifs significatifs des flux de pesticides dans la ZTHA ont effectivement pu être mis en évidence dans la structure de la communauté de macroinvertébrés benthiques autochtones, avec notamment une baisse de diversité de la communauté, et avec la mise en évidence

de la présence d'espèces plus tolérantes aux pressions chimiques. Ces résultats tendent à démontrer l'existence d'une trajectoire écologique spécifique de la communauté de macroinvertébrés benthiques dû à la présence de contaminants. De plus, un effet négatif sur la fonction écologique étudiée et associée aux invertébrés aquatiques, la dégradation de la litière, souligne le risque que représente la vie en ZTHA agricole. En combinaison avec les nitrates, les pesticides peuvent avoir des effets déstructurants forts sur les communautés d'invertébrés aquatiques, et être responsables d'une augmentation de la proportion d'espèces tolérantes, réduisant ainsi la diversité de l'écosystème.

L'ensemble de ces résultats tendent à montrer que la ZTHA de Rampillon agit comme un piège écologique pour la faune aquatique. La ZTHA de Rampillon est effectivement une infrastructure intéressante et attractive pour les amphibiens et les invertébrés aquatiques, qui y trouvent des ressources en abondance (nourriture, habitats, stabilité), et où ils peuvent se reproduire. Cependant, en contrepartie, la ZTHA de Rampillon, en tant que milieu intercepteur de pesticides et nitrates, a le potentiel de générer des effets néfastes sur ces organismes. Le projet présenté ici met en lumière le risque notable auquel fait face la communauté d'amphibiens, en lien avec ses périodes de vulnérabilité et les dynamiques de flux de pesticides et nitrates dans la ZTHA. De plus, des effets négatifs des pesticides ont été identifiés chez les amphibiens et les macroinvertébrés benthiques, du niveau cellulaire (enzymes), jusqu'à l'écosystème (dégradation de la litière, en tant que fonction écologique). D'ailleurs, certains macroinvertébrés, dont les crustacés, ont une vie aquatique permanente et sont donc soumis à une pression diffuse et continue. Il est cependant important de notifier que la ZTHA de Rampillon, malgré son rôle de piège écologique, agit comme un support de biodiversité ; de nombreuses espèces, sans la ZTHA, ne seraient pas présentes dans le bassin versant. Ce projet met ainsi en évidence toute la complexité de la question du potentiel des ZTHA agricoles à concilier à la fois les enjeux de protection et de préservation de la qualité de l'eau et les enjeux de conservation de la biodiversité en paysage agricole.

Implications pratiques, recommandations, réalisations pratiques, valorisation

Implications pratiques :

Les ZTHA agricoles, par leur rôle de milieu intercepteur de contaminants d'origine agricole (pesticides, nitrate, entre autres), sont susceptibles d'agir comme des pièges écologiques pour la faune aquatique, c'est-à-dire comme des milieux attractifs pour la faune, mais au sein desquels certaines conditions peuvent porter atteinte à la santé des organismes, avec des répercussions potentielles sur l'écosystème dans sa globalité. Ce projet met en avant le potentiel pour les ZTHA à agir comme tel, et leur capacité à entraîner des répercussions délétères sur la faune aquatique vivant dans les paysages agricoles, et, *in fine*, pour les écosystèmes aquatiques, bien qu'elles soient en mesure aussi de favoriser la présence de nombreuses espèces. Les résultats acquis au cours de cette étude mettent l'accent sur l'importance de mieux prendre en compte, dans le futur, les effets non-intentionnels potentiels des flux de contaminants d'origine agricole circulant dans les ZTHA sur la faune aquatique, dans le cadre de leur implantation dans le paysage. Leur potentiel à devenir des pièges écologiques implique aussi le besoin d'une réflexion autour de la structure des réseaux de ZTHA, au sein d'un même territoire : est-il préférable de mettre en place des réseaux plus

denses de ZTHA de faible dimensionnement individuel, ou des ouvrages de grande surface individuelle, mais plus dispersés spatialement ? La réponse à cette problématique est complexe. En effet, des ZTHA plus petites mais plus nombreuses, spécifiquement implantées au plus près d'une source d'individus, seront plus menacées par l'évaporation, et plus concentrées en contaminants, elles pourraient donc permettre de limiter les transferts à l'ensemble des masses d'eau du bassin versant, en plus de favoriser la connectivité du paysage, mais en contrepartie, ces ZTHA seront des milieux à très haut risque pour la faune aquatique étant donné leurs niveaux de concentrations en contaminants. Parallèlement, des ZTHA de plus grande superficie, moins répandues sur le territoire, mais stratégiquement implantées en aval du bassin versant, recevront des charges en contaminants moins élevées par dilution, mais avec une plus grande diversité de molécules, pouvant favoriser l'existence d'effets cocktails sur les organismes aquatiques, sans mentionner la moindre connectivité paysagère induite par la présence de seulement quelques ouvrages sur le territoire. Ces réflexions sur la gestion du territoire et la conception des ZTHA, visant à minimiser les risques écotoxicologiques pour la faune aquatique, nécessitent une concertation approfondie avec les acteurs du secteur agricole, afin de concilier objectifs écologiques et pratiques agricoles durables. De manière plus globale, ce projet souligne aussi l'importance (i) de réfléchir sur le risque que représente l'utilisation systématique des pesticides pour l'intégrité des écosystèmes aquatiques, et (ii) d'agir en faveur de pratiques agricoles plus durables pour la préservation de l'environnement, et donc des sociétés humaines, le tout en assurant une production alimentaire suffisante.

Recommandations :

À l'issue de cette étude, il paraît important de mieux considérer la balance entre le potentiel impact écotoxicologique des ZTHA sur les écosystèmes aquatiques lors de leur implantation dans les paysages agricoles, et leurs effets bénéfiques potentiels en matière de maintien de biodiversité dans le paysage. Par ailleurs, émettre, ici, des recommandations d'ajustements temporels de pratiques sur la parcelle agricole, dans l'optique de limiter le risque de générer des effets néfastes sur la faune aquatique, en lien avec les périodes de vulnérabilité des organismes, semble compliqué dû (i) au manque de données détaillées sur les effets synchroniques délétères des flux de pesticides sur la faune aquatique (*pas encore de vision systémique, à l'échelle de l'écosystème aquatique de la ZTHA dans sa globalité, avec tous ses particularismes, des liens temporels entre flux de pesticides et de nitrates et faune aquatique*), et (ii) aux contraintes de la temporalité des pratiques agricoles. Plus globalement, le projet mettant en évidence l'impact des pesticides sur la faune aquatique, les conclusions de l'étude soulignent l'importance de limiter l'utilisation, et donc de réduire les quantités de pesticides et nitrates épandus à la source, dans le but de limiter les répercussions négatives des contaminants d'origine agricole sur les écosystèmes aquatiques. En effet, il est important de faire remarquer que les ZTHA agricoles sont susceptibles d'agir comme des pièges écologiques uniquement due à l'utilisation généralisée des pesticides.

Limites ou généralisations éventuelles des résultats :

Chaque ZTHA, dans sa conception, ses particularités environnementales fines, et chaque bassin versant agricole, dans ses pratiques et caractéristiques hydrologiques entre autres, sont uniques. La portée des résultats obtenus dans ce projet est donc relativement locale et spécifique : *si la ZTHA de Rampillon est bien un piège écologique pour la faune aquatique, est-ce que toutes les ZTHA agricoles le sont ?* Il

s'agira probablement ici de travailler au cas par cas, afin d'intégrer tous les particularismes des ouvrages étudiés. Malgré tout, les données liées aux réponses des organismes seront plus à même d'être généralisées, dans le cadre d'études même plus décentrées par rapport aux problématiques entourant les ZTHA spécifiquement. Additionnellement, nous avons mis en évidence au cours de ce projet que les amphibiens et les macroinvertébrés benthiques pouvaient être sujets aux effets délétères des flux de contaminants circulants dans les ZTHA agricoles, mais des études plus ciblées et approfondies pourraient permettre de raffiner nos connaissances sur les niveaux d'impact potentiels auxquels sont sujets chaque groupe d'animaux (quel groupe est susceptible d'être le plus impacté, quelle(s) espèce(s) est/sont susceptibles d'être la/les plus impactée(s) ?). Les approches développées dans le cadre de ce projet, en particulier la méthode d'écouvillonnage et de mesures enzymatiques salivaires, sont quant à elles pleinement transférables et généralisables à d'autres ZTHA et même à tous types de mares en milieu agricole. Ce projet apporte donc une preuve de concept majeure pour les futures recherches en écologie et écotoxicologie des milieux aquatiques lenticques.

Réalisations pratiques et valorisation :

Le travail a été valorisé sous la forme d'articles scientifiques (1 publié en janvier 2025, 3 autres prévus courant 2025), d'une thèse (fin le 31 mars 2025), et de communications orales auprès de la communauté scientifique nationale et internationale. Des interventions formatrices notamment auprès du jeune public ont également été dispensées (stagiaires de 3^{ème} et de 2^{nde}).

Partenariats mis en place, projetés, envisagés

Un partenariat a été mis en place au cours du projet avec le Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, dans le cadre d'un stage de M2 (UMR 7179 MECADEV CNRS/MNHN).

Pour en savoir plus (quelques références)

Brosed, M., Lamothe, S., & Chauvet, E. (2016). Litter breakdown for ecosystem integrity 4179 assessment also applies to streams affected by pesticides. *Hydrobiologia*, 773(1), 4180 87-102. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-2681-2>

Jeliazkov, Alienor, François Chiron, Josette Garnier, Aurélien Besnard, Marie Silvestre, et Frédéric Jiguet. 2014. « Level-Dependence of the Relationships between Amphibian Biodiversity and Environment in Pond Systems within an Intensive Agricultural Landscape ». *Hydrobiologia* 723(1):7-23. doi: 10.1007/s10750-013-1503-z.

Jeliazkov, Alienor, Romain Lorrillière, Aurélien Besnard, Josette Garnier, Marie Silvestre, et François Chiron. 2019. « Cross-Scale Effects of Structural and Functional Connectivity in Pond Networks on Amphibian Distribution in Agricultural Landscapes ». *Freshwater Biology* 64(5):997-1014. doi: 10.1111/fwb.13281.

Lebrun, J. D., De Jesus, K., Rouillac, L., Ravelli, M., Guenne, A., 5042 & Tournebize, J. (2020). Single and combined effects of insecticides on multi-level biomarkers in the non-target amphipod *Gammarus fossarum* exposed to environmentally realistic levels. *Aquatic Toxicology*, 218, 105357. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105357>

Leenhardt, S., Mamy, L., Pesce, S., Sanchez, W., Achard, A. L., Amichot, M., Artigas, J., Aviron, S., Barthélémy, C., Beaudouin, R., Bedos, C., Bérard, A., Berny, P., Bertrand, C., Bertrand, C., Betoulle, S., Bureau-Point, É., Charles, S., Chaumont, A., ... Tournebize, J. (2022). Impacts des produits phytopharmaceutiques sur la biodiversité et les services écosystémiques. Rapport de l'expertise scientifique collective. <https://doi.org/10.17180/OGP2-CD65>

Letournel, G., Chaumont, C., Lebrun, J. D., Birmant, F., & Tournebize, J. (2021). Qualité de l'eau et écotoxicologie des zones tampons humides artificielles de Rampillon (Seine-et-Marne). <https://doi.org/10.14758/SET-REVUE.2021.CS5.02>

Letournel, G., Pages, C., Seguin, L., Chaumont, C., & Tournebize, J. (2021). Biodiversité et services écosystémiques des zones tampons humides artificielles de Rampillon (Seine-et-Marne). Sciences Eaux & Territoires, Cahier spécial N°5, 9. <https://doi.org/10.14758/set-revue.2021.cs5.03>

Michel, A., Lebrun, J. D., Chaumont, C., Girondin, M., Tournebize, J., Archaimbault, V., & Jeliaskov, A. (2025). Benthic macroinvertebrate diversity and function in an agricultural constructed wetland affected by agrochemical pressure (Seine-et-Marne, France). Environmental Science and Pollution Research, 32(7), 3679-3697. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-35722-4>

Tournebize, J., Chaumont, C., & Mander, Ü. (2017). Implications for constructed wetlands to mitigate nitrate and pesticide pollution in agricultural drained watersheds. Ecological Engineering, 103, 415-425. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.02.014>

Tournebize, J., Gramaglia, C., Birmant, F., Bouarfa, S., Chaumont, C., & Vincent, B. (2012). Co-design of constructed wetlands to mitigate pesticide pollution in a drained catch basin : A solution to improve groundwater quality: special issue: acid groundwater 2011. Irrigation and Drainage, 61, 75-86. <https://doi.org/10.1002/ird.1655>

Zhang, C., Wen, L., Wang, Y., Liu, C., Zhou, Y., & Lei, G. (2020). Can constructed wetlands be wildlife refuges? A review of their potential biodiversity conservation value. Sustainability, 12(4), 1442. <https://doi.org/10.3390/su12041442>

Liste des opérations de valorisations issues du contrat (articles de valorisation, participation à des colloques, enseignement et formation, communication, expertises...)

PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES	Benthic macroinvertebrate diversity and function in an agricultural constructed wetland affected by agrochemical pressure (Seine-et-Marne, France) (Environmental Science and Pollution Research, article de recherche, janvier 2025, https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-024-35722-4)
Publications scientifiques parues	
Publications scientifiques à paraître	NA

Publications scientifiques prévues	May an agricultural constructed wetland be an ecological trap? Exploring synchronisms between agrochemical fluxes and amphibian dynamics (<i>Oikos</i>, forum paper) First <i>in situ</i> application of a non-invasive sampling approach to assess pesticide effects on amphibian enzymatic activities (<i>Environmental Chemistry and Ecotoxicology</i>, article de recherche) Use of behavioral and biochemical biomarkers to assess the effects of a pesticide mixture on <i>Gammarus fossarum</i> in mesocosms implanted in an agricultural constructed wetland (Seine-et-Marne, France) (<i>Environmental Research</i>; article de recherche)
COLLOQUES	
Participations passées à des colloques	Rencontres du Métaprogramme Biosefair (INRAE) (Orléans, octobre 2022) – Communication orale 13th Symposium for European Freshwater Sciences (SEFS) (Newcastle, UK, juin 2023) – Communication orale Colloque annuel de la Société d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée (SEFA) (Le Havre, juillet 2023) – Poster Colloque annuel de la Société d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée (SEFA) (Besançon, juillet 2024) – Communication orale
Participations futures à des colloques	INTECOL Wetlands 2025, Estonie (juillet 2025) – Communication orale
THÈSES	
Thèses passées	NA
Thèses en cours	Synchronismes et antagonismes dans les relations entre environnement agricole, biodiversité, et fonctions écologiques dans les zones tampons humides artificielles (Alexandre MICHEL, INRAE, HYCAR) – février 2022 - mars 2025
ARTICLES DE VALORISATION/ VULGARISATION	
Articles de valorisation parus	NA
Articles de valorisation à paraître	NA
Articles de valorisation prévus	NA
AUTRES ACTIONS VERS LES MÉDIAS	

Actions vers les médias (interviews...) effectuées	Interview France 3 - ICI 19/20 - Paris Ile-de-France, Émission du lundi 9 septembre 2024
Actions vers les médias prévues	NA
ENSEIGNEMENT/ FORMATION	
Enseignements/formations dispensés	Encadrement stage de M2 (6 mois), encadrement de stagiaires de 3 ^{ème} , encadrement de stagiaires de 2 ^{nde}
Enseignements/formations prévus	NA
EXPERTISES	
Expertises menées	NA
Expertises en cours	NA
Expertises prévues	NA
MÉTHODOLOGIES (GUIDES...)	
Méthodologies produites	Plaquette / poster naturaliste sur la biodiversité de la ZTHA de Rampillon
Méthodologies en cours d'élaboration	NA
Méthodologies prévues	NA
AUTRES	
Précisez...	

