

Séminaire doctorants ZABR Flux Polluants, Ecotoxicologie, Ecosystèmes (FPEE)

Lundi 2 mars 2015

Graie, Villeurbanne

Séminaire scientifique ZABR
Flux Polluants, Ecotoxicologie, Ecosystèmes (FPEE)

Lundi 2 mars 2015

Lieu : Villeurbanne de 9h30 à 18h30

RAPPEL DES AXES DE LA THEMATIQUE FLUX POLLUANTS, ECOTOXICOLOGIE, ECOSYSTEMES DE LA ZABR

Le thème « Flux polluants, écotoxicologie, écosystèmes » de la ZABR propose sur la période 2014-2018 de travailler sur 4 hypothèses scientifiques qui restent à affiner collectivement :

- Les modalités de transferts des contaminants contrôlent leur devenir et leurs effets dans l'environnement
- La maîtrise des impacts passe par une meilleure connaissance conjointe de la nature des contaminants, et leurs transformations environnementales et de l'écologie des espèces
- Les microorganismes pathogènes peuvent se maintenir ou proliférer dans l'environnement
- Des actions humaines peuvent jouer sur les contaminants et modifier leurs effets

OBJECTIFS DU SEMINAIRE

Permettre aux différents doctorants dont les travaux s'inscrivent dans la thématique FPEE de la ZABR de se rencontrer et d'échanger autour de leurs travaux de recherche. Ce séminaire constitue aussi l'occasion pour la ZABR d'apprécier les avancées scientifiques de la thématique FPEE et ses perspectives au regard des autres dynamiques de la ZABR.

PUBLICS CONVIES :

- L'ensemble des doctorants, et de leurs encadrants, dont les travaux s'inscrivent dans la thématique FFHB de la ZABR.
- Les membres de la Commission de coordination scientifique de la ZABR (Responsables de thèmes, de sites, d'observatoires et membres du conseil de direction de la ZABR)

LISTE DES THESES PRESENTEES

Doctorant(e)	Titre de la thèse présentée
LAMBERT Anne-Sophie <i>IRSTEA UR Milieux Aquatiques, Ecologie et Pollutions</i>	Influence de la température sur la réponse de biofilms microbiens aux pollutions métalliques
MARTIN Alexis <i>IRSTEA LAMA</i>	Développement d'outils simples et innovants pour l'échantillonnage passif des pesticides dans les eaux de surface et de subsurface
PEYRARD Xavier <i>IRSTEA UR MALY, Equipe Polldiff</i>	Evaluation des transferts latéraux de pesticides à faible profondeur dans le sol au sein d'un versant viticole du Beaujolais de coteaux
KECK François <i>INRA</i>	Evaluation des liens entre phylogénie et traits écologiques, piste d'utilisation pour la bioindication des cours d'eau
BERLIOZ BARBIER Alexandra <i>ISA CNRS</i>	Développement de méthodes d'analyse de médicaments et des métabolites de ces médicaments dans les organismes (gastéropodes)
PIGNERET Mathilde <i>UMR 5023 LEHNA Equipe Ecologie, Evolution, Ecosystèmes Souterrains</i>	Réponses physiologiques à une pollution d'origine anthropique chez des organismes sentinelles et conséquences sur la qualité de l'eau des nappes phréatiques
VOISIN Jérémy <i>CNRS UMR 5023 LEHNA</i>	Diversité microbienne dans les nappes phréatiques : influence de la connectivité hydrologique sur le transfert et le développement de bactéries pathogènes pour l'Homme
GATEL Laura <i>IRSTEA Pollutions Agricoles Diffuses</i>	Modélisation couplée surface/subsurface du transfert de pesticides. Analyse de sensibilité à différentes échelles
HUG PETER Dorothea <i>Université de Genève - Institut Forel</i>	Trace metals and aquatic invertebrates in a floodplain: from chemical speciation to community composition
MARCAIS Johanna <i>Université de Savoie- Mont-Blanc, LCME</i>	Transferts des polluants organiques persistants de l'atmosphère aux milieux aquatiques de montagne
POUZOL Tanguy <i>INSA Lyon LGCIE DEEP</i>	Métriologie et modélisation des flux de micro-polluants d'un bassin urbain et hospitalier (médicaments)
ORIAS Frédéric <i>ENTPE - Université de Lyon LEHNA</i>	Contribution à l'évaluation des risques écotoxicologiques liés aux rejets d'effluents hospitaliers dans les milieux aquatiques: bioconcentration, bioaccumulation et bioamplification des résidus pharmaceutiques
GOSSET Antoine <i>CNRS UMR 5023 LEHNA – ENTPE Equipe IPE</i>	Développement d'un dispositif de détection précoce des polluants chimiques in situ dans les milieux aquatiques urbains

Influence de la température sur la réponse de biofilms microbiens aux pollutions métalliques

Anne-Sophie LAMBERT, IRSTEA UR Milieux Aquatiques, Ecologie et
Pollutions

Réponse de biofilms microbiens aux pollutions métalliques dans un contexte de changement global: Influence de la température

Anne-Sophie Lambert
(3^{ème} année de thèse)

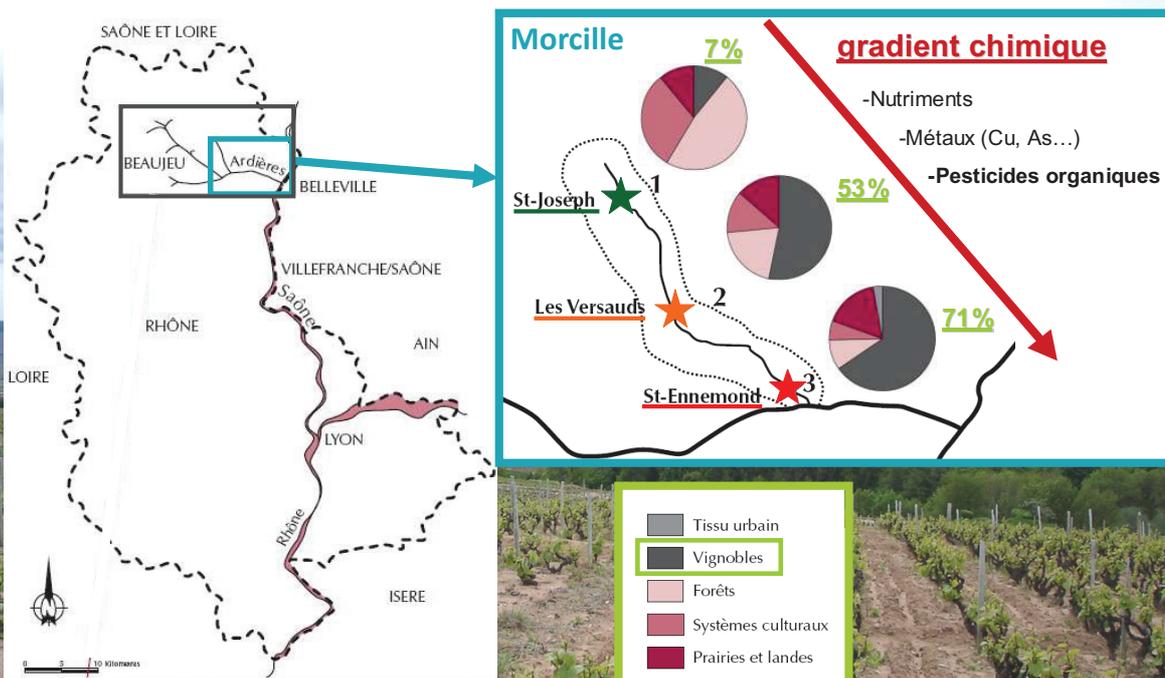


Irstea
Centre de Lyon-Villeurbanne
UR Milieux Aquatiques, Écologie et Pollutions

Encadrement:

Stéphane Pesce – Equipe Ecologie microbienne des hydrostèmes anthropisés (EMHA)
Aymeric Dabrin et Marina Coquery – Laboratoire de chimie des milieux aquatiques (LAMA)

Equipe EMHA : Un site atelier majeur → le site Ardières-Morcille (Haut-Beaujolais)



Crédit photo: B. Morthe

Equipe EMHA : Un site atelier majeur → le site Ardières-Morcille (Haut-Beaujolais)

► **Evaluer l'impact des toxiques (métaux et pesticides) sur les communautés microbiennes de la Morcille (biofilms périphytiques, sédiments, litières végétales)**

Thèses: Aurélie Villeneuve (2005-2008; B. Montuelle et A. Bouchez)
Ahmed Tlili (2007-2010; B. Montuelle et A. Bérard)

Post-docs: Ursula Dorigo (2005-2007; B. Montuelle et A. Bérard)
Stéphane Pesce (2007-2009; B. Montuelle)
Joan Artigas (2010-2012; S. Pesce)



Impact structurel et fonctionnel
Processus adaptatifs
Facteurs confondants...

Hydrobiologia (2010) 657:123–141
DOI 10.1007/s10750-010-0105-2

Author's personal copy

GLOBAL CHANGE AND RIVER ECOSYSTEMS

The periphyton as a multimetric bioindicator for assessing the impact of land use on rivers: an overview of the Ardières-Morcille experimental watershed (France)

B. Montuelle · U. Dorigo · A. Bérard ·
B. Volat · A. Bouchez · A. Tlili · V. Gouy ·
S. Pesce

Crédit photo: B. Morthe



Rapport IFRES (Initiative française pour la recherche en environnement santé)
Feuille de route pour la Transition Ecologique

2. **Intégrer l'ensemble des expositions.** L'objectif est de passer d'une approche fragmentée par contaminant et par stress à une **approche intégrée** de l'ensemble des expositions et des stress. Cela implique d'aborder progressivement l'exposome et les effets multistress sur les écosystèmes et sur les populations humaines.



Une hausse thermique peut-elle modifier la réponse de communautés microbiennes de biofilms au cuivre ?

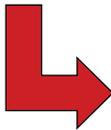


Petits cours d'eau en zone agricole

→ forte exposition aux pesticides organiques et inorganiques



Zone viticoles → nombreux cas de pollution au **cuivre**
(autorisé en agriculture biologique)



Impact écotoxicologique sur les communautés microbiennes (biofilms)

Effets sur les communautés microbiennes

- Impact structurel

(biomasse, distribution des classes algales, structure des communautés...)

- Impact fonctionnel

(potentiel photosynthétique, respiration, activités enzymatiques...)

- Augmentation de la tolérance (PICT)



Expérience 1: effets combinés Cu/T° sur des communautés hivernales de la Morcille

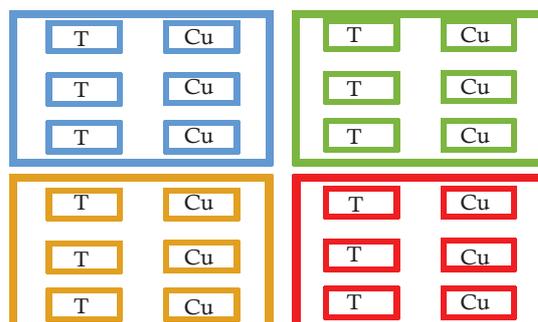
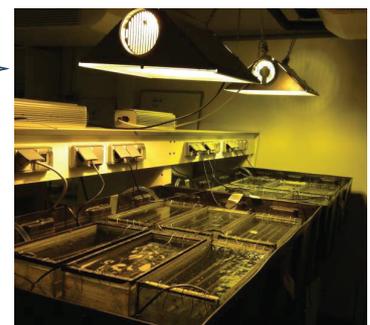


Communautés naturelles
(hiver; 8°C)

6 semaines

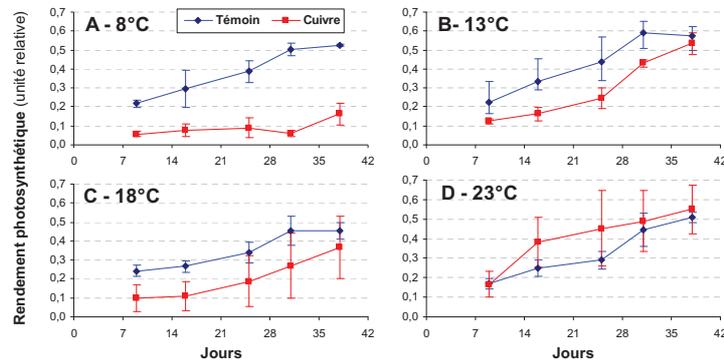
Avec ou sans Cuivre (~15 µg/L)

4 conditions thermiques
(8°C / 13°C / 18°C / 23°C)



Effets du cuivre sur les communautés phototrophes (microalgues et cyanobactéries)

exemple: impact fonctionnel



Température du milieu (8°C)

Hausse thermique (+5 à +15°C)

fonction

↘ potentiel photosynthétique

réduction de l'impact

structure

↘ biomasse algale
↘ diatomées ↗ algues vertes
≠ composition diatomique

réduction de l'impact

Effets du cuivre sur les communautés phototrophes (microalgues et cyanobactéries)

H1: si température ↗, sensibilité des communautés ↘

et/ou

H2: si température ↗, exposition des communautés au Cu ↘

Température du milieu (8°C)

Hausse thermique (+5 à +15°C)

fonction

↘ potentiel photosynthétique

structure

↘ biomasse algale
↘ diatomées ↗ algues vertes
≠ composition diatomique

Effets transitoires

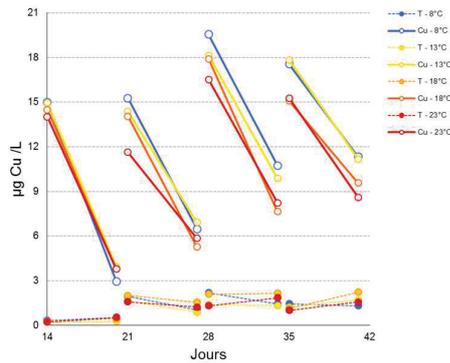
ou

non significatifs

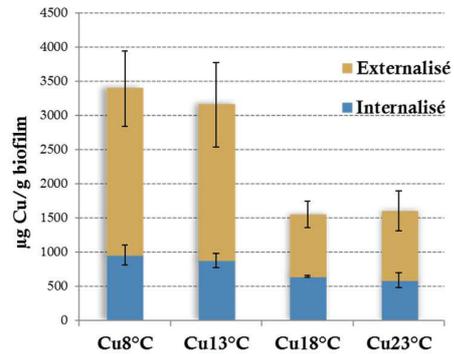
Effets du cuivre sur les communautés phototrophes (microalgues et cyanobactéries)

H2: si température ↗, exposition des communautés au Cu ↘

concentrations en cuivre dissous



Cu bioaccumulé

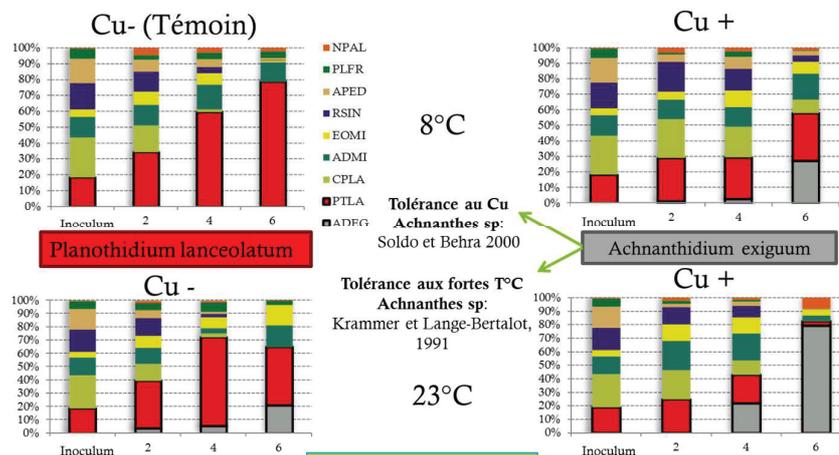


Effets du cuivre sur les communautés phototrophes (microalgues et cyanobactéries)

H1: si température ↗, sensibilité des communautés ↘

Structure des communautés diatomiques

durant toute l'expérience (8°C et 23°C)



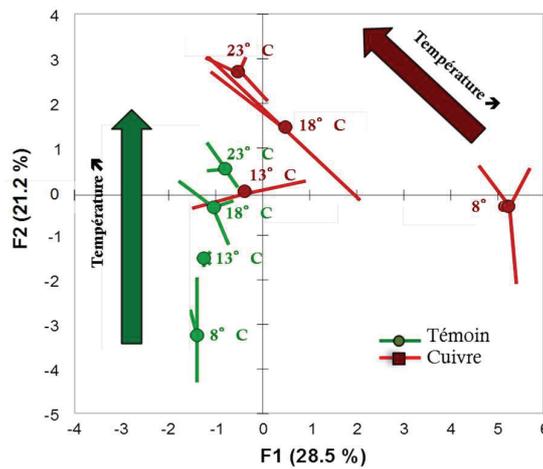
Cotolérance ?

Effets du cuivre sur les communautés phototrophes (microalgues et cyanobactéries)

H1: si température ↗, sensibilité des communautés ↘

Structure des communautés diatomiques

en fin de suivi



Effets du cuivre sur les communautés phototrophes (microalgues et cyanobactéries)

H1: si température ↗, sensibilité des communautés ↘

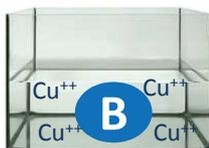
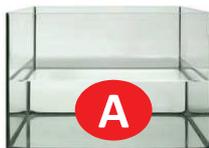
Evaluation des niveaux de tolérance au cuivre

approche PICT: pollution-induced community tolerance

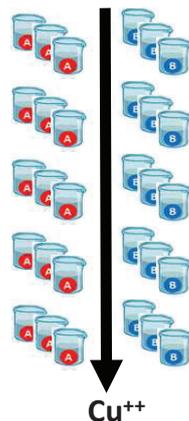
Température

?

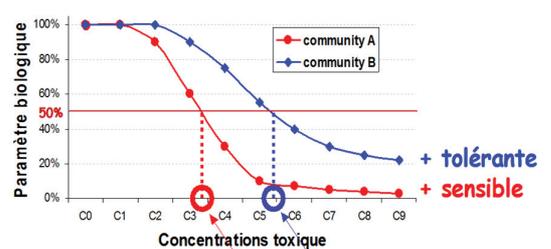
Exposition chronique



Test de toxicité



Comparaison des niveaux de tolérance



CE50 = concentration efficace inhibant 50% de l'activité
 CE50-A CE50-B
 quand CE50 ↗, tolérance ↗

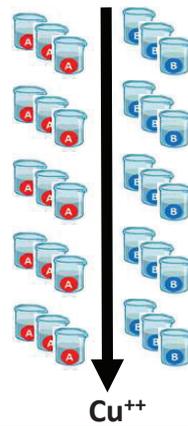
Effets du cuivre sur les communautés phototrophes (microalgues et cyanobactéries)

H1: si température ↗, sensibilité des communautés ↘

Evaluation des niveaux de tolérance au cuivre

approche PICT: pollution-induced community tolerance

Test de toxicité



→ Mises au point méthodologique

Optimisation du protocole (biomasse, durée d'exposition, température d'incubation...)

Environ Sci Pollut Res
DOI 10.1007/s11356-014-3505-4

POTENTIAL TOXICITY OF PESTICIDES IN FRESHWATER ENVIRONMENTS: PASSIVE SAMPLING, EXPOSURE AND IMPACTS ON E

Improved short-term toxicity test protocol to assess metal tolerance in phototrophic periphyton: toward standardization of PICT approaches

Anne Sophie Lambert · Stéphane Pesce ·
Arnaud Foulquier · Josiane Gahou · Marina Coquery ·
Aymeric Dabrin

Effets du cuivre sur les communautés phototrophes (microalgues et cyanobactéries)

H1: si température ↗, sensibilité des communautés ↘

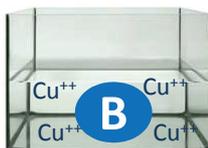
Evaluation des niveaux de tolérance au cuivre

approche PICT: pollution-induced community tolerance

Température

?

Exposition chronique



Effets du cuivre sur les communautés phototrophes (microalgues et cyanobactéries)

H1: si température ↗, sensibilité des communautés ↘

Evaluation des niveaux de tolérance au cuivre

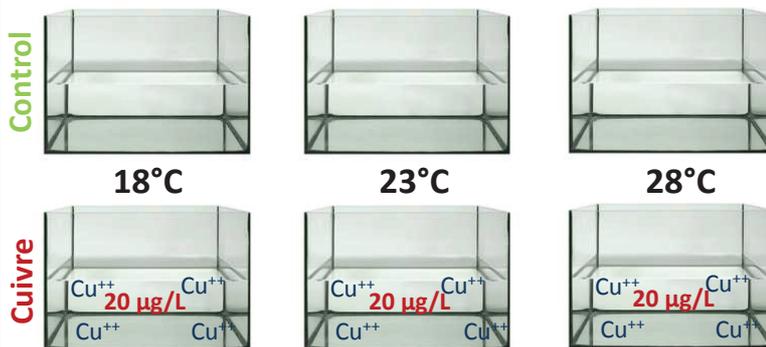
approche PICT: pollution-induced community tolerance

Température

?

Exposition chronique

Communautés estivales



Exposition chronique:

3 semaines

Tests de toxicité:

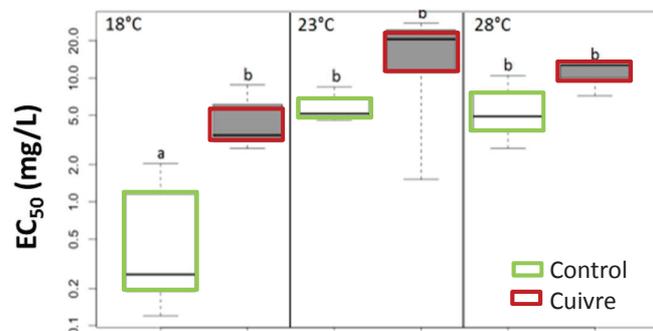
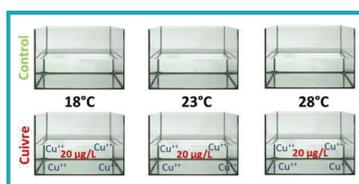
Photosynthèse
(2h30 expo)

Effets du cuivre sur les communautés phototrophes (microalgues et cyanobactéries)

H1: si température ↗, sensibilité des communautés ↘

Evaluation des niveaux de tolérance au cuivre

approche PICT: pollution-induced community tolerance



Température du milieu (18°C) : Exposition chronique: Tolérance ↗ (~x6)

Hausse thermique (+5°C/+10°C) : Tolérance ↗ chez les communautés Control

Cotolérance

Effets du cuivre sur les communautés phototrophes (microalgues et cyanobactéries)

H1: si température ↗, sensibilité des communautés ↘

T° ↗ : Sélection d'espèces tolérantes au Cu ???

→ Analyses taxonomiques des diatomées en cours (comparaison hiver vs été)

T° ↗ : Stimulation de mécanismes de résistance?

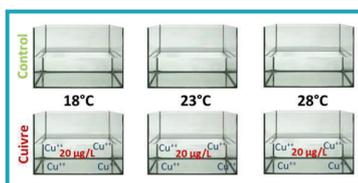
→ Mesure du niveau d'expression de gènes de résistance au stress cellulaire chez les diatomées (analyse des résultats en cours)

- Protéine psa A (**psa A**) = photosystème I chloroplaste
- Protéine D1 (**D1**) = photosystème II chloroplaste
- Sous unité 5 déshydrogénase NADH (**NAD5**) = métabolisme mitochondriale
- Sous unité 1 Cytochrome c oxydase (**cox**) = métabolisme mitochondriale
- Superoxyde dismutase mitochondriale (**sodMn**)= stress oxydatif
- Catalase (**cat**) = stress oxydatif
- Glutathion peroxidase (**gpx**) = stress oxydatif

Effets du cuivre sur les communautés phototrophes (microalgues et cyanobactéries)

H1: si température ↗, sensibilité des communautés ↘

Evaluation des niveaux de tolérance au cuivre

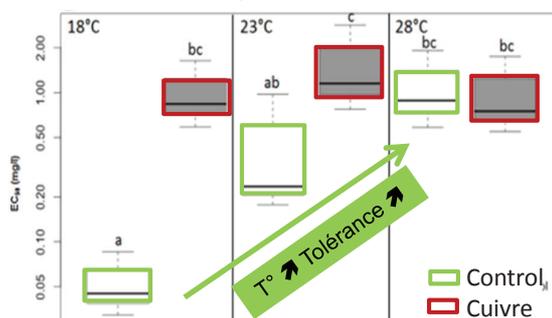


Communautés hétérotrophes

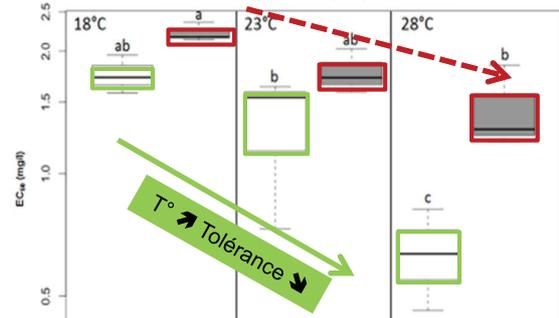
→ Activités enzymatiques:

Phosphatase: Pas d'effet aigu du cuivre

β-glucosidase



leucine-aminopeptidase



Conclusions - Perspectives

Connaissances acquises

- Forte influence de la température sur l'impact écotoxicologique du Cuivre (et autres métaux?)
 - o Modulation de la sensibilité des communautés
 - o Modification de l'exposition
- Identification d'espèces diatomiques tolérantes aux stress thermiques et chimiques ? (citolérance)

Développements méthodologiques

- Amélioration des approches PICT
- Amélioration des méthodes de dosage des métaux dans les biofilms (bioaccumulation)
- Développement d'approches moléculaires ciblant des gènes de résistance aux métaux

Perspectives

- Mieux évaluer le risque écotoxicologique associé aux pollutions métalliques dans un contexte de changement global
- Mieux évaluer l'impact du cuivre dans les rivières contaminées (ex. site atelier Ardères-Morcille) : effets toxiques et bioaccumulation

Tester la pertinence de ces approches pour établir *in situ* des liens entre le niveau d'exposition au cuivre et les effets biologiques observés à l'échelle des communautés microbiennes (exploitation *a posteriori* d'une banque d'ADN environnemental collecté dans la Morcille au cours d'un suivi intensif à long terme entre 2008 et 2011)

Remerciements



Équipe EMHA:

- Bernadette Volat
- Bernard Motte
- Christophe Rosy
- Arnaud Foulquier



LAMA:

- Aymeric Dabrin
- Josiane Gahou
- Chimistes des « majeurs »



CARMA (Irstea Bordeaux)

- Soizic Morin (diatomées)



EPOC (CNRS Arcachon)

- Patrice Gonzalez (expression de gènes de résistance)



**Développement d'outils simples et innovants pour
l'échantillonnage passif des pesticides dans les eaux de
surface et de subsurface**

Alexis MARTIN, IRSTEA LAMA

Développement d'un outil simple et innovant pour l'échantillonnage passif de pesticides dans les eaux de surface et de subsurface :

Intérêts de l'échantillonnage passif pour un suivi simplifié des transferts de pesticides dans les milieux aqueux

Alexis Martin

Irstea, centre de Lyon-Villeurbanne
Laboratoire de chimie des milieux aquatiques

Encadrants: Christelle MARGOUM
Jérôme RANDON

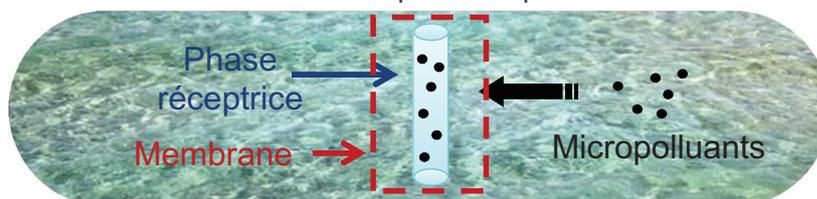


L'échantillonnage passif

PRINCIPE

➤ Echantillonneur passif

- Phase réceptrice polymérique protégée par une membrane
 - Exposés *in situ*
 - Diffusion des molécules par absorption



➤ Capteurs passifs étudiés par Irstea

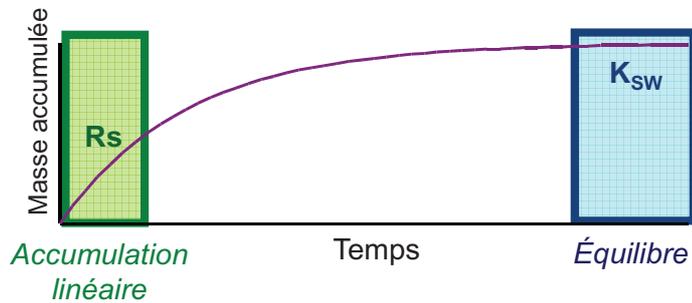
- DGT
 - Métaux
- POCIS
 - Composés organiques polaires
- **Tiges silicone** / Passive SBSE (Pas de membrane)
 - Composés organiques moyennement polaires à hydrophobes



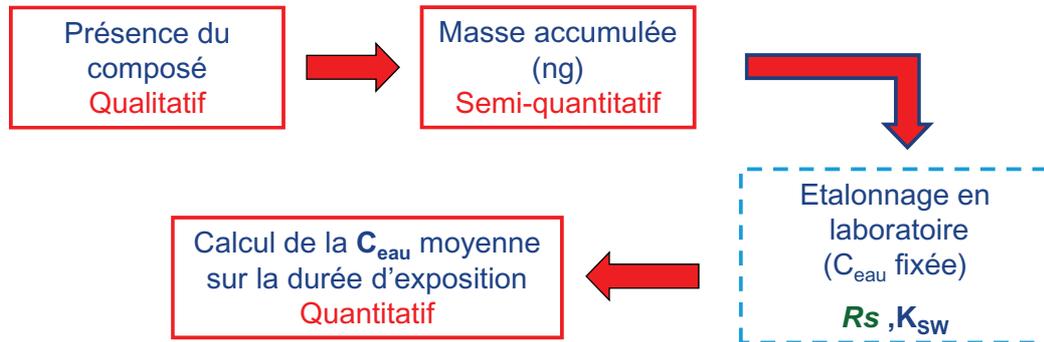
L'échantillonnage passif

THÉORIE

- Deux régimes d'accumulation des composés



- Quel type d'information est délivré par l'échantillonnage passif ?



Séminaire
ZABR
02 mars 2015



L'échantillonnage passif

INTÉRÊTS ET LIMITES

- Intérêts

- Intégration temporelle de la contamination (amélioration de la représentativité)
- Diminution des limites de quantifications (préconcentration *in situ*)
- Faible perturbation du milieu échantillonné
- Stabilité des composés augmentée pour une meilleure conservation

- Limites

- Interprétation de données semi-quantitatives parfois complexe (pas de valeurs seuils pour comparer)
- Besoin d'une calibration en laboratoire propre à chaque molécule pour déterminer des concentrations dans l'eau (C_{eau})
- Accumulation des composés dépendante des conditions d'exposition

Séminaire
ZABR
02 mars 2015



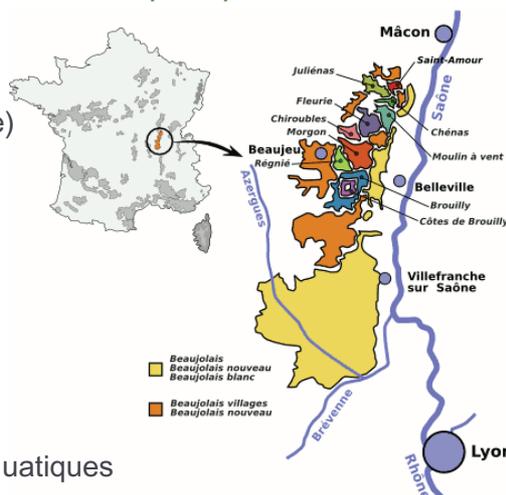
Objectifs de l'étude

ET SITES EXPÉRIMENTAUX

- Comprendre le comportement des échantillonneurs passifs dans différents milieux aquatiques
- Comment peuvent-ils améliorer la compréhension des mécanismes de transfert de pesticides vers les milieux aquatiques?

