



**HAL**  
open science

**Risques environnementaux liés aux pollutions agricoles  
et qualité physico-chimique et biologique des cours  
d'eau : Modélisation de l'impact de ces pollutions.  
Performance environnementale des activités agricoles :  
rapport scientifique final du programme INSOLEVIE  
2006-2009**

Francis Macary, J.L. Probst, François Delmas, S. Sovan Lek, T. Debenest, R.  
Laplana, Nicolas Mazzella, Soizic Morin, V. Roubeix, Daniel Uny

► **To cite this version:**

Francis Macary, J.L. Probst, François Delmas, S. Sovan Lek, T. Debenest, et al.. Risques environnementaux liés aux pollutions agricoles et qualité physico-chimique et biologique des cours d'eau : Modélisation de l'impact de ces pollutions. Performance environnementale des activités agricoles : rapport scientifique final du programme INSOLEVIE 2006-2009. [Rapport de recherche] Irstea. 2010, pp.61. hal-02593225

**HAL Id: hal-02593225**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02593225>**

Submitted on 15 May 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

*ACTION INTERREGIONALE AQUITAINE & MIDI-PYRENEES  
RECHERCHE & TRANSFERT DE TECHNOLOGIE*

**Risques environnementaux liés aux pollutions agricoles et  
qualité physico-chimique et biologique des cours d'eau.  
Modélisation de l'impact de ces pollutions. Performance  
environnementale des activités agricoles**

*RAPPORT SCIENTIFIQUE FINAL 2006-2009*

*Coordinateur Aquitaine: Francis MACARY*

*Coordinateur Midi-Pyrénées: Jean-Luc PROBST*



Bassin versant du Montoussé à Auradé



La Save en crue à la station de Larra

## Préambule

En 2006, les 3 laboratoires de la Région Midi-Pyrénées, AEE (EA 315, INPT-ENSAT), LADYBIO (UMR 5172, CNRS-UPS) et LEH (UMR 5177, CNRS-UPS) qui ont soumis ce projet de recherche en réponse à l'appel d'offre interrégional préparaient leur regroupement dans une même structure d'UMR, à l'exception d'une équipe du LADYBIO (celle qui participe à ce projet) qui a rejoint le Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, EDB (UMR 5174, CNRS-UPS-ENFA). Cette nouvelle UMR (Laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle (EcoLab) - UMR 5245, CNRS-INPT-UPS) a été créée le 1<sup>er</sup> janvier 2007 et regroupe donc les deux autres équipes de AEE et du LEH qui sont impliquées dans ce projet.

Ainsi, depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2007, les deux laboratoires de Midi-Pyrénées impliqués dans ce projet sont officiellement :

- **EDB (UMR 5174)** qui a accueilli l'équipe du LADYBIO impliquée initialement dans ce projet
- **EcoLab (UMR 5245)** qui a regroupé AEE (EA 315), le LEH (UMR 5177) et le reste du LADYBIO (UMR 5172)

Ce projet ayant été réalisé dans le cadre du CCRRDT Inter-régional Aquitaine - Midi-Pyrénées, le **présent rapport scientifique final intégré** est présenté officiellement par ces deux UMRs, EDB et EcoLab pour la contribution Midi-Pyrénées, et par le Cemagref (U.R. ADBX et REBX) pour la contribution Aquitaine.

Les **bilans financiers fournis au titre du CCRRDT Midi-Pyrénées** sont placés sous tutelle du **CNRS** pour l'UMR EDB et de **l'INPT-ENSAT** pour l'UMR EcoLab.

Les **bilans financiers fournis au titre du CCRRDT Aquitaine** sont présentés par le Cemagref et recouvrent les dépenses de deux unités de recherche impliquées au Cemagref de Bordeaux-Cestas, à savoir :

- U.R. ADBX (Aménités et Dynamique des espaces Ruraux, coordinatrice du projet côté Aquitaine),
- U.R. REBX (Réseaux, Epuration, Qualité des Eaux).