Résumés

☐ Résumé court (5 lignes maximum)

Les zones tampons humides artificielles (ZTHA) agricoles permettent d'épurer les eaux chargées en pesticides. Cependant, au sein de la ZTHA pilote de Rampillon (77), ces contaminants impactent négativement la faune aquatique autochtone, du niveau cellulaire jusqu'au niveau écosystémique. La réduction de la quantité de pesticides et nitrates utilisés reste un levier clé pour maintenir l'intégrité de l'environnement.

☐ Résumé long

2 pages reprenant les rubriques de la synthèse – À mettre à jour par rapport à votre projet initial :

- Contexte général et enjeux scientifiques et techniques
- Objectifs
- Méthodologie
- Principaux résultats obtenus
- Sorties opérationnelles pour décideurs, applications éventuelles
- Recommandations

Les zones tampons humides artificielles (ZTHA) agricoles sont des zones humides conçues pour réduire les pollutions d'origine agricole (pesticides, nitrates). Les ZTHA permettent en effet de réduire les concentrations de pesticides et nitrates dans l'eau grâce à des propriétés épuratoires naturelles. De plus, ces milieux artificiels constituent également des refuges / abris pour la faune aquatique. Cependant, les pesticides et les nitrates interceptés par les ZTHA, peuvent perturber la biodiversité qu'elles abritent, et les fonctions écologiques associées comme le montrent de nombreuses études en laboratoire et sur le terrain. À plus large échelle, le déclin de la biodiversité, de la faune aquatique, et des fonctions écologiques associées, en lien avec l'utilisation systématique de pesticides, est susceptible de perturber l'équilibre des écosystèmes, et donc d'avoir des répercussions délétères sur les sociétés humaines. Approfondir nos connaissances sur les effets non-intentionnels des contaminants d'origine agricole sur la faune aquatique, est nécessaire pour mieux prévenir les répercussions écologiques néfastes. Aussi, trouver des outils et des méthodes scientifiques fiables, robustes, et répétables pour mesurer ces effets en milieu naturel est indispensable pour faire progresser la recherche scientifique sur ces problématiques. Un enjeu de recherche majeur consiste à déterminer le rôle des ZTHA agricoles pour la faune aquatique : sont-elles des milieux de vie durablement favorables, ou des pièges écologiques ? La ZTHA agricole de Rampillon (Seine-et-Marne, France) est un site pilote instrumenté depuis 2012 (suivi de la qualité de l'eau continu depuis 2012 et suivis faunistiques réguliers) qui intercepte pesticides et nitrates provenant d'un bassin versant agricole de 355 ha caractérisé par la présence de grandes cultures. Grâce à ce suivi sur le long terme, les données acquises montrent que la ZTHA de Rampillon est un ouvrage relativement efficace qui permet de réduire

en moyenne 37 % des flux de pesticides totaux, et 11 mg/L des concentrations en nitrate. Étudier les effets non-intentionnels de cette pollution sur la faune aquatique au sein d'une zone tampon humide artificielle agricole permet de mieux cerner le potentiel des ZTHA agricoles à répondre simultanément aux enjeux relatifs à la qualité de l'eau et à la préservation de la biodiversité en milieu agricole. L'autre enjeu porté par ce projet concerne l'amélioration de nos connaissances sur les risques liés à l'utilisation des pesticides pour la biodiversité aquatique et, plus largement, pour l'environnement agricole, dans l'optique de limiter et prévenir, autant que faire se peut, les effets non-intentionnels de ces substances sur le milieu naturel.

L'objectif général du projet est de déterminer si la ZTHA de Rampillon peut constituer un piège écologique pour la faune aquatique, en évaluant l'impact de la dynamique des flux saisonniers de pesticides (et nitrates) transitant dans la ZTHA sur les amphibiens et macroinvertébrés benthiques en la comparant à d'autres types de mares de Seine-et-Marne. Dans un premier temps, le risque représenté par les flux de contaminants d'origine agricole dans la ZTHA de Rampillon pour la communauté d'amphibiens est évalué. Dans un second temps, les effets potentiels de cette pression chimique sont caractérisés à différentes échelles d'organisation biologique chez les amphibiens et les macroinvertébrés benthiques, aux niveaux (i) cellulaire, (ii) individuel, et (iii) écosystémique. Ce projet, dans un contexte d'utilisation généralisée des pesticides et des intrants azotés au niveau de la parcelle agricole, a pour objectif aussi de mieux comprendre et mieux connaître les effets non-intentionnels des dynamiques temporels des flux de pesticides et de nitrates sur la faune aquatique, en conditions naturelles, afin de proposer des leviers d'action pour limiter au mieux les répercussions négatives potentielles des contaminants d'origine agricole sur les écosystèmes aquatiques.

Le site d'étude central du projet SynBioTox est la ZTHA de Rampillon (Seine-et-Marne, France), suivie depuis 2012 pour la qualité de l'eau, et sujet à des suivis faunistiques réguliers (ciblant notamment les amphibiens et les invertébrés aquatiques). Plusieurs sites de comparaison (mares plus ou moins contaminées par les contaminants d'origine agricole, incluant les pesticides), localisés en Seine-et-Marne pour la plupart, ont été sélectionnés en vue d'avoir des éléments de comparaison et augmenter la robustesse statistique de nos résultats. Étudier des mares contrastées permet en effet de comparer les niveaux d'exposition et les réponses des organismes vivant dans la ZTHA de Rampillon avec des organismes soumis à différents niveaux de pression (sites témoins négatifs et positifs). Plusieurs suivis écologiques et écotoxicologiques ont été réalisés dans la ZTHA et dans les mares de comparaison pour évaluer les risques et les effets négatifs potentiels pour les amphibiens et les macroinvertébrés benthiques, en lien avec les flux de pesticides circulant dans la ZTHA. Le travail mené comprend ainsi quatre axes d'étude incluant (i) une évaluation du risque pour la communauté d'amphibiens, en lien avec les dynamiques temporelles de flux de contaminants d'origine agricole (pesticides et nitrates) dans la ZTHA et ainsi, identifier des périodes de vulnérabilité de la communauté d'amphibiens, (ii) un suivi écotoxicologique non létal et non-invasif, pour réaliser des analyses biochimiques et de condition corporelle chez deux espèces majeurs d'amphibiens présentes sur plusieurs mares, (iii) une expérimentation en mésocosmes pour tester la toxicité d'un cocktail de pesticides représentatif de la pression chimique globale qui circule dans la ZTHA, sur une espèce d'invertébré aquatique modèle, le gammare (*Gammarus fossarum*), (iv) un suivi écologique, pour évaluer les effets de la dynamique des flux de pesticides et nitrates circulant dans la

ZTHA sur la structure de la communauté des macroinvertébrés benthiques autochtones, et sur une fonction écologique associée, la dégradation de la litière aquatique, grâce à l'utilisation de sacs à litière.

Les principaux résultats mettent en lumière (i) un risque notable pour la communauté d'amphibiens des mares contaminées dont la ZTHA de Rampillon aux mois de mai et juin, en lien avec des pics de contamination en pesticides et nitrates, (ii) des effets négatifs des pesticides sur les activités enzymatiques des amphibiens (avec des effets directs en lien avec les dynamiques de flux et de niveaux de concentration de pesticides dans les mares et la ZTHA de Rampillon, notamment et du gammare (invertébré aquatique), et sur le comportement du gammare, (iii) sur la structure de la communauté de macroinvertébrés benthiques autochtones, et sur la dégradation de la litière aquatique. L'ensemble de ces résultats tendent à montrer que la ZTHA de Rampillon, comme les mares contaminées, agit comme un piège écologique pour la faune aquatique. La ZTHA de Rampillon est effectivement une infrastructure intéressante et attractive pour les amphibiens et les invertébrés aquatiques, qui y trouvent des ressources (nourriture, habitats), et où ils peuvent se reproduire. Cependant, en contrepartie, la ZTHA de Rampillon, en tant que milieu intercepteur de pesticides et nitrates, a le potentiel de générer des effets néfastes sur ces organismes.

Les résultats acquis au cours de cette étude mettent l'accent sur l'importance de mieux prendre en compte, dans le futur, les effets non-intentionnels potentiels des flux de contaminants d'origine agricole circulant dans les ZTHA sur la faune aquatique, dans le cadre de leur implantation dans le paysage. Leur potentiel à devenir des pièges écologiques implique aussi le besoin d'une réflexion autour de la structure des réseaux de ZTHA, au sein d'un même territoire. Ces réflexions sur la gestion du territoire et la conception des ZTHA, visant à minimiser les risques écotoxicologiques pour la faune aquatique, nécessitent une concertation approfondie avec les acteurs du secteur agricole, afin de concilier objectifs écologiques et pratiques agricoles durables. De manière plus globale, ce projet souligne aussi l'importance de réfléchir sur le risque que représente l'utilisation systématique des pesticides pour l'intégrité des écosystèmes aquatiques, et d'agir en faveur de pratiques agricoles plus durables pour la préservation de l'environnement, et donc des sociétés humaines, le tout en assurant une production alimentaire suffisante. À l'issue de cette étude, il paraît important de mieux considérer la balance entre le potentiel impact écotoxicologique des ZTHA sur les écosystèmes aquatiques lors de leur implantation dans les paysages agricoles, et leurs effets bénéfiques potentiels en lien avec le gain net en biodiversité associé, et les bénéfices en termes de connectivité du paysage, en travaillant au cas par cas. En somme, le projet mettant en évidence l'impact des pesticides sur la faune aquatique, les conclusions de l'étude soulignent l'importance de limiter l'utilisation, et donc réduire les quantités de pesticides et nitrates épandus à la source, dans le but de limiter les répercussions négatives des contaminants d'origine agricole sur les écosystèmes aquatiques.

□ Mots-clés

Zones tampons humides artificielles – Écodynamique – Mares – Paysage agricole – Faune aquatique – Amphibiens – Invertébrés aquatiques – Macroinvertébrés benthiques – Pesticides – Nitrates – Diversité – Dégradation de la litière – Périodes d'exposition critiques – Vulnérabilité écologique



RAPPORT SCIENTIFIQUE

Dans le rapport scientifique, nous vous prions de fournir des éléments méthodologiques présentés succinctement et clairement afin de pouvoir avoir une vision des limites des résultats

(Environ 10 pages, hors annexes)

SYNBioTox

SYNCHRONISMES ET ANTAGONISMES DANS LES RELATIONS ENTRE ENVIRONNEMENT AGRICOLE, BIODIVERSITE ET FONCTIONS ECOLOGIQUES DANS LES ZONES TAMPONS HUMIDES ARTIFICIELLES

Travaux de thèse d'Alexandre Michel

« Plan Ecophyto II+ »

Rapport scientifique V1 [MICHEL A., LEBRUN J.]

Date de la version du rapport : 13/02/2025

Nom du responsable de projet : Jérémie D. LEBRUN, Aliénor JELIAZKOV, Julien TOURNEBIZE

Adresse : INRAE Ile-de-France - Jouy-en-Josas – Antony, 1 Rue Pierre Gilles de Gennes, 92160 Antony

Courriel : jeremie.lebrun@inrae.fr ; alienor.jeliazkov@inrae.fr ; julien.tournebize@inrae.fr ; alexandre.michel.97@gmail.com

Action pilotée par les Ministères chargés de la Transition écologique, de la Biodiversité, de la Forêt, de la Mer et de la Pêche (MTEBFMP), de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire (MASA), du Travail, de la Santé, des Solidarités et des Familles (MTSSF), et de l'Education nationale, de l'Enseignement supérieur et de la Recherche (MENESR), avec l'appui financier de l'Office Français pour la Biodiversité (OFB), par les crédits issus de la redevance pour pollutions diffuses attribués au plan Écophyto II+

1. Introduction

Le terme biodiversité, qui naît dans les années 80 (Sarkar, 2021), renvoie à la diversité de la vie dans tous ses aspects, incluant les gènes, les populations, les communautés d'espèces, les dynamiques de flux biotiques, les interactions entre les organismes, les processus écologiques et les fonctions écosystémiques (Leenhardt et al., 2022; Wake & Vredenburg, 2008). Le concept de biodiversité englobe trois niveaux de diversité : (i) la diversité écologique, faisant référence à la diversité des écosystèmes et des paysages, (ii) la diversité spécifique, faisant référence à la diversité des espèces et des taxons, et (iii) la diversité intraspécifique, faisant référence à la diversité individuelle et génétique (MNHN & OFB [Ed], 2003; Swingland, 2013).

La biodiversité connaît actuellement une crise majeure que certains qualifient de « Défaunation de l'Anthropocène » (Dirzo et al., 2014). Cet événement écologique de grande ampleur est principalement lié aux pressions anthropiques qui résultent, au moins en partie, de la surexploitation des ressources naturelles, de la modification des paysages et des habitats, du changement climatique, de l'invasion d'espèces exotiques, de la surexploitation des espèces (par exemple, par la chasse, la pêche, la sylviculture, le braconnage), l'apparition de maladies et les pollutions chimiques qui, *in fine*, « compromettent la capacité d'adaptation des écosystèmes aux changements globaux » (Blann et al., 2009; Dirzo et al., 2014; Escher & Marchant, 2019; Leenhardt et al., 2022; Pievani, 2014).