Terrain de jeu :

- Vignoble du Beaujolais (Nord et Centre)
- Site atelier Ardières-Morcille (SAAM)
- Site intégré dans la ZABR
- 3 sites d'études :
 - Rivière : Ardières
 - Bande enherbée à St Joseph
 - Parcelle viticole à Ruyère
 - Thèse de Xavier Peyrard
- Déploiement dans différents milieux aquatiques
 - Eau de surface et de subsurface



Séminaire
ZABR
02 mars 2015



Tiges silicone (TS)

DÉPLOIEMENT IN SITU

Silicone préparé en laboratoire



+



Ressort protecteur



Tiges Silicone (TS)
2 cm x 3 mm

Période d'application
in situ de 1 semaine

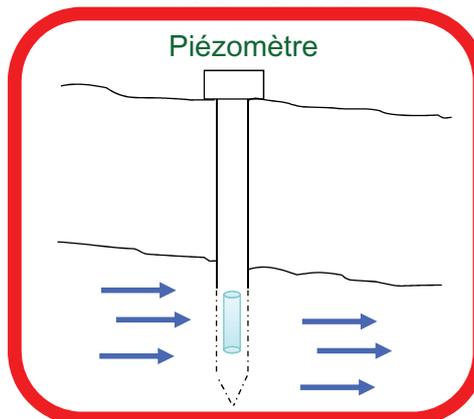
Eau de surface

Exposition
en triplicat



Eau de subsurface

Piézomètre



Séminaire
ZABR
02 mars 2015



Pesticides étudiés avec Tiges silicone

- Large gamme de polarité ($1,5 < \text{Log Kow} < 5,51$), 24 pesticides
- Souvent rencontrés dans l'environnement aquatique
 - Fongicides (F), Herbicides (H), Insecticides (I), Métabolites (Met)
 - Autorisés et interdits d'usages

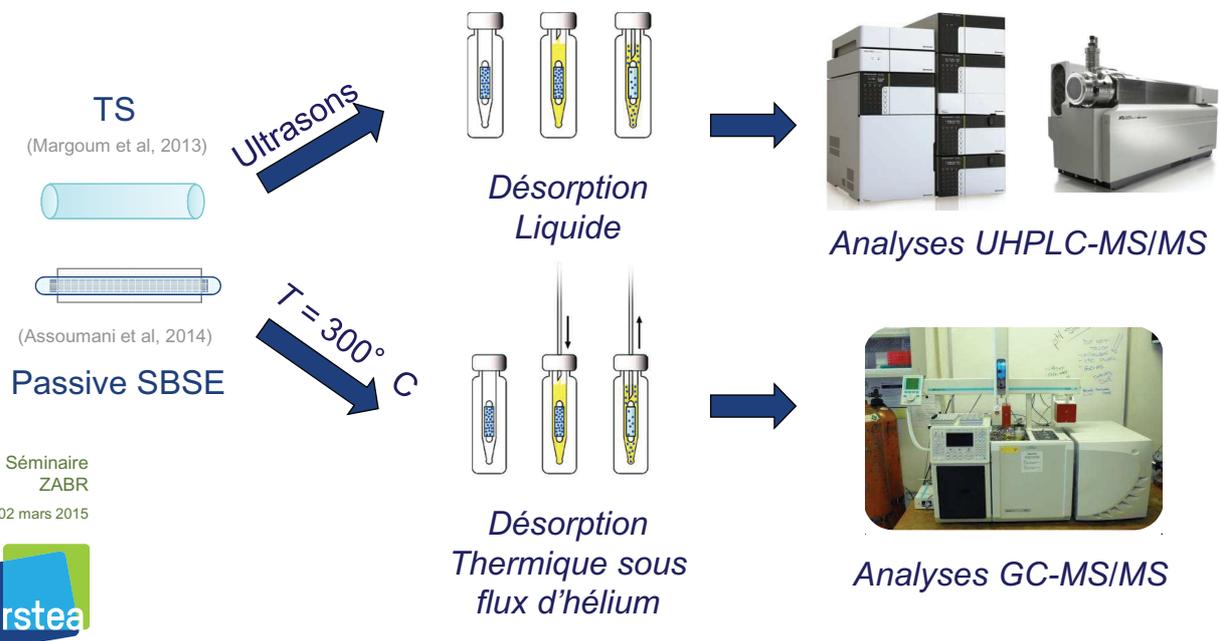
Molécules	Abréviations	Autorisé en France	Classe	Molécules	Abréviations	Autorisé en France	Classe
Acétochlore	ATC	Non (2013)	H	Diméthomorphe	DMM	Oui	F
Atrazine	ATZ	Non (2003)	H	Flufénoxuron	FFX	Oui	I
Azoxystrobine	AZS	Oui	F	Flumioxazine	FMX	Oui	H
Carbendazime	CBZ	Non (2009)	F	Fénitrothion	FNT	Non (2008)	I
Chlorfenvinphos	CFV	Non (2007)	I	Isoproturon	IPU	Oui	H
Chlorpiryphos-Ethyl	CPE	Oui	I	Linuron	LINU	Oui	H
Chlorpiryphos-Methyl	CPM	Oui	I	Métolachlore/S-Métolachlore	MTC	Non (2004)/Oui	H
Chlortoluron	CTU	Oui	H	Norflurazon	NFZ	Non (2004)	H
3,4-dichloroaniline	DCA		Met	Procymidone	PCM	Non (2008)	F
3-(3,4-dichlorophényl)-1 méthylurée	DCPMU		Met	Simazine	SMZ	Non (2001)	H
Diflufénicanil	DFF	Oui	H	Spiroxamine	SPX	Oui	F
Diuron	DIU	Non (2008)	H	Tébuconazole	TBZ	Oui	F

Séminaire
ZABR
02 mars 2015



Tiges silicone (TS)

ANALYSE EN LABORATOIRE DES PESTICIDES



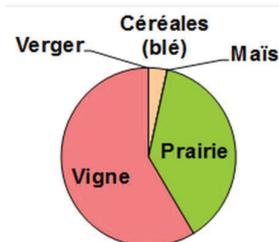
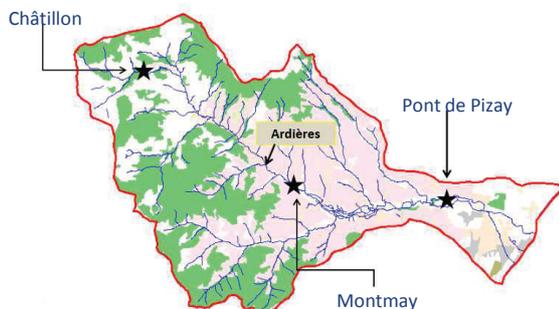
Séminaire
ZABR
02 mars 2015



Application en eau de surface (Ardières)

SITE D'ÉTUDE

- Site atelier Ardières-Morcille (SAAM) intégré dans la ZABR
- Zone d'actions prioritaire « pesticides eaux de surface » de la région Rhône Alpes



Occupation des sols sur l'ensemble du bassin versant

Séminaire
ZABR
02 mars 2015



- Campagne de suivi pendant 1 mois (4 x1 semaine)
- Application de tiges silicone (TS) sur 3 sites :
 - Amont, Intermédiaire, Aval

Application en eau de surface (Ardières)

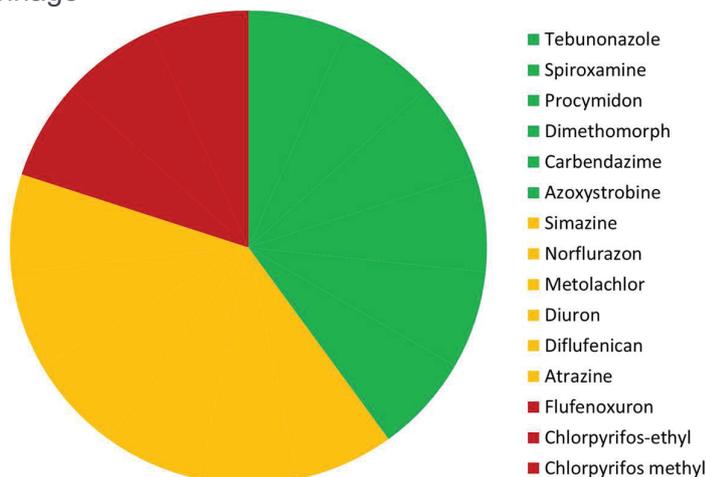
RÉSULTATS

- Informations qualitatives :
 - Détection de 15 pesticides (6 herbicides, 6 fongicides, 3 insecticides)
 - Type de contamination caractéristique de la vigne
 - Traces d'herbicides interdits
 - Détection des insecticides qui échappent fréquemment aux techniques classiques d'échantillonnage

■ Fongicides

■ Herbicides

■ Insecticides



Séminaire
ZABR
02 mars 2015





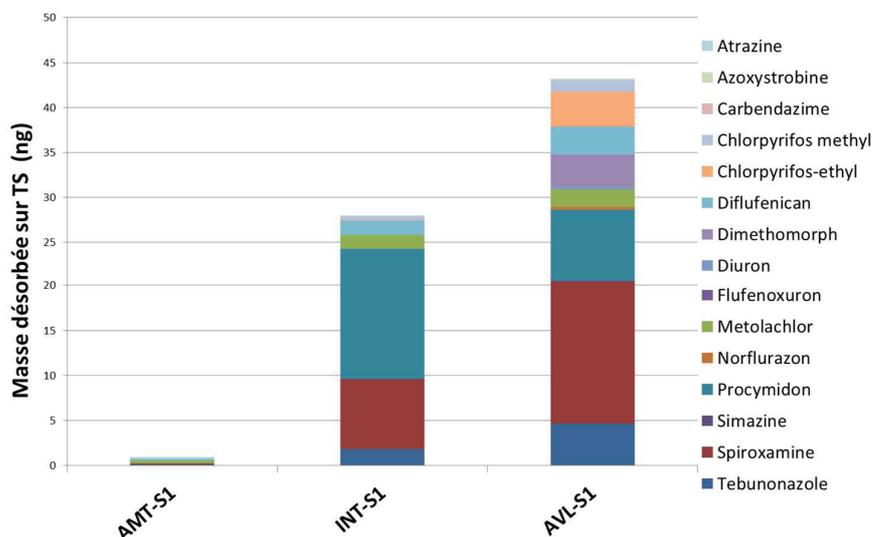
Application en eau de surface (Ardières)

RÉSULTATS

➤ Informations semi-quantitatives (masse totale de pesticides accumulés)

- Gradient Amont-Aval

- En accord avec l'augmentation de l'occupation des sols par la viticulture d'amont en aval



Séminaire
ZABR
02 mars 2015



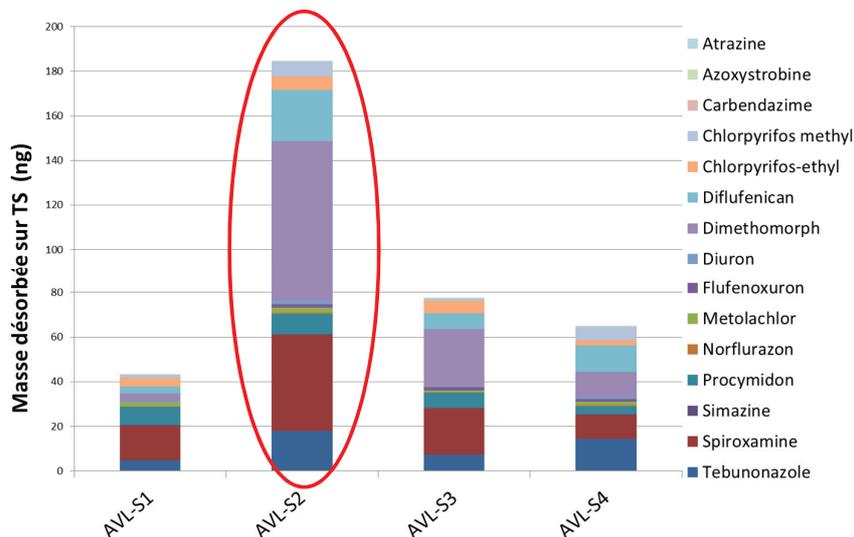
Application en eau de surface (Ardières)

RÉSULTATS

➤ Informations semi-quantitatives :

- Variabilité temporelle sur 4 semaines d'exposition (site Aval)

- En semaine 2 : pic de contamination
- Premier événement pluvieux après plusieurs semaines de temps sec

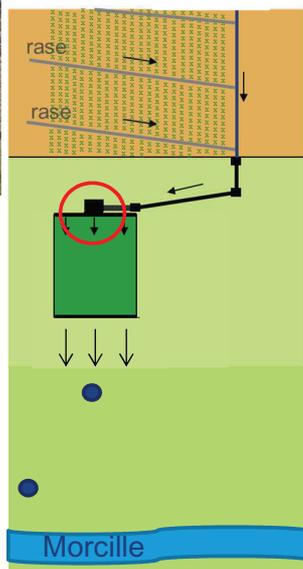


Séminaire
ZABR
02 mars 2015



Application en eau de subsurface (St Joseph)

SITE D'ÉTUDE / EXPÉRIMENTATION



➤ Bande enherbée en aval d'une parcelle de vigne à St Joseph dans le Beaujolais

- Instrumentation avec des piézomètres
- TS déployées

➤ Simulation de ruissellement avec infiltration dans la nappe superficielle

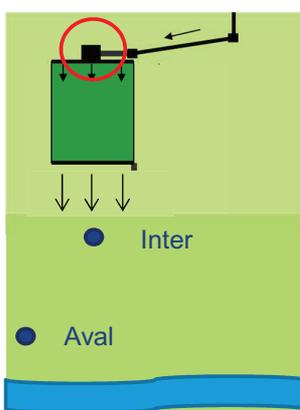
- Application de TBZ, DMM et IPU
- non appliqués antérieurement sur cette parcelle

Séminaire
ZABR
02 mars 2015



Application en eau de subsurface (St Joseph)

EXPÉRIMENTATION



- 2 piézomètres en aval de la bande enherbée
- TS exposées une semaine avant simulation (S0) dans chaque piézomètre (Point de référence)
- Suivi sur 3 semaines (3 x 1 semaine)
- Calcul d'un taux de variation par rapport à S0 (masse captée S_n / masse captée S0)

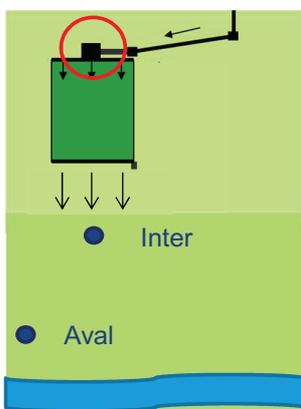
Séminaire
ZABR
02 mars 2015





Application en eau de subsurface (St Joseph)

RÉSULTATS



➤ Qualitatif :

- 3 composés de la simulation (TBZ, DMM, IPU)
- 3 composés interdits (DIU, NFZ, PCM)

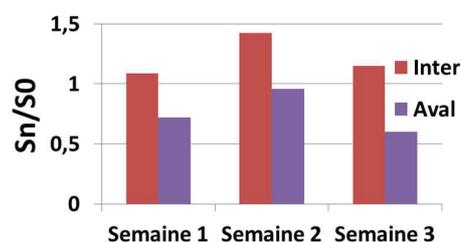
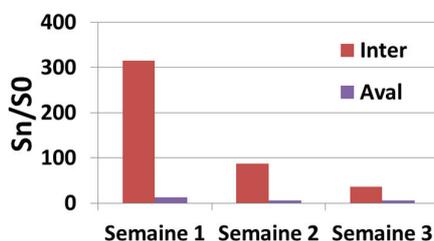
➤ Semi quantitatif :

- Suivi spatial de la contamination (forte au point Inter)
- Suivi temporel de la diminution de la contamination
 - Après 3 semaines pesticides de la simulation présents
- Détection des pesticides appliqués et rémanents

Pesticides de la simulation :
TBZ, DMM, IPU

Pesticides rémanents :
DIU, NFZ, PCM

Séminaire
ZABR
02 mars 2015



Conclusions et perspectives

PERSPECTIVES 2015-2016

➤ Conclusions obtenues avec des TS :

- Qualitatives :
 - Nature de la contamination
 - Détection d'insecticides qui échappent à l'échantillonnage classique
- Semi-quantitatives :
 - Type de contamination (molécule appliquée, rémanente...)
 - Variabilité spatiale (gradient amont-aval et dispersion spatiale en piézomètres)
 - Variabilité temporelle (événements pluvieux, diminution progressive de la contamination dans une nappe)

➤ Perspectives (vers des données quantitatives)

- Calibration en laboratoire des TS → Calcul de C_{eau}
- Etude de la robustesse des C_{eau} calculées
- Elargissement de la gamme de molécules captées et analysées

Séminaire
ZABR
02 mars 2015





Remerciements

➤ Je remercie toutes les personnes qui ont organisé et participé à la mise en place de ces expérimentations et en particulier :

- Véronique Gouy
- Xavier Peyrard
- Lucie Liger
- Matthieu Le-Dréau

➤ Et mes encadrants :

- Christelle Margoum
- Jérôme Randon



Séminaire
ZABR
02 mars 2015



**Evaluation des transferts latéraux de pesticides à faible
profondeur dans le sol au sein d'un versant viticole du
Beaujolais de coteaux**

Xavier PEYRARD, IRSTEA UR MALY, Equipe Polldiff



Evaluation du transfert latéral de pesticides à faible profondeur,

dans un sol viticole du Beaujolais de coteaux

X. Peyrard, L. Liger, C. Guillemain, N. Carluer, V. Gouy

IRSTEA Institut national de Recherche en Sciences et Techniques de l'Environnement et de l'Agriculture

Séminaire ZABR, 2 mars 2015, Villeurbanne

In 2012, Cemagref
became Irstea



www.irstea.fr



Plan

1. Contexte

- A. La viticulture dans le Beaujolais et la contamination des rivières par les pesticides
- B. Processus étudiés
- C. Objectifs

2. Matériel et méthode

- A. Description du site d'étude
- B. Instrumentation
- C. Pesticides suivis et analyse

3. Résultats et discussion

- A. Hydrologie : écoulements latéraux et ruissellement
- B. Pesticides : dynamique des concentrations
- C. Exportation des pesticides

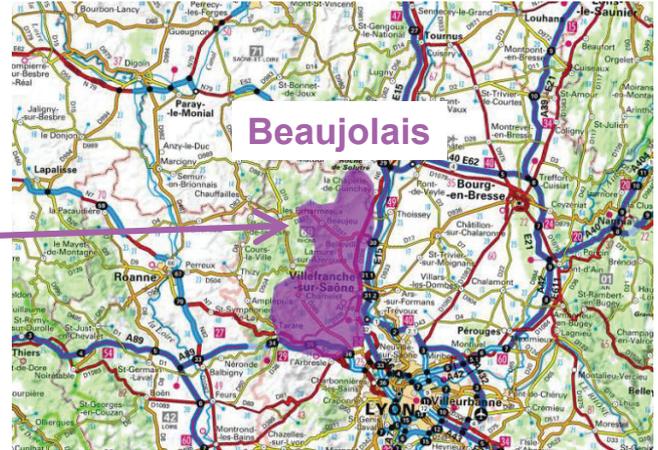
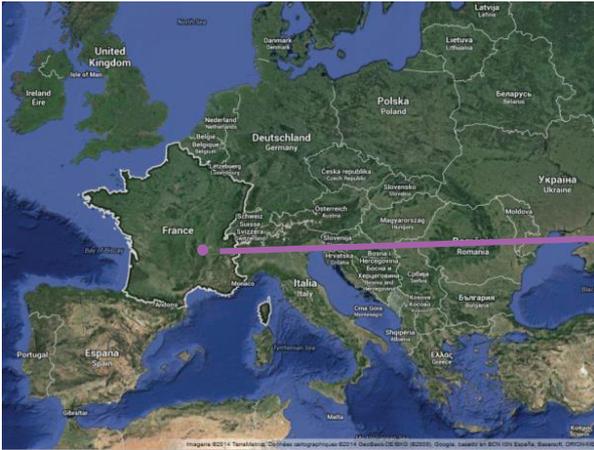
4. Conclusion

5. Perspectives



1. Contexte

A. Le Beaujolais



La viticulture en Beaujolais :

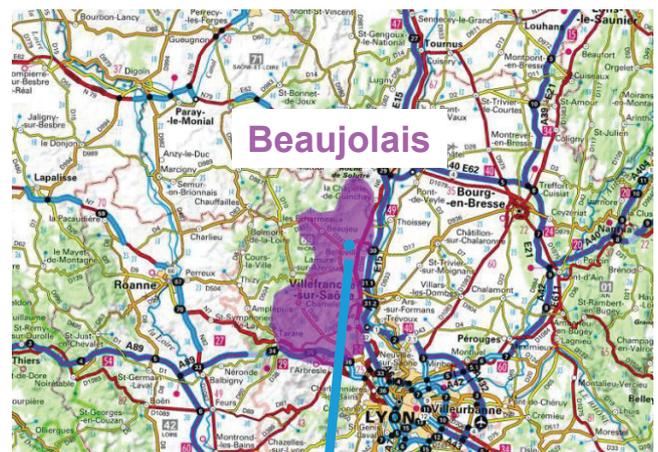
- 230 km²
- Viticulture intensive
- Contamination avérée des rivières par les pesticides



→ Besoin d'amélioration du diagnostic des causes de la contamination par les pesticides

1. Contexte

A. Beaujolais : le bassin versant de la Morcille



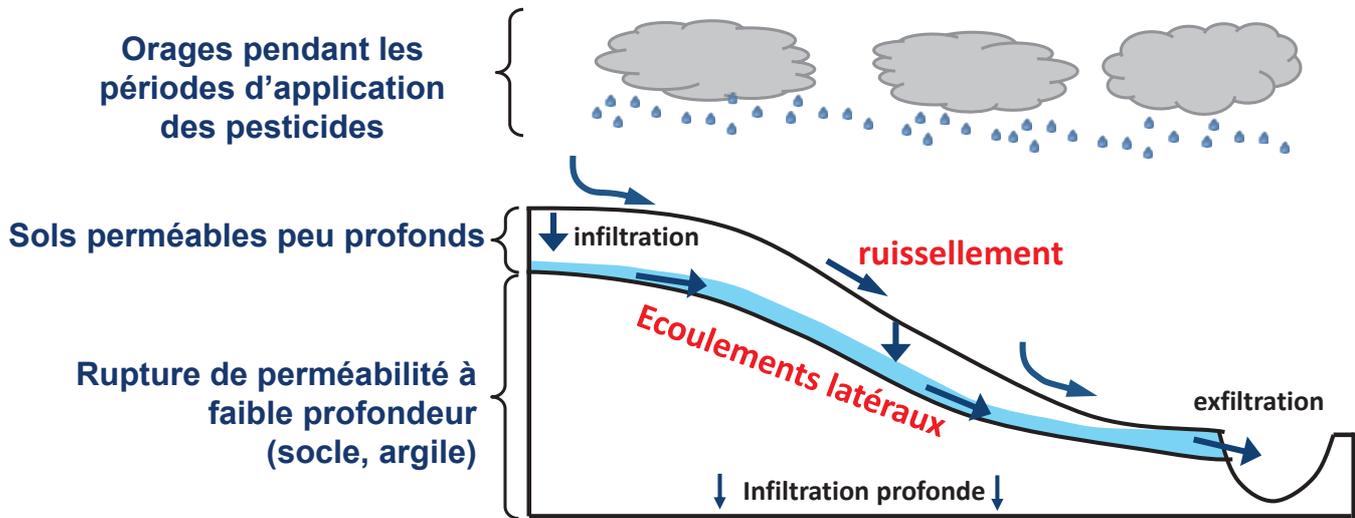
Le bassin versant de la Morcille (8 km²)
Représentatif du Nord Beaujolais

- Sols
- Climat
- Activités viticoles
- **Site atelier Ardière Morcille (ZABR)**



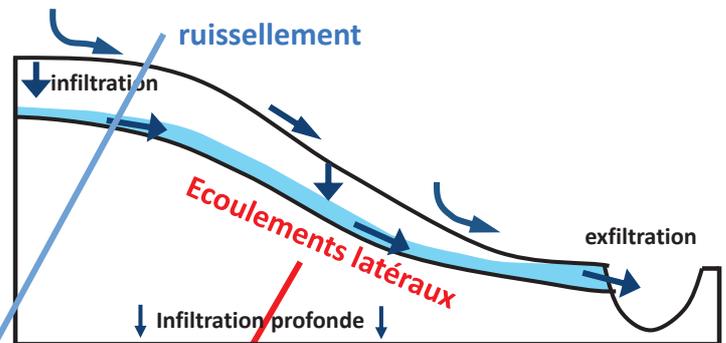
1. Contexte

B. Processus étudiés



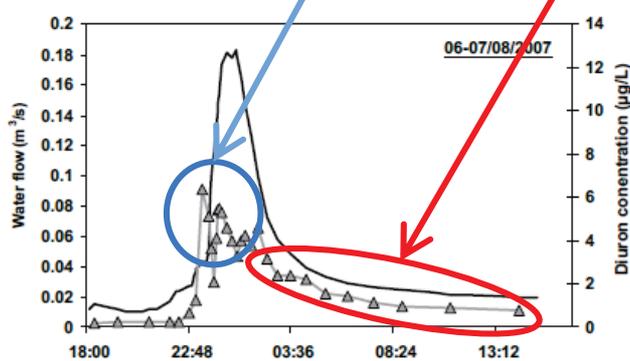
1. Background

B. Processus étudiés



Pics ponctuels de concentration dans les cours d'eau

Contamination diffuse mais chronique?



(Rabiet, 2010)



1. Contexte

C. Objectifs

Contributions

Ruissellement

Documenté, étudié

Transferts latéraux

?

Contamination des
cours d'eau

irstea

7

1. Contexte

C. Objectifs

Contributions

Ruissellement

Documenté, étudié

Transferts latéraux

?

Contamination des
cours d'eau

Objectifs spécifiques :

Données terrain
Observations

Approche de ce travail :

Instrumentation terrain

Stratégie de suivi

Conditions naturelles

irstea

8

2. Matériel et méthode

A. Description du site

Parcelle exploitée :

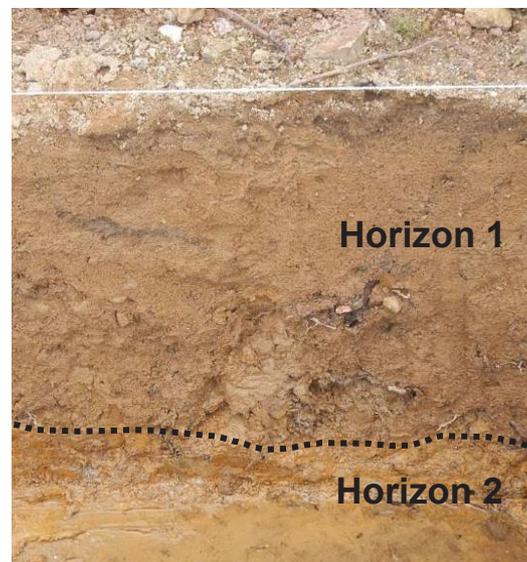
- 100 m x 60 m : 6000 m²
- Pente : 10-30 %

Pratiques agricoles :

- > 10 applications pesticides/an (≈ 20 substances actives/an)



		Horizon 1	Horizon 2
Texture	Sable	63 %	45 %
	Limon	25 %	35 %
	Argile	12 %	20 %
Texture (FAO)		Sable limoneux	Limon argileux
Matière organique		< 1 %	< 1 %
Epaisseur		20 – 60 cm	?
Porosité		0.41 (+/- 0.035)	0.36 (+/- 0.009)
Perméabilité		175 mm/h	4 à 23 mm/h



9

2. Matériel et méthode

A. Description du site

Parcelle exploitée :

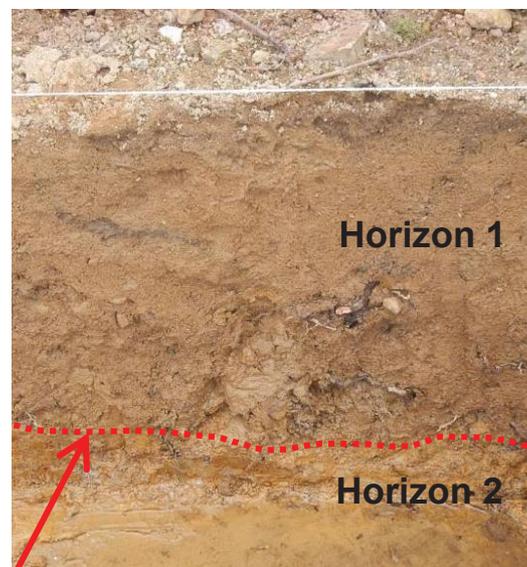
- 100 m x 60 m : 6000 m²
- Pente : 10-30 %

Pratiques agricoles :

- > 10 applications pesticides/an (≈ 20 substance active/an)



		Horizon 1	Horizon 2
Texture	Sable	63 %	45 %
	Limon	25 %	35 %
	Argile	12 %	20 %
Texture (FAO)		Sable limoneux	Limon argileux
Matière organique		< 1 %	< 1 %
Epaisseur		20 – 60 cm	?
Porosité		0.41 (+/- 0.035)	0.36 (+/- 0.009)
Perméabilité		175 mm/h	4 à 23 mm/h



Rupture texturale de perméabilité

10

2. Matériel et méthode

A. Description du site

Parcelle exploitée :

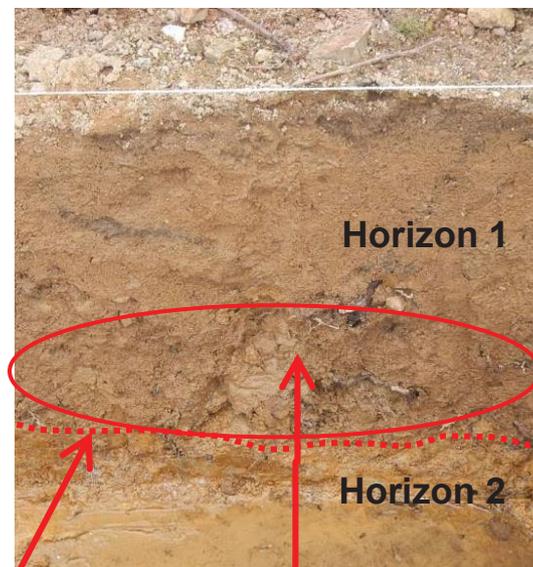
- 100 m x 60 m : 6000 m²
- Pente : 10-30 %

Pratiques agricoles :

- > 10 applications pesticides/an (≈ 20 substance active/an)



		Horizon 1	Horizon 2
Texture	Sable	63 %	45 %
	Limon	25 %	35 %
	Argile	12 %	20 %
Texture (FAO)		Sable limoneux	Limon argileux
Matière organique		< 1 %	< 1 %
Epaisseur		20 – 60 cm	?
Porosité		0.41 (+/- 0.035)	0.36 (+/- 0.009)
Perméabilité		175 mm/h	4 à 23 mm/h



Rupture texturale de perméabilité

Écoulements latéraux

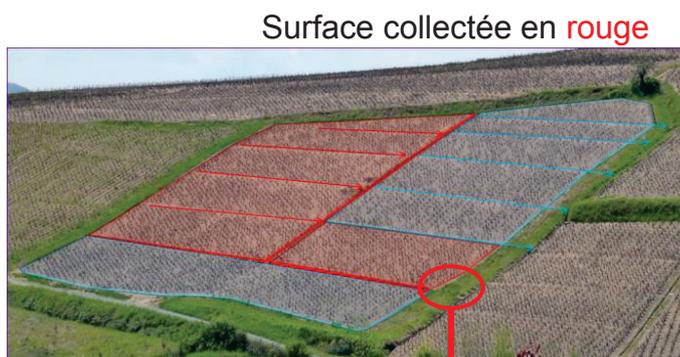
11

2. Matériel et méthode

B. Instrumentation

Suivi du ruissellement

Canal Venturi et préleveur automatique



Surface collectée en rouge



2. Matériel et méthode

B. Instrumentation

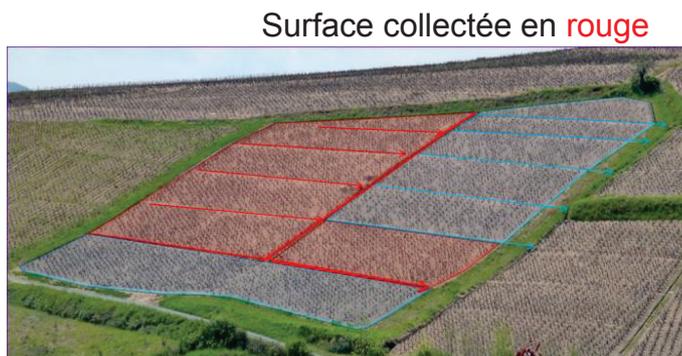
Suivi du ruissellement

Canal Venturi et préleveur automatique

Capteur de pression

Courbe de tarage

Débit de ruissellement



2. Matériel et méthode

B. Instrumentation

Suivi du ruissellement

Canal Venturi et préleveur automatique

Débit de ruissellement

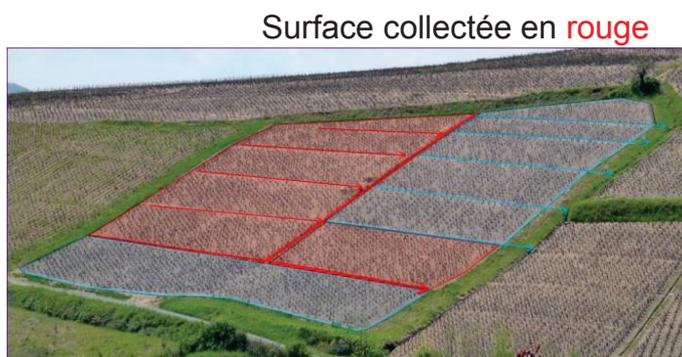
Echantillonnage asservis au volume passé
(tous les 300 à 500 L passés)