### **Ont contribué à la rédaction du rapport scientifique :**

- ☐ **UMR ECOLAB** : Jean-Luc PROBST
- ☐ **UMR EDB**: Sovan LEK, Gael Grenouillet, Géraldine Loot , Muriel Gevrey , Loic Tudesque, Guillaume Guénard, Candida Shinn & Leslie Faggiano.
- ☐ **Cemagref-UR ADBX** : Francis MACARY
- ☐ **Cemagref-UR REBX** : François DELMAS, Soizic MORIN, Vincent Roubaix

## 1- Rappel des principaux objectifs

Les principaux objectifs de ce projet pluridisciplinaire et interrégional étaient les suivants :

- Détermination des zones à risque de pollution par des indicateurs agroenvironnementaux spatialisés suivant la vulnérabilité des milieux, la pression exercée par les acteurs et adaptés aux changements entre les différentes échelles, permettant la déclinaison de programmes d'intervention les plus efficaces : de la politique générale à la mesure de pratique technique à la parcelle.
- Caractérisation de l'ambiance chimique siégeant dans les cours d'eau de la zone d'étude par différents principes de mesure et d'échantillonnage plus ou moins intégrateurs, incluant la mise à l'épreuve des capteurs passifs de pesticides (POCIS).
- Modélisation des flux géochimiques observés sur les versants (essentiellement nutriments et pesticides...) qui doit permettre de mieux affecter la part de la pollution résultant de l'activité agricole.
- Appréciation des impacts environnementaux dans les milieux aquatiques à l'aide de bio-indicateurs révélateurs du niveau global de pollution, mais aussi de descripteurs rendant plus spécifiquement compte des effets des pollutions par les produits phytosanitaires (compartiments invertébrés, diatomées, poissons). L'objectif sur ce volet consiste à générer une modélisation des relations entre les descripteurs d'état des cours d'eau et les impacts mesurés sur des maillons biologiques-clés de la DCE.
- Elaboration d'une méthode transférable d'évaluation à l'échelle de bassins-versants de la performance environnementale de l'activité agricole traduisant le progrès réalisé suite à des changements de pratiques entre situations avant intervention et situations cibles (normes) sous la contrainte des aptitudes des milieux et de viabilité économique des exploitations agricoles.

## 2- Programme de travail

La zone des Coteaux de Gascogne, très impactée par les activités agricoles intensives dans un contexte topographique et pédologique sensible, est l'objet d'étude de ce programme qui vise à promouvoir et à intégrer toute connaissance scientifique permettant de diagnostiquer et d'aider à résoudre les conséquences environnementales générées par cette activité, en vue de son inscription dans une démarche de développement durable.

Aussi le consortium réuni dans ce programme régional et pluridisciplinaire aborde différents aspects complémentaires nécessaires pour développer une action intégrée et efficace.

Le programme de travail initial s'intéressait donc à **3 volets complémentaires** pour soutenir une mise en place ou une adaptation de plans d'action cohérents et efficaces :

- **Un premier volet risques/états / impacts** s'est donc concentré sur les méthodes ou outils à mettre au point ou à adapter afin de réaliser un diagnostic approprié des risques de pollution sur la zone et de l'évaluation de leurs effets, tant sur le plan du fonctionnement abiotique des cours d'eau (notion de flux et de bilans géochimiques) que de la détection appropriée du niveau d'impact des pollutions sur les organismes peuplant les cours d'eau.

- **Un second volet plus technologique** visait à la validation, dans le contexte agricole des Coteaux de Gascogne, de l'efficacité d'un dispositif de traitement des eaux chargées en pesticides utilisés sur cette zone essentiellement pour les grandes cultures. Cet appareil de photocatalyse n'ayant jusque là été testé que pour les molécules utilisées en viticulture et arboriculture.

- **Un troisième volet innovant** visait à donner les moyens et outils permettant de juger de la performance environnementale de l'agriculture, et notamment des différentes exploitations agricoles, à la fois entités socio-économiques et niveau de gestion de parties du territoire.