L'intensification de l'agriculture, qui vise à assurer une production alimentaire suffisante pour répondre à la demande de la croissance de la population humaine, joue un rôle important dans la perte de biodiversité (Dudley & Alexander, 2017; Kehoe et al., 2017). Actuellement, les terres agricoles couvrent 47 % et 45 % de la surface de l'Europe (Eurostat, 2021; Herzog et al., 2012) et de la France (Couleaud et al., 2021), respectivement. Cinquante pour cent des espèces européennes (Eurostat, 2022) sont devenues très dépendantes des milieux agricoles, les habitats semi-naturels ayant été éradiqués par l'intensification et la spécialisation des pratiques agricoles (Dudley & Alexander, 2017; Herzog et al., 2012). Cette dépendance fait que les espèces vivantes bénéficient, mais aussi subissent, les effets de la gestion des terres par les activités agricoles (Le Roux et al., 2012). Selon Dudley & Alexander (2017), l'agriculture exerce une influence négative sur la biodiversité de quatre manières, à savoir (i) la conversion des écosystèmes naturels, (ii) l'intensification de la gestion, (iii) le rejet de polluants et (iv) les impacts de la chaîne de valeur (par exemple, l'utilisation de l'énergie et des transports, les déchets alimentaires). Bien que la nécessité de modifier les modèles agricoles actuels soit désormais bien établie (Demonet et al., 2013; Gross & Charbonnier, 2014), la surface des terres utilisées pour les pâturages et les cultures continue d'augmenter à l'échelle mondiale (HYDE, 2024; Liu et al., 2022).

En lien avec l'intensification de l'agriculture, les pesticides, incluant les herbicides, les fongicides, les insecticides, les molluscicides et autres, sont utilisés pour protéger les cultures contre les maladies et les ravageurs (EFSA, 2022), et les nitrates sont utilisés pour optimiser les rendements des cultures (Gao et al., 2022; Khajuria & Kanae, 2013). La toxicité des pesticides et des nitrates pour les organismes non ciblés, y compris les humains, est étudiée depuis les années 1940 pour les nitrates (Wilson, 1943), et les années 1950 pour les pesticides (Conley, 1949; DeWitt, 1956). De nos jours, les pesticides sont omniprésents dans l'environnement et constituent un risque environnemental à l'échelle mondiale (Tang et al., 2021), et les concentrations de nitrates dans les écosystèmes aquatiques ne cessent d'augmenter en raison des activités humaines (Banerjee et al., 2023). Les pesticides, en particulier, peuvent affecter la

biodiversité à tous les niveaux d'organisation biologique, jusqu'aux écosystèmes et aux fonctions associées (Geiger et al., 2010; Isenring, 2010; Leenhardt et al., 2022; McMahon et al., 2012). Le déclin mondial des insectes dû aux pesticides est considéré comme pouvant mettre en péril la prospérité humaine (van der Sluijs, 2020). En outre, les néonicotinoïdes sont soupçonnés d'être à l'origine d'une immunodépression de la biodiversité mondiale affectant les abeilles, les poissons, les chauves-souris, les oiseaux et les amphibiens (Mason, 2013).

Les amphibiens et les macroinvertébrés benthiques font partie de la faune aquatique. Ils sont essentiels pour le bon fonctionnement des écosystèmes. En particulier, les amphibiens contribuent à l'équilibre structurel et fonctionnel des écosystèmes grâce à leur rôle dans les réseaux trophiques, les flux d'énergie, la lutte contre les ravageurs et les maladies, et l'ingénierie des écosystèmes, par la modification physique de l'habitat, comme la bioturbation ou le « pâturage » du biofilm par exemple (EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR) et al., 2018; Hocking & Babbitt, 2014; Verburg et al., 2007; Whiles et al., 2006). Les amphibiens peuvent, ou devraient, être considérés comme des sentinelles environnementales en raison de leur sensibilité à diverses pressions environnementales (Roy, 2002; Yang et al., 2023). En parallèle, du fait de leur remarquable diversité taxonomique et écophysiologique, les invertébrés aquatiques jouent également un rôle important dans l'écosystème, à travers leur contribution à de nombreuses fonctions écosystémiques telles que le soutien des réseaux trophiques, le cycle des nutriments et la purification de l'eau (Collier et al., 2016; Murkin & Wrubleski, 1988; Prather et al., 2013; Wallace & Webster, 1996). Certains taxons d'invertébrés aquatiques, comme les bivalves, les crustacés et les odonates, entre autres, sont également considérés comme des sentinelles pour détecter la dégradation de la qualité de l'environnement (Damásio et al., 2010; Datto-Liberato et al., 2024; Marmonier et al., 2013). Ainsi, compte tenu de leur biomasse, de leur rôle écologique et de leur sensibilité à la pollution, y compris aux pressions agrochimiques, les amphibiens et les invertébrés aquatiques sont des taxons pertinents pour étudier l'impact des produits agrochimiques sur l'environnement.

Les amphibiens et les invertébrés aquatiques subissent plusieurs pressions, notamment les effets négatifs de l'intensification de l'agriculture et de l'utilisation de produits agrochimiques. Les amphibiens sont actuellement les vertébrés les plus menacés, avec 40,7 % d'espèces menacées, principalement, plus ou moins directement, en raison des conséquences des activités anthropiques (Collins & Storfer, 2003; IPBES, 2019; Luedtke et al., 2023), notamment le changement climatique, la perte d'habitat, les maladies et les contaminants (Collins, 2010; Cushman, 2006; Nyström et al., 2007; Rollins-Smith, 2009). En particulier, l'agriculture intensive est l'un des principaux facteurs de déclin de la diversité des amphibiens, principalement en raison de la perte et de la dégradation de l'habitat (Collins & Storfer, 2003; Curado et al., 2011; Gallant et al., 2007; Houlahan & Findlay, 2003; Luedtke et al., 2023; Ribeiro et al., 2018). Il a été suggéré que les pesticides et les nitrates jouent un rôle dans le déclin des amphibiens (Alford & Richards, 1999; Bishop et al., 1999; C. Davidson, 2004; Fellers et al., 2004; Hamer et al., 2004; Sparling et al., 2010). Parallèlement, les invertébrés aquatiques peuvent également présenter des proportions inquiétantes d'espèces menacées (Collier et al., 2016; Sayer et al., 2025). Chez les insectes aquatiques, par exemple, les taxons odonates, plécoptères, trichoptères et éphéméroptères sont notamment en déclin à l'échelle mondiale, avec des proportions d'espèces en déclin de 37 %, 35 %, 44 % et 37 % respectivement, les plécoptères affichant un taux d'extinction stupéfiant

de 19 % (Sánchez-Bayo & Wyckhuys, 2019). L'intensification de l'agriculture apparaît comme l'une des principales menaces pour les invertébrés aquatiques en raison de la perte d'habitat, affectant par exemple 61 % des espèces menacées d'odonates dans le monde (Sánchez-Bayo & Wyckhuys, 2019; Sayer et al., 2025). Au sein des paysages agricoles, les invertébrés aquatiques ont également tendance à souffrir d'une érosion accrue des sols, liée à une augmentation des charges de sédiments en suspension, et de l'eutrophisation par exemple (Burdon et al., 2013; Campbell et al., 2009; Euliss & Mushet, 1999; Gleason et al., 2003; Matthaei et al., 2010). Enfin, les pesticides et les nitrates sont également incriminés dans le déclin des populations d'invertébrés aquatiques (Beketov et al., 2013; Nessel et al., 2021; van der Sluijs, 2020; Yamamuro et al., 2019).

En milieu agricole, la vulnérabilité des amphibiens et des invertébrés aquatiques aux produits agrochimiques va dépendre de plusieurs facteurs. Cette vulnérabilité dépend ainsi des espèces, en raison de l'existence de différences interspécifiques de sensibilité (Adams et al., 2021), du stade de vie (Greulich & Pflugmacher, 2003; Kulkarni et al., 2013), des traits bio-écologiques, tels que la taille, le sexe, les modalités de reproduction, le spectre trophique, la relation au substrat, entre autres, qui vont influencer la manière dont les organismes sont exposés (Awkerman et al., 2024; EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR) et al., 2018; Huang et al., 2022; Ippolito et al., 2012), le temps et la concentration d'exposition au(x) contaminant(s) (Ashauer et al., 2006), la nature de la combinaison de molécules (également appelée « cocktails »), et le contexte environnemental dans lequel les espèces sont exposées. Ainsi, dans le milieu naturel, l'interaction complexe de tous ces facteurs, la dynamique de l'exposome, et les spécificités phénologiques des espèces détermineront leur vulnérabilité aux produits agrochimiques, et donc, le risque généré par les pressions agrochimiques sur les amphibiens et les invertébrés aquatiques (Awkerman et al., 2024; Buss et al., 2021; Chiu et al., 2016; EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR) et al., 2018; Vormeier et al., 2023).

Dans des conditions de risque élevé, les produits agrochimiques peuvent avoir des effets néfastes sur les amphibiens et les invertébrés aquatiques, à tous les niveaux d'organisation biologique (Sánchez-Bayo & Mann, 2011). Ces effets peuvent d'abord se manifester aux niveaux biologiques les plus fins, c'est-à-dire aux niveaux cellulaire et subcellulaire, incluant les biomolécules, les enzymes, les molécules porteuses d'informations génétiques (c'est-à-dire l'ADN, l'ARN), les gènes, les organites, et enfin la cellule dans son ensemble (Ezemonye & Tongo, 2010; Josende et al., 2015; Knapik & Ramsdorf, 2020; Sparling et al., 2015). En perturbant les structures et les fonctions des gènes, des enzymes, des organites et de la cellule entière, et donc en perturbant les processus génétiques et biochimiques associés, des effets peuvent se produire à des niveaux biologiques supérieurs. Ainsi, des altérations des fonctions nerveuses, musculaires, endocriniennes, immunitaires et métaboliques peuvent affecter les différents tissus et organes de l'organisme, conduisant finalement à des effets négatifs sur l'individu, sur le développement, et donc sur les caractéristiques morpho-anatomiques, sur le système nerveux, et donc sur le comportement, sur la fonction de reproduction, sur le système immunitaire et sur le métabolisme énergétique de l'organisme, pouvant conduire à la mort (Agostini et al., 2020; Bonfanti et al., 2004; Coors et al., 2008; Langlois et al., 2010; Moore & Bringolf, 2018; Ortiz et al., 2004). La réduction de la valeur sélective des amphibiens et des invertébrés dans l'environnement naturel, ou même les effets létaux des produits agrochimiques, peuvent avoir des répercussions à des niveaux biologiques plus élevés, c'est-à-dire, les niveaux écologiques, comprenant les

populations, les communautés, les écosystèmes et les fonctions écologiques associées, par des effets tels que la réduction de la biomasse, la perturbation des relations intraspécifiques et interspécifiques, la structure des communautés, les réseaux trophiques et, en fin de compte, la perturbation des fonctions de l'écosystème telles que la décomposition de la litière ou le cycle des nutriments (Auber et al., 2011; Boone & James, 2003; Brosed et al., 2016; Hamer et al., 2004; Relyea, 2009; Schäfer et al., 2007).

Malgré l'impact significatif de l'intensification agricole et des produits agrochimiques sur la faune aquatique, les masses d'eau agricoles (c'est-à-dire les masses d'eau lenticques ou lotiques, naturels ou artificiels, en milieu agricole), notamment les cours d'eau, les fossés, les étangs et les zones humides, peuvent constituer des abris pour la faune aquatique, qu'il s'agisse des amphibiens (Baker & Halliday, 1999; Knutson et al., 2004) ou des invertébrés aquatiques (Cereghino et al., 2008; Davis & Bidwell, 2008; Hill et al., 2016; Ruggiero et al., 2008; Verdonschot et al., 2011; Williams et al., 2004). Néanmoins, les mares et les zones humides souffrent de l'intensification de l'agriculture, de la pollution, du changement climatique et de la croissance de la population humaine (Czech & Parsons, 2022; Finlayson & Spiers, 1999; Heath & Whitehead, 1992; Indermuehle et al., 2008; Oertli et al., 2008; Wood et al., 2003), et le rythme et l'intensité de leur déclin sont alarmants (N. C. Davidson, 2014; Fluët-Chouinard et al., 2023; Levy, 2015; Thinzilal, 2013). La disparition des mares en France, principalement due à l'intensification de l'agriculture (Arntzen et al., 2017), menace l'avenir des communautés d'amphibiens dans les paysages agricoles (Curado et al., 2011). De plus, les produits agrochimiques, qui pénètrent dans l'hydrosphère principalement par pulvérisation, ruissellement ou par les systèmes de drainage (Meite et al., 2018; Tournebize et al., 2017), sont responsables d'une contamination globale des masses d'eau (Leenhardt et al., 2022). Ainsi, des mares du monde entier ont été suggérées comme étant polluées par des pesticides (Frank et al., 1990; Miglioranza et al., 2002; Uddin et al., 2013), y compris des mares françaises (Chaumet et al., 2021; Sarrazin et al., 2022). Ainsi, bien que les mares agricoles puissent être des habitats appropriés pour la faune aquatique, elles peuvent intercepter divers produits agrochimiques, qui peuvent être responsables d'effets délétères sur cette faune (Goessens et al., 2022; Leenhardt et al., 2022; Xiao et al., 2024).

Pour réduire les pressions chimiques sur les eaux de surface et souterraines, une solution a été mise au point : les zones tampons humides artificielles (ZTHA), qui sont des bassins de rétention ou des étangs végétalisés ou non ayant une fonction tampon. Elles ont été développées pour la première fois à la fin du 20^{ème} siècle en Europe et en Amérique du Nord pour tirer parti de la capacité de biodégradation des plantes (Hammer, 1989; Shutes, 2001). Récemment, l'Union internationale pour la conservation de la nature (UICN) a introduit le concept de solutions fondées sur la nature (*Nature-based solutions*, NbS, en anglais) pour relever les défis sociétaux mondiaux (Cohen-Shacham et al., 2016). Selon l'UICN, les solutions fondées sur la nature sont « des actions visant à protéger, gérer durablement et restaurer les écosystèmes naturels ou modifiés qui répondent aux défis sociétaux de manière efficace et adaptative, tout en assurant le bien-être humain et des bénéfices pour la biodiversité » (Cohen-Shacham et al., 2016). En tant que solution basée sur la nature et interface paysagère, les ZTHA agricoles sont conçus pour atténuer les contaminants provenant du ruissellement et du drainage. Dans une certaine mesure, elles permettent la remédiation des eaux contaminées par les nitrates et les pesticides (Gersberg et al., 1983; Tournebize et al., 2017; Vymazal & Březinová, 2015), par le biais de processus biologiques (ex,

métabolisation par les plantes et les bactéries), et des processus physiques et chimiques (par exemple, hydrolyse, photolyse, séquestration des sédiments) (Bahí, Sauvage, Payraudeau, Imfeld, et al., 2023; Gregoire et al., 2009; Overton et al., 2023), tout en étant capable d'agir comme des milieux supports de biodiversité (Zhang et al., 2020). En raison de leurs capacités de purification, les ZTHA peuvent également agir comme des pièges écologiques, qui « se produisent lorsque les animaux préfèrent par erreur des habitats où leur fitness est plus faible que dans d'autres habitats disponibles à la suite d'un changement environnemental rapide » (Hale & Swearer, 2016). Ce potentiel est lié à leur rôle d'intercepteur de contaminants, susceptible d'affecter les espèces sauvages qu'elles abritent (Piha, 2006; Stillway et al., 2019; Zhang et al., 2020), notamment les amphibiens (Sievers et al., 2018), mais aussi les invertébrés aquatiques (Duchet et al., 2018). Dans certains contextes, qui restent à découvrir, les ZTHA pourraient agir soit comme des milieux habitables, soit comme des pièges écologiques pour la faune aquatique. Bien que le potentiel de piège écologique des ZTHA soit reconnu dans des conditions contrôlées (Duchet et al., 2018; Sievers et al., 2018), les preuves empiriques *in situ* manquent et un travail de terrain holistique ciblé est nécessaire pour évaluer l'état écologique des ZTHA agricoles en particulier.