Suivi fin

Suivi grossier

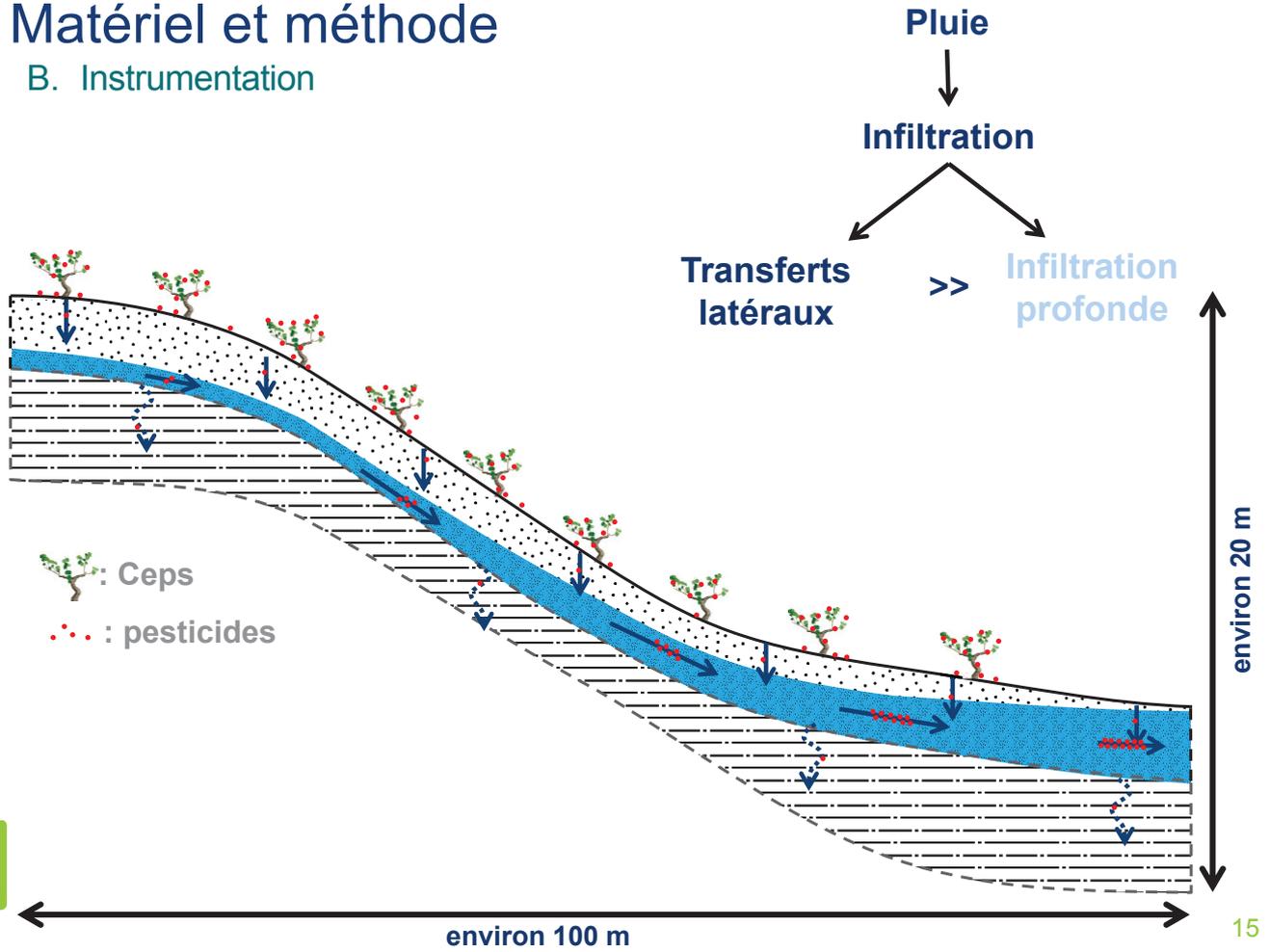
Fractionné
24 flacons
de 300 mL

Cumulé
1 flacon de 10 L
40 échantillons de
200 mL



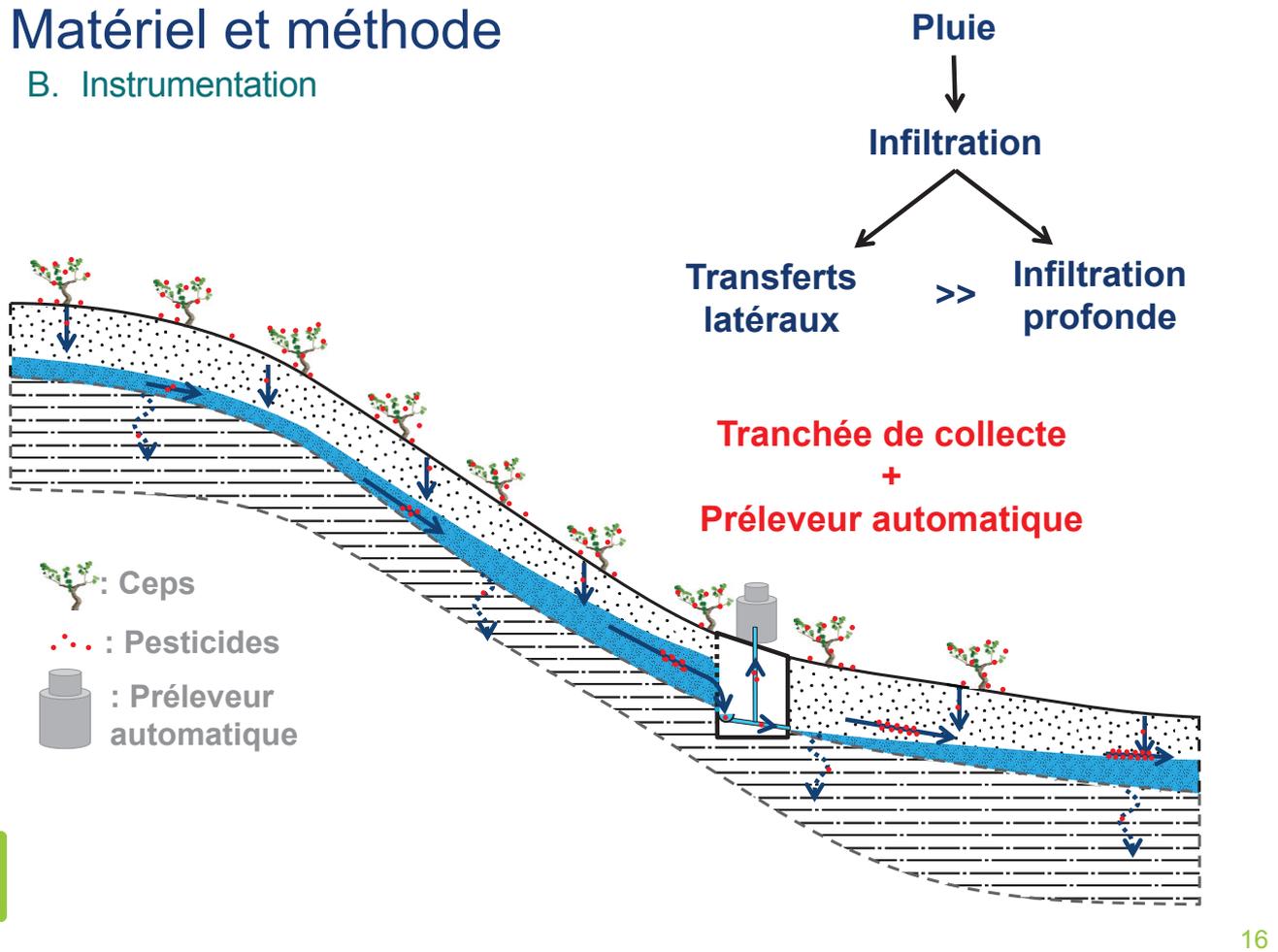
2. Matériel et méthode

B. Instrumentation



2. Matériel et méthode

B. Instrumentation



2. Matériel et méthode

B. Instrumentation

Suivi des écoulements latéraux

Tranchée de collecte (3 m de long, 0.7 m profondeur) et préleveur automatique



Face amont : tôle percée et grillage fin

Siphon PVC

Auget basculant de 100 mL

Gouttière de collecte



2. Matériel et méthode

B. Instrumentation

Suivi des écoulements latéraux

Tranchée de collecte (3 m de long, 0.7 m profondeur) et préleveur automatique

Auget basculant

Volume et horodatage des basculements

Débit des écoulements latéraux



Face amont : tôle percée et grillage fin

Siphon PVC

Auget basculant de 100 mL

Gouttière de collecte



2. Matériel et méthode

B. Instrumentation

Suivi des écoulements latéraux

Tranchée de collecte (3 m de long, 0.7 m profondeur) et préleveur automatique

Débit des écoulements latéraux



Echantillonnage asservi au volume passé

(tous les 5 à 15 L passés)

Suivi fin

Suivi grossier

Fractionné

24 flacons de 300 mL

Cumulé

1 flacon de 10 L
40 échantillons de 200 mL



Face amont : tôle percée et grillage fin

Siphon PVC

Auget basculant de 100 mL

Gouttière de collecte



19

2. Matériel et méthode

C. Pesticides suivis et méthode analytique

Substances suivies

	Type	Koc (mL/g)	Solubilité (mL/g)	DT50 au champ (jours)	DT50 d'hydrolyse pH 7, 20°C (jours)	Limites de quantification (µg/L)
Chlorpyriphos-méthyl CPM	Insecticide	4645	2.74	3	21	0.004
Diméthomorphe DMM	Fongicide	408	290	42.1	70	0.002
Flumioxazine FMX	Herbicide	1150	1.79	84	1	0.004
Spiroxamine SPX	Fongicide	1947	405	24.5	stable	0.002
Tébuconazole TBZ	Fongicide	1022	36	31	stable	0.005

Analyse sur phase aqueuse :

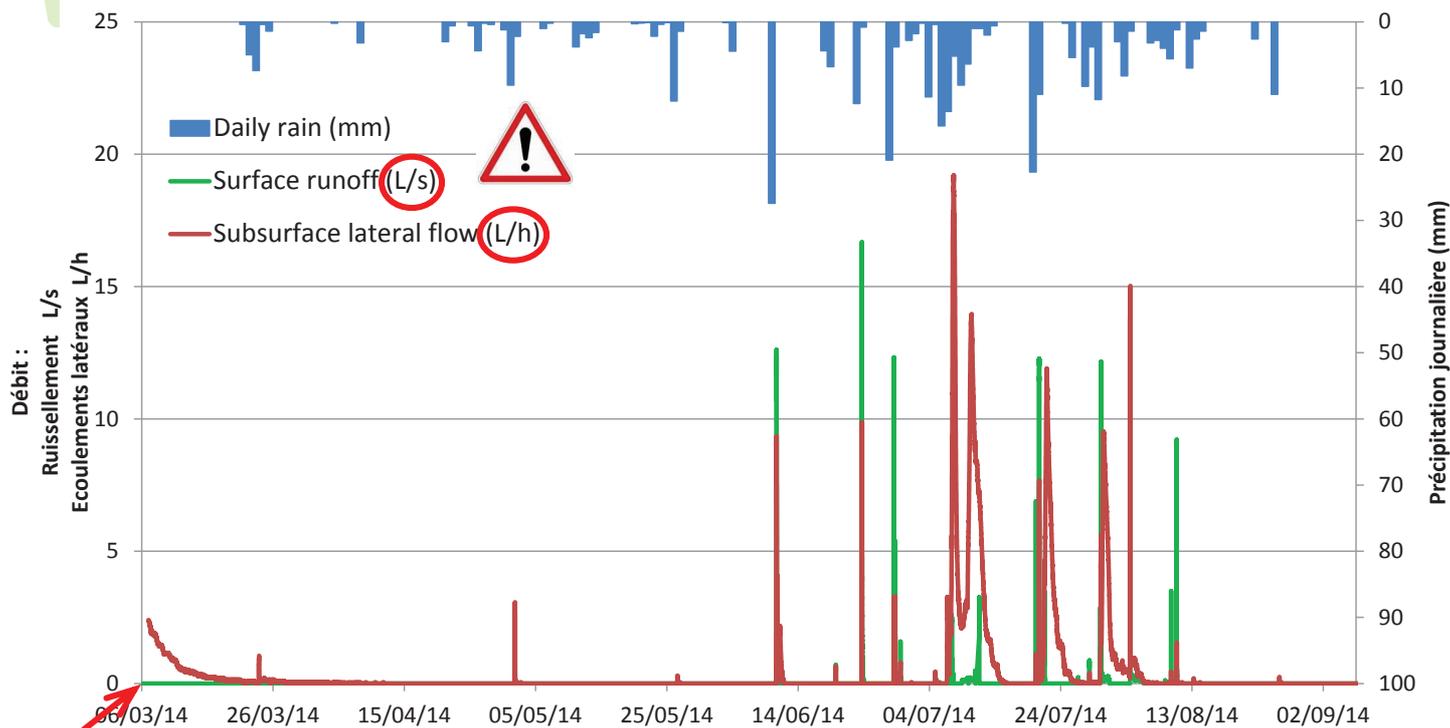
- Filtration à 0.7 µm,
- Extraction sur phase solide,
- Analyse en HPLC-MS/MS.



20

3. Résultats

A. Hydrologie : écoulements latéraux et ruissellement

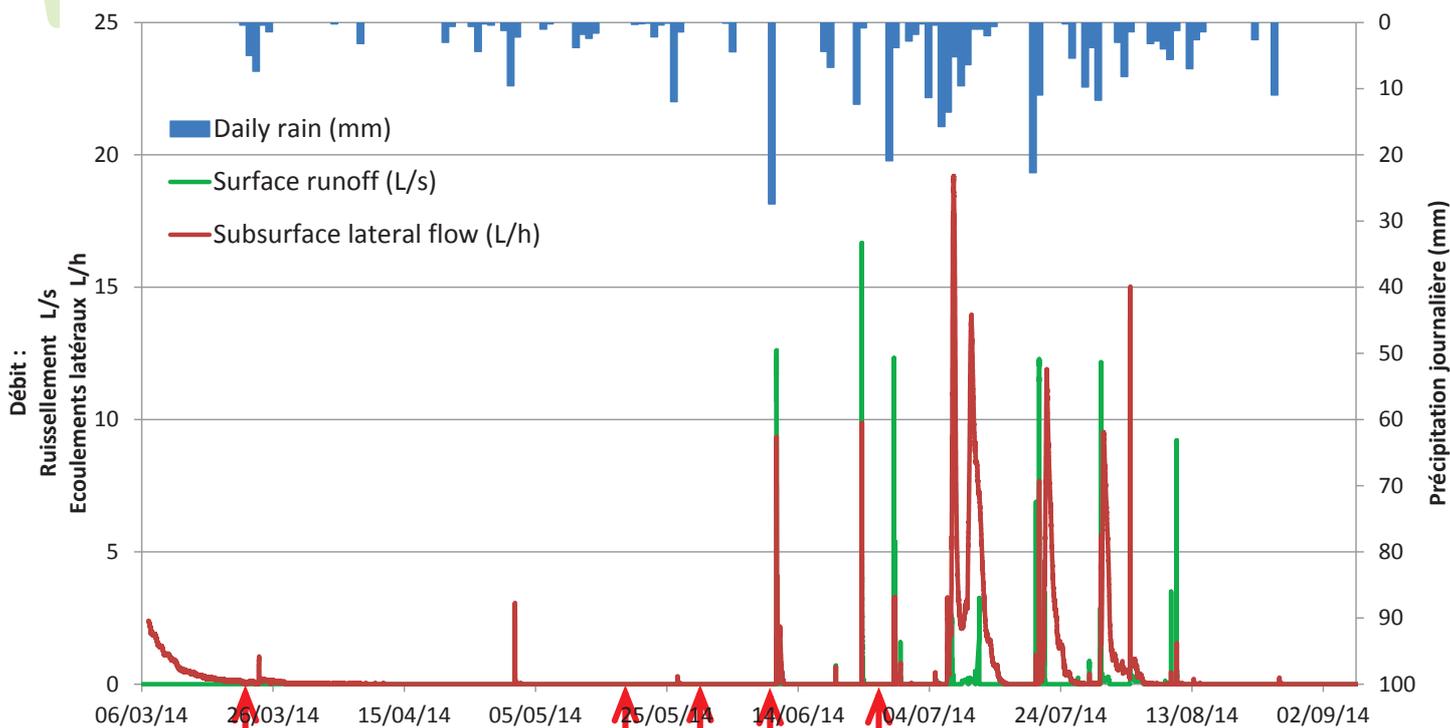


Mise en place tranchée

Calcul du débit des écoulements latéraux : moyenne glissante sur 2 heures

3. Résultats

A. Hydrologie : écoulements latéraux et ruissellement



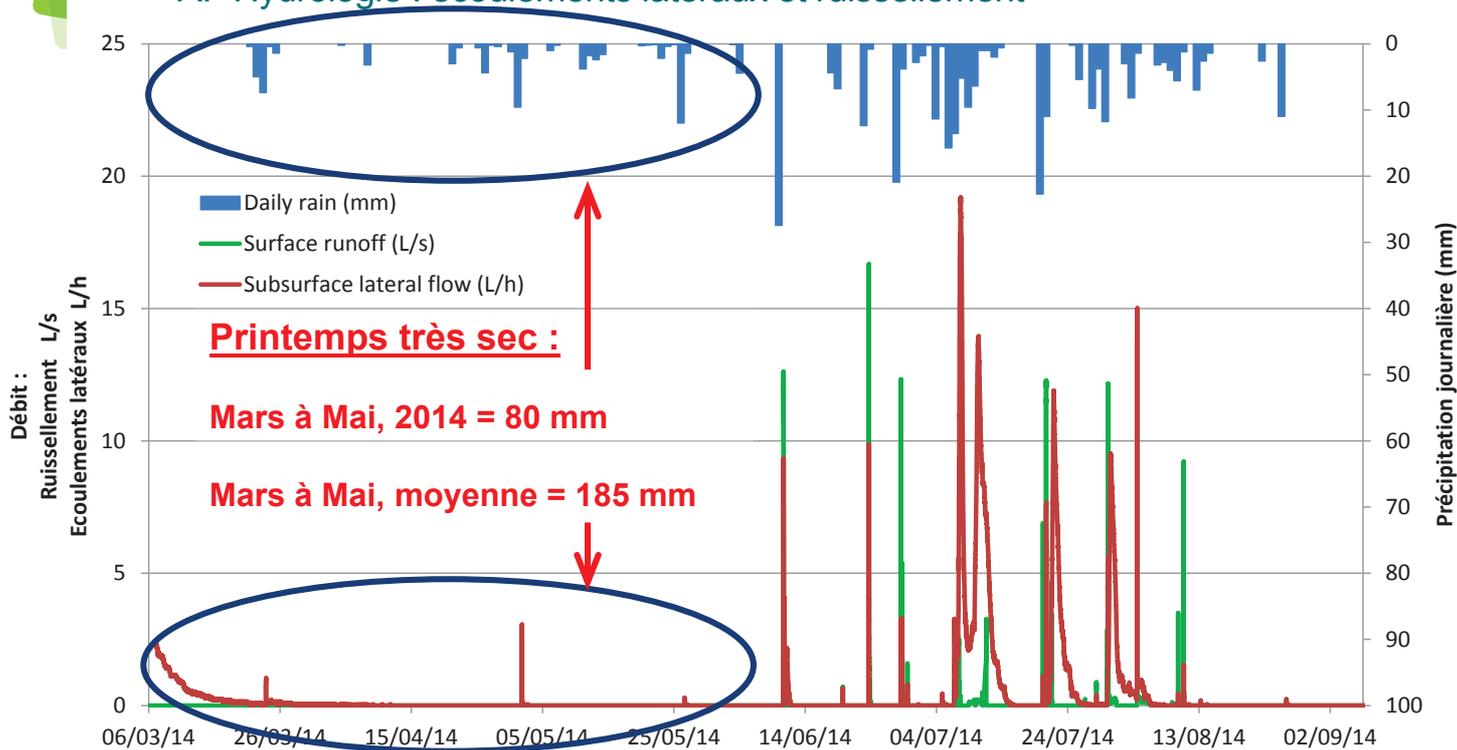
FMX

CPM + TBZ

DMM + SPX

3. Résultats

A. Hydrologie : écoulements latéraux et ruissellement



3. Résultats

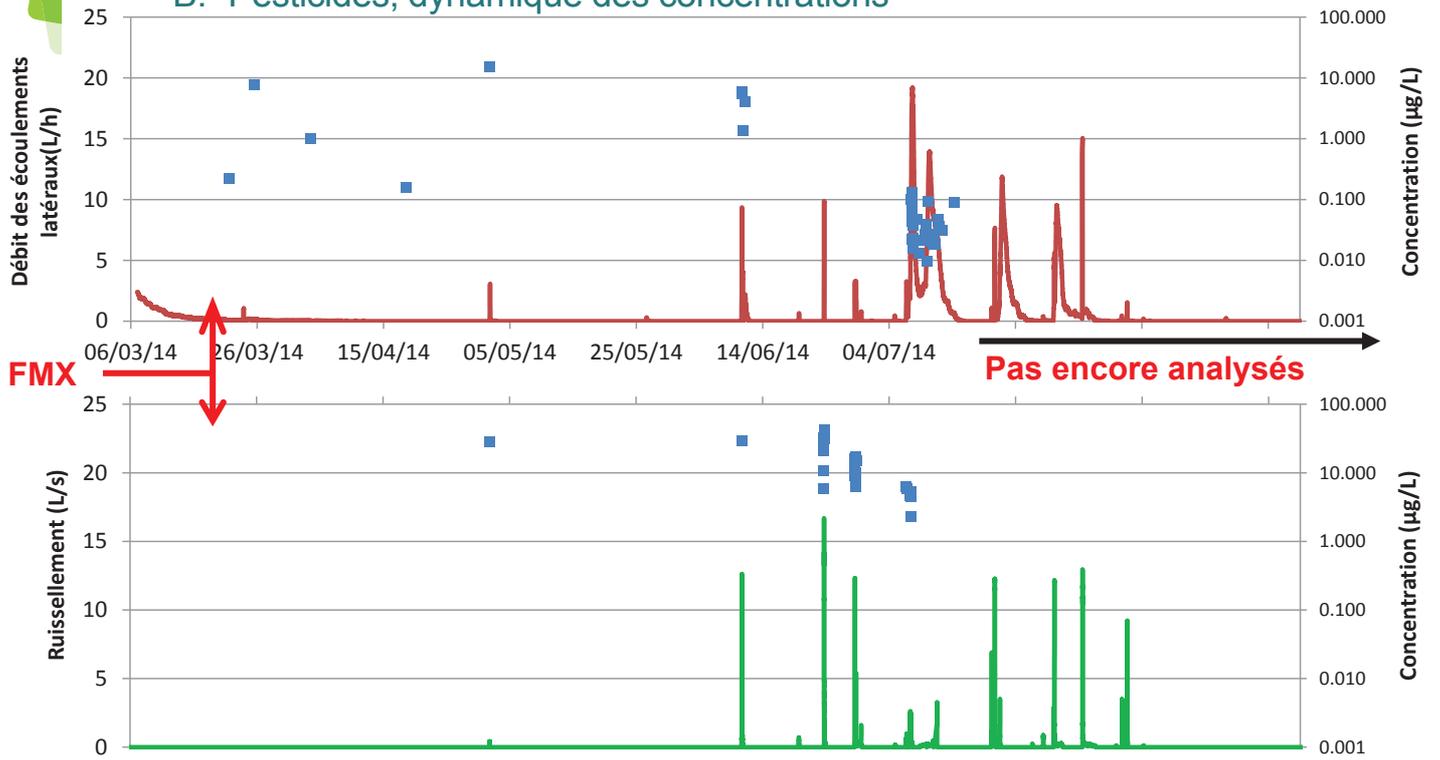
A. Hydrologie : écoulements latéraux et ruissellement

Observations à l'échelle du versant confirment les observations à l'échelle du bassin versant :

- Ruissellement : débit important mais court : **5 jours cumulés**
- Ecoulements latéraux : débit faible mais chronique : **56 jours cumulés**

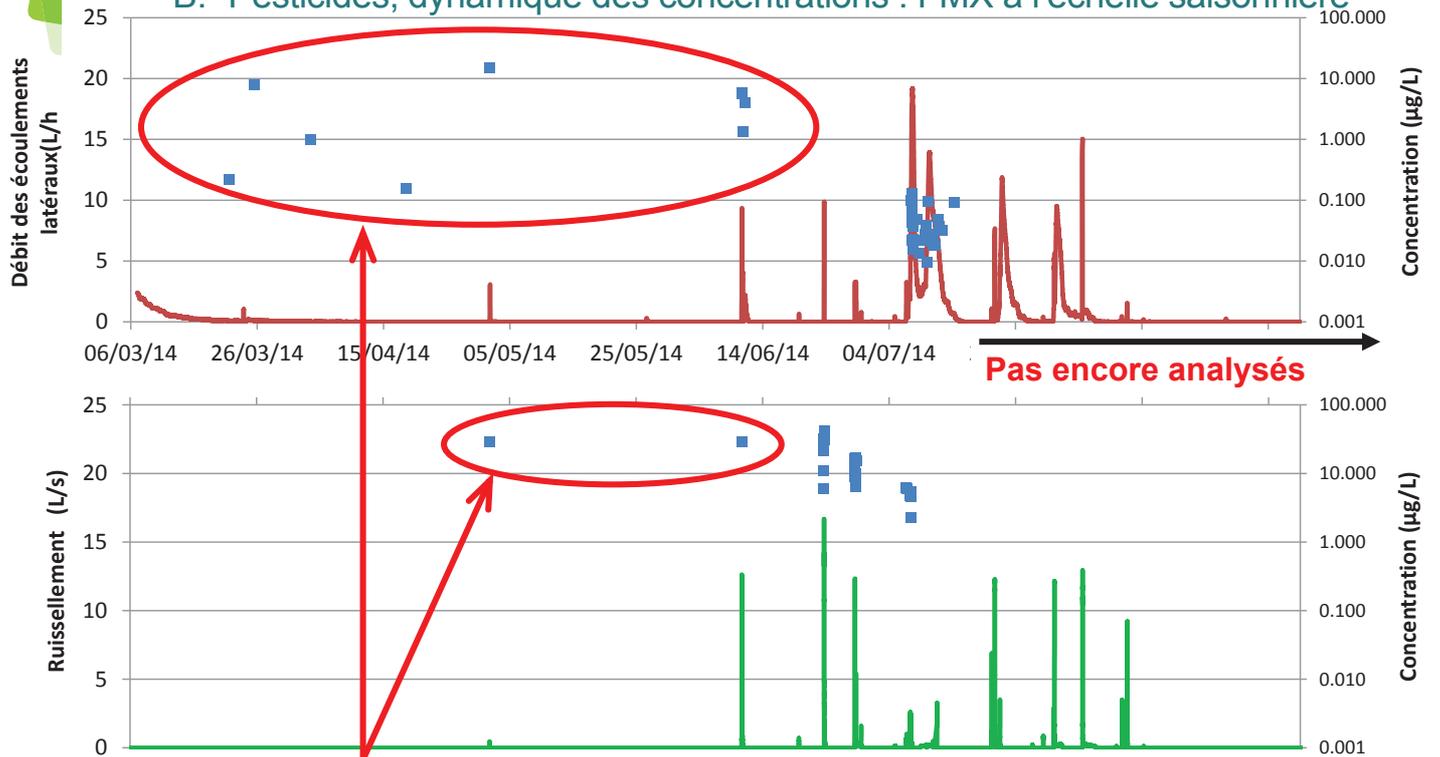
3. Résultats

B. Pesticides, dynamique des concentrations



3. Résultats

B. Pesticides, dynamique des concentrations : FMX à l'échelle saisonnière



Concentrations très fortes et similaires : ruissellement entrant

3. Résultats

B. Pesticides, dynamique des concentrations : FMX à l'échelle saisonnière

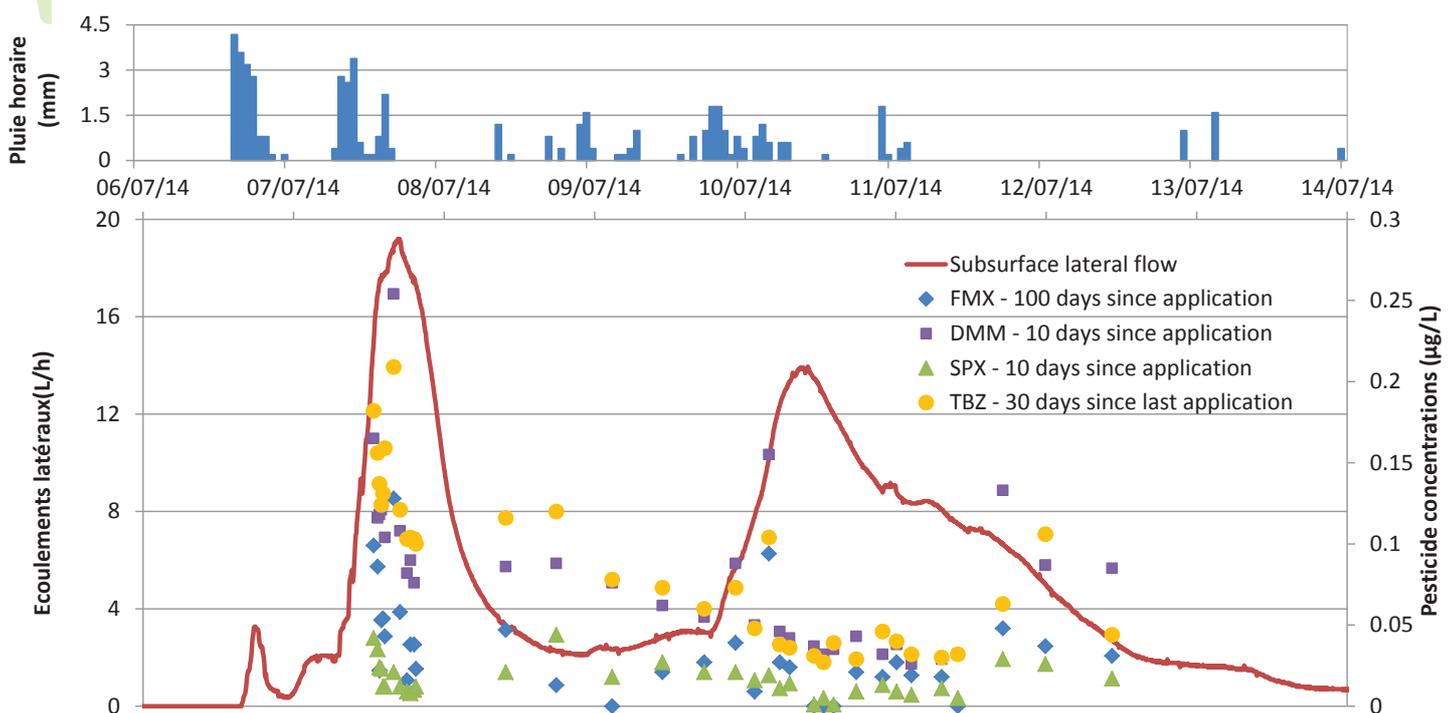
Observations à l'échelle du versant confirment les observations à l'échelle du bassin versant :

- Concentrations ruissellement >> concentrations écoulements latéraux
- Diminution globale des concentrations au fur et à mesure de la saison