Dans le volet technologique, plusieurs visites sur site avec la société Aquitaine : Agroenvironnement avaient été réalisées de 2006 à 2008 afin d'expliquer aux agriculteurs le procédé de traitement des effluents de pesticides et choisir un site expérimental. Initialement prévu auprès de l'association des agriculteurs d'Auradé, *in fine*, l'expérimentation avait été arrêtée dans une CUMA près de l'Isle Jourdain. Le dossier technique et financier avait été alors déposé par l'entreprise Agroenvironnement, PME spécialisée dans les traitements de effluents d'origine agricole, auprès de la Région Aquitaine, pour une demande de financement essentiellement en analyses des molécules phytosanitaires traitées par photocatalyse.

La Région n'a pas souhaité alors participer financièrement à ce projet en 2008, puis les difficultés de la crise économique survenues en 2009 ont conduit l'entreprise Agroenvironnement à renoncer à cette expérimentation, ne pouvant assumer le coût de l'opération.

Le troisième volet a été mis en œuvre dans le cadre de la thèse de Younès DARRADI au sein de l'UR ADBX du Cemagref, qui devrait être soutenue avant la fin de l'année 2010.

Les résultats présentés dans ce rapport concernent donc principalement **le premier volet « risques /états / impacts »**. Les principales valorisations dans le cadre de la thèse (travail non achevé à cette date) sont encore en cours de rédaction et seront formalisées et soumises dans les mois à venir.

## **2.1 - Risques potentiels de contamination des eaux de surface par l'activité agricole et changement d'échelle (UR ADBX-Cemagref)**

L'objectif consistait à développer une méthode visant à représenter le risque potentiel des pollutions d'origine agricole à différentes échelles :

- bassins versants élémentaires sièges de mesures ponctuelles et d'études hydrologiques,
- bassins versants intermédiaires (zones hydrographiques)
- grands bassins versants ( ex la Save ) dans les Coteaux de Gascogne.

La démarche mise en oeuvre s'est appuyée essentiellement sur la prise en compte des systèmes de production agricole, des pratiques, des successions culturales, non pas en termes agronomiques, mais dans une qualification du risque (notion de pression polluante) vis à vis des milieux aquatiques. Les échelles d'étude étant très différentes ont nécessité l'élaboration d'une méthode de transfert d'échelle spatiale.

La méthode mise en œuvre a consisté d'abord à établir les caractéristiques de vulnérabilité du milieu par rapport aux polluants étudiés tels que l'azote et les pesticides pour les eaux des surface dans les Coteaux de Gascogne.

Tous les éléments considérés ont été intégrés dans un Système d'Information Géographique (SIG ) spécifique et cela dans l'optique de construire des indicateurs agroenvironnementaux spatialisés et adaptés au changement d'échelle spatiale.

Ces éléments de milieu concernent notamment la topographie, la pédologie, la proximité des pixels au réseau hydrographique...

Puis la pression anthropique d'origine agricole est appréciée suivant l'occupation du sol déterminée à partir de la classification d'images satellitales de couverture de la zone au cours des dernières années (rotation).

Chaque pixel représentant l'occupation du sol reçoit le poids de la charge polluante (excès d'azote au bilan, nombre de traitements phytosanitaires ...).

Le croisement ensuite sur chaque pixel de la vulnérabilité du milieu et de la pression polluante permet l'établissement du risque potentiel de pollution des eaux superficielles.