La zone tampon humide artificielle agricole française de Rampillon (la ZTHA de Rampillon, ou *constructed wetland of Rampillon*, CWR, en anglais) (Seine-et-Marne, France), qui est soumise à une pression agrochimique chronique, apparaît comme une opportunité pour aborder cette question. La ZTHA de Rampillon a été construite en 2010 pour atténuer les nitrates et les pesticides provenant du drainage et du ruissellement issu d'un bassin versant agricole de 355 ha, tout en soutenant la faune aquatique. La ZTHA a été largement étudiée dans des travaux antérieurs afin d'évaluer son potentiel à concilier le double enjeu de la qualité de l'eau et de la conservation de la biodiversité dans les paysages agricoles (Bahí, Sauvage, Payraudeau, Imfeld, et al., 2023; Lebrun et al., 2019; Letournel, Pages, et al., 2021; Mander et al., 2021; Tournebize et al., 2017). La ZTHA est caractérisée par un niveau notable de richesse spécifique (Letournel, Pages, et al., 2021), suggérant un possible rôle d'abri pour la biodiversité au sein d'un environnement relativement hostile. Ainsi, un inventaire faunistique réalisé en 2017 a mis en évidence la présence de plus de 150 espèces dont certaines inféodées aux milieux humides dont les amphibiens. Cependant, en raison de son rôle d'intercepteur de produits agrochimiques, la CWR pourrait plutôt agir comme un piège écologique pour la faune aquatique. Ainsi, malgré le gain net de biodiversité qui peut être induit par certaines solutions basées sur la nature, certaines, comme la ZTHA agricole de Rampillon, pourraient être responsables d'une réduction de la valeur sélective des organismes vivant dans ces environnements.

Dans le contexte des problématiques de conservation de la faune aquatique dans les paysages agricoles, la présente thèse visait, par une approche holistique, à déterminer si la ZTHA agit comme un environnement sûr dans la matrice agricole ou comme un piège écologique pour la faune aquatique, en se concentrant sur les amphibiens et les invertébrés aquatiques. Pour répondre à cette question, nous avons adopté une approche de biosurveillance spatio-temporelle, multi-taxons, multi-niveaux et multi-réponses (voir Figure 1) visant à :

- identifier les périodes à risque pour la communauté d'amphibiens par l'étude des synchronismes entre les flux agrochimiques et les périodes de vulnérabilité de la communauté,
- évaluer les effets des pesticides sur les caractéristiques enzymatiques et morphologiques de deux espèces d'amphibiens indigènes, le Crapaud commun

(*Bufo bufo*) et la Grenouille verte (*Pelophylax sp.*), en utilisant une méthode non invasive, à savoir l'écouvillonnage buccal,

- évaluer les effets d'un mélange de pesticides représentatif de la pression agrochimique moyenne de la ZTHA sur les caractéristiques enzymatiques et comportementales d'une espèce d'invertébré aquatique, *Gammarus fossarum*, dans des mésocosmes,
- évaluer les effets des flux agrochimiques sur la structure de la communauté de macroinvertébrés benthiques indigènes et sur une fonction écosystémique associée, la dégradation de la litière.

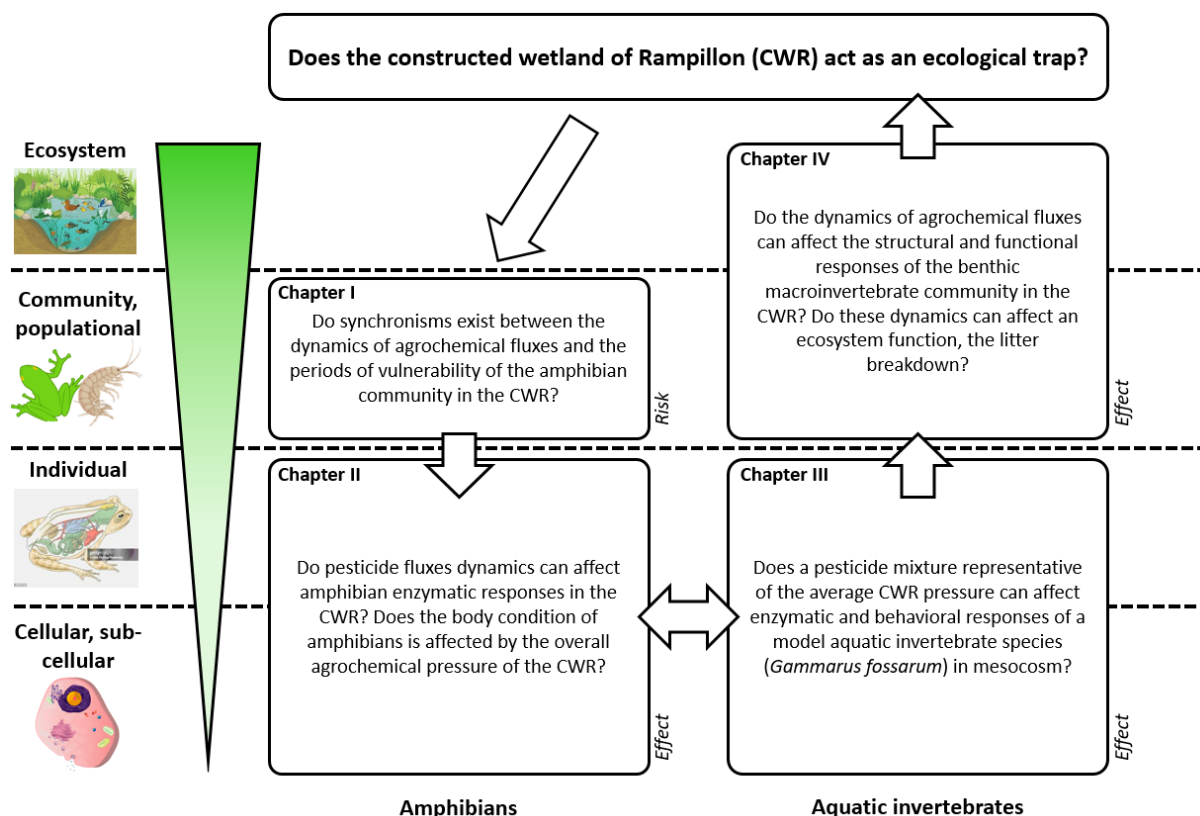


Figure 1 Diagramme présentant le cadre conceptuel de la thèse avec la question centrale, générale, et les différentes questions spécifiques à la recherche.

2. Matériel et méthodes

Le projet de thèse SynBioTox se concentre sur la zone tampon humide artificielle agricole de Rampillon (ZTHA) située dans le département de la Seine-et-Marne en France, à environ 60 km au sud-est de Paris (48°32'19,5"N ; 3°03'46,7"E). La ZTHA de 5.600 m², construit en 2010, et situé en dérivation du ru « le ru des gouffres », collecte les eaux de ruissellement et de drainage d'un bassin versant agricole de 355 hectares soumis à une rotation intensive des cultures, principalement du blé, du maïs et des betteraves (85 % de l'assolement moyen). La ZTHA atténue la pollution pesticide et azotée avant l'infiltration directe dans la nappe phréatique des calcaires de Champigny qui alimente en eau 1,5 million d'habitants de l'Île-de-France (Tournebize et al., 2012). Le CWR intercepte en moyenne 40% des écoulements moyens, soit 800 000 m³ par an. La CWR est équipée depuis 2012 pour surveiller les flux agrochimiques à l'aide de trois stations de mesure hydrologique (SMH) situées en amont et en aval de la ZTHA, et à la sortie de la ZTHA et du bassin versant. Chaque SMH comprend

une mesure de débit (sonde Doppler) couplée à un système d'échantillonnage composite contrôlé par le volume d'eau qui permet de mesurer les flux entrants et sortants de pesticides et de nitrates. La stratégie d'échantillonnage donne accès à des concentrations de flux bihebdomadaires adaptées au calcul des flux de polluants entrants et sortants (mais pas à la variabilité instantanée des concentrations). Il existe un gradient de contamination de l'amont vers l'aval dû à l'action épuratrice de la ZTHA (Lebrun et al., 2019; Letournel, Pages, et al., 2021). Une période de 10 ans de suivi en continu (2012-2022) et d'analyse de 531 pesticides et de leurs métabolites a montré que la CWR intercepte 40-700 g de pesticides par an, selon les années et les conditions hydrologiques (Bahi, Sauvage, Payraudeau, & Tournebize, 2023; Letournel, Pages, et al., 2021). La concentration moyenne en pesticides des eaux entrantes est d'environ 1 µg/L de janvier à décembre, avec des pics de concentration d'environ 10 µg/L observés en mai et juin, suite à l'épandage d'herbicides et de fongicides qui a lieu d'avril à juin (il s'agit de concentrations issues d'échantillons composites d'eau, basées sur des prélèvements multiples sur des périodes de 1 à 3 semaines, en fonction de l'hydrologie, il s'agit donc de concentrations moyennes, et non de valeurs maximales). Sur l'année, les concentrations en nitrates sont supérieures au seuil de 30,1 mg/L, correspondant à une mauvaise classe de qualité écologique (Ministère de la transition écologique et solidaire, 2019) (C. Chaumont, non publié). La diminution moyenne des concentrations due aux capacités épuratoires de la ZTHA est d'environ 37 % selon les propriétés des différentes molécules des pesticides (50 % sont des herbicides), et d'environ 11 mg/L pour la concentration en nitrates (Letournel, Pages, et al., 2021). Les principaux pesticides retrouvés dans la mare sont les herbicides métamitron, quinclorac, méso-trione, métolachlore, éthofumesate, terbuthylazine, bentazone, isoproturon, nicosulfuron, imazamox, glyphosate et son métabolite AMPA ainsi que l'insecticide thiaméthoxam, le fongicide tébuconazole et le molluscicide métaldéhyde (justifiant en partie le choix des pesticides pour le mélange étudié dans les mésocosmes). La ZTHA a été largement étudiée dans des travaux antérieurs pour évaluer son potentiel à concilier le double enjeu de la qualité de l'eau et de la conservation de la biodiversité dans les paysages agricoles (Bahi, Sauvage, Payraudeau, & Tournebize, 2023; Lebrun et al., 2019; Letournel, Chaumont, et al., 2021; Letournel, Pages, et al., 2021; Mander et al., 2021; Tournebize et al., 2012, 2017). La ZTHA est subdivisée en trois sous-bassins : un bassin de sédimentation d'un mètre de profondeur, un bassin végétalisé intermédiaire de 30 centimètres colonisé par des roseaux (*Phragmites australis*), des joncs (*Juncaceae*) et des carex (*Carex sp.*), et un bassin final d'environ un mètre de profondeur. Des inventaires faunistiques antérieurs et des observations opportunistes ont montré que la ZTHA avait le potentiel d'abriter un niveau notable de biodiversité (Letournel, Pages, et al., 2021).

Tout d'abord, pour étudier les synchronismes entre la dynamique des communautés d'amphibiens, et donc les périodes de vulnérabilité de la communauté d'amphibiens, et la dynamique agrochimique, ainsi que la diversité de cette communauté, nous avons réalisé des inventaires faunistiques dans la CWR et dans des étangs de comparaison, entre 2021 et 2022. Nous avons également utilisé des références naturalistes (i.e. des guides herpétologiques) pour reconstruire la phénologie des espèces présentes dans la ZTHA, et des données de flux agrochimiques en continu pour étudier spécifiquement les synchronismes entre la communauté d'amphibiens et les produits agrochimiques. Deuxièmement, pour étudier les effets des pesticides sur les activités enzymatiques et l'état corporel du crapaud commun (*B. bufo*) et de la grenouille verte (*Pelophylax sp.*), nous avons utilisé une approche non-invasive, l'écouvillonnage buccal, pour collecter la salive des espèces étudiées et effectuer des mesures morphométriques, incluant

notamment des mesures de la longueur totale et du poids. Les enzymes étudiées chez le crapaud commun et la grenouille verte étaient l'acétylcholinestérase, intervenant dans la neurotransmission, la β -galactosidase et la β -glucosidase, intervenant dans la nutrition, la glutathion S-transférase, intervenant dans la détoxification de l'organisme, les phosphatases acide et alcaline, et les peroxidases, impliquées dans l'immunité non-spécifique et étudiés en tant que biomarqueurs d'exposition. Pour cette étude, la méthode utilisée pour l'analyse statistique a été celle des modèles additifs généralisés (GAM) afin d'évaluer les relations entre les traits biologiques étudiés et les pressions exercées par les pesticides, en raison des relations non linéaires attendues entre ces deux groupes de variables. Troisièmement, pour étudier les effets du mélange de pesticides (aclonifen, bentazone, chloridazon, S-métolachlore, glyphosate, chlorotoluron, métazachlore, boscalid, époxiconazole et tebuconazole, total de 64,5 $\mu\text{g/L}$), formé en laboratoire, sur *G. fossarum*, nous avons utilisé des mésocosmes extérieurs implantés directement dans la ZTHA, pour étudier les réponses biologiques de *G. fossarum* dans des conditions semi-réalistes (c'est-à-dire, en intégrant les conditions climatiques locales de la ZTHA dans la compréhension des réponses étudiées, en particulier). Dans les mésocosmes, le mélange a été ajouté, une seule fois, et sa toxicité a été suivie dans le temps grâce à une méthodologie de biosurveillance active. Nous avons effectué 4 séries d'exposition, d'une semaine chacune, dans les mésocosmes. Les gammares ont été mis en cage pendant une semaine dans des microcosmes, au sein des mésocosmes, avec un renouvellement de la population après chaque semaine. Nous avons étudié leurs réponses enzymatiques et leurs réponses comportementales, incluant le taux de survie, l'activité locomotrice et reproductive, ainsi que le taux d'alimentation. Nous avons utilisé des régressions linéaires simples pour étudier les relations entre les traits biologiques mesurés chez *G. fossarum* (activités enzymatiques, traits comportementaux), et les pressions de pesticides, ainsi qu'entre les traits biologiques et les facteurs confondants naturels (température, nitrite, etc.). Enfin, pour étudier les effets des flux agrochimiques sur la structure et le fonctionnement de la communauté de macroinvertébrés benthiques, une étude spécifique a été développée pour suivre les réponses structurelles et fonctionnelles de la communauté, telles que plusieurs indices de diversité et de sensibilité, et la dégradation de la litière. Nous avons utilisé des sacs à litière pour réaliser des inventaires faunistiques et déterminer le taux de décomposition de la litière en fonction des niveaux d'exposition aux produits agrochimiques, sur 4 mois de mesures, avec des sessions de mesures espacées de 15 jours. Pour tester statistiquement les effets des pressions exercées par les pesticides sur la communauté de macroinvertébrés benthiques et leurs réponses fonctionnelles, nous avons utilisé des modèles linéaires généralisés (GLM).