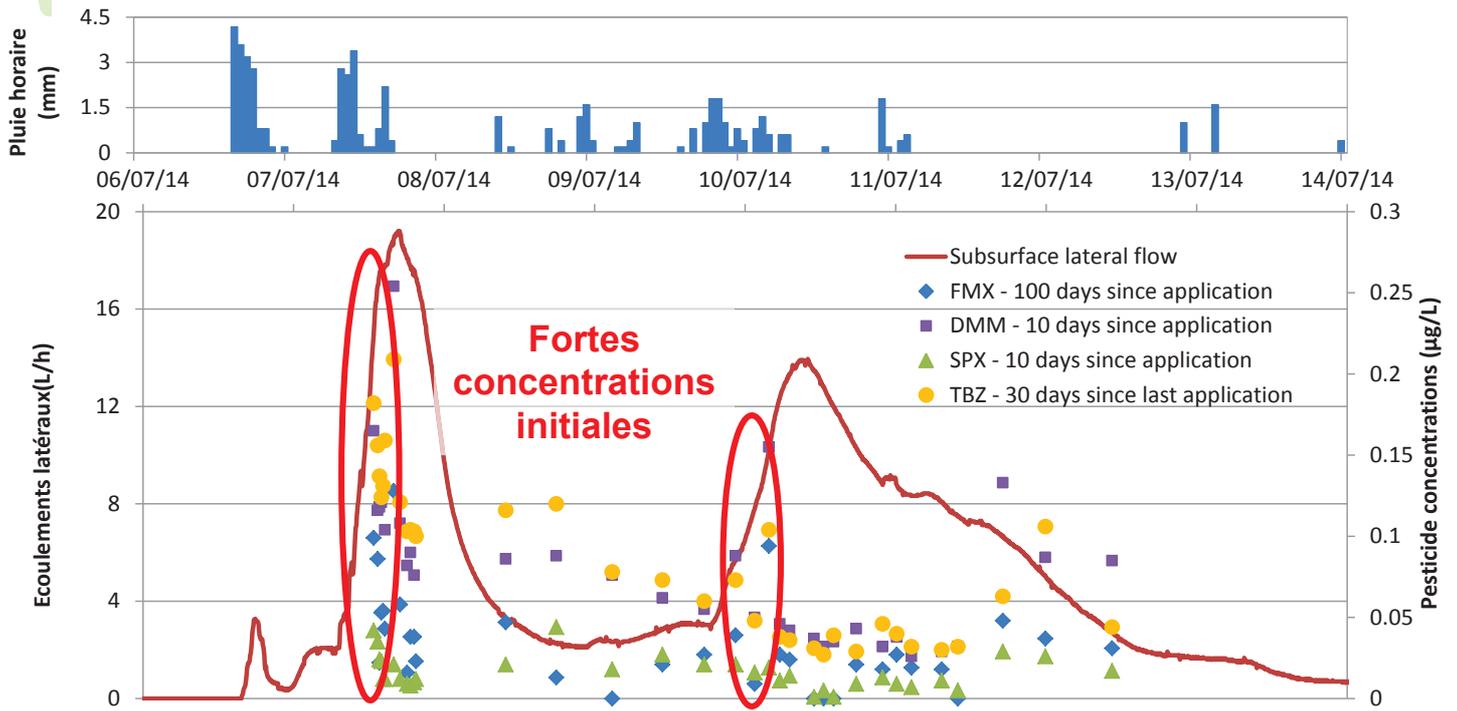
3. Résultats

B. Pesticides, dynamique des concentrations : échelle évènementielle



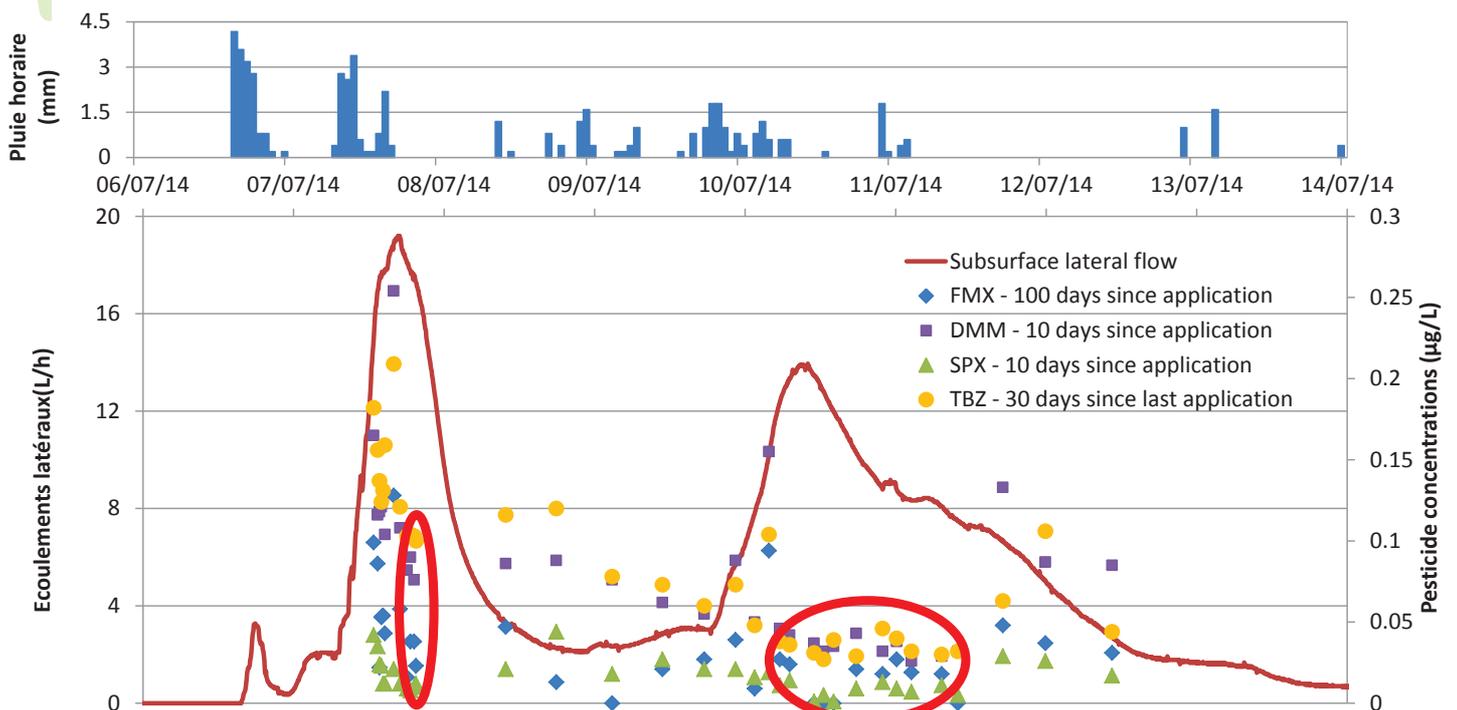
3. Résultats

B. Pesticides, dynamique des concentrations : échelle événementielle



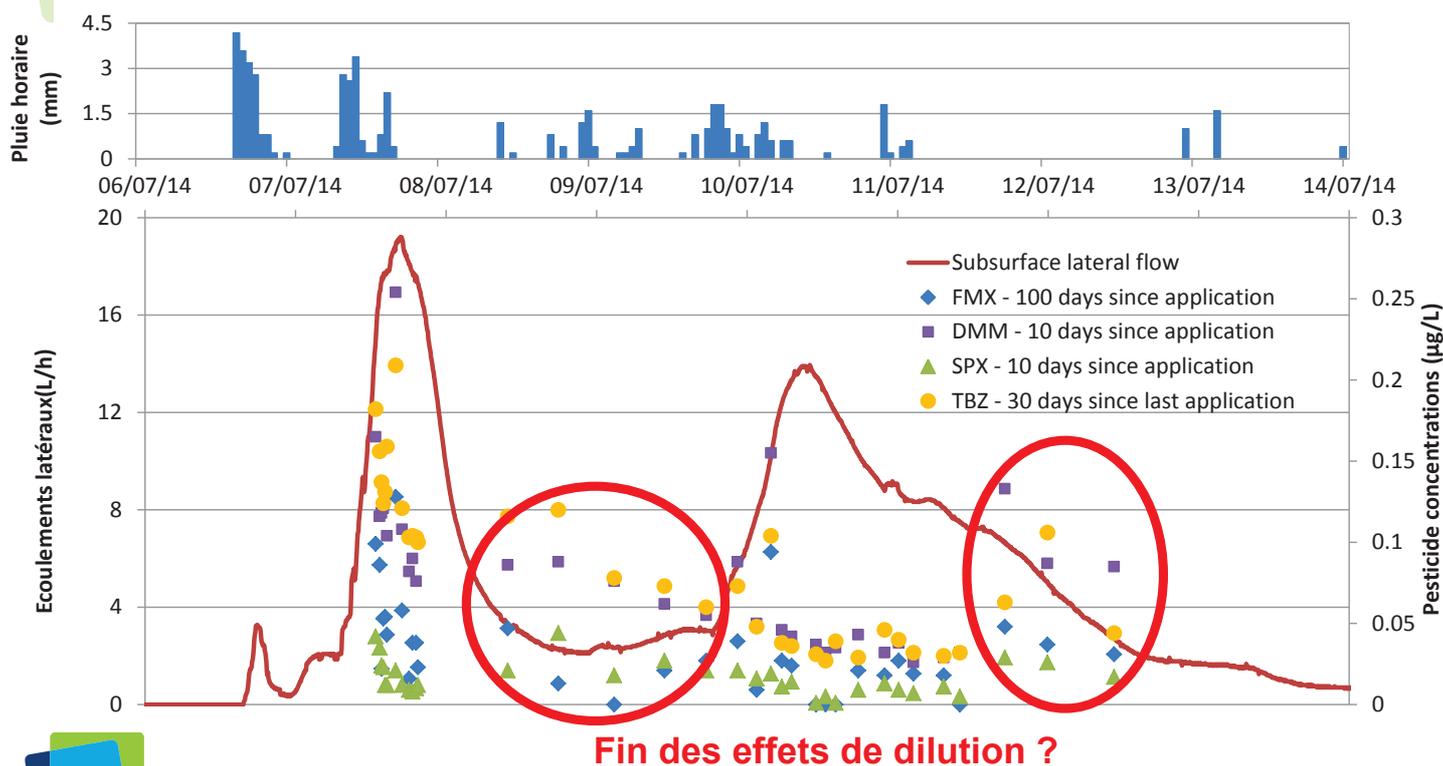
3. Résultats

B. Pesticides, dynamique des concentrations : échelle événementielle



3. Résultats

B. Pesticides, dynamique des concentrations : échelle évènementielle



3. Résultats

C. Export de pesticides à l'échelle de la parcelle et de l'évènement

Hypothèse forte : homogénéité des caractéristiques du sol

Extrapolation linéaire...

- Des flux latéraux interceptés...
- Des flux de ruissellement...

...à l'échelle de la parcelle

	Diméthomorphe (DMM)	Spiroxamine (SPX)
Appliqués 10 jours avant le début de l'évènement		
Export par ruissellement	0.25%	0.019%
Export par écoulements latéraux	0.0017%	0.00013%
Koc (mL/g)	408	1947

3. Résultats

C. Export de pesticides à l'échelle de la parcelle et de l'évènement

Hypothèse forte : homogénéité des caractéristiques du sol

Extrapolation linéaire...

- Des flux latéraux interceptés...
- Des flux de ruissellement...

...à l'échelle de la parcelle

	Diméthomorphe (DMM)	Spiroxamine (SPX)
	Appliqués 10 jours avant le début de l'évènement	
Export par ruissellement	0.25%	0.019%
Export par écoulements latéraux	0.0017%	0.00013%
Koc (mL/g)	408	1947

Retention effect



4. Conclusions

Observations hydrologiques à l'échelle du versant confirment celles à l'échelle du bassin versant

- Ruissellement du surface : débit important et bref
- Ecoulements latéraux : débit lent mais prolongé

Dynamiques des concentrations en pesticides à l'échelle du versant rejoignent les observations à l'échelle du bassin versant

- Concentration ruissellement >> concentrations écoulements latéraux
- Diminution globale des concentrations au cours de la saison
- Comportement des concentrations dans les écoulements latéraux

peuvent être reliés :

- aux processus hydrologiques
- aux caractéristiques des pesticides (Koc)

Meilleure compréhension du lien entre les phénomènes se produisant sur le versant et les conséquences à l'échelle d'un petit bassin versant



5. Perspectives

Poursuivre le suivi terrain pour enrichir nos observations et mieux comprendre les processus en jeu

Poursuivre l'analyse aux différentes échelles temporelles

Traçage en période très humide (éc. latéraux soutenus) : meilleure compréhension des processus en conditions contrôlées

Batch d'adsorption (stage A. Gimenez, mars/avril 2015)

Modélisation à l'échelle événement



Remerciements

Agence de l'eau RMC (financement)

Comité de Développement du Beaujolais (CDB)

Viticulteur : M. Patrick Bouland (Villié-Morgon)



**Evaluation des liens entre phylogénie et traits écologiques,
piste d'utilisation pour la bioindication des cours d'eau**

François KECK, INRA

Polluo-sensibilité et phylogénie

Nouvelles perspectives pour la bio-indication en
milieu aquatique

François Keck, Frédéric Rimet, Alain Franc, Agnès Bouchez

Introduction



Les diatomées sont reconnues comme de
bons bio-indicateurs

- Elles sont partout et faciles à échantillonner
- Réagissent à de nombreux facteurs et pollutions
- Les communautés évoluent rapidement
- Elle présentent une grande **diversité**...

Dictyoneidales
 Thalassiophysales
 Mastogloiales
 Rhopalodiales
 Cymbellales
 Eunotiales
 Surirellales
 Eupodiscales
 Achnanthales
 Bacillariales
 Naviculales
 Lyrellales

Gomphonemataceae
 Stauroneidaceae
 Amphipleuraceae
 Thalassiophysaceae
 Scolioneidaceae
 Diadesmidaceae
 Parodontellaceae
 Catenulaceae
 Berkeleyaceae
 Diploneidaceae
 Cymbellaceae
 Peroniaceae
 Brachysiraceae
 Dictyoneidaceae
 Sellaphoraceae
 Neidiaceae
 Phaeodactylaceae
 Achnanthidiaceae
 Achnanthaceae
 Rhoicospheniaceae
 Naviculaceae
 Rhopalodiaceae
 Anomoeoneidaceae
 Plagiotropidaceae
 Cocconeidaceae
 Eunotiaceae
 Scoliotropidaceae
 Mastogloiaceae
 Entomoneidaceae
 Proschkiniaceae
 Lyrellaceae
 Pinnulariaceae
 Cosmioneidaceae
 Auriculaceae
 Cavinulaceae
 Eupodiscaceae
 Bacillariaceae
 Pleurosigmataceae

L'identification à l'espèce est délicate

- Peu de gens sont formés
- Variabilité entre opérateurs
- Long
- Coûteux

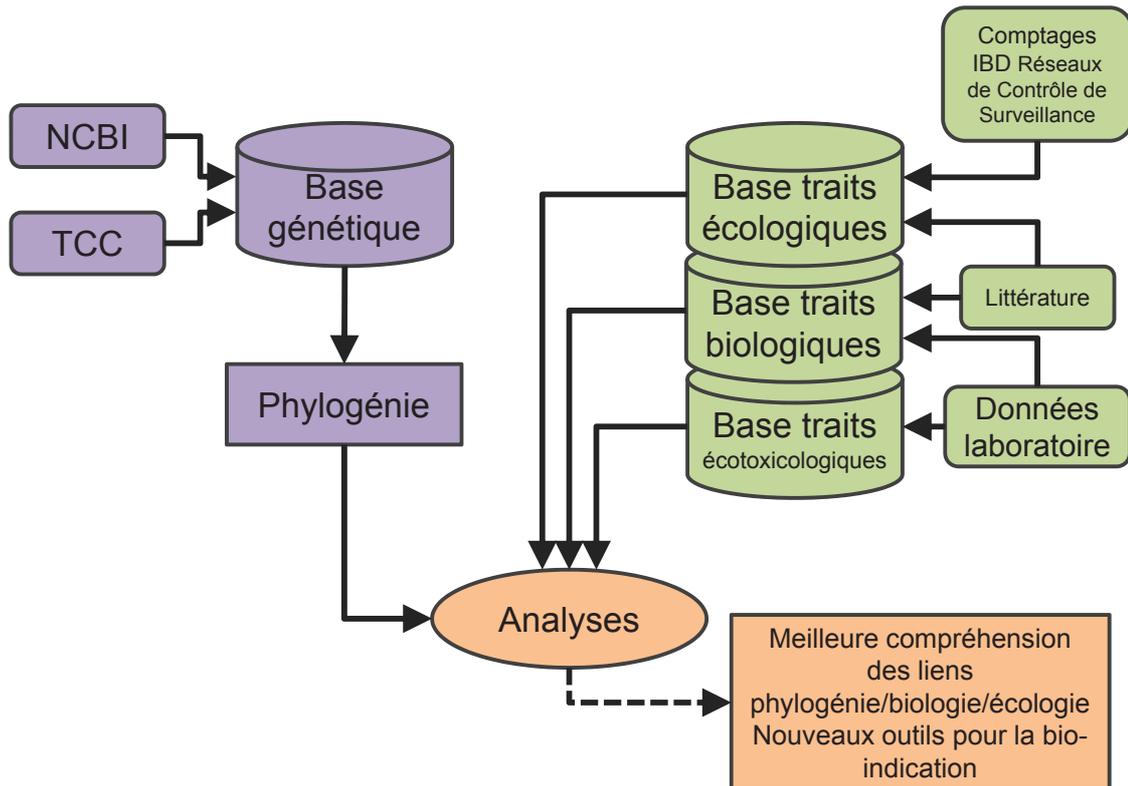
A-t-on vraiment besoin d'une identification à l'espèce ?
L'efficacité de la bio-indication semble augmenter faiblement lorsque la résolution taxonomique augmente.

Quel est le meilleur compromis entre précision taxonomique et qualité de bio-indication ?

À quel niveau faut-il choisir les taxons ?
Au niveau de l'espèce, du genre ou à un niveau taxonomique plus élevé ?

La phylogénie peut-elle nous aider ?

Bases de données



Base génétique

Deux marqueurs
Séq. génétiques
TCC and NCBI

ML reconstruction
1 seq/species selected

Phylogénie

18S

1236 seq.

422 taxa

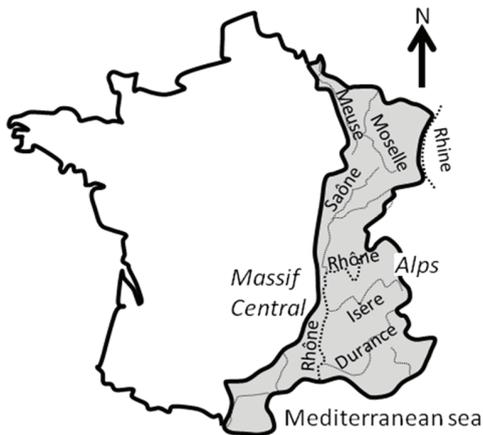
rbcl

1084 seq.

420 taxa

Base écologique

Données issue du biomonitoring sur les bassins Rhin-Meuse et Rhône-Méditerranée (de 2000 à 2008)



2119 échantillons

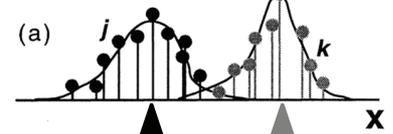
20 variables environnementales
(NO₃, PO₄, DOC, Na, BOD, pH,
température...)

909 taxa

Identifiés au niveau de l'espèce



Préférences
de chaque taxa
pour chaque
variable



Résultats

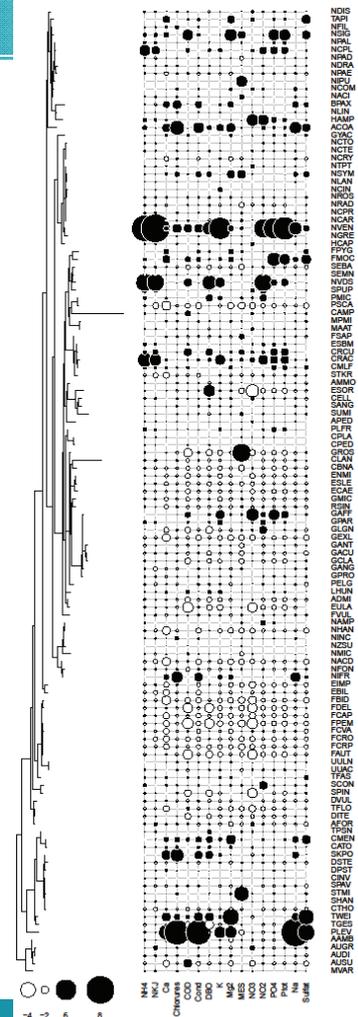
Mapping des données brutes

Phylogénie vs. moyennes
pondérées pour chaque variable

On peut identifier des plages sur
l'arbre et certaines tendances

On peut aussi quantifier et tester
cette structuration (i.e. signal
phylogénétique)

Species position
on the gradient



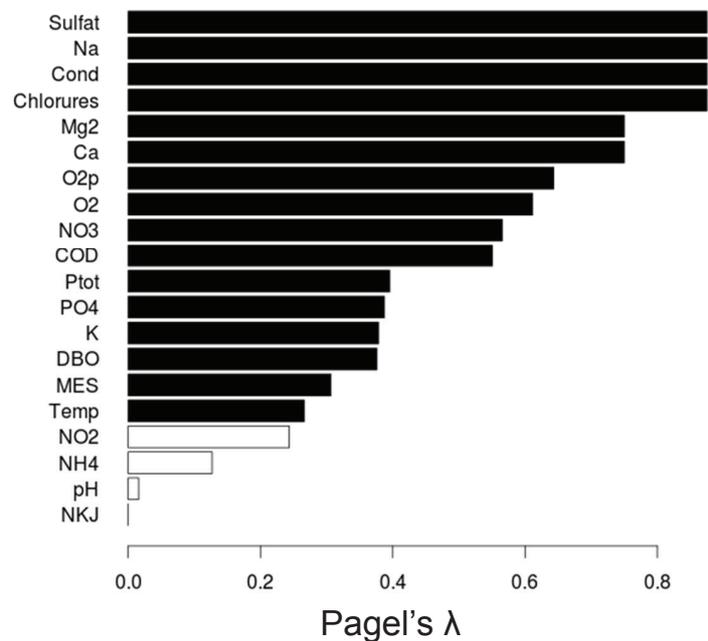
Résultats

Signal sur les données brutes

Signal phylogénétique : présent pour un trait si deux espèces proches d'un point de vue phylogénétique ont tendance à plus se ressembler que deux espèces prises au hasard.

Plusieurs méthodes pour le tester

- Blomberg's K,
- Abouheif 's Cmean,
- Pagel's lambda



Résultats

Phylogenetic Principal Component Analysis pPCA (Jombart et al. 2010)

Détecte des combinaisons de traits autocorrélés dans une phylogénie

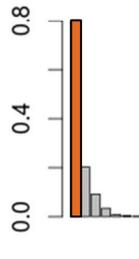
Le score d'une espèce dépend :

- des préférences écologiques de l'espèce
- des similarités de préférence avec ses voisines

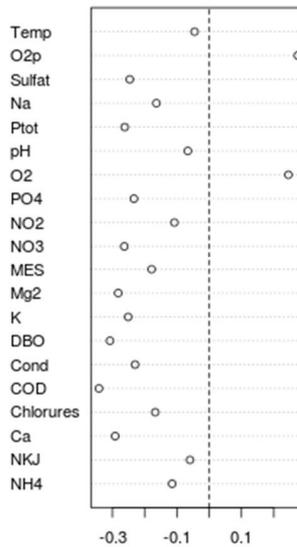
Résultats

The first axis reflects a gradient of *water quality*

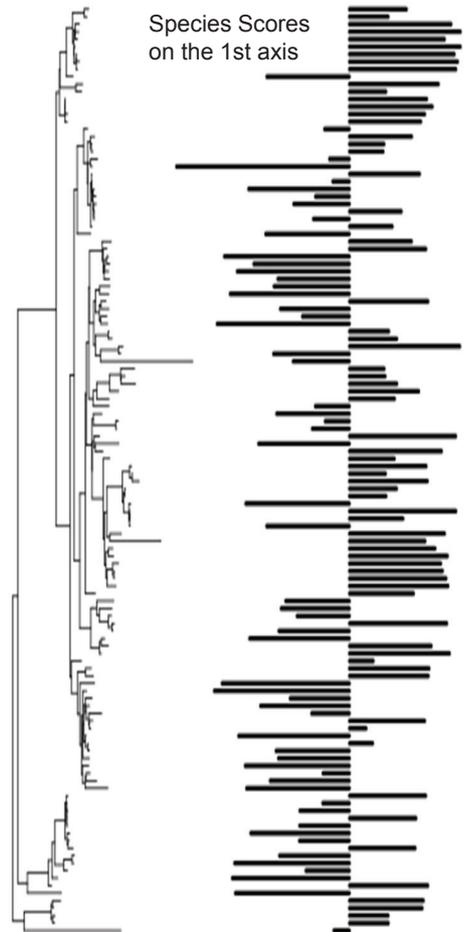
1st axis



Loadings for the 1st axis



Species Scores on the 1st axis

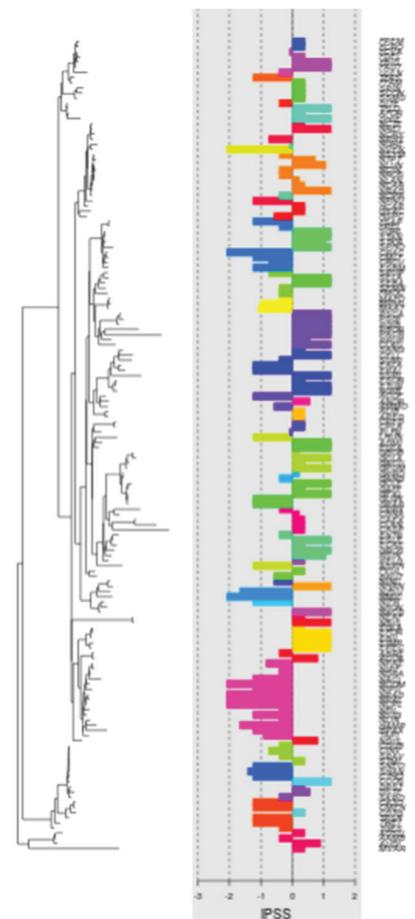
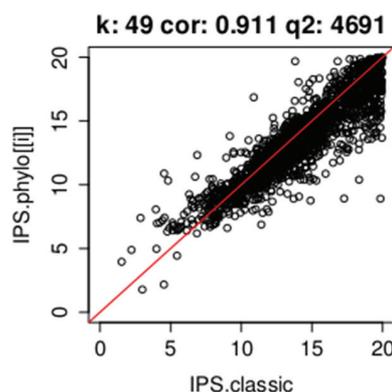


La suite...

Extraction de clusters d'espèces proches écologiquement et phylogénétiquement

Développement de nouveaux indices

Tests et validation



**Développement de méthodes d'analyse de médicaments et
des métabolites de ces médicaments dans les organismes
(gastéropodes)**

Alexandra BERLIOZ BARBIER, ISA CNRS

Développement de méthodologies innovantes basées sur la nanochromatographie pour l'étude de l'accumulation et de la transformation de polluants émergents chez des invertébrés aquatiques d'eau douce

Alexandra BERLIOZ-BARBIER – Audrey BULETE - Dr. Emmanuelle VULLIET



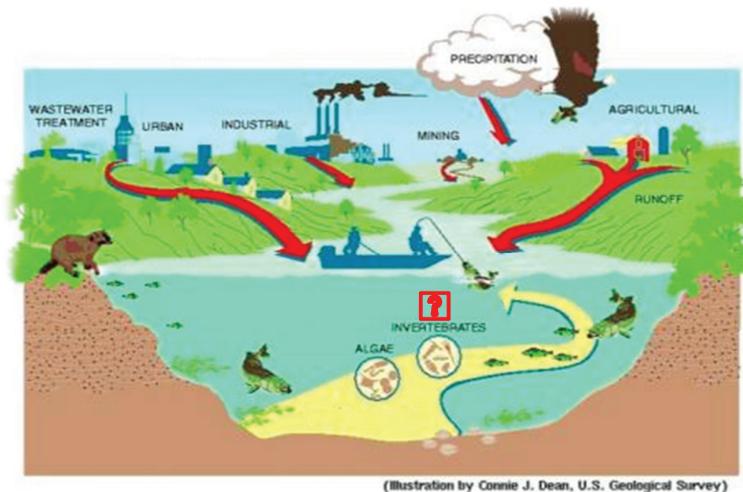
Sommaire

- ❖ Introduction et objectifs
- ❖ Etude de la bioaccumulation
- ❖ Résultats des campagnes d'exposition
- ❖ Approche métabolomique
- ❖ Conclusions et perspectives

Introduction et objectifs

○ Contexte national et international

- Production et utilisation croissante de produits chimiques et médicamenteux:
 - Dissémination de substances variées dans l'environnement
 - **Pollution des écosystèmes aquatiques**



Introduction et objectifs

○ Contexte national et international

- Mise en place d'actions préventives et correctives:
 - Directive Européenne Cadre sur l'Eau (2000/60/CE)
 - Directive fille (2008/105/CE)
 - Proposition de directive révisée du Parlement européen et du Conseil sur les substances prioritaires dans le domaine de l'eau (2011/876)
- ➔ **Normes de qualité environnementale pour le biote obligatoires pour des substances prioritaires ET bientôt élargies aux polluants émergents**

Introduction et objectifs

○ Objectifs du projet

- Développement de nouveaux outils permettant l'étude de la **bioaccumulation** et de la **biotransformation** de contaminants organiques chez les invertébrés aquatiques d'eau douce



Mollusque

Potamopyrgus antipodarum



Crustacé

Gammarus fossarum



Larve d'insecte

Chironomus riparius

➔ **Evaluation de l'impact des effluents de STEP sur les écosystèmes aquatiques**

Etude de la bioaccumulation

○ Choix des polluants d'intérêts

• 2 alkylphenols



• 7 hormones



• 20 médicaments:

Antidépresseurs AINS Antibiotiques
Agents hypolipémiant Anticonvulsivant
Anticancéreux Antiarythmiques
Corticostéroïdes Antirétroviral



• 2 composés perfluorés



• 1 filtre UV



• 2 pesticides:

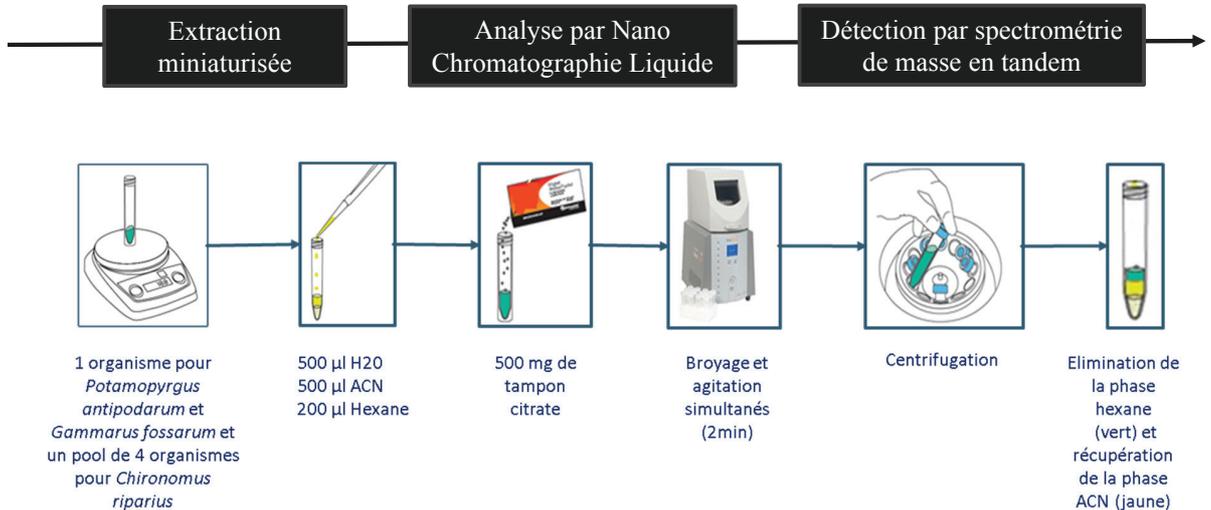


• 1 plastifiant



Etude de la bioaccumulation

○ Stratégie analytique



Etude de la bioaccumulation

○ Stratégie analytique



Nanochromatographie:
Nano Ultimate3000 (Thermo Fisher®)



↻ Séparation des composés ciblés

Spectromètre de masse:
Qtrap 5500 (ABSciex®)

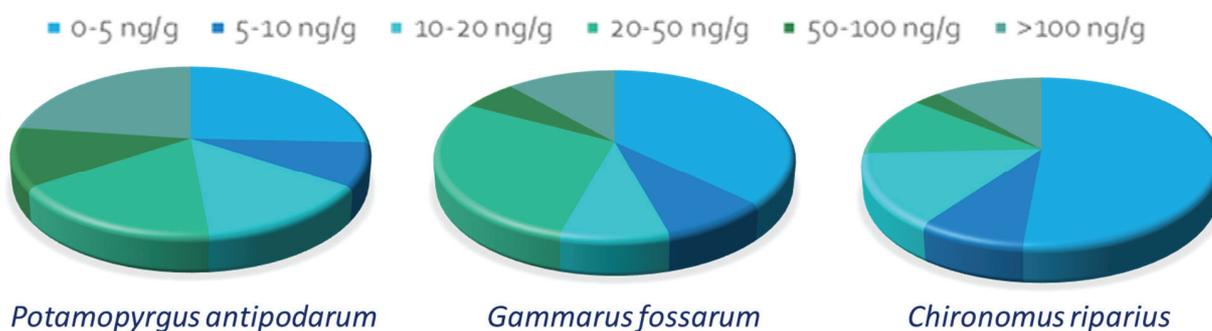


↻ Détection et quantification

Etude de la bioaccumulation

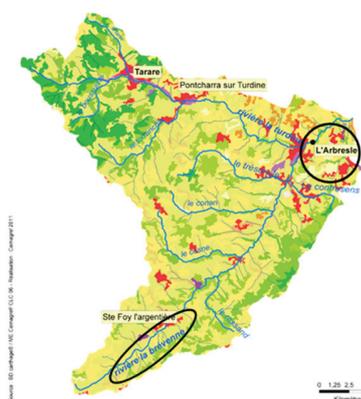
○ Performances analytiques

	Rendement d'extraction (%)	Répétabilité (RSD%)	LOQ (ng/g poids frais)
<i>Potamopyrgus antipodarum</i>	47 - 96	0,3 – 14,7	0,9 – 490,8
<i>Gammarus fossarum</i>	50 - 120	0,5 – 10,1	0,5 – 296,1
<i>Chironomus riparius</i>	39 - 117	0,3 – 12,8	0,3 – 411,5



Résultats des campagnes d'exposition

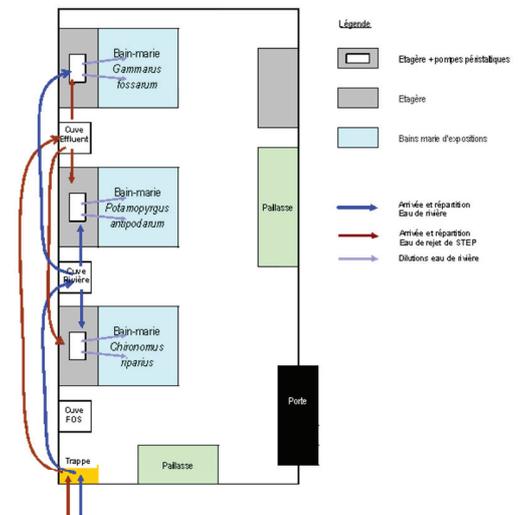
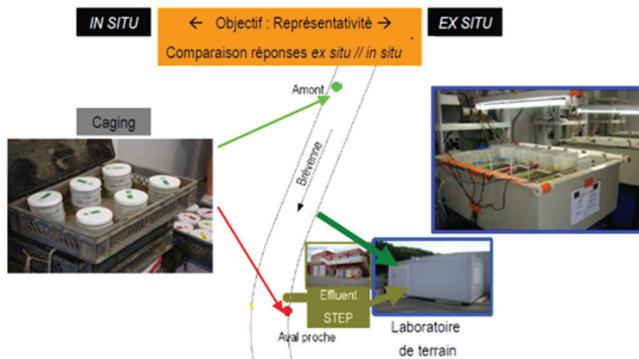
○ Le site d'étude



- **Caractéristiques du bassin versant:**
 - une superficie de 440 km²
 - 49 communes (66000 habitants)
 - présence de nombreuses pressions polluantes (agricoles, industrielles, routières et urbaines)
- **Caractéristiques de la STEP de l'Arbresle:**
 - 12400 équivalent habitant
 - capacité épuratoire DBO5 de 827 kg/j
 - capacité hydraulique 3898 m³/j
 - 4 communes et plusieurs industries raccordées