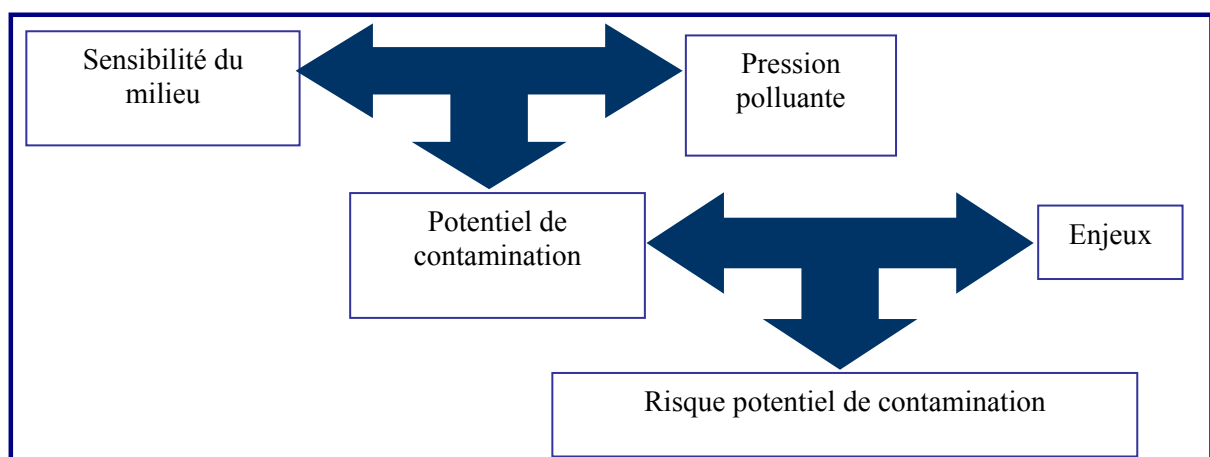


Fig.1- D'après la démarche du diagnostic CORPEN<sup>1</sup>

Ces pixels sont ensuite agrégés aux différentes échelles étudiées (bassin versant élémentaire, zone hydrographique) afin d'apporter des niveaux complémentaires d'information, et de permettre une meilleure lisibilité des cartes de risque potentiel par les gestionnaires publics des dossiers environnementaux.

<sup>1</sup> CORPEN : Comité d'Orientation pour des Pratiques agricoles respectueuses de l'ENvironnement