Dans le cadre de cette thèse, un total de 10 mares a été sélectionné et étudié, dont la ZTHA, et 9 mares de comparaison, toutes situées en Ile-de-France. L'étude de ces mares avait pour but d'apporter un certain recul sur les différents résultats obtenus pour la ZTHA et d'obtenir des gradients croisés de pressions chimiques et de propriétés physicochimiques. Elles ont été sélectionnées sur la base de la consultation de données naturalistes, et sur la base de prospections de terrain, afin de s'assurer de la présence d'amphibiens notamment.

3. Résultats et discussion

Premièrement, l'évaluation du risque pour l'intégrité de la communauté d'amphibiens vivant dans la ZTHA, en lien avec les dynamiques de flux de pesticides et nitrates, a permis de mettre en évidence des synchronismes entre les dynamiques temporelles des niveaux de contamination dans la ZTHA avec les périodes où la communauté d'amphibiens est la plus vulnérable. Sur 10 ans de suivi de la qualité chimique de l'eau au sein de la ZTHA de Rampillon, nous avons déterminé qu'en moyenne les flux de pesticides et de nitrates s'élevaient respectivement à 1 µg/L et 55-60 mg/L au cours de l'année, avec des pics de concentrations d'environ 10 µg/L pour les pesticides, et de plus de 100 mg/L pour les nitrates durant les mois de mai et juin (**Figure 2**). Plus précisément, au sein de la ZTHA de Rampillon, les périodes où les plus fortes concentrations en pesticides et nitrate sont mesurées correspondent également aux périodes (i) où le plus d'espèces d'amphibiens sont présentes simultanément dans l'eau, (ii) à fort enjeu écologique, c'est-à-dire les périodes où les amphibiens se reproduisent, où les juvéniles se développent, correspondant donc au moment où les jeunes amphibiens sont le plus à même d'être sujet aux propriétés que certains pesticides empruntent aux perturbateurs endocriniens, etc. Ces synchronismes temporels entre les périodes de vulnérabilité de la communauté d'amphibiens et les dynamiques des flux de pesticides et nitrates dans la ZTHA, en lien avec les pratiques agricoles saisonnières sur le bassin versant, sont à l'origine d'un risque écologique marqué pour la communauté d'amphibiens, particulièrement aux mois de mai et juin, où les transferts des fongicides du sol vers l'hydrosphère interviennent majoritairement couplés à ceux d'herbicides due à des pluies printanières.

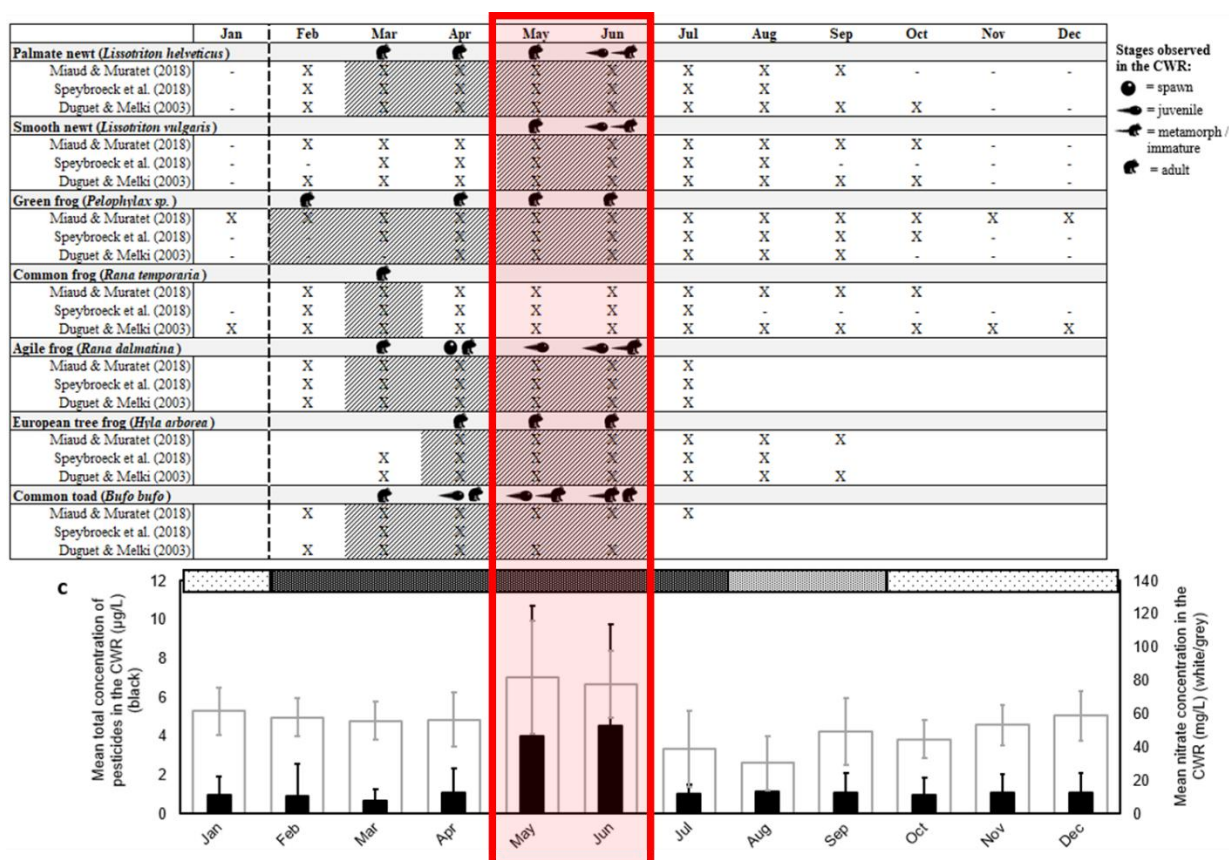


Figure 2. Synchronismes entre flux de pesticides et nitrates et présence des amphibiens dans la ZTHA de Rampillon (Thèse A. Michel)

Dans un second temps, des modifications significatives des niveaux d'activités enzymatiques mesurées chez les crapaud commun et la grenouille verte ont été identifiées, en lien avec la contamination en pesticides, dans le cadre du suivi basé sur le recueil de salive par écouvillonnage buccal, en prenant en considération l'ensemble des sites étudiés (incluant la ZTHA et les 5 mares de comparaison étudiées spécifiquement pour cet axe de recherche, avec un gradient de contamination compris entre 0 et environ 40 µg/L de pesticides en fonction des mares considérées). Cela signifie que les enzymes étudiées sont influencées par les pesticides en milieu naturel chez les amphibiens. De plus, puisqu'il a été possible de réaliser deux sessions d'échantillonnage distinctes séparées d'un mois (l'une fin mai, et l'autre fin juin) et hétérogènes en termes de niveaux de contamination en pesticides pour la Grenouille verte au sein même de la ZTHA, des effets directs de la dynamique temporelle des flux de pesticides dans la ZTHA ont été mis en évidence sur les enzymes étudiées chez cette espèce. Plus précisément, des effets significatifs des pesticides ont été mis en évidence sur l'acétylcholinestérase, la β -galactosidase, la β -glucosidase, la glutathione S-transférase, et les peroxydases, pouvant se répercuter sur certains traits individuels (cf. exemples de l'acétylcholinestérase et de la peroxydase en **Figure 3**). Concernant la condition corporelle des amphibiens, approximation de leur état de santé global, aucune différence significative n'a été observée entre les différentes mares, quel que soit leur niveau de contamination. Paradoxalement, cela ne signifie pas que les pesticides n'ont aucun effet sur ce trait. En effet, beaucoup de facteurs environnementaux et intrinsèques aux individus étudiés (génétique) sont en mesure d'influencer la condition corporelle des amphibiens, et peuvent masquer des effets des pesticides. Des investigations plus poussées sont requises pour aller plus loin dans cette analyse. Cet axe souligne le caractère précoce des réponses enzymatiques, i.e., les enzymes sont des indicateurs très réactifs aux changements des conditions de l'environnement (ici, en lien avec la contamination en pesticides en particulier). Cela démontre également que certaines fonctions enzymatiques, chez les amphibiens, peuvent être perturbées par les dynamiques de flux de pesticides, en lien avec la temporalité des pratiques agricoles et de l'hydrologie du bassin versant, avec de possibles répercussions sur l'état de santé global des organismes aquatiques.

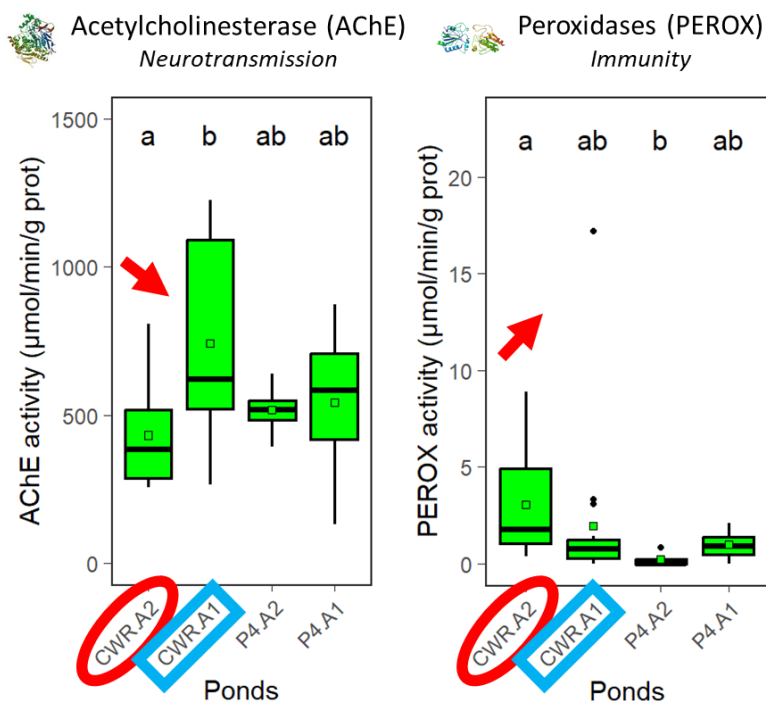


Figure 3. Diminution de l'activité acétylcholinestérase et augmentation de la peroxydase dans la salive de la grenouille verte en période de pics de contaminations de la ZTHA de Rampillon en pesticides en juin 2023 (CWR_A1), comparé au mois de mai avec des niveaux de pesticides moins élevés (CWR_A2) ou à des mares de comparaisons (P4_A1 et PA_A2). (extrait de la Thèse d'A. Michel)

Troisièmement, nous avons pu montrer que l'exposition au cocktail de pesticides en mésocosmes extérieurs est responsable de modifications comportementales et biochimiques chez le gammare. En effet, le cocktail de pesticides étudié a entraîné, chez le gammare, une augmentation du taux d'amplexus (*i.e.* *l'accouplement, première étape dans la cycle de reproduction du gammare*) et de l'activité locomotrice (*i.e.*, *la quantité de déplacement du gammare par unité de temps*). Ces deux effets comportementaux peuvent correspondre à une réponse au stress induit par le cocktail de pesticides utilisé : l'augmentation du taux de reproduction peut correspondre à une stratégie visant à prévenir les effets létaux du cocktail, délétères pour la survie de la population (plus se reproduire a pour conséquence d'endiguer le déclin de la population), tandis que l'augmentation de l'activité locomotrice peut correspondre à une stratégie d'évitement de la pression chimique. Des effets significatifs ont été détectés également au niveau biochimique (*i.e.*, au niveau des enzymes). Par exemple, l'enzyme chitobiase, qui intervient dans la mue chez les crustacés et les insectes notamment, est partiellement inhibée par le cocktail de pesticides. Étant donné que la mue permet au gammare de croître, l'inhibition de la chitobiase par les pesticides dans le milieu naturel est susceptible de perturber leur croissance, et donc de perturber la dynamique et la structure de la population autochtone.

Quatrièmement, le suivi basé sur l'utilisation des sacs à litière démontre les effets néfastes que peuvent avoir les flux de contaminants d'origine agricole sur les communautés de macroinvertébrés dans les ZTHA. Des effets négatifs significatifs des flux de pesticides dans la ZTHA ont effectivement pu être mis en évidence dans la structure de la communauté de macroinvertébrés benthiques autochtones, avec notamment une baisse de diversité de la communauté, et avec la mise en évidence de la présence d'espèces plus tolérantes aux pressions chimiques (Michel et al, 2025 doi : 10.1007/s11356-024-35722-4). Ces résultats tendent à démontrer l'existence d'une trajectoire écologique spécifique de la communauté de macroinvertébrés benthiques dû à la présence de contaminants. De plus, un effet négatif sur la fonction écologique étudiée et associée aux invertébrés aquatiques, la dégradation de la litière, souligne le risque que représente la vie en ZTHA agricole. En combinaison avec les nitrates, les pesticides peuvent avoir des effets déstructurant forts sur les communautés d'invertébrés aquatiques, et être responsables d'une augmentation de la proportion d'espèces tolérantes, réduisant ainsi la diversité de l'écosystème.

L'ensemble de ces résultats tendent à montrer que la ZTHA de Rampillon agit comme un piège écologique pour la faune aquatique. Ce milieu artificiel est effectivement une infrastructure intéressante et attractive pour les amphibiens et les invertébrés aquatiques, qui y trouvent des ressources en abondance (nourriture, habitats, stabilité), et où ils peuvent se reproduire. Cependant, en contrepartie, la ZTHA de Rampillon, en tant que milieu intercepteur de pesticides et nitrates, a le potentiel de générer des effets néfastes sur ces organismes. Le projet présenté ici met en lumière le risque notable auquel fait face la communauté d'amphibiens, en lien avec ses périodes de vulnérabilité et les dynamiques de flux de pesticides et nitrates dans la ZTHA. De plus, des effets négatifs des pesticides ont été identifiés chez les amphibiens et les macroinvertébrés benthiques, du niveau cellulaire (enzymes), jusqu'à la l'écosystème (dégradation de la litière, en tant que fonction écologique). D'ailleurs, certains macroinvertébrés, dont les crustacés, ont une vie aquatique permanente et sont donc soumis à une pression diffuse et continue. Il est cependant important de notifier que la ZTHA de Rampillon, malgré son rôle de piège écologique, agit comme un support de biodiversité ; de nombreuses espèces, sans la ZTHA, ne

seraient pas présentes dans le bassin versant. Ce projet met ainsi en évidence toute la complexité de la question du potentiel des ZTHA agricoles à concilier à la fois les enjeux de protection et de préservation de la qualité de l'eau et les enjeux de conservation de la biodiversité en paysage agricole.