Résultats des campagnes d'exposition

Le dispositif expérimental



↳ 2 saisons: été et automne

3 conditions ont été définies:

- 100% eau de la rivière
- 50% d'effluent et 50% eau de rivière
- Eau issue du laboratoire de l'élevage

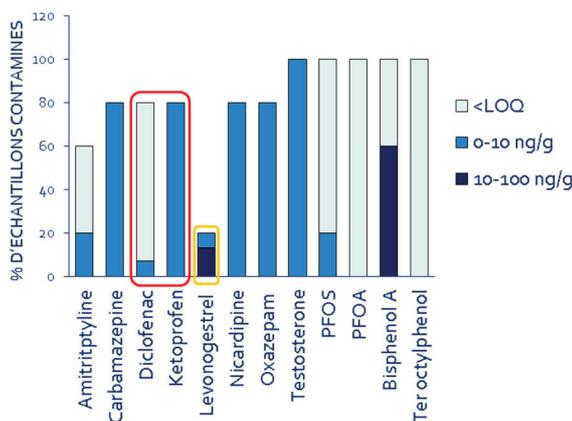
Résultats des campagnes d'exposition

Chironomus riparius:



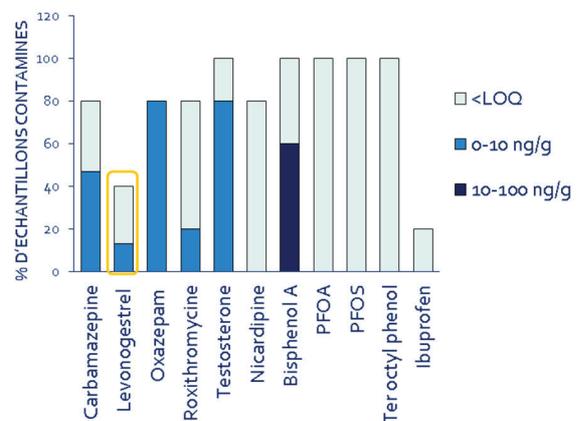
Eté

12 composés ont été détectés



Automne

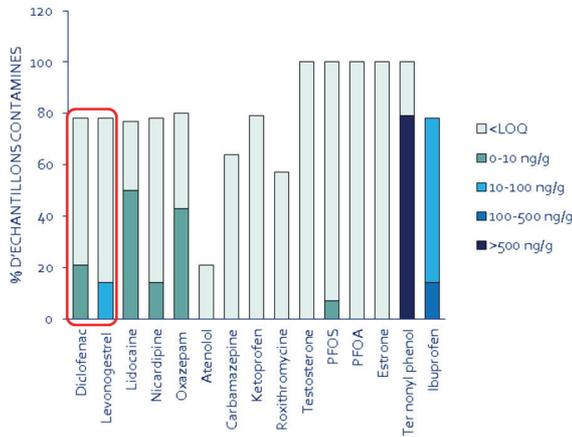
12 composés ont été détectés



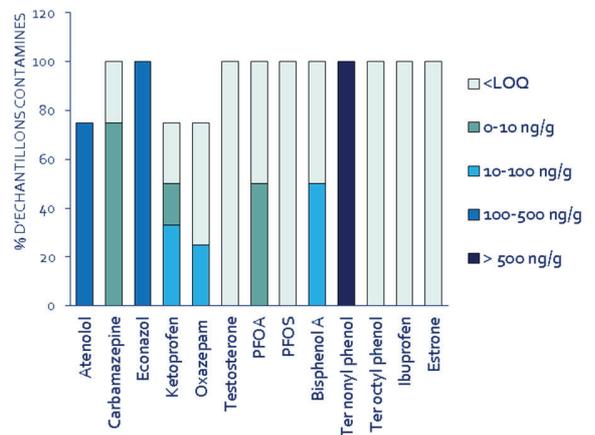
↳ Contamination qualitativement et quantitativement différente en fonction des saisons

Résultats des campagnes d'exposition

• *Gammarus fossarum*:



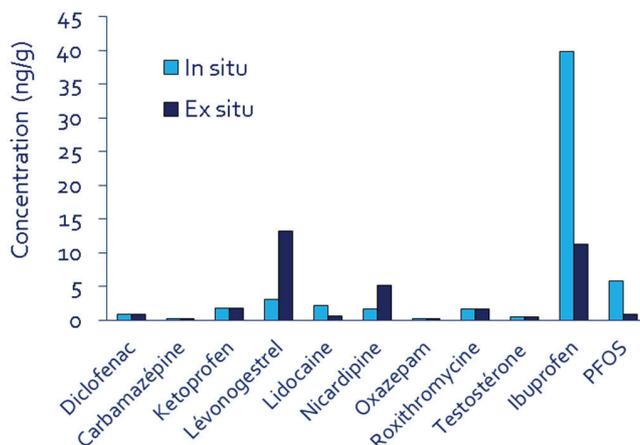
• *Potamopyrgus antipodarum*:



↳ Diversité de réponse inter-espèces

Résultats des campagnes d'exposition

• *Gammarus fossarum*:



➔ Des différences significatives pouvant ouvrir la discussion sur la difficulté à reproduire les conditions *in situ* en laboratoire.

➔ Mise en œuvre d'une stratégie métabolique pour mieux comprendre les diversités de réponse observées lors de l'approche ciblée

Approche métabolomique

- Définition de Fiehn et al. (Nat. Biotechnol., 18, 1157-61 (2000))

Identification et quantification exhaustives et non sélectives de tous les métabolites d'un système biologique

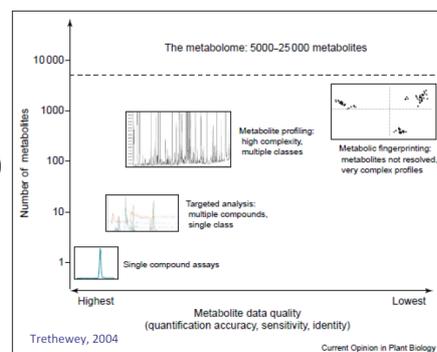
- L'analyse du métabolome

Molécules de faible poids moléculaire (< 1500 Da)

Métabolites primaires et secondaires

Gammes dynamiques de variables

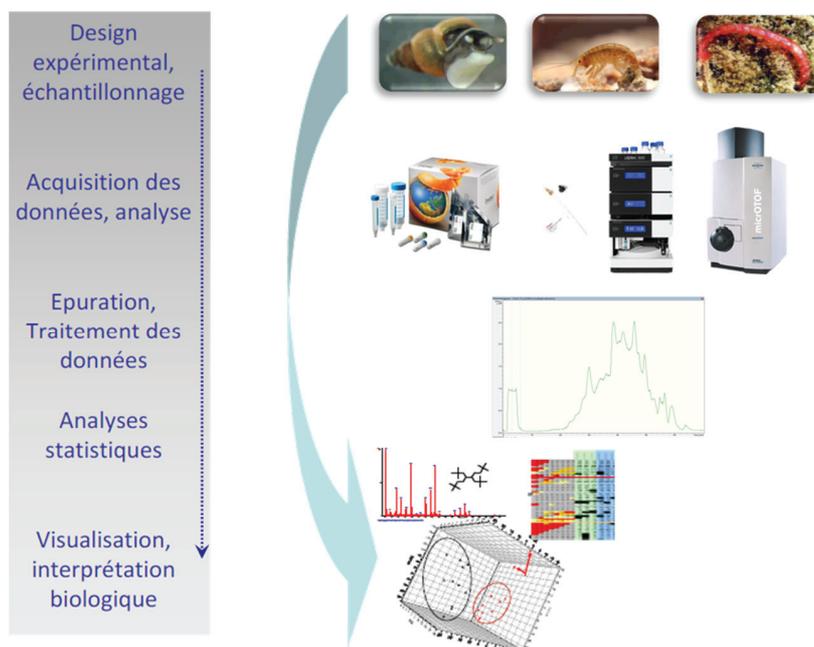
Grande diversité de propriétés physico-chimiques



La plateforme analytique de type NanoLC-HRMS est parfaitement adaptée à l'étude du métabolome

Approche métabolomique

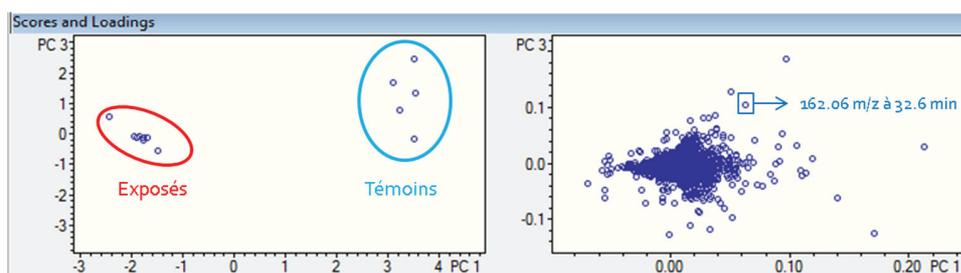
„...la métabolomique, pas une technique, une démarche analytique et chimiométrique“



Approche métabolomique

- *Chironomus riparius*:

- Etude métabolomique des organismes exposés en automne vs organismes témoins

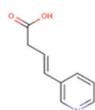


Analyse en composantes principales

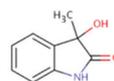
Approche métabolomique

- *Chironomus riparius*:

- Génération des formules brutes possibles à partir de la masse exacte
 - 2 critères à respecter: la précision sur la masse monoisotopique (<5ppm) et la correspondance du profil isotopique expérimental par rapport au profil théorique
- Vérification de la viabilité des formules proposées
- Interrogation des bases de données
- Pour l'exemple de la masse exacte 162.0625 Da
 - Formule proposée : $C_9H_8NO_2$
 - S'il s'agit d'un adduit de type $[M-H]^- \rightarrow C_9H_9NO_2$
 - Après interrogations de la base de donnée HMDB



Acide 4-(3-Pyridyl)-3-butenoïque



3-Methyldioxyindole

Conclusions

- Optimisation d'un couplage Nano LC-MS/MS pour la détection et la quantification de 35 polluants émergents dans 3 invertébrés benthiques
- Etudes d'échantillons réels permettant d'entrevoir:
 - La pertinence des outils biologiques pour évaluer l'impact des rejets de STEP
 - La complémentarité des espèces sentinelles (diversité de réponse inter-espèce)
 - La complémentarité des approches *ex situ* et *in situ* et leurs limitations
- Mise en œuvre d'un couplage NanoLC-HRMS pour la réalisation d'études métabolomiques
 - Mise en évidence de plus de 20 composés discriminants entre les organismes témoins et les organismes exposés chez *Chironomus riparius*

Perspectives

- Mise en œuvre de la stratégie métabolomique pour les deux autres espèces sentinelles
 - Comparaison des facteurs discriminants
- Corrélation effets/bioaccumulation/biotransformation en partenariat avec les écotoxicologues de l'IRSTEA

**Réponses physiologiques à une pollution d'origine
anthropique chez des organismes sentinelles et
conséquences sur la qualité de l'eau des nappes
phréatiques**

Mathilde PIGNERET, UMR 5023 LEHNA
Equipe Ecologie, Evolution, Ecosystèmes Souterrains

Réponses physiologiques à une pollution d'origine anthropique chez des organismes sentinelles et conséquences sur le fonctionnement des bassins d'infiltration et la qualité de l'eau des nappes phréatiques

Présenté par
Mathilde Pigneret

Encadrants:
Frédéric HERVANT
Damien ROUSSEL
Florian MERMILLOD-BLONDIN



SEMINAIRE DOCTORANTS ZABR

2 MARS 2015 - LYON (69)

Introduction



En Europe \approx 75 % de l'eau potable provient des nappes phréatiques (*Gibert, 2001*)

SEMINAIRE DOCTORANTS ZABR

2 MARS 2015 - LYON (69)



Milieu urbain
 ↓
 Retour à la nappe
 difficile
 (surfaces imperméables)

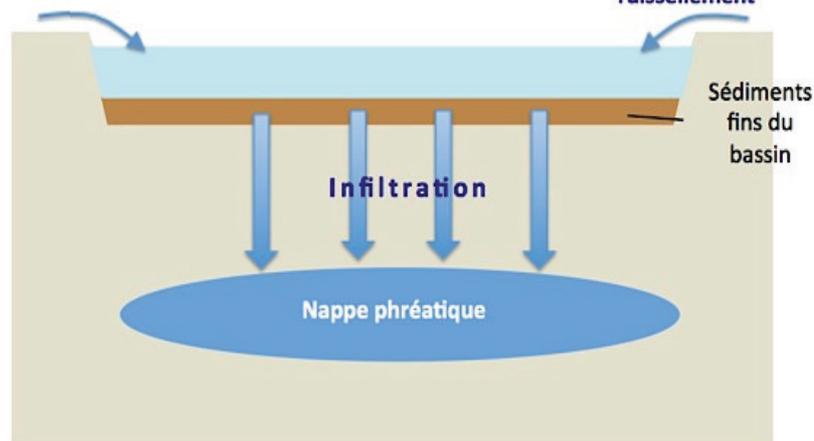
**Importance des structures de collecte et
 de réinfiltration des eaux de ruissellement
 =
 Bassin d'infiltration**



Bassin d'infiltration (Bron)



Eau de pluie

Eau de
ruissellement

Bassin d'infiltration

=
fonction de
détoxication



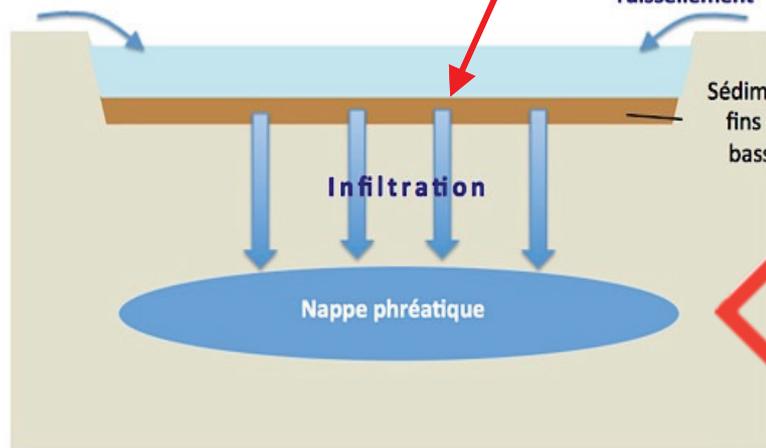
Eau de pluie

Pollution

(hydrocarbures, métaux lourds)



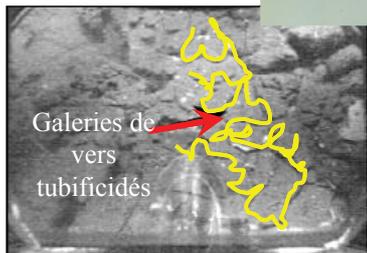
Eau de ruissellement



Sédiments fins du bassin

Infiltration

Nappe phréatique



Galeries de vers tubificidés



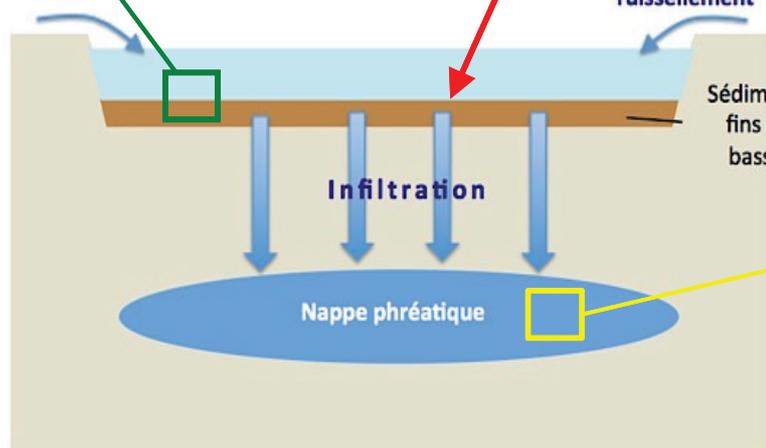
Pollution

(hydrocarbures, métaux lourds)



Eau de pluie

Eau de ruissellement



Sédiments fins du bassin

Infiltration

Nappe phréatique



Problématiques:

- ① Quelles sont les réponses physiologiques développées par les organismes peuplant les bassins d'infiltration et les nappes, face aux polluants?
- ② Quel est l'impact des polluants sur le rôle de ces organismes?

Modèles biologiques

Sédiments du bassin

Limnodrilus hoffmeisteri



- Espèce polluo-résistante
- Organisme ingénieur (galeries)
- Influence sur infiltration
(Nogaro & Mermillod-Blondin, 2009)



Acteur essentiel du bassin d'infiltration

Nappe phréatique

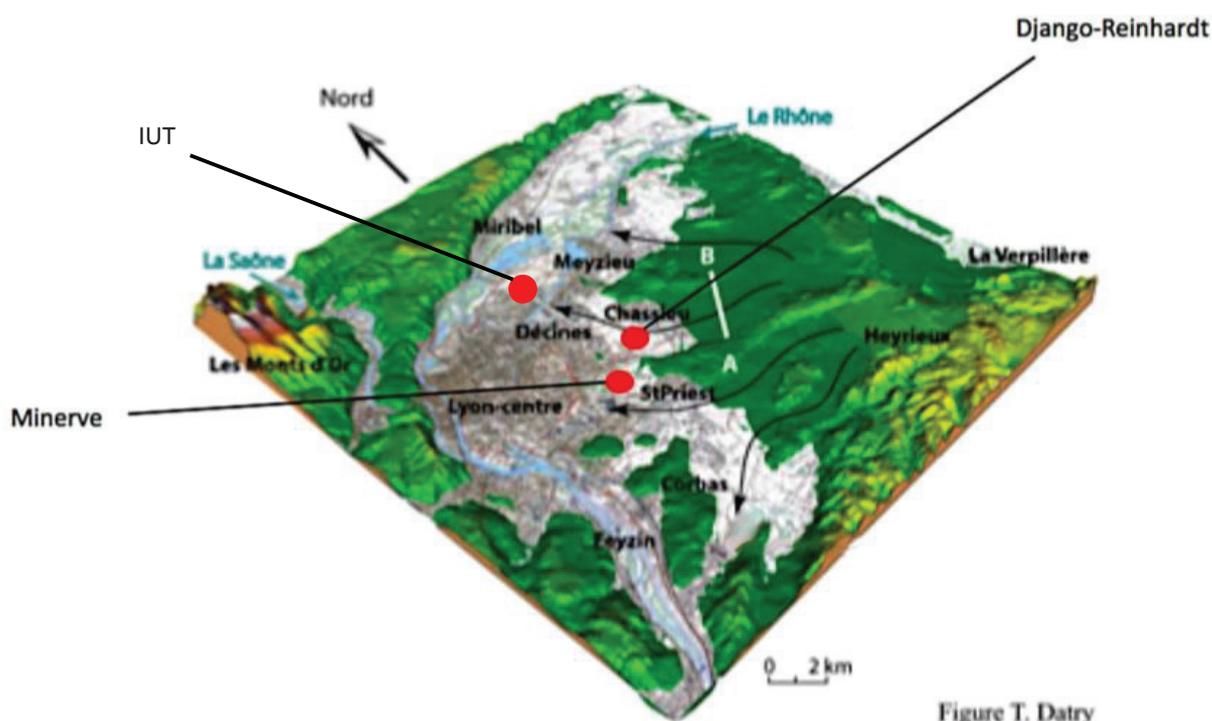
Niphargus rhenorhodanensis



- Bioaccumulation des polluants atteignant la nappe (Plénet S., 1995)
- Déjà utilisés comme bioindicateur (Marmonier et al., 2013)



Espèce bioindicatrice de la nappe phréatique

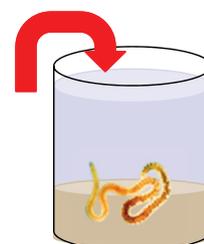


Récupération des sédiments de différents bassins + eau des nappes

- *Limnodrilus hoffmeisteri*

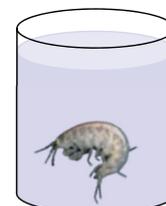
Vers naïfs placés :

- pendant 6 mois dans les sédiments de différents bassins d'infiltration + sédiment propre (témoin)
- pendant 6 mois dans du sédiment propre contenant un ou plusieurs polluants très représentatifs et marqués

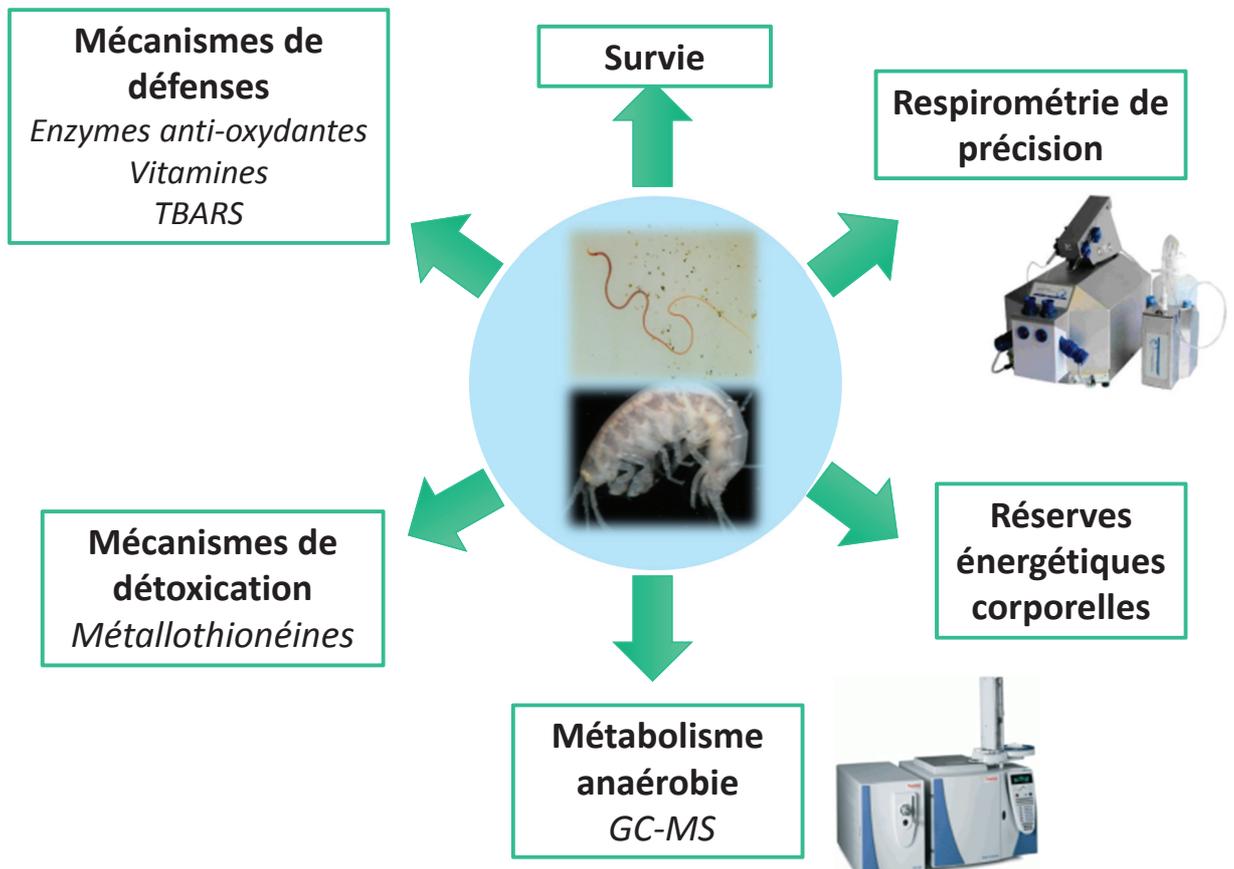


- *Niphargus rhenorhodanensis*

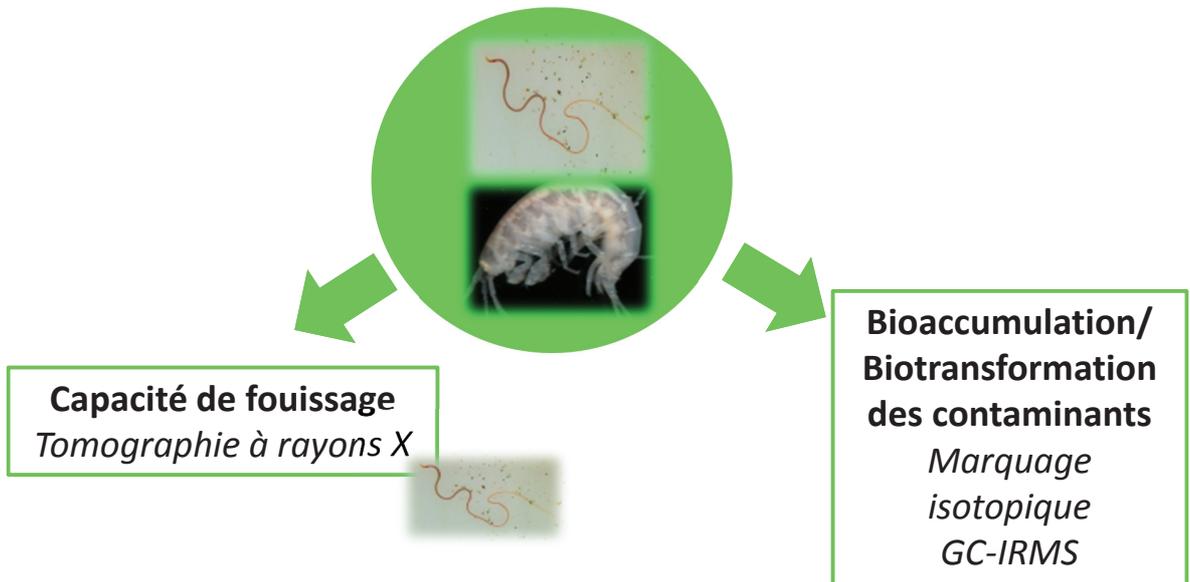
Crustacés naïfs placés pendant 6 mois dans de l'eau phréatique (nappe sous-jacente aux bassins d'infiltration) ou de l'eau reconstituée (témoin)



① Quelles sont les réponses physiologiques développées par les organismes souterrains face aux polluants?



② Quel est l'impact des polluants sur le rôle de ces organismes?



Merci de votre attention.



**Diversité microbienne dans les nappes phréatiques :
influence de la connectivité hydrologique sur le transfert et
le développement de bactéries pathogènes pour l'Homme**

Jérémy VOISIN, CNRS UMR 5023 LEHNA

Utilisation de substrats artificiels pour la caractérisation des communautés microbiennes dans les nappes phréatiques : Mise au point méthodologique

Jérémy Voisin

UMR 5023 LEHNA (F. Mermillod-Blondin)
UMR 5557 Ecologie Microbienne (B. Cournoyer)



SEMINAIRE DOCTORANTS ZABR

2 MARS 2015 - LYON (69)

Contexte

Urbanisation =
Imperméabilisation



Evénement pluvieux =>
Ruissellement



Collecte des eaux de
ruissellement

Bassin de
rétention/infiltration



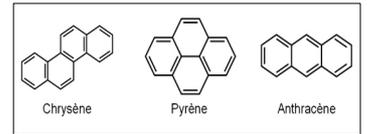
SEMINAIRE DOCTORANTS ZABR

2 MARS 2015 - LYON (69)

Problématique



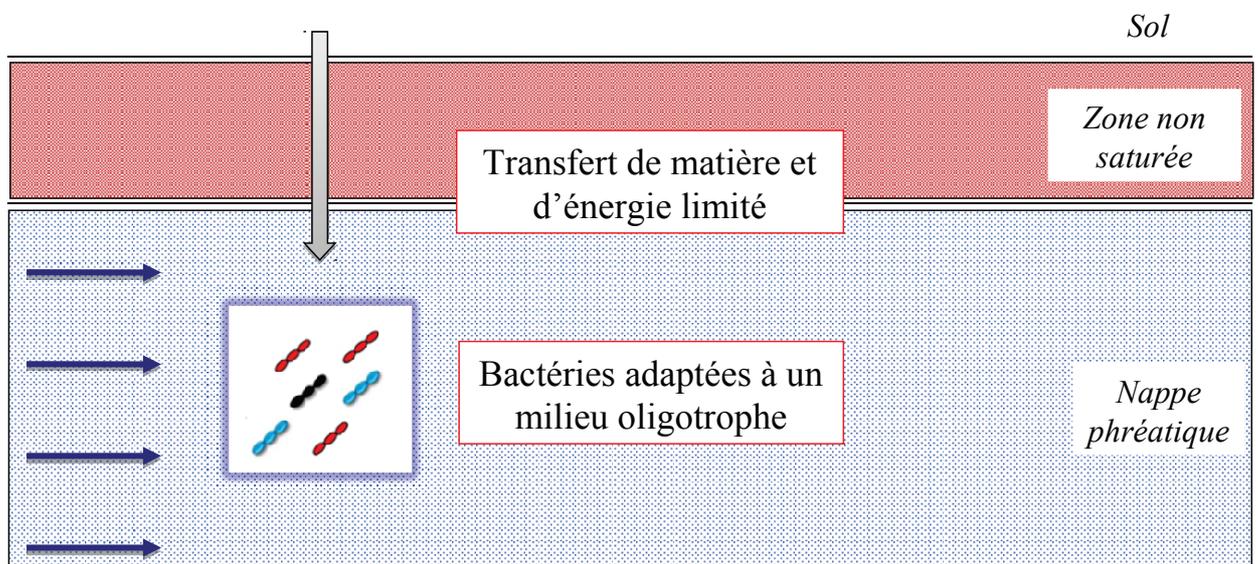
[Polluants]
[Bactéries]