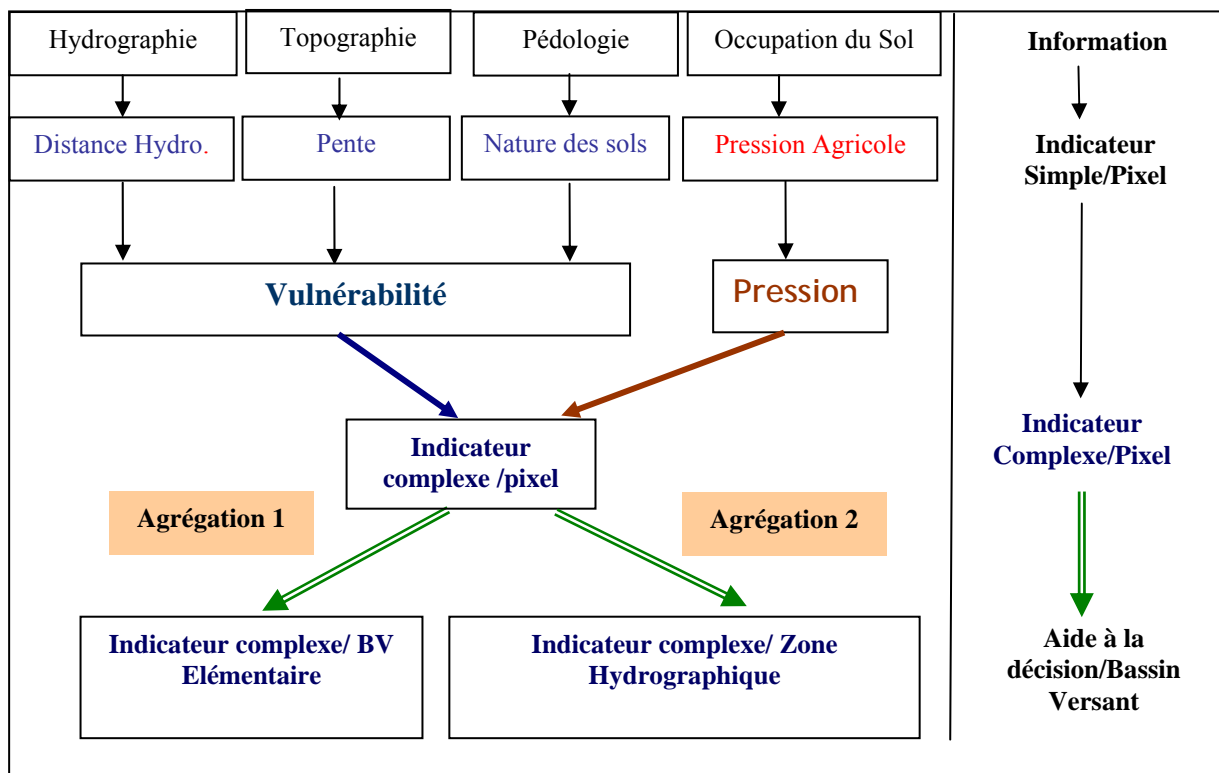


Fig.2- Schéma général de la méthodologie

Ces travaux sont conduits en phase avec la modélisation des flux de nitrates, sur le bassin-pilote de la Save, de façon à établir les relations entre pression anthropique et caractéristiques chimiques du milieu, aux différentes échelles emboîtées.

## 2.2- « Etat du milieu : paramètres abiotiques et biologiques » (EcoLab/ex AEE-ENSAT-AEE, EDB/ex équipe LADYBIO et UR REBX-Cemagref).

Au cours du programme, des données d'observation des milieux complémentaires aux données existantes, nécessaires pour des approfondissements thématiques et pour constituer des jeux de validation des modèles et outils, ont été acquises sur des dispositifs réfléchis selon 2 logiques :

- bassins versants-ateliers équipés et instrumentés pré-existants permettant une étude fine des relations entre occupation du territoire, pratiques agricoles, climatologie et effets sur les cours d'eau (2 implantations à Auradé et sur l'Hay-Sousson)
- réseau d'une vingtaine de stations plus légères réparties sur le territoire des Coteaux, avec une double logique de représentation de gradients de pression agricole (par comparaison avec les références adéquates sur la zone) et d'implantation au long de continuums fluviaux amont-aval (Save, Touch, Sousson).

Dans ces hydrosystèmes, un premier aspect étudié a concerné la caractérisation de l'ambiance chimique in situ et l'analyse à une cadence prédéterminée des concentrations rencontrées en MES, formes de l'azote et du phosphore, micropolluants en rapport avec l'activité agricole (pesticides, métaux).



Parallèlement à ces suivis abiotiques servant à caractériser l'ambiance siégeant dans ces milieux, des échantillonnages de matériel biologique ont été réalisés de façon à pouvoir évaluer l'impact in situ provoqué par les pollutions agricoles sur des organismes clés de la DCE (maillon des diatomées benthiques, maillon des macro-invertébrés benthiques). Ces suivis ont été réalisés sur substrats naturels et substrats artificiels pour permettre, outre le calcul d'indices classiques, d'obtenir des descripteurs pertinents porteurs d'informations plus spécifiques sur les effets des pollutions toxiques (pesticides) : aspects dynamique de la mise en place des biofilms phytobenthiques, des espèces, observations relatives aux traits écologiques des espèces, approches biométriques....

### **2.3 - « Relations entre pression anthropique et caractéristiques chimiques du milieu » (EcoLab/ex LEH )**

Cette mise en relation était indispensable pour pouvoir ensuite raisonner les perspectives de plans de mesure et travailler sur des scénarios de programmes associant mises en place et résultats escomptés sur les concentrations et flux.

Le programme visait à réaliser une valorisation maximale des données existantes sur la zone et des données nouvelles nécessaires par la mise en œuvre de modèles pré-existants à éventuellement adapter, puis caler et valider sur le contexte local. Ainsi, il était prévu de mettre en relation les usages sur le territoire et les référentiels observés, afin de modéliser la contribution des activités agricoles à la pollution des cours d'eau de la zone.

Ainsi, un travail a été conduit pour modéliser les **facteurs d'enrichissement** en différents solutés géochimiques (notamment **métaux lourds**) qui peuvent être imputés à l'activité agricole.