4. Conclusion

Dans un contexte où la biodiversité est soumise à la pression de l'intensification de l'agriculture et des produits agrochimiques, et où la conservation de la faune aquatique est une forte problématique dans les paysages agricoles, cette thèse visait à déterminer le potentiel d'une zone tampon humide artificielle agricole française à agir comme un piège écologique pour les amphibiens et les invertébrés aquatiques autochtones, grâce à une approche de biosurveillance multi-sites, multi-taxons, multi-niveaux et multi-réponses. Dans l'ensemble, nous avons montré que le potentiel de la ZTHA à agir comme un piège écologique pour la faune aquatique était notable. Cependant, la complexité des modèles d'étude dans des conditions non contrôlées à différents niveaux d'organisation nous empêche de tirer des conclusions définitives sur le statut de la ZTHA. Néanmoins, pour l'instant, étant donné les preuves de synchronismes entre les périodes de vulnérabilité des communautés d'amphibiens et la dynamique des flux agrochimiques dans la ZTHA, des effets des pesticides (et parfois des nitrates) sur les traits subcellulaires, individuels et écologiques de la faune aquatique, nous proposons de définir la ZTHA comme un piège écologique pour la faune aquatique. Des investigations complémentaires, à tous les niveaux d'organisation biologique, sur l'état de santé des individus et plus largement sur l'état de santé de l'écosystème, permettront d'affiner et de préciser les résultats de cette thèse. L'approche holistique employée dans cette thèse nous a néanmoins permis d'aborder cette question et d'apporter de nouvelles perspectives concernant les effets *in situ* des produits agrochimiques sur la faune aquatique au sein des paysages agricoles. Étant donné le rôle potentiel des zones tampons humides artificielles agricoles dans la contribution à la trame verte et bleue dans les paysages agricoles, généralement très fragmentés, l'étude plus détaillée de leur potentiel à agir comme des pièges écologiques pourrait permettre de prévenir et de limiter autant que possible les effets négatifs potentiels qu'elles pourraient avoir sur la faune aquatique, tout en améliorant la connectivité du paysage. Cela contribuerait à maintenir la biodiversité dans les paysages agricoles. En ce sens, une meilleure compréhension du rôle joué par les zones humides artificielles dans les paysages agricoles et la promotion d'actions en faveur de la remédiation des pollutions chimiques et de la préservation de la faune aquatique peuvent agir comme un levier important pour le bien des sociétés humaines, de l'environnement et de la biodiversité. Enfin, ce travail souligne l'importance de rigoureusement limiter et raffiner l'utilisation des produits chimiques d'origine agricole pour préserver les écosystèmes.

5. Références

- Adams, E., Leeb, C., Roodt, A. P., & Brühl, C. A. (2021). Interspecific sensitivity of European amphibians towards two pesticides and comparison to standard test species. *Environmental Sciences Europe*, 33(1), Article 1. <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00491-1>
- Agostini, M. G., Roesler, I., Bonetto, C., Ronco, A. E., & Bilenca, D. (2020). Pesticides in the real world : The consequences of GMO-based intensive agriculture on native amphibians. *Biological Conservation*, 241, 108355. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.108355>

- Alford, R. A., & Richards, S. J. (1999). Global amphibian declines : A problem in applied ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 30(1), 133-165. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.30.1.133>
- Arntzen, J. W., Abrahams, C., Meilink, W. R. M., Iosif, R., & Zuiderwijk, A. (2017). Amphibian decline, pond loss and reduced population connectivity under agricultural intensification over a 38 year period. *Biodiversity and Conservation*, 26(6), 1411-1430. <https://doi.org/10.1007/s10531-017-1307-y>
- Ashauer, R., Boxall, A., & Brown, C. (2006). Predicting effects on aquatic organisms from fluctuating or pulsed exposure to pesticides. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(7), 1899-1912. <https://doi.org/10.1897/05-393r.1>
- Auber, A., Roucaute, M., Togola, A., & Caquet, T. (2011). Structural and functional effects of conventional and low pesticide input crop-protection programs on benthic macroinvertebrate communities in outdoor pond mesocosms. *Ecotoxicology*, 20(8), 2042-2055. <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0747-5>
- Awkerman, J. A., Purucker, S. T., Raimondo, S., & Oliver, L. (2024). Long-term, landscape-level assessment of aquatic pesticide exposure to identify amphibian ontological traits affecting vulnerability. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 20(5), 1667-1676. <https://doi.org/10.1002/ieam.4924>
- Bahi, A., Sauvage, S., Payraudeau, S., Imfeld, G., Sánchez-Pérez, J.-M., Chaumet, B., & Tournebize, J. (2023). Process formulations and controlling factors of pesticide dissipation in artificial ponds : A critical review. *Ecological Engineering*, 186, 106820. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2022.106820>
- Bahi, A., Sauvage, S., Payraudeau, S., & Tournebize, J. (2023). PESTIPOND : A descriptive model of pesticide fate in artificial ponds: II. Model application and evaluation. *Ecological Modelling*, 484, 110472. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2023.110472>
- Baker, J. M. R., & Halliday, T. R. (1999). Amphibian colonization of new ponds in an agricultural landscape. *Herpetologica Journal*, 9, 55-63.
- Banerjee, P., Garai, P., Saha, N. C., Saha, S., Sharma, P., & Maiti, A. K. (2023). A critical review on the effect of nitrate pollution in aquatic invertebrates and fish. *Water, Air, & Soil Pollution*, 234(6), 333. <https://doi.org/10.1007/s11270-023-06260-5>
- Beketov, M. A., Kefford, B. J., Schafer, R. B., & Liess, M. (2013). Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(27), 11039-11043. <https://doi.org/10.1073/pnas.1305618110>
- Bishop, C. A., Mahony, N. A., Struger, J., Ng, P., & Pettit, K. E. (1999). *Anuran development, density and diversity in relation to agricultural activity in the holland river watershed, ontario, canada (1990–1992)*. 23.
- Blann, K. L., Anderson, J. L., Sands, G. R., & Vondracek, B. (2009). Effects of agricultural drainage on aquatic ecosystems : A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39(11), 909-1001. <https://doi.org/10.1080/10643380801977966>
- Bonfanti, P., Colombo, A., Orsi, F., Nizzetto, I., Andrioletti, M., Bacchetta, R., Mantecchia, P., Fascio, U., Vailati, G., & Vismara, C. (2004). Comparative teratogenicity of Chlorpyrifos and Malathion on *Xenopus laevis* development. *Aquatic Toxicology*, 70(3), 189-200. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.09.007>

- Boone, M. D., & James, S. M. (2003). Interactions of an insecticide, herbicide, and natural stressors in amphibian community mesocosms. *Ecological Applications*, 13(3), 829-841.
- Brosed, M., Lamothe, S., & Chauvet, E. (2016). Litter breakdown for ecosystem integrity assessment also applies to streams affected by pesticides. *Hydrobiologia*, 773(1), 87-102. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-2681-2>
- Burdon, F. J., McIntosh, A. R., & Harding, J. S. (2013). Habitat loss drives threshold response of benthic invertebrate communities to deposited sediment in agricultural streams. *Ecological Applications*, 23(5), 1036-1047. <https://doi.org/10.1890/12-1190.1>
- Buss, N., Swierk, L., & Hua, J. (2021). Amphibian breeding phenology influences offspring size and response to a common wetland contaminant. *Frontiers in Zoology*, 18(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s12983-021-00413-0>
- Campbell, B. D., Haro, R. J., & Richardson, W. B. (2009). Effects of agricultural land use on chironomid communities : Comparisons among natural wetlands and farm ponds. *Wetlands*, 29(3), 1070-1080. <https://doi.org/10.1672/08-141.1>
- Cereghino, R., Ruggiero, A., Marty, P., & Angelibert, S. (2008). *Biodiversity and distribution patterns of freshwater invertebrates in farm ponds of a south-western French agricultural landscape*. 9.
- Chaumet, B., Probst, J.-L., Eon, P., Camboulive, T., Riboul, D., Payré-Suc, V., Granouillac, F., & Probst, A. (2021). Role of pond sediments for trapping pesticides in an agricultural catchment (Auradé, sw France) : Distribution and controlling factors. *Water*, 13(13), 1734. <https://doi.org/10.3390/w13131734>
- Chiu, M.-C., Hunt, L., & Resh, V. H. (2016). Response of macroinvertebrate communities to temporal dynamics of pesticide mixtures : A case study from the Sacramento River watershed, California. *Environmental Pollution*, 219, 89-98. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.048>
- Cohen-Shacham, E., Walters, G., Janzen, C., & Maginnis, S. (Éds.). (2016). *Nature-based solutions to address global societal challenges*. IUCN International Union for Conservation of Nature. <https://doi.org/10.2305/IUCN.CH.2016.13.en>
- Collier, K. J., Probert, P. K., & Jeffries, M. (2016). Conservation of aquatic invertebrates : Concerns, challenges and conundrums. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 26(5), 817-837. <https://doi.org/10.1002/aqc.2710>
- Collins, J. P. (2010). Amphibian decline and extinction : What we know and what we need to learn. *Diseases of Aquatic Organisms*, 92(3), 93-99. <https://doi.org/10.3354/dao02307>
- Collins, J. P., & Storfer, A. (2003). Global amphibian declines : Sorting the hypotheses. *Diversity & Distributions*, 9(2), 89-98. <https://doi.org/10.1046/j.1472-4642.2003.00012.x>
- Conley, B. E. (1949). The Pharmacist's Role in the Pesticide Problem. *Journal of the American Pharmaceutical Association (Practical Pharmacy Ed.)*, 10(8), 484-487. [https://doi.org/10.1016/S0095-9561\(16\)31899-0](https://doi.org/10.1016/S0095-9561(16)31899-0)
- Coors, A., Decaestecker, E., Jansen, M., & De Meester, L. (2008). Pesticide exposure strongly enhances parasite virulence in an invertebrate host model. *Oikos*, 117(12), 1840-1846. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2008.17028.x>
- Couleaud, N., Lenseigne, F., & Moreau, G. (2021). *La France et ses territoires* (Insee Références). Institut national de la statistique et des études économiques (Insee). [https://www.insee.fr/fr/statistiques/5039859?sommaire=5040030#:~:text=En%](https://www.insee.fr/fr/statistiques/5039859?sommaire=5040030#:~:text=En%20)

- 20France%2C%20en%202019%2C%20la,cultures%20permanentes%20(figur e%201).
- Curado, N., Hartel, T., & Arntzen, J. W. (2011). Amphibian pond loss as a function of landscape change – A case study over three decades in an agricultural area of northern France. *Biological Conservation*, 144(5), 1610-1618. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2011.02.011>
- Cushman, S. A. (2006). Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians : A review and prospectus. *Biological Conservation*, 128(2), 231-240. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.09.031>
- Czech, H. A., & Parsons, K. C. (2022). *Agricultural Wetlands and Waterbirds : A Review*. 11.
- Damásio, J., Navarro-Ortega, A., Tauler, R., Lacorte, S., Barceló, D., Soares, A. M. V. M., López, M. A., Riva, M. C., & Barata, C. (2010). Identifying major pesticides affecting bivalve species exposed to agricultural pollution using multi-biomarker and multivariate methods. *Ecotoxicology*, 19(6), 1084-1094. <https://doi.org/10.1007/s10646-010-0490-3>
- Datto-Liberato, F. H., Lopez, V. M., Quinaia, T., Do Valle Junior, R. F., Samways, M. J., Juen, L., Valera, C., & Guillermo-Ferreira, R. (2024). Total environment sentinels : Dragonflies as ambivalent/amphibiotic bioindicators of damage to soil and freshwater. *Science of The Total Environment*, 934, 173110. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173110>
- Davidson, C. (2004). Declining downwind : Amphibian population declines in california and historical pesticide use. *Ecological Applications*, 14(6), 1892-1902. <https://doi.org/10.1890/03-5224>
- Davidson, N. C. (2014). How much wetland has the world lost? Long-term and recent trends in global wetland area. *Marine and Freshwater Research*, 65(10), 934. <https://doi.org/10.1071/MF14173>
- Davis, C. A., & Bidwell, J. R. (2008). Response of aquatic invertebrates to vegetation management and agriculture. *Wetlands*, 28(3), 793-805. <https://doi.org/10.1672/07-156.1>
- Demonet, S., Lefèvre-Balleydier, A., Saussure, S., Durand, L., Cipièrre, M., Carpentier, A.-S., & Baudry, J. (2013). *Concilier agricultures et gestion de la biodiversité dynamiques sociales, écologiques et politiques*. Ed. Quae.
- DeWitt, J. B. (1956). Pesticide Toxicity, Chronic Toxicity to Quail and Pheasants of Some Chlorinated Insecticides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 4(10), 863-866. <https://doi.org/10.1021/jf60068a004>
- Dirzo, R., Young, H. S., Galetti, M., Ceballos, G., Isaac, N. J. B., & Collen, B. (2014). Defaunation in the Anthropocene. *Science*, 345(6195), 401-406. <https://doi.org/10.1126/science.1251817>
- Duchet, C., Moraru, G. M., Spencer, M., Saurav, K., Bertrand, C., Fayolle, S., Gershberg Hayoon, A., Shapir, R., Steindler, L., & Blaustein, L. (2018). Pesticide-mediated trophic cascade and an ecological trap for mosquitoes. *Ecosphere*, 9(4), e02179. <https://doi.org/10.1002/ecs2.2179>
- Dudley, N., & Alexander, S. (2017). Agriculture and biodiversity : A review. *Biodiversity*, 18(2-3), 45-49. <https://doi.org/10.1080/14888386.2017.1351892>
- EFSA. (2022). *Pesticides*. <https://www.efsa.europa.eu/fr/topics/topic/pesticides>
- EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR), Ockleford, C., Adriaanse, P., Berny, P., Brock, T., Duquesne, S., Grilli, S., Hernandez-Jerez, A. F., Bennekou, S. H., Klein, M., Kuhl, T., Laskowski, R., Machera, K., Pelkonen, O., Pieper, S., Stemmer, M., Sundh, I., Teodorovic, I., Tiktak, A., ...