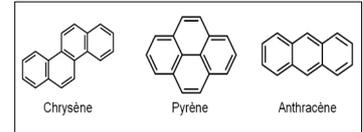
Dont bactéries pathogènes

Sébastien *et al.* 2014

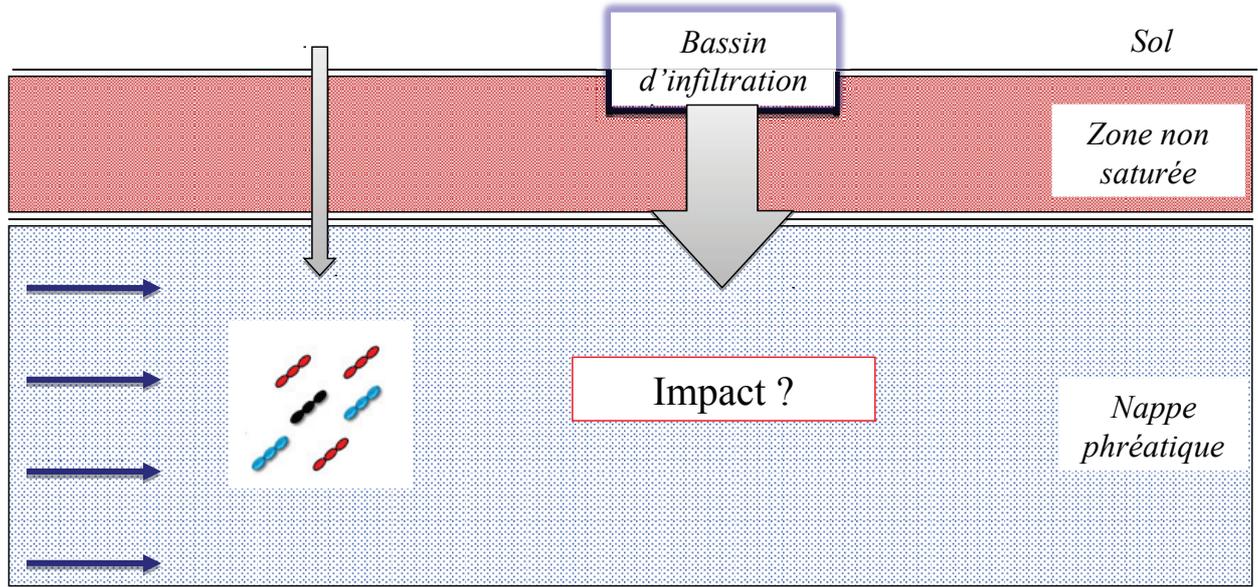
Problématique



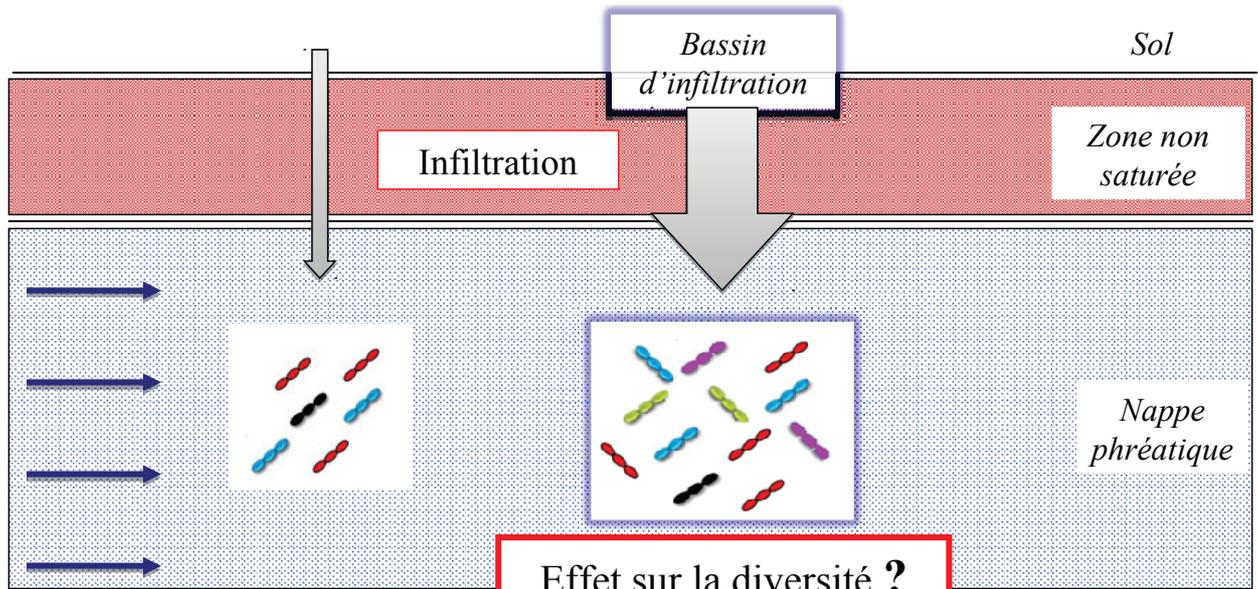
Problématique

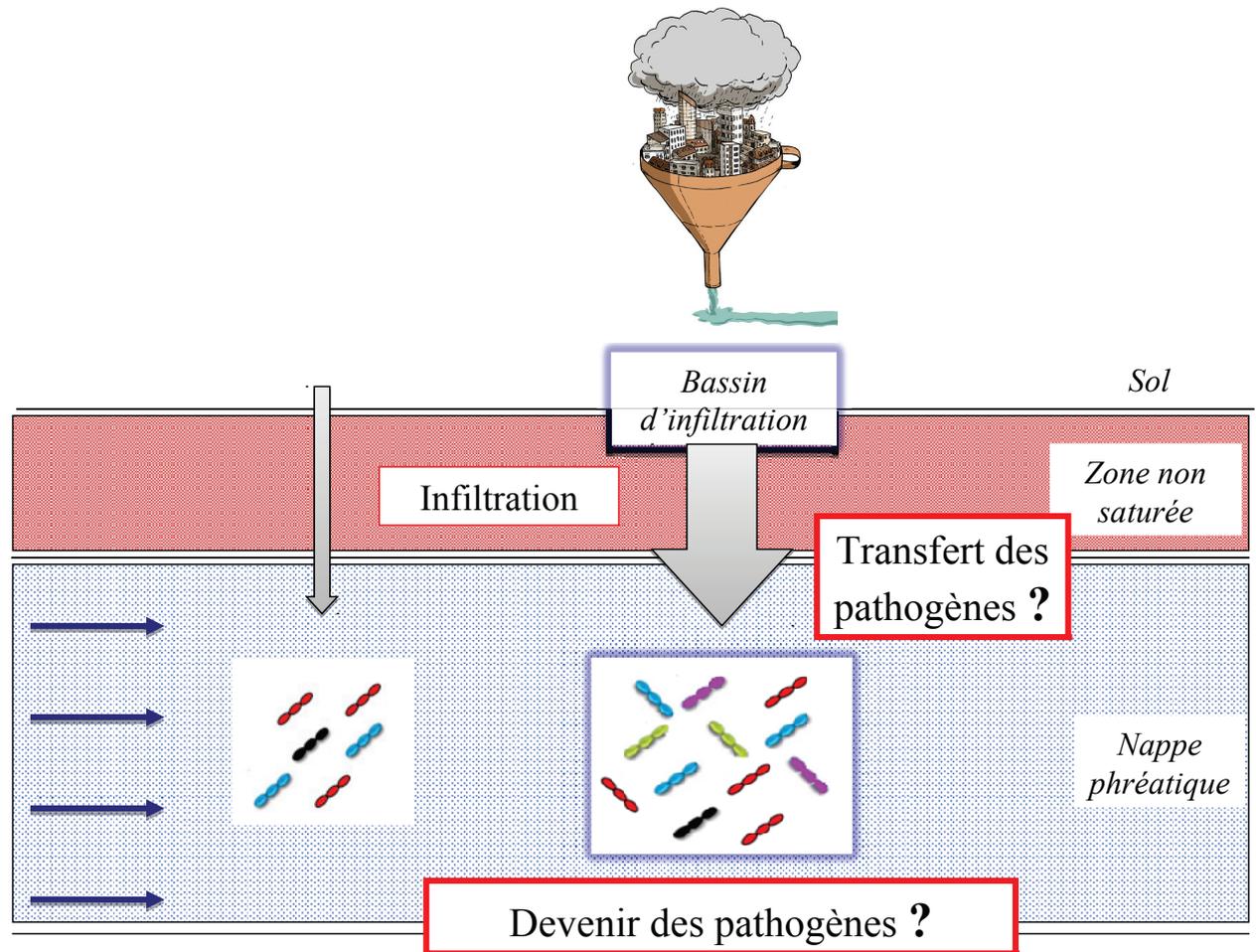


Matières organiques, polluants
et bactéries pathogènes



Problématique





Axes de la thèse

Axe 1 : optimiser l'échantillonnage des bactéries dans les nappes phréatiques

Axe 2 : étude *in situ* de la diversité microbienne dans des nappes phréatiques impactées par une recharge artificielle en eau

Axe 1 : optimiser l'échantillonnage des bactéries dans les nappes phréatiques

Axe 2 : étude *in situ* de la diversité microbienne dans des nappes phréatiques impactées par une recharge artificielle en eau

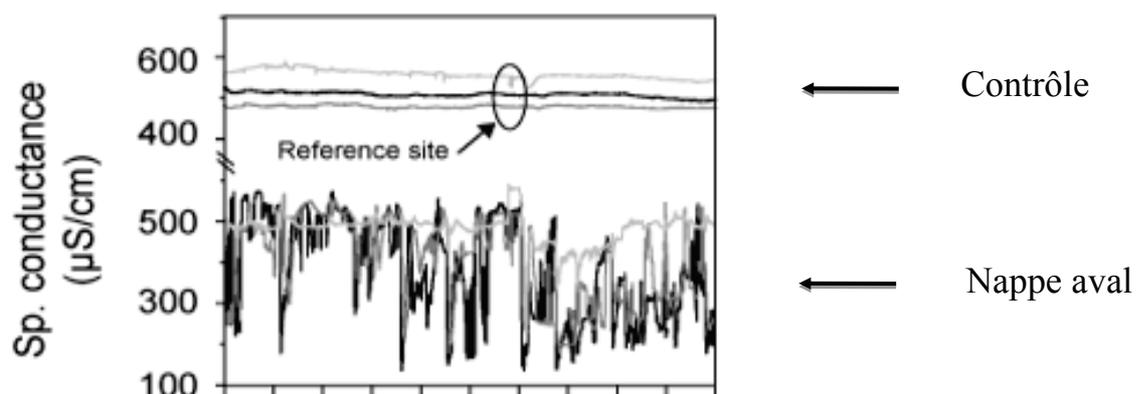
Stratégies d'échantillonnage

Nappe phréatique = **habitat difficilement accessible**

Echantillonnage actif :

Eau de nappe (par pompage)

- Bactéries « libres » = estimation biaisée de l'abondance et diversité
- Nappes phréatiques impactées = systèmes dynamiques



Nappe phréatique = **habitat difficilement accessible**

Echantillonnage actif :

Eau de nappe (par pompage)

- Bactéries « libres » = estimation biaisée de l'abondance et diversité
- Nappes phréatiques impactées = systèmes dynamiques

Autre solution :

Matrice solide = sédiments de la nappe

- Trop difficile à mettre en place sur nappes profondes (ZNS > 5 m)

Échantillonnage passif :

Incubation de **substrats artificiels** dans la nappe = **surface disponible** pour l'adhésion et la croissance des micro-organismes sous forme de biofilm

- Echantillonnage des communautés bactériennes dans le temps
- Diminution de la variabilité
- Coût faible, facile à mettre en œuvre (sur sites déjà équipés de piézomètres)

Technique retenue

Le plus : Substrats artificiels = outils d'évaluation de la qualité trophiques des nappes ?
Car biofilm = bio-indicateur de l'état trophique des nappes

Mermillod-Blondin *et al.* 2013

Influence de la taille du substrat artificiel

Axe 1 : optimiser l'échantillonnage des bactéries dans les nappes phréatiques

Influence de la taille du substrat artificiel

Influence de la nature du substrat artificiel

Capacité du substrat artificiel à piéger des pathogènes

Influence de la taille du substrat artificiel

Axe 1 : optimiser l'échantillonnage des bactéries dans les nappes phréatiques

Influence de la taille du substrat artificiel

Influence de la nature du substrat artificiel

Capacité du substrat artificiel à piéger des pathogènes

Dispositif expérimental

Expériences de laboratoire

Aquariums

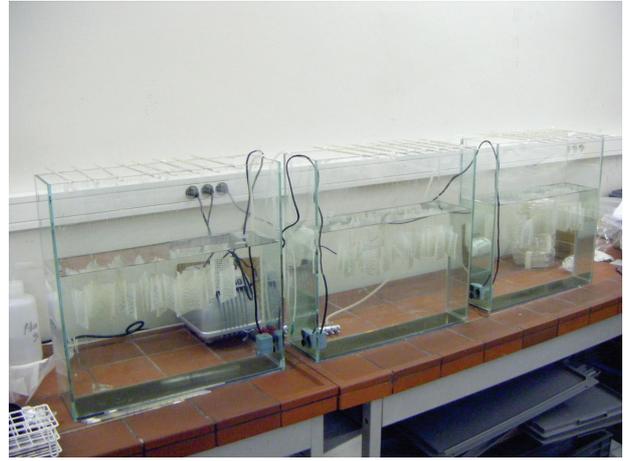
Incubation des supports = 15 jours

3 matériaux :

- Billes d'argile
- Gravier
- Billes de verre

Pour chaque matériel : **test de 4 diamètres**

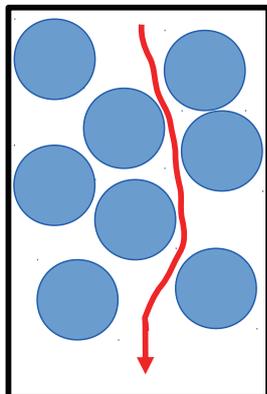
– 4, 6, 8 et 10 mm



Influence de la taille du substrat-Hypothèse

Les flux d'eau ont un rôle important dans la formation et la stabilité du biofilm (Gomes *et al.* 2014)

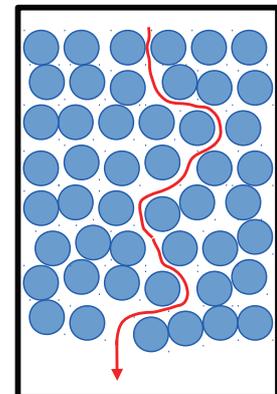
Diamètre des billes élevé



Flux important entre les billes

Biofilm +++

Diamètre des billes faible



Flux faible entre les billes

Biofilm +

Figures masquées car en cours de publication

Mesure de la biomasse du biofilm (quantification des protéines totales)

Figures masquées car en cours de publication

Effet significatif du diamètre sur la quantité de protéines totales

Développement du biofilm plus efficace quand le diamètre du substrat augmente

Figures masquées car en cours de publication

Effet significatif du diamètre sur la quantité de protéines totales

Développement du biofilm plus efficace quand le diamètre du substrat augmente

Choix du diamètre 8

Influence de la nature du substrat artificiel

Axe 1 : optimiser l'échantillonnage des bactéries dans les nappes phréatiques

Influence de la taille du substrat artificiel



Influence de la nature du substrat artificiel

- Sur la diversité
- Sur la biomasse
- Sur l'activité

Capacité du substrat artificiel à piéger des pathogènes

Dispositif expérimental

Expériences de laboratoire

Aquariums

Renouvellement des eaux



Incubation des supports = 28 jours

3 matériaux (diamètre de 8 mm) :

- Billes d'argile
- Gravier
- Billes de verre

3 eaux : sites OTHU

- Eaux usées (DO de Grézieu-la-Varenne)
- Eau de surface (BR de Django Reinhardt)
- Eau de nappe (Nappe aval BI de Django Reinhardt)

Influence de la nature du substrat artificiel

Axe 1 : optimiser l'échantillonnage des bactéries dans les nappes phréatiques

Influence de la taille du substrat artificiel



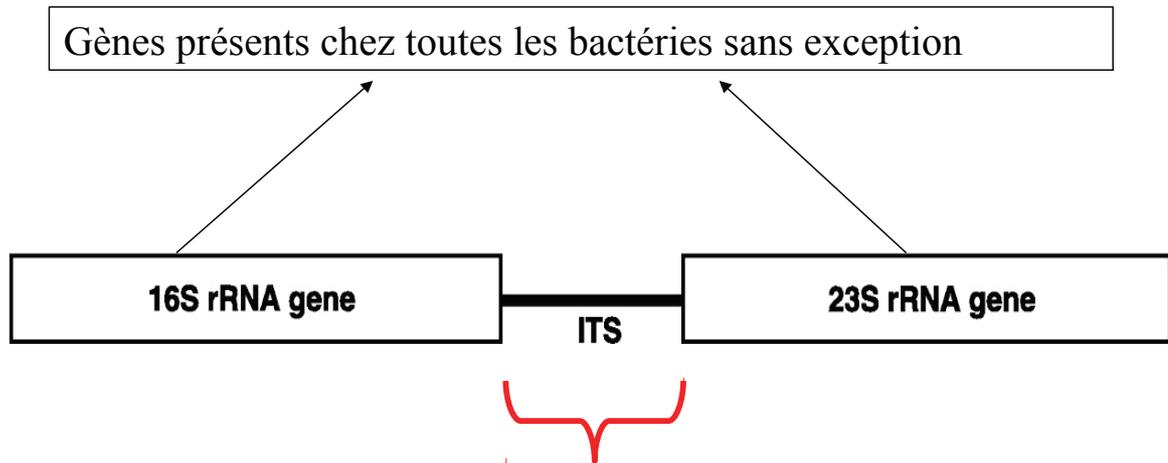
Influence de la nature du substrat artificiel

- **Sur la diversité**
- Sur la biomasse
- Sur l'activité

Capacité du substrat artificiel à piéger des pathogènes

Influence de la nature du substrat : Diversité (ARISA)

ARISA : Automated Ribosomal Intergenic Space Analysis
(Fisher & Triplett, 1999)



Taille variable en fonction des espèces bactériennes

Amplification des ITS d'un échantillon = obtention d'un « code barre »

Comparaison des « codes barres »

Influence de la nature du substrat : Diversité (Résultats)

Figure masquée car en cours de publication

3 clusters bien distincts pour les 3 eaux utilisées

Similarité moyenne eau de nappe/substrats $\approx 55\%$

Similarités inter-substrats $N \approx 70\%$

EU $\approx 66\%$

S $\approx 49\%$

=> Similarité assez importante entre les substrats

=> Pas de regroupement bien défini pour chaque substrat

Substrats équivalents ?

D'autres analyses sur la diversité sont en cours :

Métagénomique 16s

Influence de la nature du substrat artificiel

Axe 1 : optimiser l'échantillonnage des bactéries dans les nappes phréatiques

Influence de la taille du substrat artificiel



Influence de la nature du substrat artificiel

- Sur la diversité
- **Sur la biomasse**
- Sur l'activité

Capacité du substrat artificiel à piéger des pathogènes

Figure masquée car en cours de publication

Effet substrat significatif quelque soit l'eau utilisée

Biomasse plus importante sur les billes argile et les graviers

Figure masquée car en cours de publication

Particularité eau de nappe :

Développement significativement supérieur sur les billes de verre
Ne reflète pas la qualité trophique de l'eau...

Figure masquée car en cours de publication

Billes d'argile

Influence de la nature du substrat artificiel

Axe 1 : optimiser l'échantillonnage des bactéries dans les nappes phréatiques

Influence de la taille du substrat artificiel



Influence de la nature du substrat artificiel

- Sur la diversité
- Sur la biomasse
- **Sur l'activité**

Capacité du substrat artificiel à piéger des pathogènes

Figure masquée car en cours de publication

Effet substrat significatif quelque soit l'eau utilisée

Activité supérieure sur les billes d'argile

Figure masquée car en cours de publication

Effet substrat significatif quelque soit l'eau utilisée

Activité supérieure sur les billes d'argile

Quel substrat choisir ?

Diversité : substrats équivalents

Biomasse : billes d'argile

Activités : billes d'argile

Billes d'argile

Capacité du substrat artificiel à piéger des pathogènes

Axe 1 : optimiser l'échantillonnage des bactéries dans les nappes phréatiques

Influence de la taille du substrat artificiel



Influence de la nature du substrat artificiel



Capacité du substrat artificiel à piéger des pathogènes



**Billes d'argile
Diamètre 8 mm**

Semblent être le **meilleur compromis** pour un échantillonnage efficace des bactéries dans les eaux de nappe phréatique

A confirmer avec les résultats manquants :

- Analyses de diversité (métagénomique)
- Détection des pathogènes

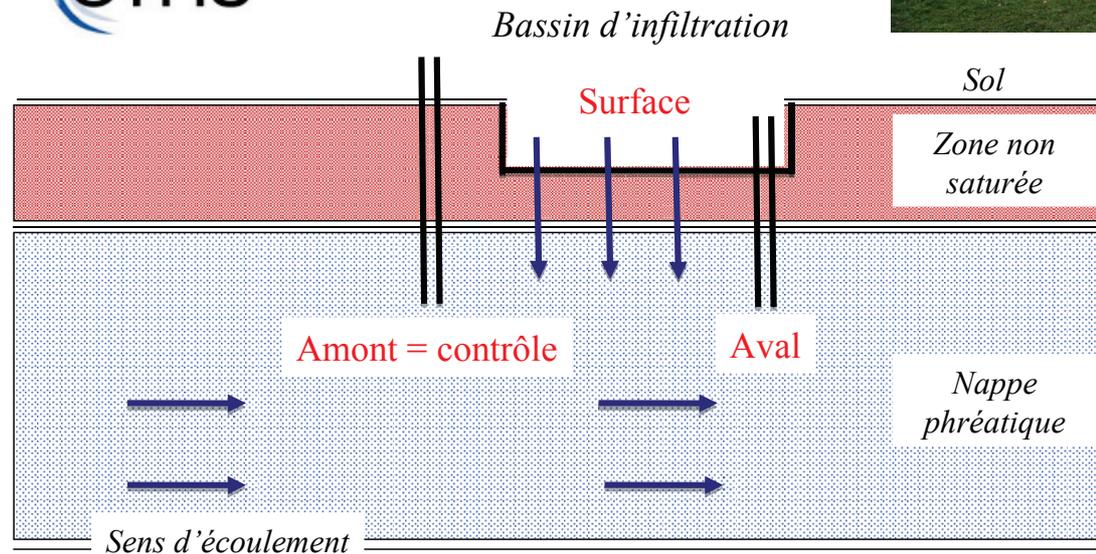
Axes de la thèse

Axe 1 : optimiser l'échantillonnage des bactéries dans les nappes phréatiques

Axe 2 : étude *in situ* de la diversité microbienne dans des nappes phréatiques impactées par une recharge artificielle en eau

Axe 2 : Objectifs

- Evaluer d'éventuels changements dans la structure des communautés
- Présence ou non de bactéries pathogènes
- Identifier les facteurs physico-chimiques impliqués
- Influence de la zone non saturée sur le transfert



Axes 2



- 6 bassins d'infiltrations - sites ateliers de l'OTHU
- Influence de la zone non saturée sur le transfert ?
 - 3 sites avec une zone non saturée profonde (> 10 m)
 - 3 sites avec une zone non saturée peu profonde (< 5 m)

- Instrumentations de piézomètres

Acquisition de chroniques :

Hauteur toit de la nappe
Température
Conductivité
Oxygène dissous

Modélisation couplée surface/subsurface du transfert de pesticides. Analyse de sensibilité à différentes échelles

Laura GATEL, IRSTEA Pollutions Agricoles Diffuses

Modélisation couplée surface subsurface du transport de pesticides. Analyse de sensibilité à différentes échelles.

Laura Gatel

Co-directeurs :

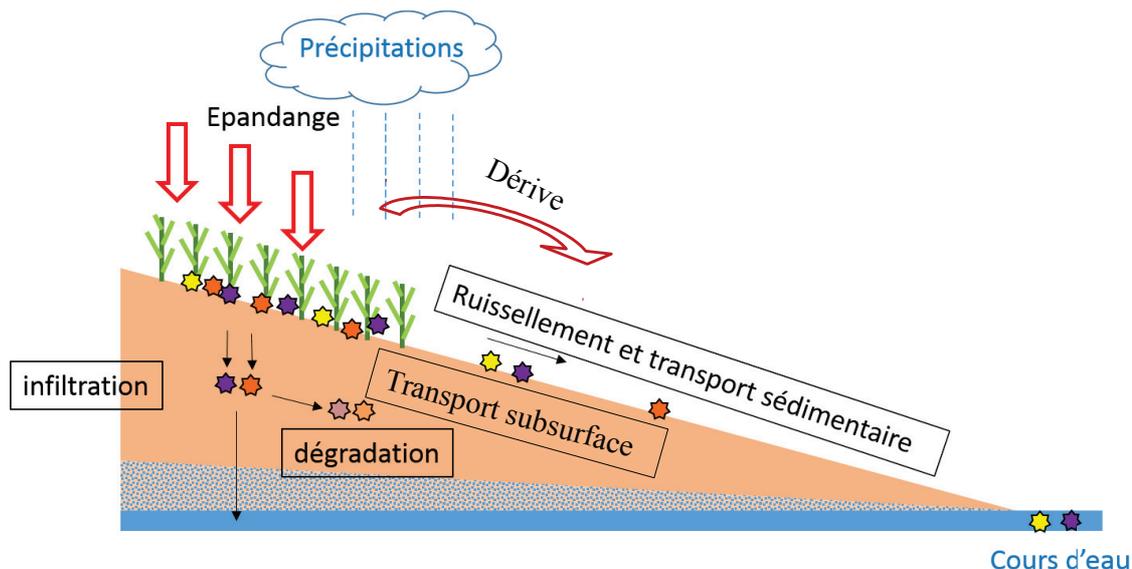
- Nadia Carluier (*Irstea Lyon Villeurbanne, service Pollutions Agricoles Diffuses*)
- Claudio Paniconi (*INRS-ETE, Québec*)

Encadrante :

- Claire Lauvernet (*Irstea Lyon Villeurbanne, service Pollutions Agricoles Diffuses*)

Contexte :

Que deviennent les pesticides après leur épandage ?



Certains processus sont encore difficiles à cerner, notamment les échanges surface / subsurface et les transferts latéraux.

=> La modélisation basée sur des modèles mécanistes permet de mieux comprendre ces phénomènes.

Objectifs :

- Aboutir à un modèle mécaniste capable de simuler le transfert réactif de contaminants
- Valider le modèle à l'échelle de la parcelle, du versant et du bassin versant.
- Procéder à une analyse de sensibilité poussée pour hiérarchiser les paramètres d'entrée, décrire les incertitudes, ...

Matériel :

- Modèle à base physique CATHY (CATchment HYdrology) : modélisation 3D couplée surface/subsurface des écoulements d'eau et de solutés non réactifs.
- Données disponibles terrain : étude du bassin versant de la Morcille (site Ardière-Morcille de la ZABR). Pour les échelles plus fines, utilisation des données de la bande enherbée et versant de Saint-Joseph (site expérimental sur le BV de la Morcille).

Site de Saint-Joseph (sur le BV de la Morcille)



(Boivin 2007)

Méthode :

Etape 1 : couplage du modèle Cathy existant avec un module de transport réactif

Etape 2 : validation du modèle

- Avec les données terrain disponibles sur la bande enherbée de Saint-Joseph
- Avec une analyse de sensibilité afin de vérifier la cohérence du modèle, hiérarchiser les paramètres d'entrée, décrire les incertitudes, participer à la réflexion sur la simplification du modèle...

Etape 3 : changement d'échelle de la parcelle au bassin versant

Hypothèse a priori : le bassin versant de la Morcille est une juxtaposition de versants (à confirmer après étude bibliographique). On pourra tester la simulation de l'ensemble du bassin versant de la Morcille grâce aux données mesurées à l'exutoire (eau et qualité).

**Trace metals and aquatic invertebrates in a floodplain:
from chemical speciation to community composition**

Dorothea HUG PETER, Université de Genève - Institut Forel

Trace metals and benthic invertebrates in a floodplain: from chemical speciation to community composition

Supervisors: Prof. Vera Slaveykova and Dr. Emmanuel Castella

Dorothea Hug Peter

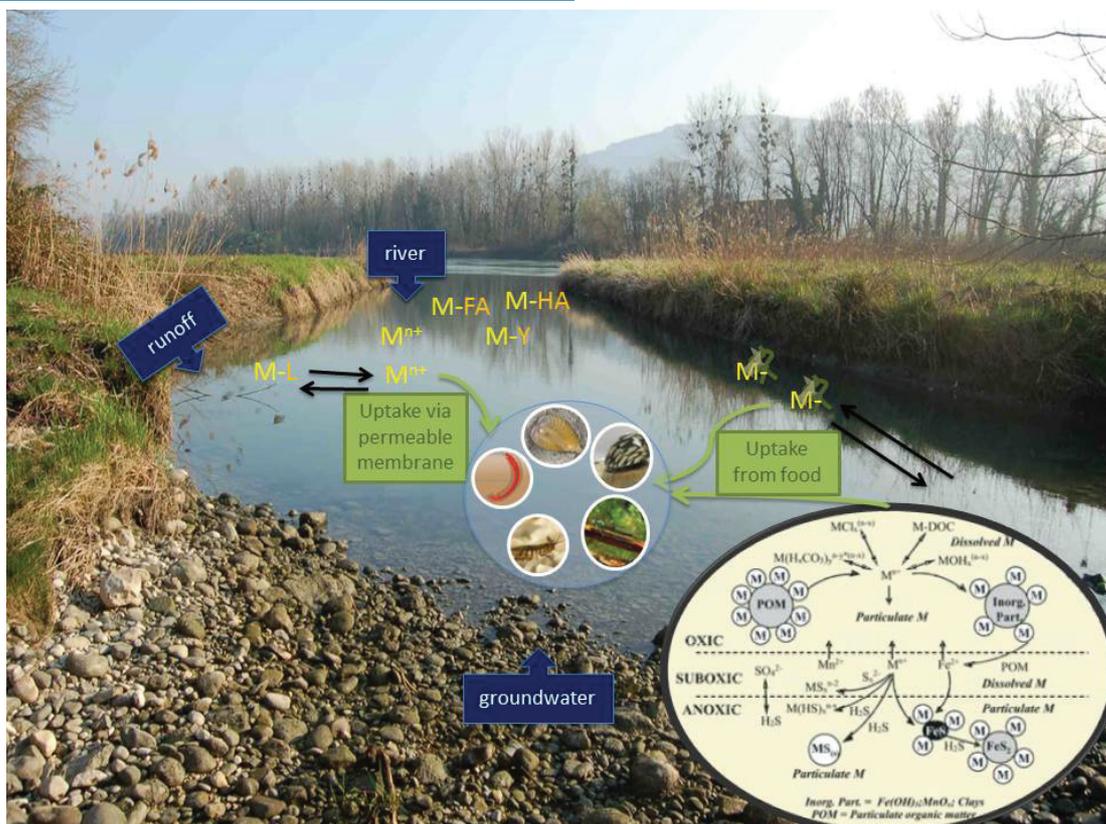
Institute F.-A. Forel, Institute for Environmental Sciences
University of Geneva

02.03.2015



Outline

- 1 Introduction and Research questions
- 2 Sampling strategy
- 3 Progress on the research questions



¹Sediment speciation: modified from Tercier-Waeber M-L, Taillefert M. J Environ Monit. 2008;10:30–54.

Research questions

- What is the distribution of trace metals in the Rhône floodplains?
 - Partitioning between sediment, SPM and water
 - Influence of the water sources
 - Upstream-downstream gradient (increasing anthropisation)

Research questions II

- How do these trace metals interact with benthic invertebrates?
 - Link between whole body concentrations and environmental concentrations
 - Patterns of whole body concentration (based on feeding strategy and other habits)

Research questions III

- Is it possible to detect processes where trace metals influence the community structure of invertebrates?
 - Elimination of other habitat parameters
 - Missing metal sensitive species
 - Appropriate endpoints

Where



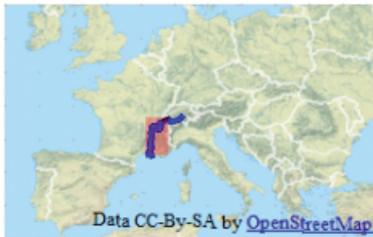
Main gradients

- Upper Rhône vs Lower Rhône
- Connected vs Disconnected

Sampling strategy

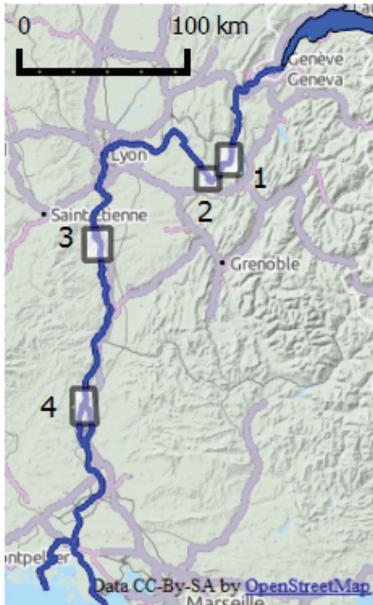
- 6 sites upstream from Lyon, 6 sites downstream
- 3 connected and 3 disconnected sites in each sector

The Rhône River in Europe



Data CC-BY-SA by [OpenStreetMap](#)

The French Rhône



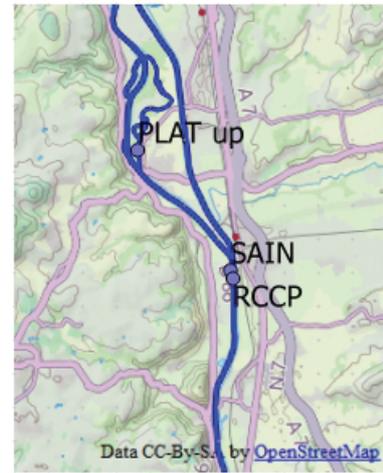
Data CC-BY-SA by [OpenStreetMap](#)

Belley Sector (1)



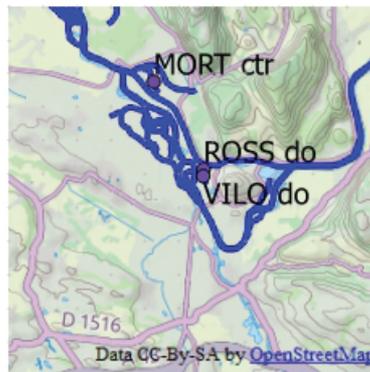
Data CC-BY-SA by [OpenStreetMap](#)

Peage Sector (3)



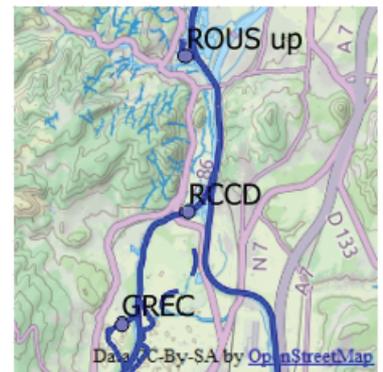
Data CC-BY-SA by [OpenStreetMap](#)

Bregnier Sector (2)



Data CC-BY-SA by [OpenStreetMap](#)

Donzère Sector (4)



Data CC-BY-SA by [OpenStreetMap](#)

Introduction and Research questions
Sampling strategy
Progress on the research questions
thanks and questions

Acknowledgements

Supervisors

Prof. Vera Slaveykova and Dr. Emmanuel Castella

Field and Fauna Team

Emmanuel, Olga, David, Helen, Nadia

My two research groups

Finances

Rhône-Alpes



Transferts des polluants organiques persistants de l'atmosphère aux milieux aquatiques de montagne

Johanna MARCAIS, Université de Savoie- Mont-Blanc, LCME

Transferts des HAP et PCB de l'atmosphère aux milieux aquatiques de montagne (Arc)

Johanna Marçais doctorante en 2^{ème} année

Laboratoire de Chimie Moléculaire et Environnement (LCME)

Directeur: Pr Jean-Luc Besombes

Co-directrice: Dr Christine Piot



SEMINAIRE DOCTORANTS ZABR

2 MARS 2015 - LYON (69)

I. Problématique

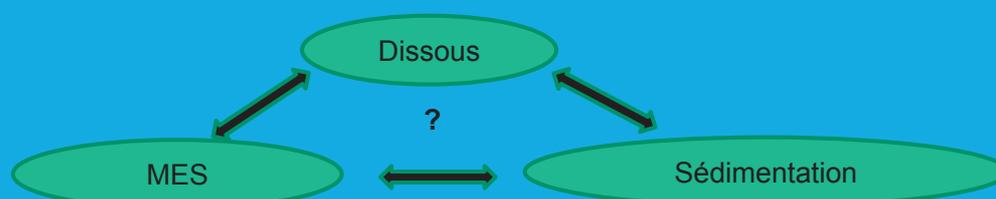
Atmosphère



Flux ?

Eau

Quels sont les équilibres chimiques dans le compartiment aquatique ?