- Smith, R. H. (2018). Scientific Opinion on the state of the science on pesticide risk assessment for amphibians and reptiles. *EFSA Journal*, 16(2). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5125>
- Escher, A., & Marchant, R. (2019). *Atlas des vertébrés : De leurs origines à nos jours* (2e édition revue et augmentée). LEP Editions Loisirs et Pédagogie SA.
- Euliss, N. H., & Mushet, D. M. (1999). Influence of agriculture on aquatic invertebrate communities of temporary wetlands in the Prairie Pothole Region of North Dakota, USA. *Wetlands*, 19(3), 578-583. <https://doi.org/10.1007/BF03161695>
- Eurostat. (2021, juillet 23). *Archive:Exploitations agricoles et terres agricoles dans l'Union européenne – statistiques* [Institutionnel]. European Commission. https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Archive:Exploitations_agricoles_et_terres_agricoles_dans_l%27Union_europ%C3%A9enne_%E2%80%93_statistiques&oldid=447111#Terres_agricoles_en_2016
- Eurostat. (2022). *Enhancing agricultural biodiversity* [Institutionnel]. European Commission. https://agriculture.ec.europa.eu/sustainability/environmental-sustainability/biodiversity_en
- Ezemonye, L., & Tongo, I. (2010). Sublethal effects of endosulfan and diazinon pesticides on glutathione-S-transferase (GST) in various tissues of adult amphibians (*Bufo regularis*). *Chemosphere*, 81(2), 214-217. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.06.039>
- Fellers, G. M., McConnell, L. L., Pratt, D., & Datta, S. (2004). Pesticides in mountain yellow-legged frogs (*Rana muscosa*) from the sierra nevada mountains of California, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(9), 2170. <https://doi.org/10.1897/03-491>
- Finlayson, C. M., & Spiers, A. G. (Éds.). (1999). *Global review of wetland resources and priorities for wetland inventory*. Supervising Scientist.
- Fluet-Chouinard, E., Stocker, B. D., Zhang, Z., Malhotra, A., Melton, J. R., Poulter, B., Kaplan, J. O., Goldewijk, K. K., Siebert, S., Minayeva, T., Hugelius, G., Joosten, H., Barthelmes, A., Prigent, C., Aires, F., Hoyt, A. M., Davidson, N., Finlayson, C. M., Lehner, B., ... McIntyre, P. B. (2023). Extensive global wetland loss over the past three centuries. *Nature*, 614(7947), 281-286. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05572-6>
- Frank, R., Braun, H. E., Ripley, B. D., & Clegg, B. S. (1990). Contamination of rural ponds with pesticide, 1971–85, Ontario, Canada. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 44(3), 401-409. <https://doi.org/10.1007/BF01701222>
- Gallant, A. L., Klaver, R. W., Casper, G. S., & Lannoo, M. J. (2007). Global rates of habitat loss and implications for amphibian conservation. *Copeia*, 2007(4), 967-979. [https://doi.org/10.1643/0045-8511\(2007\)7\[967:GROHLA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1643/0045-8511(2007)7[967:GROHLA]2.0.CO;2)
- Gao, Y., Qi, S., & Wang, Y. (2022). Nitrate signaling and use efficiency in crops. *Plant Communications*, 3(5), 100353. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2022.100353>
- Geiger, F., Bengtsson, J., Berendse, F., Weisser, W. W., Emmerson, M., Morales, M. B., Ceryngier, P., Liira, J., Tscharnkte, T., Winqvist, C., Eggers, S., Bommarco, R., Pärt, T., Bretagnolle, V., Plantegenest, M., Clement, L. W., Dennis, C., Palmer, C., Oñate, J. J., ... Inchausti, P. (2010). Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland. *Basic and Applied Ecology*, 11(2), 97-105. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2009.12.001>

- Gersberg, R. M., Elkins, B., & Goldman, C. (1983). Nitrogen removal in artificial wetlands. *Water Research*, 17(9), 1009-1014. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(83\)90041-6](https://doi.org/10.1016/0043-1354(83)90041-6)
- Gleason, R. A., Euliss, N. H., Hubbard, D. E., & Duffy, W. G. (2003). Effects of sediment load on emergence of aquatic invertebrates and plants from wetland soil egg and seed banks. *Wetlands*, 23(1), 26-34. [https://doi.org/10.1672/0277-5212\(2003\)023\[0026:EOSLOE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1672/0277-5212(2003)023[0026:EOSLOE]2.0.CO;2)
- Goessens, T., De Baere, S., Deknock, A., De Troyer, N., Van Leeuwenberg, R., Martel, A., Pasmans, F., Goethals, P., Lens, L., Spanoghe, P., Vanhaecke, L., & Croubels, S. (2022). Agricultural contaminants in amphibian breeding ponds : Occurrence, risk and correlation with agricultural land use. *Science of The Total Environment*, 806, 150661. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150661>
- Gregoire, C., Elsaesser, D., Huguenot, D., Lange, J., Lebeau, T., Merli, A., Mose, R., Passeport, E., Payraudeau, S., Schütz, T., Schulz, R., Tapia-Padilla, G., Tournebize, J., Trevisan, M., & Wanko, A. (2009). Mitigation of agricultural nonpoint-source pesticide pollution in artificial wetland ecosystems. *Environmental Chemistry Letters*, 7(3), 205-231. <https://doi.org/10.1007/s10311-008-0167-9>
- Greulich, K., & Pflugmacher, S. (2003). Differences in susceptibility of various life stages of amphibians to pesticide exposure. *Aquatic Toxicology*, 65(3), 329-336. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(03\)00153-X](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(03)00153-X)
- Gross, H., & Charbonnier, E. (2014). *La thématique « biodiversité et agriculture » dans les projets de recherche et développement français* [Expertise]. ACTA, FRB. <https://www.fondationbiodiversite.fr/la-thematique-biodiversite-et-agriculture-dans-les-projets-de-recherche-et-developpement-francais/>
- Hale, R., & Swearer, S. E. (2016). Ecological traps : Current evidence and future directions. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1824), 20152647. <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.2647>
- Hamer, A. J., Makings, J. A., Lane, S. J., & Mahony, M. J. (2004). Amphibian decline and fertilizers used on agricultural land in south-eastern Australia. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 102(3), 299-305. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2003.09.027>
- Hammer, D. A. (1989). *Constructed Wetlands for Wastewater Treatment : Municipal, Industrial, and Agricultural* (D. A. Hammer, Éd.; 1^{re} éd.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003069850>
- Heath, D. J., & Whitehead, A. (1992). A survey of pond loss in Essex, South-east England. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 2(3), 267-273. <https://doi.org/10.1002/aqc.3270020306>
- Herzog, F., Balazs, K., Dennis, P., Friedel, J., Geijzenborffer, I., Jeanneret, P., Kainz, M., & Pointereau, P. (Éds.). (2012). *Biodiversity indicators for European farming systems*. ART.
- Hill, M. J., Chadd, R. P., Morris, N., Swaine, J. D., & Wood, P. J. (2016). Aquatic macroinvertebrate biodiversity associated with artificial agricultural drainage ditches. *Hydrobiologia*, 776(1), 249-260. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-2757-z>
- Hocking, D. J., & Babbitt, K. J. (2014). Amphibian contributions to ecosystem services. *Herpetological Conservation and Biology*, 9(1), 1-17.
- Houlahan, J. E., & Findlay, C. S. (2003). *The effects of adjacent land use on wetland amphibian species richness and community composition*. 60, 17.

- Huang, A., Roessink, I., Van Den Brink, N. W., & Van Den Brink, P. J. (2022). Size- and sex-related sensitivity differences of aquatic crustaceans to imidacloprid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 242, 113917. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113917>
- HYDE. (2024). Our World in Data. <https://ourworldindata.org/grapher/land-use-over-the-long-term>
- Indermuehle, N., Oertli, B., Biggs, J., Céréghino, R., Grillas, P., Hull, A., Nicolet, P., & Scher, O. (2008). Pond conservation in Europe: The European Pond Conservation Network (EPCN). *SIL Proceedings, 1922-2010*, 30(3), 446-448. <https://doi.org/10.1080/03680770.2008.11902163>
- IPBES. (2019). *Global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services* (Version 1). Zenodo. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.3831673>
- Ippolito, A., Todeschini, R., & Vighi, M. (2012). Sensitivity assessment of freshwater macroinvertebrates to pesticides using biological traits. *Ecotoxicology*, 21(2), 336-352. <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0795-x>
- Isenring, R. (2010). *Pesticides and the loss of biodiversity: How intensive pesticide use affects wildlife populations and species diversity*. <https://www.pan-europe.info/issues/pesticides-and-loss-biodiversity>
- Josende, M. E., Tozetti, A. M., Alalan, M. T., Filho, V. M., da Silva Ximenez, S., da Silva Júnior, F. M. R., & Martins, S. E. (2015). Genotoxic evaluation in two amphibian species from Brazilian subtropical wetlands. *Ecological Indicators*, 49, 83-87. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.10.007>
- Kehoe, L., Romero-Muñoz, A., Polaina, E., Estes, L., Kreft, H., & Kuemmerle, T. (2017). Biodiversity at risk under future cropland expansion and intensification. *Nature Ecology & Evolution*, 1(8), 1129-1135. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0234-3>
- Khajuria, A., & Kanae, S. (2013). Potential and use of nitrate in agricultural purposes. *Journal of Water Resource and Protection*, 05(05), 529-533. <https://doi.org/10.4236/jwarp.2013.55053>
- Knapik, L. F. O., & Ramsdorf, W. (2020). Ecotoxicity of malathion pesticide and its genotoxic effects over the biomarker comet assay in *Daphnia magna*. *Environmental Monitoring and Assessment*, 192(5), 264. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-8235-0>
- Knutson, M. G., Richardson, W. B., Reineke, D. M., Gray, B. R., Parmelee, J. R., & Weick, S. E. (2004). Agricultural ponds support amphibian populations. *Ecological Applications*, 14(3), 669-684. <https://doi.org/10.1890/02-5305>
- Kulkarni, D., Daniels, B., & Preuss, T. G. (2013). Life-stage-dependent sensitivity of the cyclopoid copepod *Mesocyclops leuckarti* to triphenyltin. *Chemosphere*, 92(9), 1145-1153. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.076>
- Langlois, V. S., Carew, A. C., Pauli, B. D., Wade, M. G., Cooke, G. M., & Trudeau, V. L. (2010). Low levels of the herbicide atrazine alter sex ratios and reduce metamorphic success in *Rana pipiens* tadpoles raised in outdoor mesocosms. *Environmental Health Perspectives*, 118(4), 552-557. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901418>
- Le Roux, X., Barbault, R., Baudry, J., Burel, F., Doussan, I., Garnier, E., Herzog, F., Lavorel, S., Lifran, R., Roger-Estrade, J., Sarthou, J.-P., & Trommetter, M. (2012). *Agriculture et biodiversité*. 117.
- Lebrun, J. D., Ayrault, S., Drouet, A., Bordier, L., Fechner, L. C., Uher, E., Chaumont, C., & Tournebise, J. (2019). Ecodynamics and bioavailability of metal

- contaminants in a constructed wetland within an agricultural drained catchment. *Ecological Engineering*, 136, 108-117. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2019.06.012>
- Leenhardt, S., Mamy, L., Pesce, S., Sanchez, W., Achard, A. L., Amichot, M., Artigas, J., Aviron, S., Barthélémy, C., Beaudouin, R., Bedos, C., Bérard, A., Berny, P., Bertrand, C., Bertrand, C., Betoulle, S., Bureau-Point, È., Charles, S., Chaumont, A., ... Tournebize, J. (2022). *Impacts des produits phytopharmaceutiques sur la biodiversité et les services écosystémiques. Rapport de l'expertise scientifique collective*. <https://doi.org/10.17180/OGP2-CD65>
- Letournel, G., Chaumont, C., Lebrun, J. D., Birmant, F., & Tournebize, J. (2021). *Qualité de l'eau et écotoxicologie des zones tampons humides artificielles de Rampillon (Seine-et-Marne)*. <https://doi.org/10.14758/SET-REVUE.2021.CS5.02>
- Letournel, G., Pages, C., Seguin, L., Chaumont, C., & Tournebize, J. (2021). Biodiversité et services écosystémiques des zones tampons humides artificielles de Rampillon (Seine-et-Marne). *Sciences Eaux & Territoires, Cahier spécial N°5*, 9. <https://doi.org/10.14758/set-revue.2021.cs5.03>
- Levy, S. (2015). The ecology of artificial wetlands. *BioScience*, 65(4), 346-352. <https://doi.org/10.1093/biosci/biv022>
- Liu, S., Wang, Y., Zhang, G. J., Wei, L., Wang, B., & Yu, L. (2022). Contrasting influences of biogeophysical and biogeochemical impacts of historical land use on global economic inequality. *Nature Communications*, 13(1), 2479. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-30145-6>
- Luedtke, J. A., Chanson, J., Neam, K., Hobin, L., Maciel, A. O., Catenazzi, A., Borzée, A., Hamidy, A., Aowphol, A., Jean, A., Sosa-Bartuano, Á., Fong G., A., De Silva, A., Fouquet, A., Angulo, A., Kidov, A. A., Muñoz Saravia, A., Diesmos, A. C., Tominaga, A., ... Stuart, S. N. (2023). Ongoing declines for the world's amphibians in the face of emerging threats. *Nature*, 622(7982), 308-314. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06578-4>
- Mander, Ü., Tournebize, J., Espenberg, M., Chaumont, C., Torga, R., Garnier, J., Muhel, M., Maddison, M., Lebrun, J. D., Uher, E., Remm, K., Pärn, J., & Soosaar, K. (2021). High denitrification potential but low nitrous oxide emission in a constructed wetland treating nitrate-polluted agricultural run-off. *Science of The Total Environment*, 779, 146614. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146614>
- Marmonier, P., Maazouzi, C., Foulquier, A., Navel, S., François, C., Hervant, F., Mermillod-Blondin, F., Vieney, A., Barraud, S., Togola, A., & Piscart, C. (2013). The use of crustaceans as sentinel organisms to evaluate groundwater ecological quality. *Ecological Engineering*, 57, 118-132. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.04.009>
- Mason, R. (2013). Immune Suppression by Neonicotinoid Insecticides at the Root of Global Wildlife Declines. *Journal of Environmental Immunology and Toxicology*, 1(1), 3. <https://doi.org/10.7178/jeit.1>
- Matthaei, C. D., Piggott, J. J., & Townsend, C. R. (2010). Multiple stressors in agricultural streams : Interactions among sediment addition, nutrient enrichment and water abstraction: Sediment, nutrients & water abstraction. *Journal of Applied Ecology*, 47(3), 639-649. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2010.01809.x>
- McMahon, T. A., Halstead, N. T., Johnson, S., Raffel, T. R., Romansic, J. M., Crumrine, P. W., & Rohr, J. R. (2012). Fungicide-induced declines of freshwater