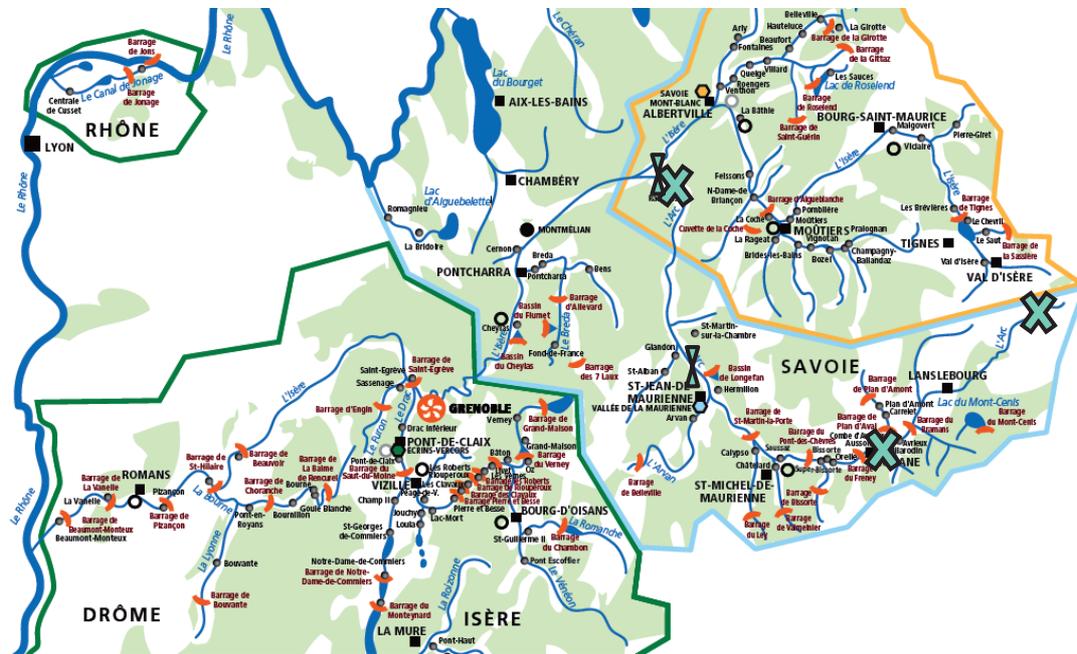
Wania et al, 1998. A review of processes involved in the exchange of persistent organic pollutants across the air-sea interface. *Env. Pol.* 102, 3-23

SEMINAIRE DOCTORANTS ZABR

2 MARS 2015 - LYON (69)

II. Sites d'étude

- Depuis mai 2014: étude de la dynamique de transfert des HAP d'amont en aval de l'Arc ainsi que leurs répartitions entre les différentes phases
- 3 sites distincts par leurs hydrologie et anthropisation:
 - Bonneval sur Arc (amont)
 - Modane
 - Aiton (aval)
- 2 stations IRSTEA : Pontamafrey et Chamousset (MES)



Source EDF (les aménagements hydrauliques UP Alpes)

III. Méthodes d'échantillonnage

▪ Phase dissoute

➔ Feuille de silicone
(Pas de perturbation du milieu, autonome et échantillonnage intégré dans le temps)



▪ Matières en suspensions (MES)

➔ ISCO station d'IRSTEA (échantillon composite = intégration dans le temps)

▪ Prélèvements atmosphériques depuis janvier 2015

➔ Bas débit = Distinction phase gazeuse et particulaire
Jauge Owen avec de la résine XAD (adsorbant) = Dépôts totaux



IV. Inscription dans la ZABR

- Etude du bassin versant de l'Arc, affluent de l'Isère
- **Projet HAIPs « Dynamique des HAP dans les vallées alpines: des émissions atmosphériques aux transferts dans le bassin versant »**
Financement : AAP PEPS 2013 PRES de Grenoble/CNRS
- **Suivi hydrosédimentaire sur le bassin versant Arc-Isère (LTHE)**

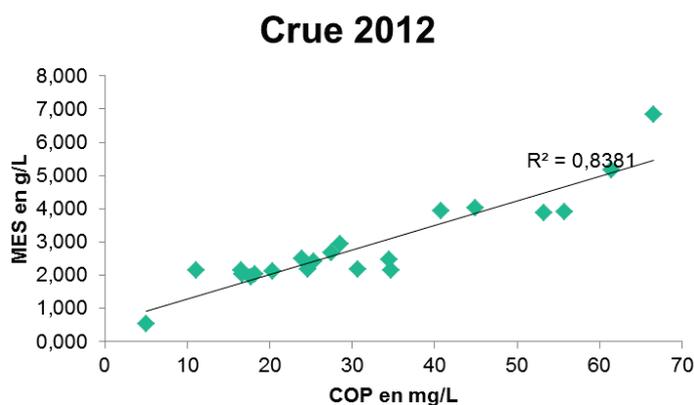
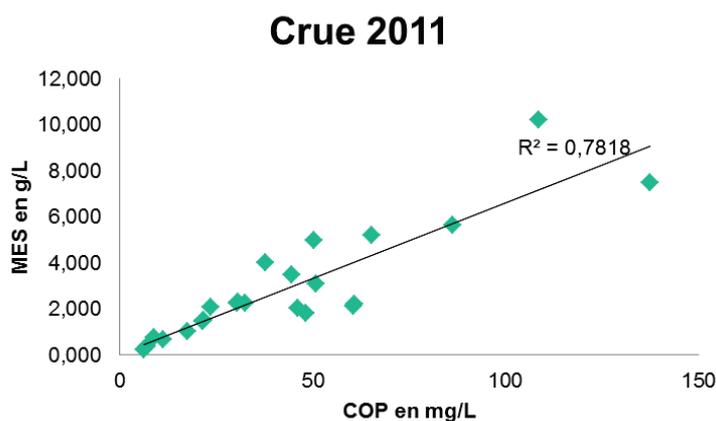
2008-2012 : Screening des HAP lors des crues et chasses de l'Arc

Suivi de l'Arc



Site Atelier ZABR Isère Campus

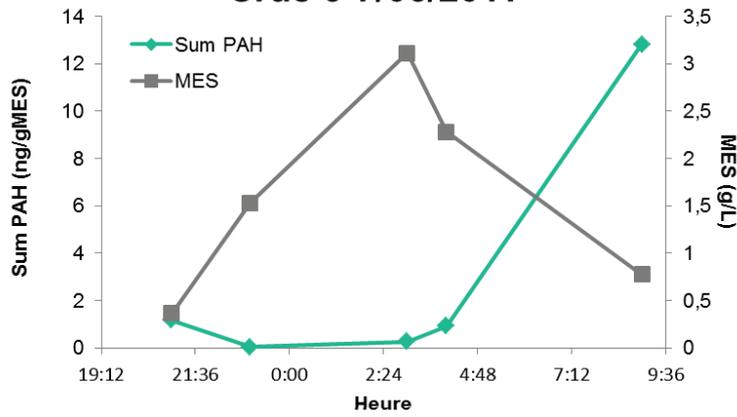
V. Résultats



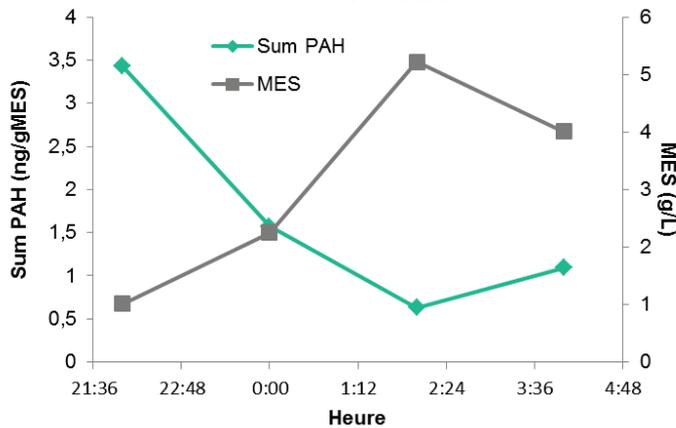
- **Apport de Carbone Organique Particulaire (COP) lors des crues de l'Arc pour tous les échantillons**

V. Résultats

Cruce 6-7/06/2011



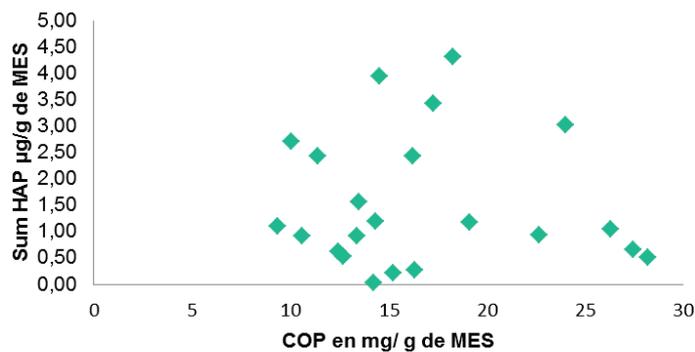
Cruce 5-6/11/2011



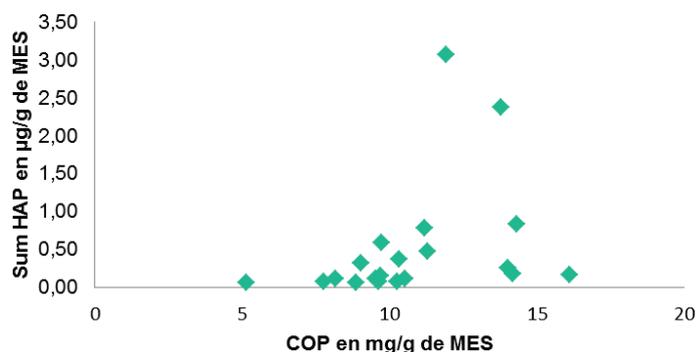
- Phénomène similaire selon les crues de printemps ou automne
- Effet de « dilution » des HAP par les MES par une remobilisation de MES non chargées en HAP
- Sédimentation des HAP ?
- Comportement différent selon les HAP ?

V. Résultats

HAP vs COP Cruce 2011



HAP vs COP crue 2012



- Pas de corrélation HAP et COP
- Affinité de chaque HAP pour COP ?

V. Conclusion et perspectives

- Il ne semble pas y avoir de corrélation COP/HAP ni HAP/MES
- Présence d'un effet de dilution des HAP lors des crues

Des questions en découlent...

- y a-t-il une sédimentation des HAP particulières ?
- quelle est l'influence de la Matière Organique ? (Caractérisation)

En cours...

- Pour expliquer ces phénomènes

Suivi annuel du transfert des HAP de l'air à l'eau en phase dissoute et particulaire

Une fois transmis dans l'Arc que deviennent les HAP ?

Sont-ils majoritairement en phase dissoute ?

y a-t-il une influence de la concentration et de la nature des MES ?

Sédimentent-ils ? Quels sont les équilibres chimiques entre les différentes phases ?

Merci de votre attention

Métrologie et modélisation des flux de micro-polluants d'un bassin urbain et hospitalier (médicaments)

Tanguy POUZOL, INSA Lyon LGCIE DEEP



MINISTÈRE DES AFFAIRES SOCIALES ET DE LA SANTÉ



Ministère de l'écologie, du Développement durable et de l'énergie



Rhône-Alpes



MODÉLISATION DES FLUX DE RÉSIDUS DE MÉDICAMENTS DU BASSIN DE BELLECOMBE

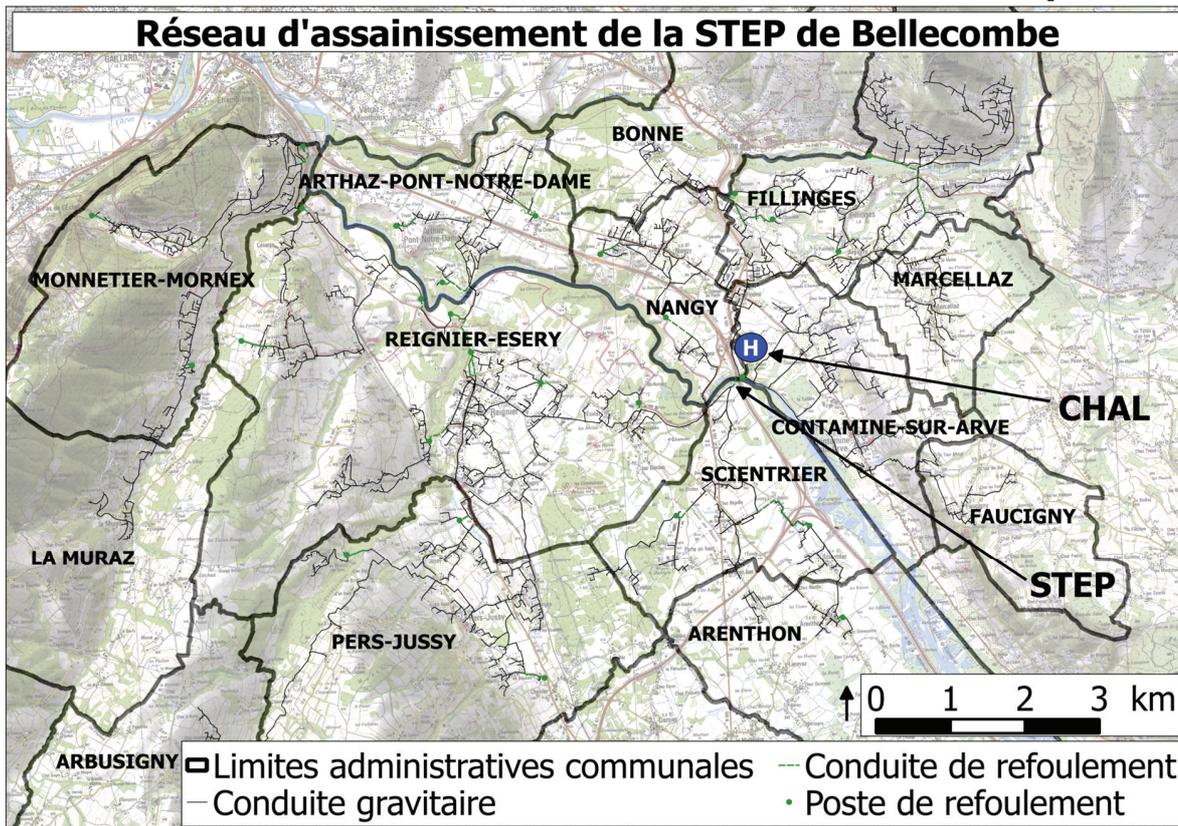
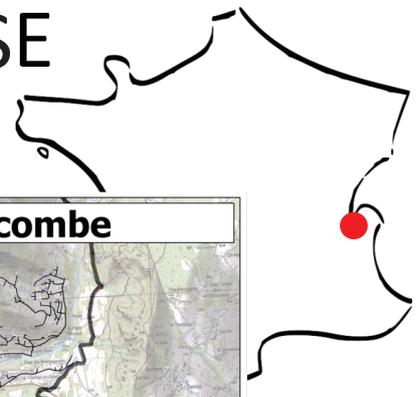
BASSIN URBAIN ET HOSPITALIER

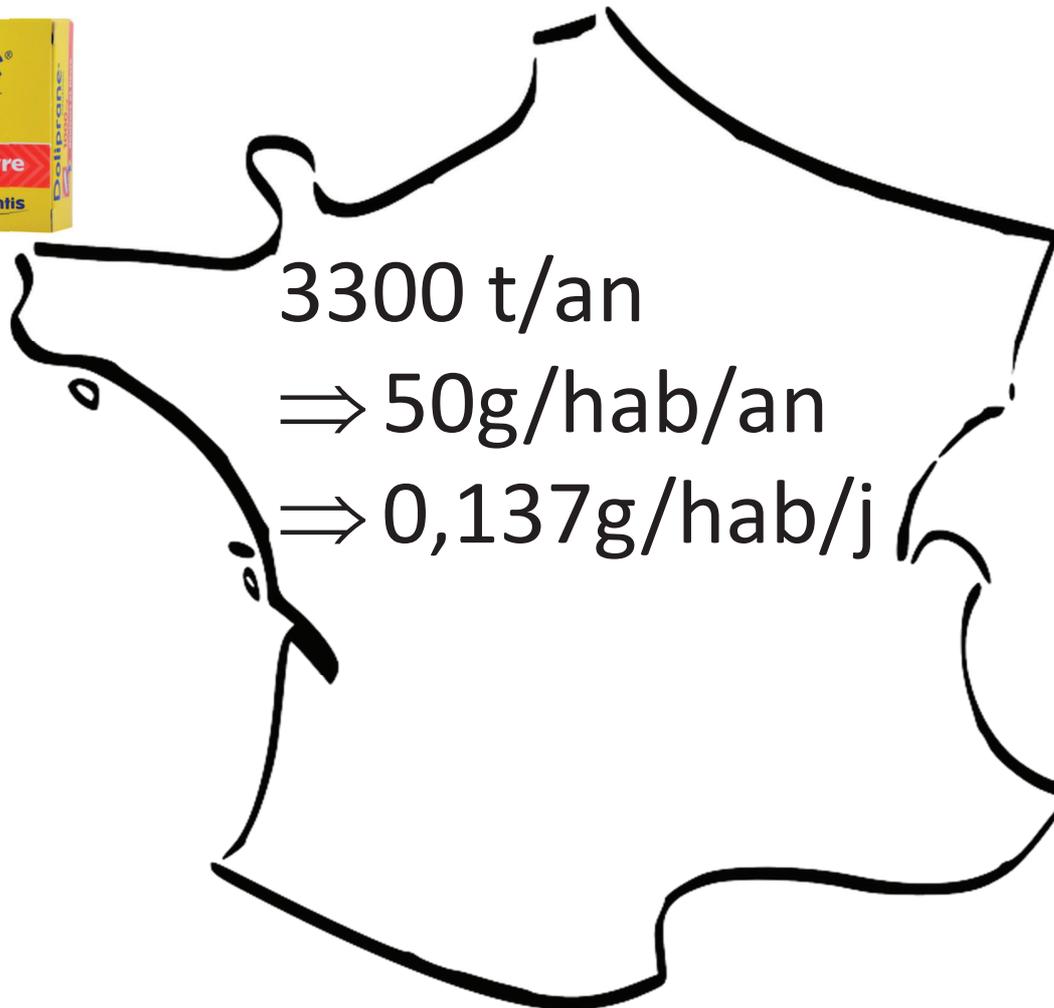
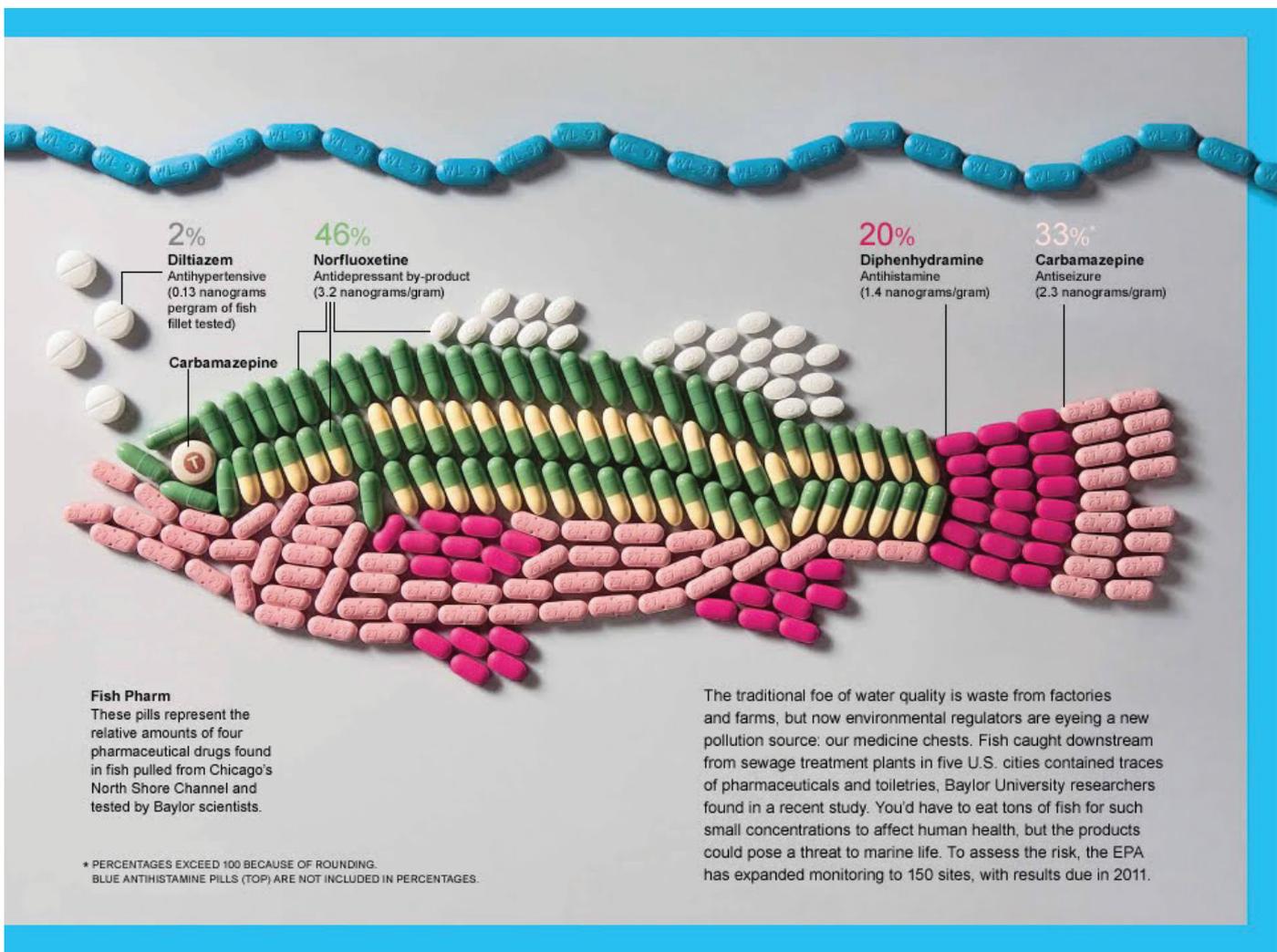
T. POUZOL
INSA de Lyon

SEMINAIRE DOCTORANTS ZABR

2 MARS 2015 - LYON (69)

SIPIBEL et IRMISE





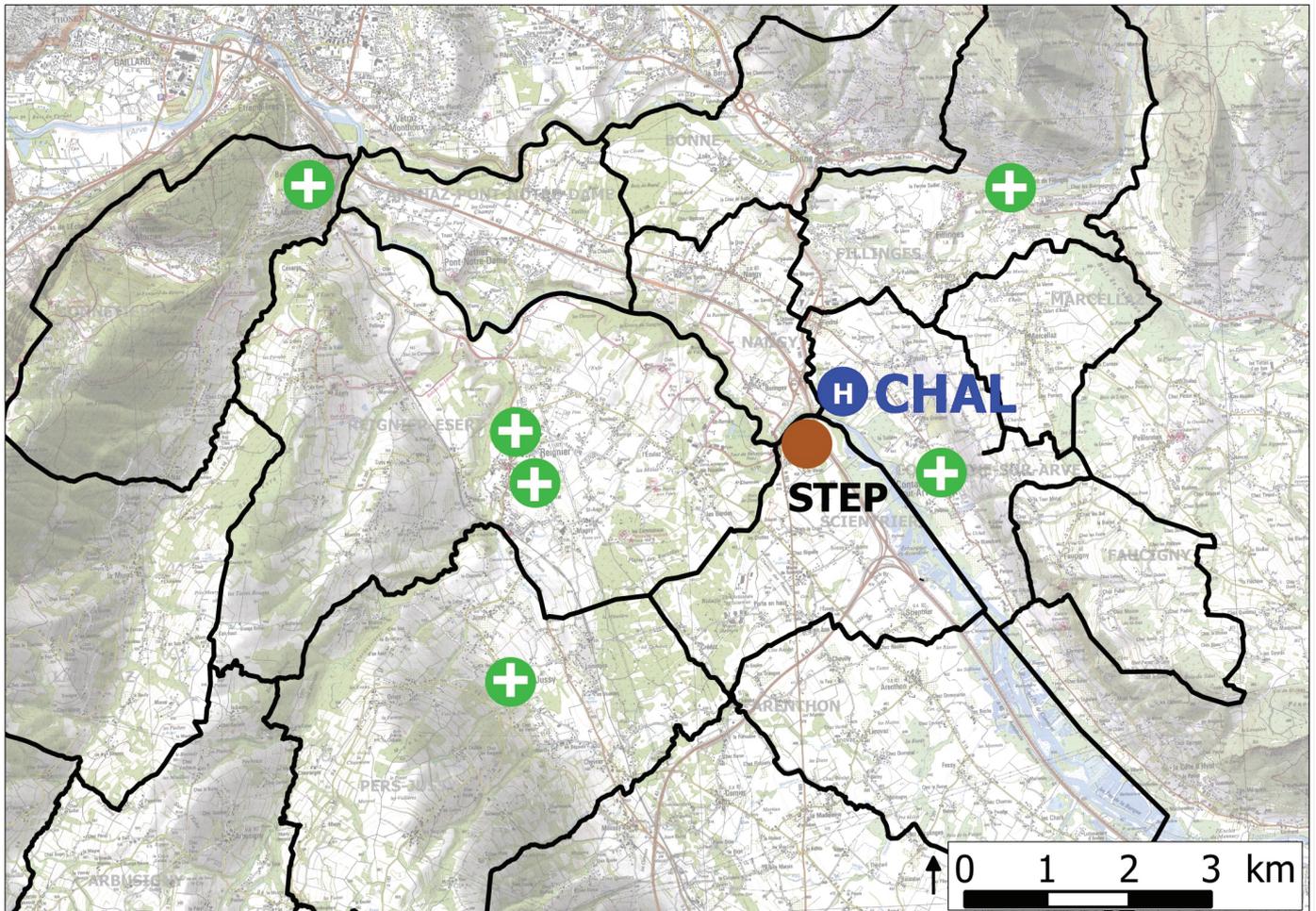
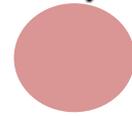


0,137 g/hab/j

X 15 000 hab

X 9% excrété inchangé

185 g/jour à la STEP





Bassin urbain

Hôpital

6 pharmacies de ville 

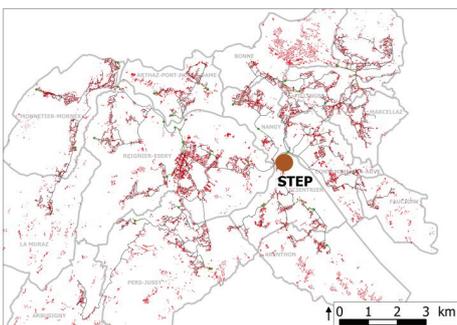
 1 pharmacie centrale

↓
CONSOMMATION

↓
MÉTABOLISME

≈ 15 000 hab raccordés

450 lits



↓
TRANSPORT

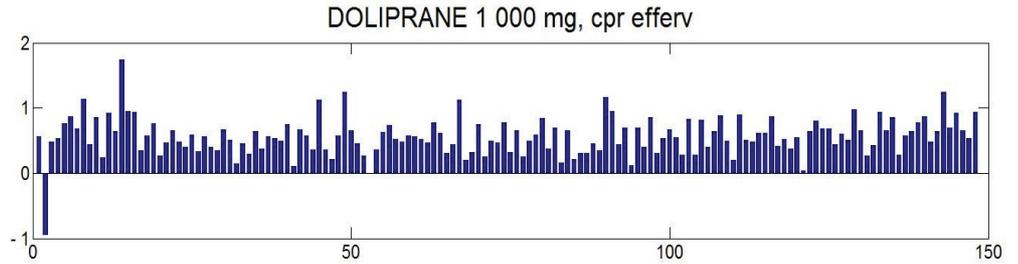
↓
STEP

négligeable

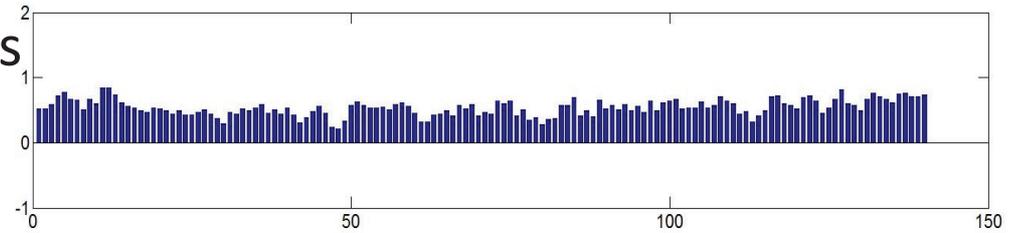
230 km de réseau

CONSOMMATION

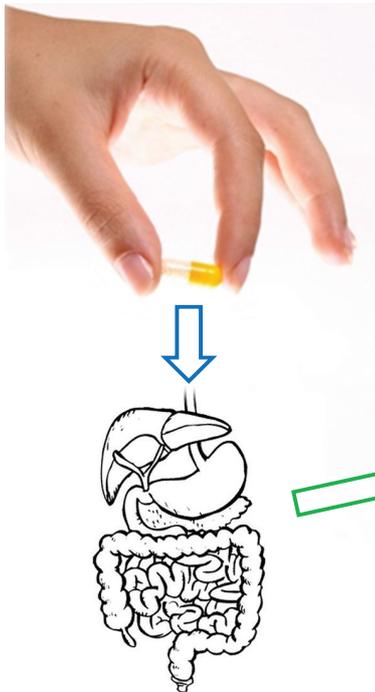
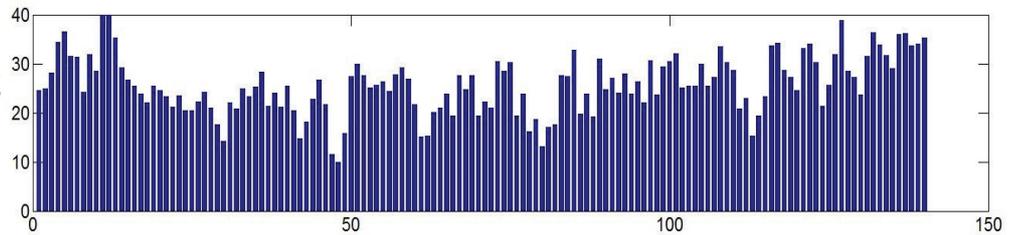
Sorties
pharmacie
centrale



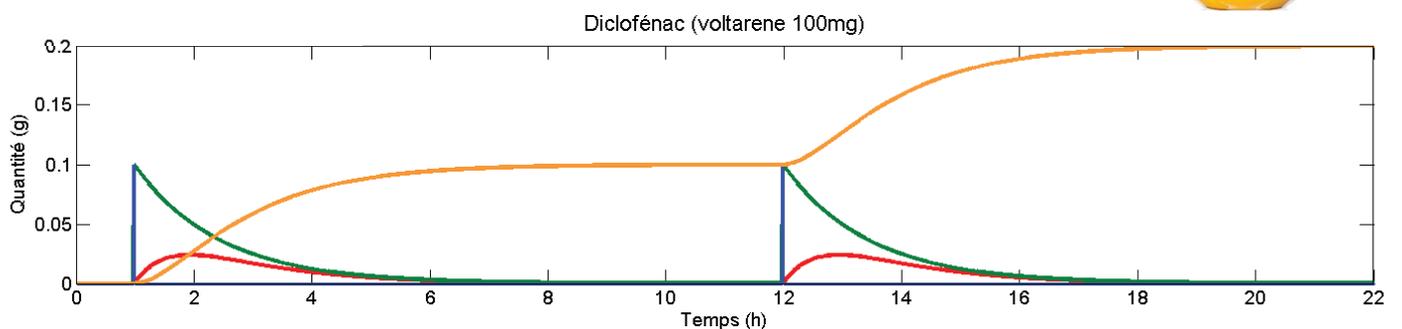
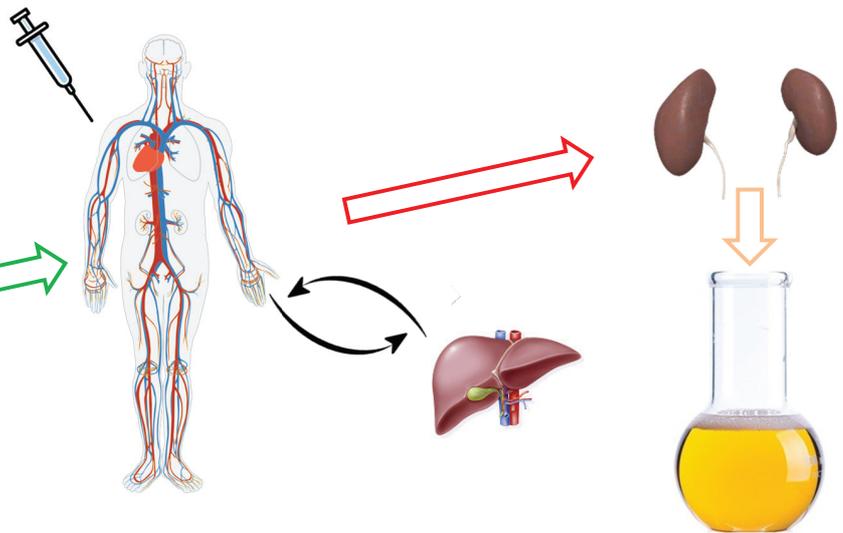
Consommations
estimés