- biodiversity modify ecosystem functions and services. *Ecology Letters*, 15(7), 714-722. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2012.01790.x>
- Meite, F., Alvarez-Zaldívar, P., Crochet, A., Wiegert, C., Payraudeau, S., & Imfeld, G. (2018). Impact of rainfall patterns and frequency on the export of pesticides and heavy-metals from agricultural soils. *Science of The Total Environment*, 616-617, 500-509. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.297>
- Miglioranza, K. S. B., Sagrario, M. de los A. G., Aizpún de Moreno, J. E., Moreno, V. J., Escalante, A. H., & Osterrieth, M. L. (2002). Agricultural soil as a potential source of input of organochlorine pesticides into a nearby pond. *Environmental Science and Pollution Research*, 9(4), 250-256. <https://doi.org/10.1007/BF02987499>
- Ministère de la transition écologique et solidaire. (2019). *Guide technique relatif à l'évaluation de l'état des eaux de surface continentales (cours d'eau, canaux, plans d'eau)*. Ministère de la Transition Ecologique et Solidaire.
- MNHN & OFB [Ed]. (2003, 2024). *Biodiversity—Definitions*. National Inventory of Natural Heritage (INPN). <https://inpn.mnhn.fr/informations/biodiversite/definition?lg=en>
- Moore, A. P., & Bringolf, R. B. (2018). Effects of nitrate on freshwater mussel glochidia attachment and metamorphosis success to the juvenile stage. *Environmental Pollution*, 242, 807-813. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.047>
- Murkin, H. R., & Wrubleski, D. A. (1988). Aquatic Invertebrates of Freshwater Wetlands : Function and Ecology. In D. D. Hook, W. H. McKee, H. K. Smith, J. Gregory, V. G. Burrell, M. R. DeVoe, R. E. Sojka, S. Gilbert, R. Banks, L. H. Stolzy, C. Brooks, T. D. Matthews, & T. H. Shear, *The Ecology and Management of Wetlands* (p. 239-249). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-8378-9_20
- Nessel, M. P., Konnovitch, T., Romero, G. Q., & González, A. L. (2021). Nitrogen and phosphorus enrichment cause declines in invertebrate populations : A global meta-analysis. *Biological Reviews*, 96(6), 2617-2637. <https://doi.org/10.1111/brv.12771>
- Nyström, P., Hansson, J., Månsson, J., Sundstedt, M., Reslow, C., & Broström, A. (2007). A documented amphibian decline over 40 years : Possible causes and implications for species recovery. *Biological Conservation*, 138(3-4), 399-411. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.05.007>
- Oertli, B., Indermuehle, N., Angélibert, S., Hinden, H., & Stoll, A. (2008). Macroinvertebrate assemblages in 25 high alpine ponds of the Swiss National Park (Cirque of Macun) and relation to environmental variables. *Hydrobiologia*, 597(1), 29-41. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9218-7>
- Ortiz, M. E., Marco, A., Saiz, N., & Lizana, M. (2004). Impact of ammonium nitrate on growth and survival of six European amphibians. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47(2). <https://doi.org/10.1007/s00244-004-2296-x>
- Overton, O. C., Olson, L. H., Majumder, S. D., Shwiyat, H., Foltz, M. E., & Nairn, R. W. (2023). Wetland removal mechanisms for emerging contaminants. *Land*, 12(2), 472. <https://doi.org/10.3390/land12020472>
- Pievani, T. (2014). The sixth mass extinction : Anthropocene and the human impact on biodiversity. *Rendiconti Lincei*, 25(1), 85-93. <https://doi.org/10.1007/s12210-013-0258-9>
- Piha, H. (2006). *Impacts of agriculture on amphibians at multiple scales*. Henna Piha.

- Prather, C. M., Pelini, S. L., Laws, A., Rivest, E., Woltz, M., Bloch, C. P., Del Toro, I., Ho, C.-K., Kominoski, J., Newbold, T. A. S., Parsons, S., & Joern, A. (2013). Invertebrates, ecosystem services and climate change: Invertebrates, ecosystems and climate change. *Biological Reviews*, 88(2), 327-348. <https://doi.org/10.1111/brv.12002>
- Relyea, R. A. (2009). A cocktail of contaminants : How mixtures of pesticides at low concentrations affect aquatic communities. *Oecologia*, 159(2), 363-376. <https://doi.org/10.1007/s00442-008-1213-9>
- Ribeiro, J. W., Siqueira, T., Brejão, G. L., & Zipkin, E. F. (2018). Effects of agriculture and topography on tropical amphibian species and communities. *Ecological Applications*, 28(6), 1554-1564. <https://doi.org/10.1002/eap.1741>
- Rollins-Smith, L. A. (2009). The role of amphibian antimicrobial peptides in protection of amphibians from pathogens linked to global amphibian declines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1788(8), 1593-1599. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2009.03.008>
- Roy, D. (2002). Amphibians as environmental sentinels. *Journal of Biosciences*, 27(3), 187-188. <https://doi.org/10.1007/BF02704906>
- Ruggiero, A., Céréghino, R., Figuerola, J., Marty, P., & Angélibert, S. (2008). Farm ponds make a contribution to the biodiversity of aquatic insects in a French agricultural landscape. *Comptes Rendus Biologies*, 331(4), 298-308. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2008.01.009>
- Sánchez-Bayo, F., & Mann, R. M. (2011). *Ecological Impacts of Toxic Chemicals*. Bentham Science Publishers.
- Sánchez-Bayo, F., & Wyckhuys, K. A. G. (2019). Worldwide decline of the entomofauna : A review of its drivers. *Biological Conservation*, 232, 8-27. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.01.020>
- Sarkar, S. (2021). Origin of the Term *Biodiversity*. *BioScience*, 71(9), 893-893. <https://doi.org/10.1093/biosci/biab071>
- Sarrazin, B., Wezel, A., Guerin, M., & Robin, J. (2022). Pesticide contamination of fish ponds in relation to crop area in a mixed farmland-pond landscape (Dombes area, France). *Environmental Science and Pollution Research*, 29(44), 66858-66873. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20492-8>
- Sayer, C. A., Fernando, E., Jimenez, R. R., Macfarlane, N. B. W., Rapacciuolo, G., Böhm, M., Brooks, T. M., Contreras-MacBeath, T., Cox, N. A., Harrison, I., Hoffmann, M., Jenkins, R., Smith, K. G., Vié, J.-C., Abbott, J. C., Allen, D. J., Allen, G. R., Barrios, V., Boudot, J.-P., ... Darwall, W. R. T. (2025). One-quarter of freshwater fauna threatened with extinction. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-08375-z>
- Schäfer, R. B., Caquet, T., Siimes, K., Mueller, R., Lagadic, L., & Liess, M. (2007). Effects of pesticides on community structure and ecosystem functions in agricultural streams of three biogeographical regions in Europe. *Science of The Total Environment*, 382(2-3), 272-285. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.04.040>
- Shutes, R. B. E. (2001). Artificial wetlands and water quality improvement. *Environment International*, 26(5-6), 441-447. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(01\)00025-3](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(01)00025-3)
- Sievers, M., Parris, K. M., Swearer, S. E., & Hale, R. (2018). Stormwater wetlands can function as ecological traps for urban frogs. *Ecological Applications*, 28(4), 1106-1115. <https://doi.org/10.1002/eap.1714>

- Sparling, D. W., Bickham, J., Cowman, D., Fellers, G. M., Lacher, T., Matson, C. W., & McConnell, L. (2015). In situ effects of pesticides on amphibians in the Sierra Nevada. *Ecotoxicology*, 24(2), 262-278. <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1375-7>
- Sparling, D. W., Linder, G., Bishop, C. A., & Krest, S. K. (2010). *Ecotoxicology of amphibians and reptiles* (SETAC (Society), Éd.; 2nd ed). CRC Press/Taylor & Francis ; Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC).
- Stillway, M. E., Hammock, B. G., & Teh, S. J. (2019). Effectiveness of constructed water quality treatment systems for mitigating pesticide runoff and aquatic organism toxicity. In K. S. Goh, J. Gan, D. F. Young, & Y. Luo (Éds.), *ACS Symposium Series* (Vol. 1308, p. 435-449). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/bk-2019-1308.ch022>
- Swingland, I. R. (2013). Biodiversity, Definition of. In *Encyclopedia of Biodiversity* (p. 399-410). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384719-5.00009-5>
- Tang, F. H. M., Lenzen, M., McBratney, A., & Maggi, F. (2021). Risk of pesticide pollution at the global scale. *Nature Geoscience*, 14(4), 206-210. <https://doi.org/10.1038/s41561-021-00712-5>
- Thinzilal, F. (2013). Zones humides infos : Mares et réseaux de mares. *Société nationale de protection de la nature (SNPN)*, 80-81. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/<https://www.snpn.com/wp-content/uploads/2016/08/ZHI-80-81-Mares-et-reseaux-de-mares-v2.pdf>
- Tournebize, J., Chaumont, C., & Mander, Ü. (2017). Implications for constructed wetlands to mitigate nitrate and pesticide pollution in agricultural drained watersheds. *Ecological Engineering*, 103, 415-425. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.02.014>
- Tournebize, J., Gramaglia, C., Birmant, F., Bouarfa, S., Chaumont, C., & Vincent, B. (2012). Co-design of constructed wetlands to mitigate pesticide pollution in a drained catch-basin : A solution to improve groundwater quality: special issue: icid groundwater 2011. *Irrigation and Drainage*, 61, 75-86. <https://doi.org/10.1002/ird.1655>
- Uddin, M. A., Saha, M., Chowdhury, M., & Rahman, M. (2013). Pesticide residues in some selected pond water samples of meherpur region of Bangladesh. *Journal of the Asiatic Society of Bangladesh, Science*, 39(1), 77-82. <https://doi.org/10.3329/jasbs.v39i1.16036>
- van der Sluijs, J. P. (2020). Insect decline, an emerging global environmental risk. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 46, 39-42. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2020.08.012>
- Verbarg, P., Kilham, S. S., Pringle, C. M., Lips, K. R., & Drake, D. L. (2007). A stable isotope study of a neotropical stream food web prior to the extirpation of its large amphibian community. *Journal of Tropical Ecology*, 23(6), 643-651. <https://doi.org/10.1017/S0266467407004518>
- Verdonschot, R. C. M., Keizer-vlek, H. E., & Verdonschot, P. F. M. (2011). Biodiversity value of agricultural drainage ditches : A comparative analysis of the aquatic invertebrate fauna of ditches and small lakes. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 21(7), 715-727. <https://doi.org/10.1002/aqc.1220>
- Vormeier, P., Schreiner, V. C., Liebmann, L., Link, M., Schäfer, R. B., Schneeweiss, A., Weisner, O., & Liess, M. (2023). Temporal scales of pesticide exposure and risks in German small streams. *Science of The Total Environment*, 871, 162105. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162105>

- Vymazal, J., & Březinová, T. (2015). The use of constructed wetlands for removal of pesticides from agricultural runoff and drainage: A review. *Environment International*, 75, 11-20. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.10.026>
- Wake, D. B., & Vredenburg, V. T. (2008). Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(supplement_1), 11466-11473. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801921105>
- Wallace, J. B., & Webster, J. R. (1996). The role of macroinvertebrates in stream ecosystem function. *Annual Review of Entomology*, 41(1), 115-139. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.41.010196.000555>
- Whiles, M. R., Lips, K. R., Pringle, C. M., Kilham, S. S., Bixby, R. J., Brenes, R., Connelly, S., Colon-Gaud, J. C., Hunte-Brown, M., Huryn, A. D., Montgomery, C., & Peterson, S. (2006). The effects of amphibian population declines on the structure and function of Neotropical stream ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 4(1), 27-34. [https://doi.org/10.1890/1540-9295\(2006\)004\[0027:TEOAPD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1540-9295(2006)004[0027:TEOAPD]2.0.CO;2)
- Williams, P., Whitfield, M., Biggs, J., Bray, S., Fox, G., Nicolet, P., & Sear, D. (2004). Comparative biodiversity of rivers, streams, ditches and ponds in an agricultural landscape in Southern England. *Biological Conservation*, 115(2), 329-341. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(03\)00153-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(03)00153-8)
- Wilson, J. K. (1943). Nitrate in plants: Its relation to fertilizer injury, changes during silage making, and indirect toxicity to animals¹. *Agronomy Journal*, 35(4), 279-290. <https://doi.org/10.2134/agronj1943.00021962003500040003x>
- Wood, P. J., Greenwood, M. T., & Agnew, M. D. (2003). Pond biodiversity and habitat loss in the UK. *Area*, 35(2), 206-216. <https://doi.org/10.1111/1475-4762.00249>
- Xiao, H., Jiang, M., Su, R., Luo, Y., Jiang, Y., & Hu, R. (2024). Fertilization intensities at the buffer zones of ponds regulate nitrogen and phosphorus pollution in an agricultural watershed. *Water Research*, 250, 121033. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.121033>
- Yamamuro, M., Komuro, T., Kamiya, H., Kato, T., Hasegawa, H., & Kameda, Y. (2019). Neonicotinoids disrupt aquatic food webs and decrease fishery yields. *Science*, 366(6465), 620-623. <https://doi.org/10.1126/science.aax3442>
- Yang, N., Price, M., Xu, Y., Zhu, Y., Zhong, X., Cheng, Y., & Wang, B. (2023). Assessing global efforts in the selection of vertebrates as umbrella species for conservation. *Biology*, 12(4), 509. <https://doi.org/10.3390/biology12040509>
- Zhang, C., Wen, L., Wang, Y., Liu, C., Zhou, Y., & Lei, G. (2020). Can constructed wetlands be wildlife refuges? A review of their potential biodiversity conservation value. *Sustainability*, 12(4), 1442. <https://doi.org/10.3390/su12041442>

Note importante

*Cette partie peut être rendue sous forme non modifiable (fichier PDF de préférence).
Son format est laissé à la libre appréciation de ses rédacteurs.*

Annexe : textes des publications

*Cette partie peut être rendue sous forme non modifiable (fichier PDF de préférence)
Son format est laissé à la libre appréciation de ses rédacteurs*

- ☐ Publications scientifiques parues
 - Benthic macroinvertebrate diversity and function in an agricultural constructed wetland affected by agrochemical pressure (Seine-et-Marne, France) (Environmental Science and Pollution Research, article de recherche, janvier 2025, <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-024-35722-4>)

- ☐ Publications scientifiques à paraître

- ☐ Publications scientifiques prévues
 - May an agricultural constructed wetland be an ecological trap? Exploring synchronisms between agrochemical fluxes and amphibian dynamics (soumis à Oikos)
 - First in situ application of a non-invasive sampling approach to assess pesticide effects on amphibian enzymatic activities (Soumission proche à Environmental Chemistry and Ecotoxicology, article de recherche)
 - Use of behavioral and biochemical biomarkers to assess the effects of a pesticide mixture on *Gammarus fossarum* in mesocosms implanted in an agricultural constructed wetland (Seine-et-Marne, France) (En preparation pour Environmental Research)