Nb de patients
estimés



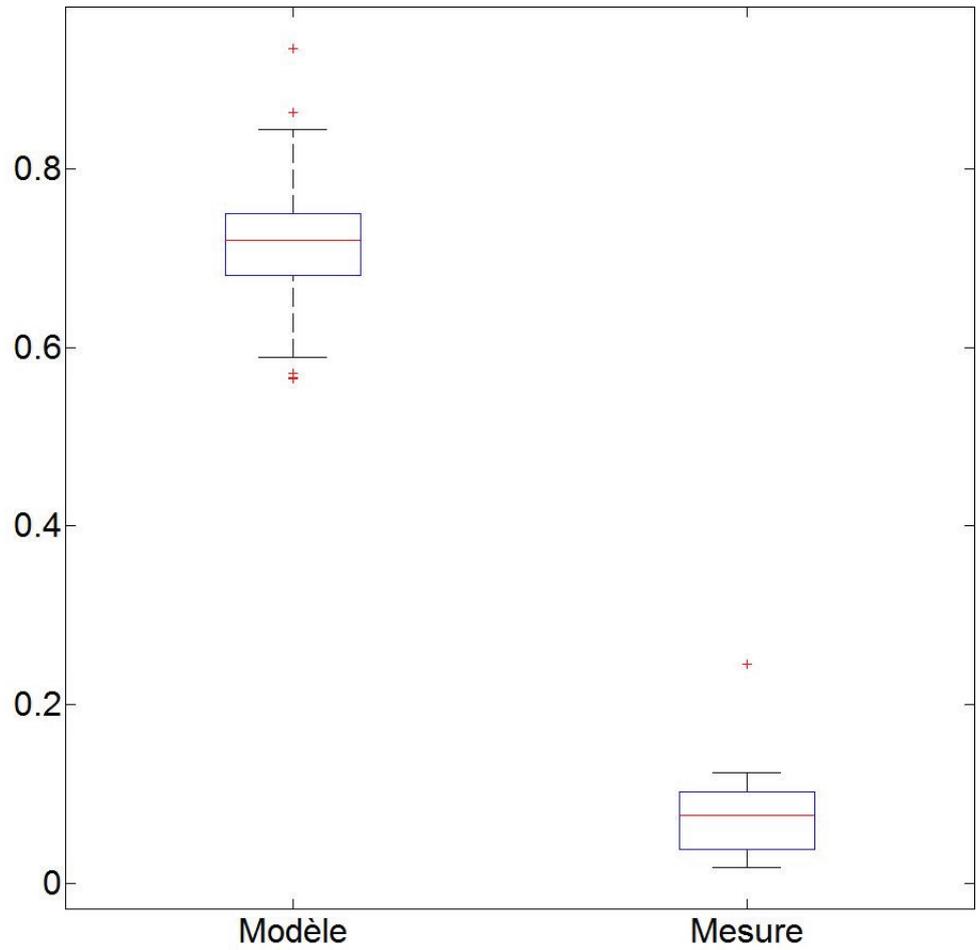
MÉTABOLISME



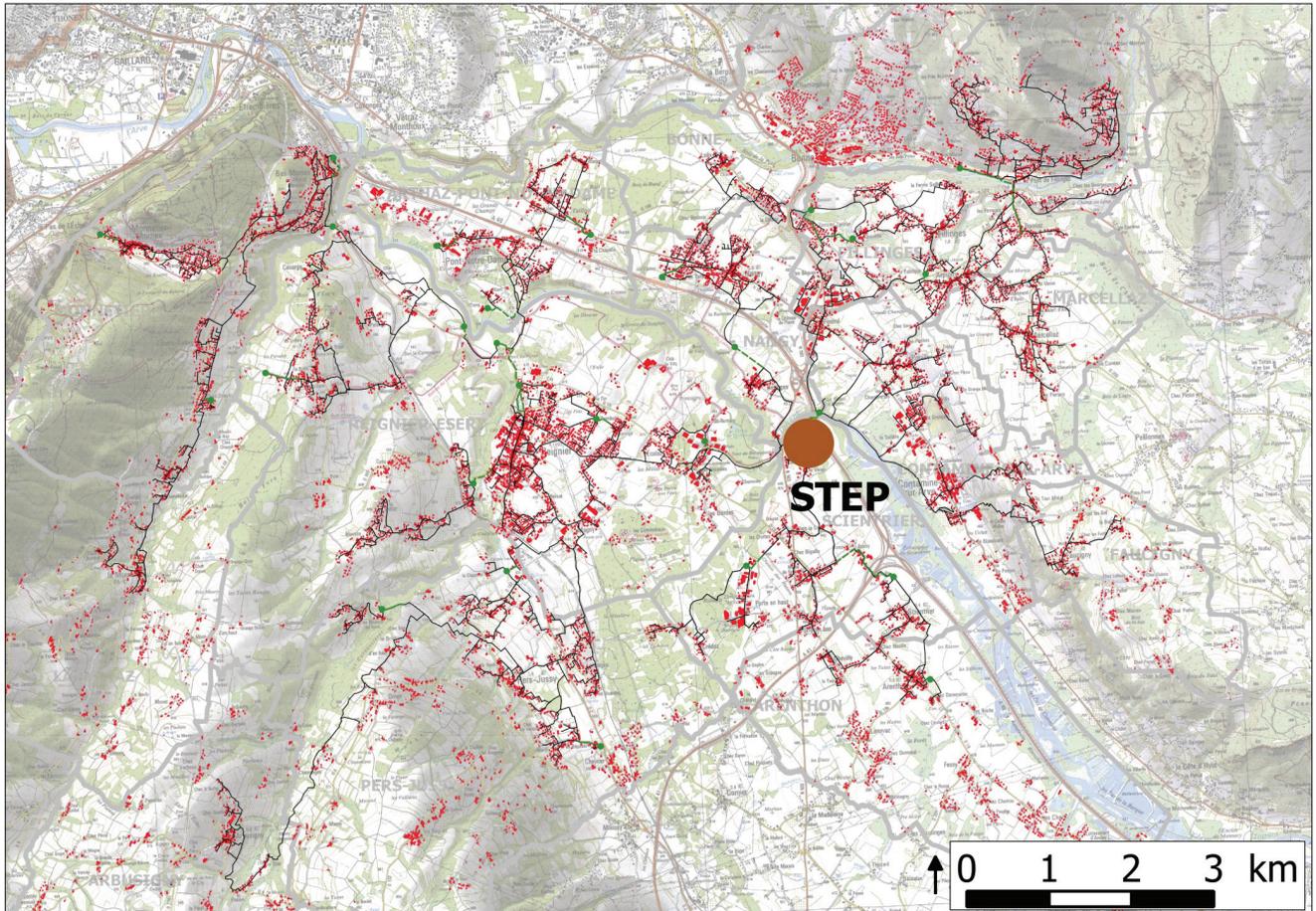
CHAL

Diclofénac

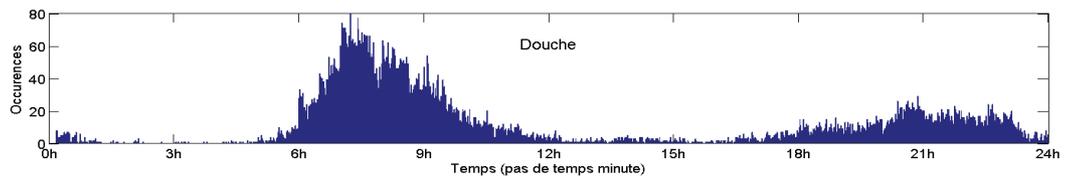
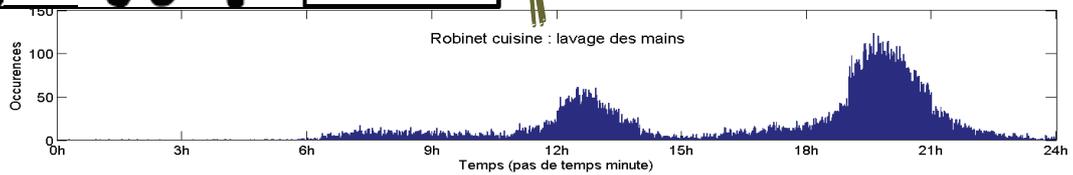
Flux journalier
(g/j)



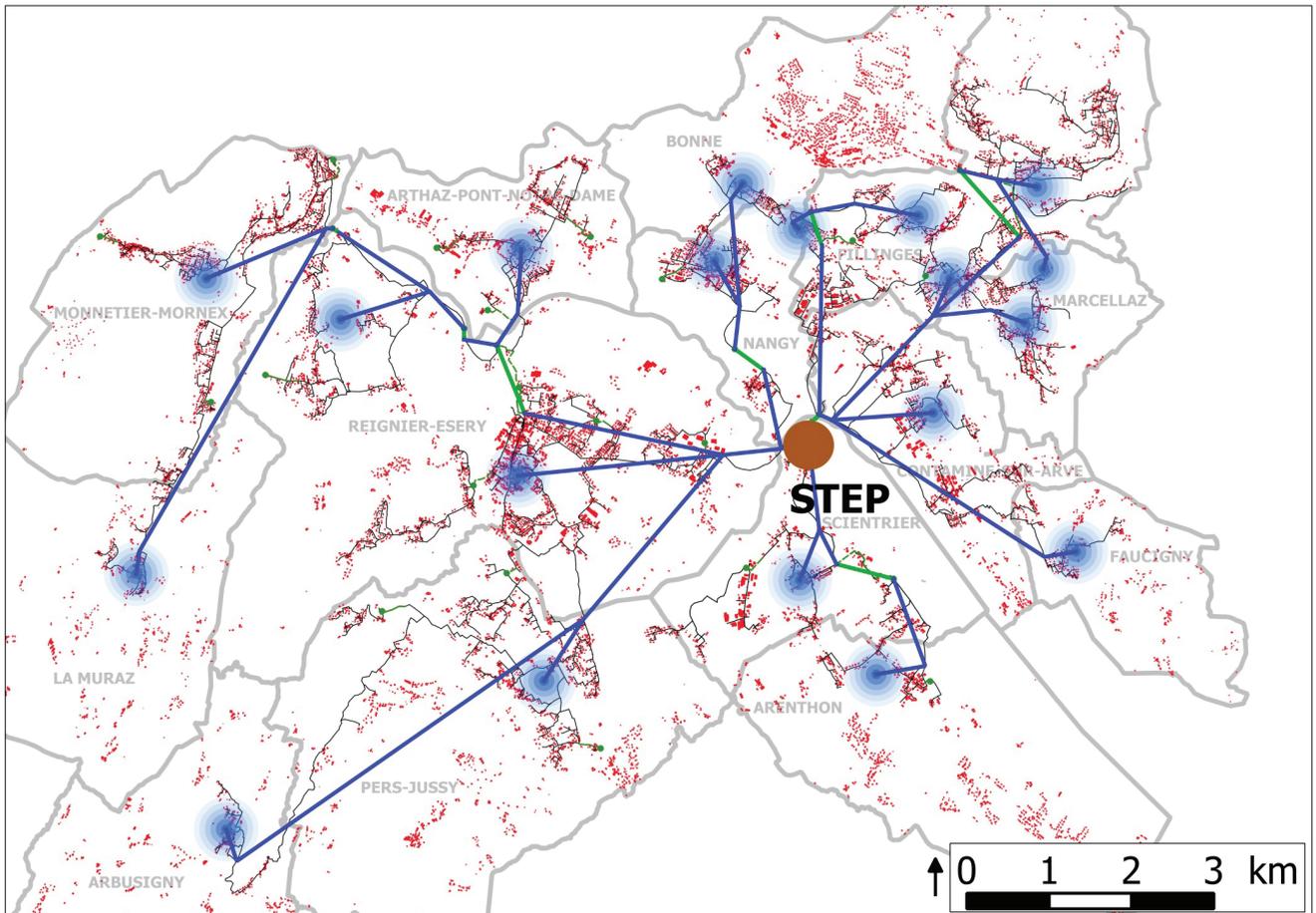
TRANSPORT



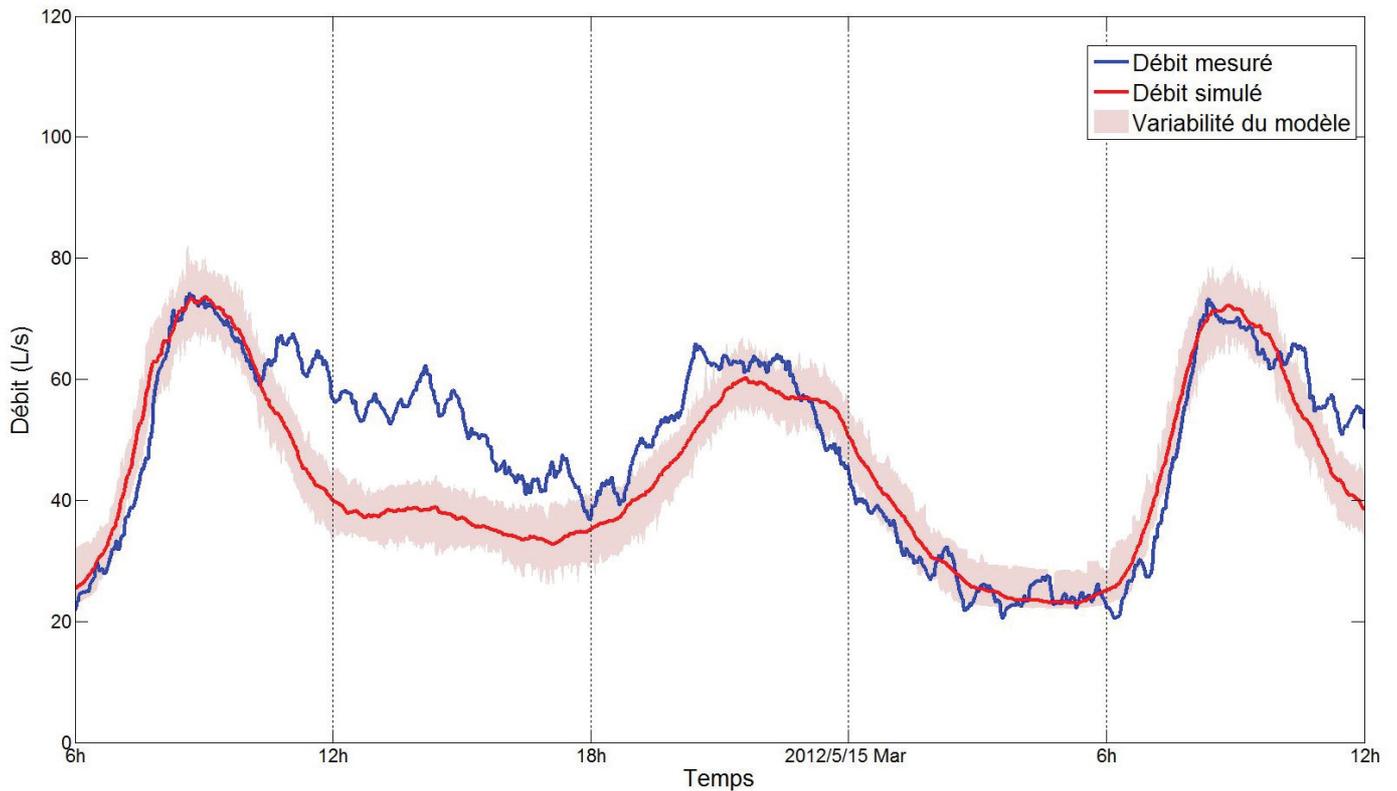
TRANSPORT



TRANSPORT



TRANSPORT



Conclusions et perspectives

- Suite du travail :
 - Calage fin du modèle CHAL
 - Calage fin du modèle eaux usées urbain
 - Adapter "consommation" au bassin urbain
 - Connecter les sous-modèles pour la bassin urbain
- Phénomènes constitués de multiples processus
 - => multiples sous-modèles
 - => multiples sources d'incertitudes

**Contribution à l'évaluation des risques écotoxicologiques
liés aux rejets d'effluents hospitaliers dans les milieux
aquatiques: bioconcentration, bioaccumulation et
bioamplification des résidus pharmaceutiques**

Frédéric ORIAS, ENTPE - Université de Lyon LEHNA

Bioaccumulation des résidus pharmaceutiques dans les chaînes alimentaires

Frédéric ORIAS, Laurent SIMON, Yves PERRODIN
*Équipe « Impact des Polluants sur les Écosystèmes »
Laboratoire d'Écologie des Hydrosystèmes Naturels Anthropisés*



Plan de la présentation

1. Les Résidus Pharmaceutiques (RP) dans l'environnement
2. Les risques pour les écosystèmes
3. Comment étudier le transfert de ces molécules ?
4. Premiers résultats expérimentaux

1. Les résidus pharmaceutiques dans l'environnement

- Plusieurs sources de RP identifiées:
 - Effluents domestiques
 - Effluents industries pharmaceutiques
 - L'épandage des lisiers
 - Les effluents hospitaliers



1. Les résidus pharmaceutiques dans l'environnement

- Intérêt d'étudier les effluents hospitaliers:
 - Effluents très concentrés
 - Effluents très variés
 - Sans prétraitement (sauf médecine nucléaire)
 - Effluents évacués vers les stations d'épuration
- Or, STEP non adaptées pour traiter les RP
- D'où la présence des RP dans l'environnement

2. Le risque des RP dans l'environnement

- Ecotoxicité directe:

- Perturbation de la reproduction
- Modification des comportements

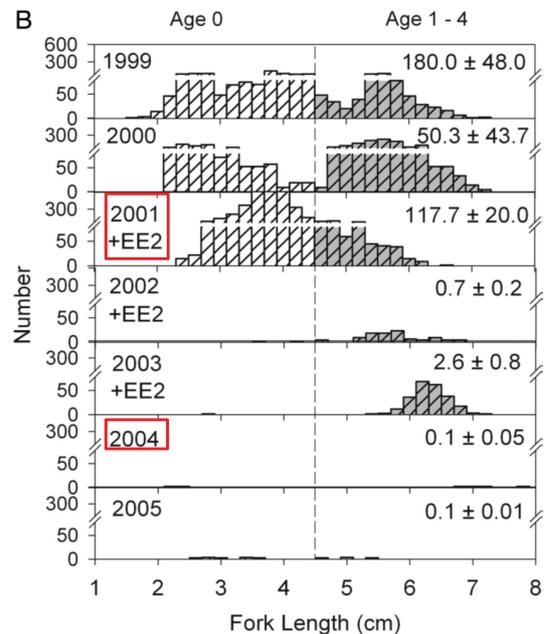


Illustration de l'impact de l'EE2
(from Kidd et al., 2007)

2. Le risque des RP dans l'environnement

- Accumulation progressive des RP

- Bioconcentration, bioaccumulation
- Bioamplification

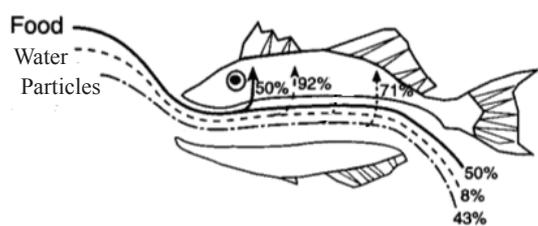
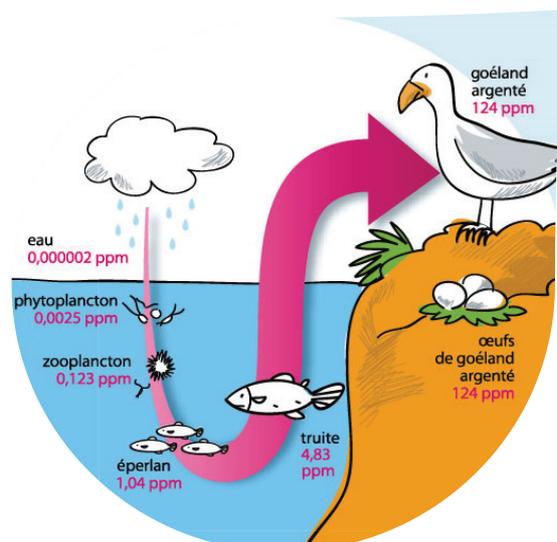


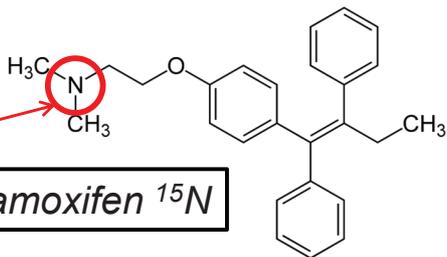
Illustration des phénomènes de bioaccumulation
(Gobas et al., 1999)

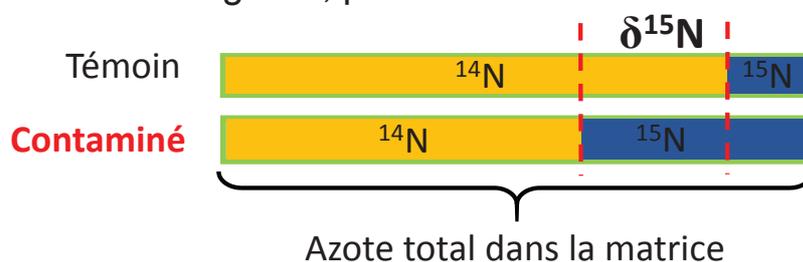


3. Comment étudier le transfert de ces molécules ?

- Plusieurs difficultés d'ordre analytique:
 - Nécessite beaucoup de biomasse
 - Perte de contaminants lors de l'extraction
 - Méthode analytique directe très onéreuse
 - Protocoles analytiques rarement disponibles

3. Comment étudier le transfert de ces molécules ?

- La solution: Les isotopes stables !
 ^{15}N , isotope stable de l'azote
- 
- Tamoxifen* ^{15}N
- Molécule modèle: Tamoxifen (TMX) anticancéreux bioaccumulable
 - Enrichissement en ^{15}N = bioconcentration du TMX
 - Mesure du ratio isotopique $\delta^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$
 - Plus le delta est grand, plus l'échantillon est contaminé



4. Premiers résultats expérimentaux

4.1. **Producteur primaire**



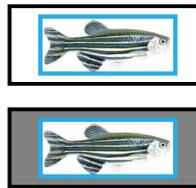
Algues exposées à 1, 10 et 100 µg/L de TMX pendant 7 jours

4.2. **Consommateur primaire**



Daphnies exposées à 5 et 50 µg/L de TMX pendant 7 jours

4.3. **Consommateur secondaire**



Poissons exposés à 0.1, 1 et 10 µg/L de TMX pendant 21 jours

 Milieu témoin

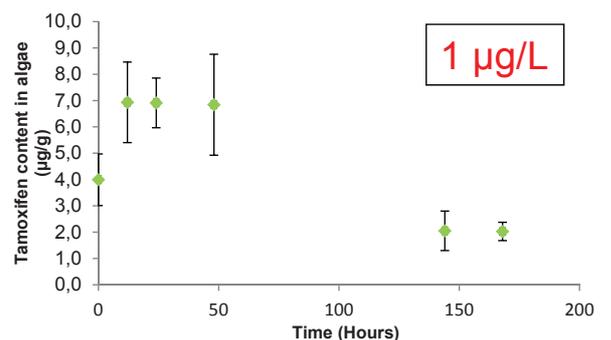
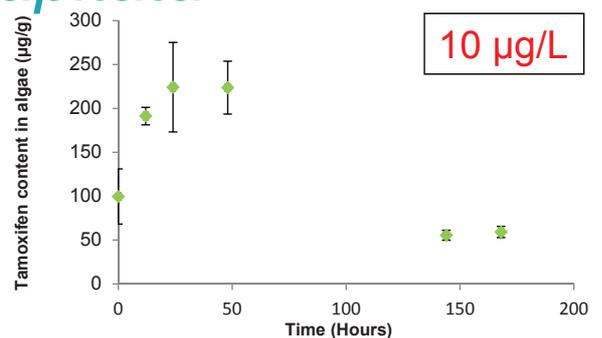
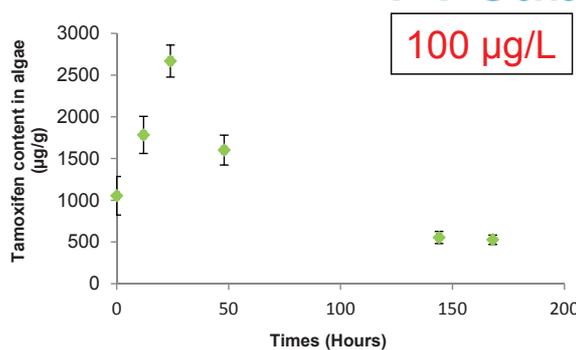
 Milieu contaminé

 *P. subcapitata*

 *D. magna*

 *D. rerio*

4.1. Bioconcentration du TMX chez *P. subcapitata*



Bioconcentration du tamoxifen dans les algues avec des concentrations dissoutes initiales de 100, 10 et 1 µg/L.

Bilan de la méthode isotopique

AVANTAGES

- Toute matrice analysable
- Peu onéreuse
- Pas d'étape d'extraction
- Prise d'essai faible
- Pas de radioactivité

LIMITES

- Méthode de mesure indirecte
- Limite de quantification haute
- Substances marquées très chères
- Inapplicable *in situ*
- Peu de recul sur la méthode

- Développer la méthode pour d'autres molécules
- Comparer avec d'autres méthode pour valider la méthode
- Etudier les phénomènes de bioamplification

Merci pour votre attention !

**Développement d'un dispositif de détection précoce des
polluants chimiques in situ dans les milieux aquatiques
urbains**

Antoine GOSSET, CNRS UMR 5023 LEHNA – ENTPE Equipe IPE

SEMINAIRE INTERNE DE LA ZABR

Développement d'un dispositif de détection précoce des polluants chimiques in situ dans les milieux aquatiques urbains



Antoine GOSSET



Directeur de thèse : Rémy BAYARD

Co-directrice de thèse : Claude DURRIEU



SEMINAIRE DOCTORANTS ZABR

2 MARS 2015 - LYON (69)

Contexte

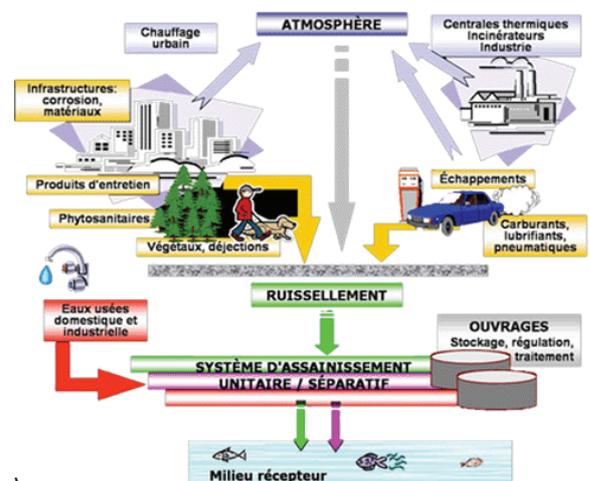
Etude des Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP)

Problèmes posés par les RUTP :

- Volumes d'eau importants déversés
- Pollution multiple (métaux, HAPs, PCBs, pesticides, phénols,...)
- Variabilité temporelle et géographique de la pollution
- Traitements encore limités avant rejet dans l'environnement
- Très peu d'études écotoxicologiques (*in situ*)

(Angerville, 2009)

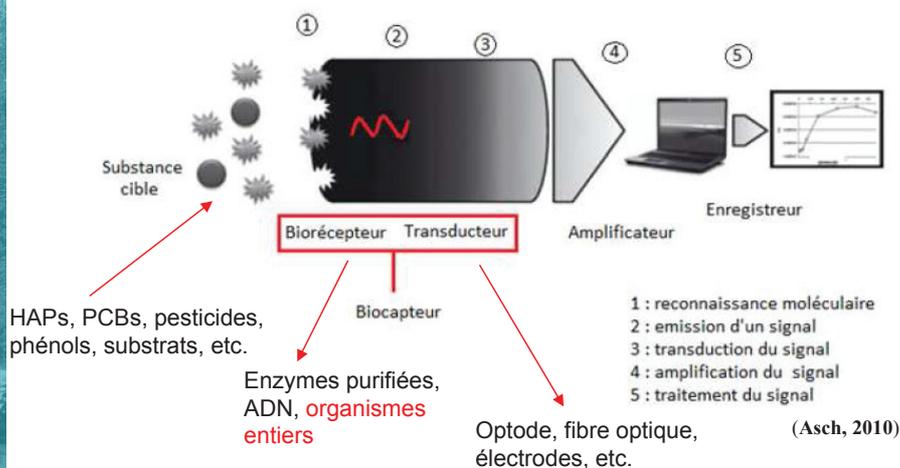
➔ Développement de nouveaux outils : les biocapteurs pour suivi *in situ* et en continu



SEMINAIRE DOCTORANTS ZABR

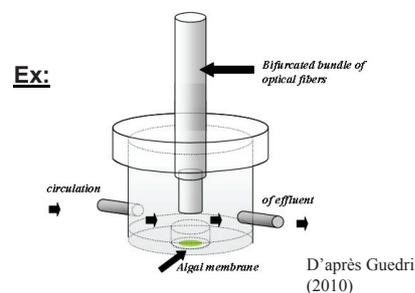
2 MARS 2015 - LYON (69)

Principe des biocapteurs



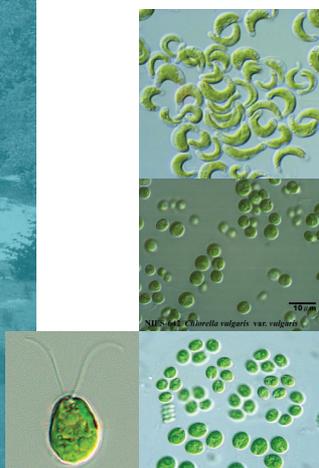
Utilité des biocapteurs

- Facilité de mise en œuvre
- Miniaturisable + automatisable
- Coût limité
- Réalité de l'impact sur le terrain



Organismes d'étude

3 organismes d'études



• *Pseudokirchneriella subcapitata*

Intérêts de travailler sur ces algues :

• *Chlorella vulgaris*

• *Chlamidomonas reinhardtii*

- Compartiment essentiel au maintien des écosystème
- Organismes sensibles à une grande quantité de polluants
- Organismes entiers non modifiés → Impact réel sur ce compartiment ≠ ADN/Protéines/OGM
- Facilement manipulables

2 étapes dans la thèse

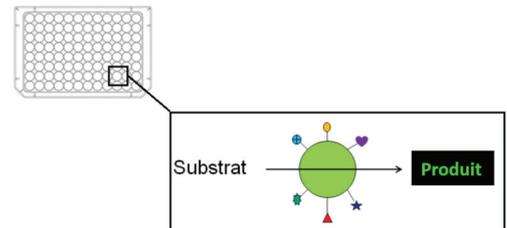
1 - Développement de biomarqueurs sensibles aux rejets

Bioessais en laboratoire + analyses chimiques des échantillons



Développement de biomarqueurs sensibles à certaines catégories de polluants

Ex : Fluorescence chlorophyllienne (pesticides)
Phosphatase alcaline (métaux lourds)



2 étapes dans la thèse

2 - Développement de biocapteurs utilisant ces biomarqueurs pour une utilisation *in situ*

Etape essentielle : immobilisation des algues sur le transducteur, ou immobilisation pour permettre une mesure à l'aide de ce dernier.



Généralement utilisé : gels, sol-gels, membranes, etc.



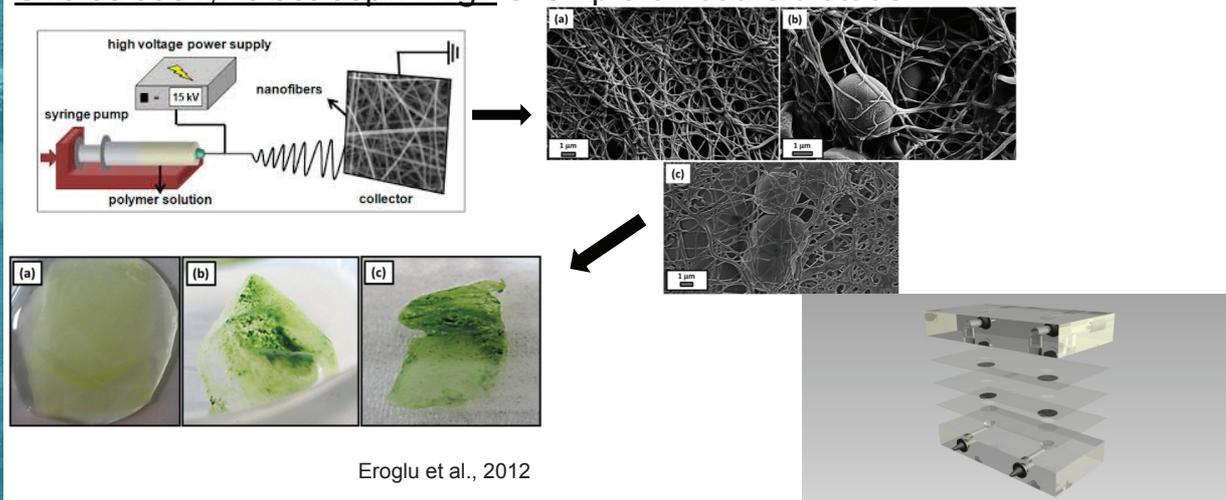
Problèmes principalement rencontrés :

- Accessibilité aux polluants
- Survie/bon développement des algues

2 étapes dans la thèse

2 - Développement de biocapteurs utilisant ces biomarqueurs pour une utilisation *in situ*

Une solution, l'électrospinning : exemple en cours d'étude



Perspectives

Amélioration des connaissances écotoxicologiques des RUTP.

Mise au point d'outils de surveillance biologique (et non plus seulement physico-chimique) des rejet (*in situ* et en continu).



Outils de prévention de la pollution des RUTP utile aux gestionnaires des réseaux de drainage des rejets.

Z A B R

Zone Atelier Bassin du Rhône



Domaine scientifique de la Doua
66 bd Niels Bohr – BP 52132
F-69603 Villeurbanne Cedex
Tél : 04 72 43 70 56 – Fax : 04 72 43 92 77
mél : asso@graie.org - www.graie.org