Un second volet concerne la **modélisation des flux de nitrates**, sur le bassin-pilote de la Save. Le modèle utilisé (TNT2) a été développé par les chercheurs de l'INRA et il résulte d'un couplage entre un modèle hydrologique distribué maillé (basé sur les hypothèses de TOPMODEL) et le modèle STICS développé aussi par les chercheurs de l'INRA pour simuler les transferts d'azote dans les sols. TNT2 est le seul modèle «azote» permettant à ce jour de simuler simplement les interactions spatiales et le fonctionnement des structures types zones humides ou réseau bocager.

Les résultats de ce modèle ont été comparés à ceux obtenus avec le modèle SWAT à l'échelle du bassin versant expérimental d'Auradé puis ce modèle a été testé et appliqué au bassin de la Save en intégrant les apports diffus provenant du modèle TNT2, et calibré à partir des données de terrain obtenues sur ce bassin, permettant ainsi de réaliser un changement d'échelle.

Cette modélisation a été effectuée dans la laboratoire ECOLAB en partenariat avec la PME Toulousaine Silogic (devenue depuis AKKA Technologies).

### **2.4 - « Relations entre caractéristiques chimiques du milieu et les impacts biologiques » (EDB/ex LADYBIO et UR REBX-Cemagref):**

Sur ce point, les actions suivantes ont été menées :



**a) Analyse des référentiels de terrain et mise en relation des données d'ambiance chimique et biologiques (relevés diatomiques des biofilms de cours d'eau) (U.R. REBX) :**

Deux jeux de données différents ont fait l'objet d'une analyse des données abiotiques (physico-chimie et chimie de l'eau) et biologiques (différents descripteurs des biofilms diatomiques, allant de descripteurs globaux (matière sèche par unité de surface, quantité de chlorophylle par unité de surface, densités cellulaires diatomiques...) à des descripteurs individuels (taille des individus, déformations tératologiques...) et des descripteurs des communautés interspécifiques (identification et dénombrement à l'espèce sur 400 frustules par unité expérimentale).

Les relations entre les gradients d'anthropisation trophique (nutriments agricoles) et toxiques (différentes molécules pesticides) d'une part, et les réactions des communautés diatomiques des biofilms d'autre part ont été étudiées, afin de repérer et qualifier l'intensité des altérations anthropiques et leurs effets sur l'Etat Ecologique de ces cours d'eau.

\* **Un premier jeu de données de terrain 2006**, (4 campagnes de terrain), concernait une vingtaine de sites de terrain situés sur différents hydrosystèmes des Coteaux de Gascogne et a été analysé en premier lieu. Les données chimiques permettant de décrire l'ambiance trophique et les teneurs en pesticides étaient des données d'échantillonnages ponctuels acquis au début et à la fin de cycles de croissance du biofilm de 21 à 28 jours.

\* Du fait d'une très forte variabilité micro-temporelle des conditions d'exposition aux pesticides (exposition très dépendante des usages saisonnier et des conditions climatiques et hydrologiques du moment) ne permettant pas d'isoler correctement l'influence du gradient toxique par rapport à l'effet des nutriments (conditions plus stables à une même station), il a été décidé de refaire une campagne annuelle d'échantillonnages *in situ* en 2008 sur une dizaine de station de terrain illustratifs de continuums amont-aval sur 3 cours d'eau (Save, Sousson, Gèze) comportant 5 cycles saisonniers de croissance de biofilms, dont 2 réalisés cette fois à l'automne avec logiquement une plus faible pression pesticide. En comparaison aux échantillonnages ponctuels pour évaluer la qualité des eaux, il a été mis en place des échantillonnages intégrés sur 3 semaines mettant en œuvre des capteurs passifs POCIS, afin de procurer une vision plus représentative de l'exposition aux pesticides ayant prévalu pendant les cycles de croissance de biofilms sur substrats artificiels.

**b) Expérimentations d'exposition aux pesticides en conditions contrôlées de laboratoire (U.R. REBX) :**

Ce travail expérimental avait pour buts

- de **valider en conditions contrôlées la pertinence de nouveaux descripteurs plus fins d'effet des pollutions à toxiques** mis au point pendant le programme, afin qu'ils puissent ensuite passer à une application en routine (appui à l'évolution des pratiques des réseaux institutionnels).

- de **démontrer clairement des effets toxiques** suspectés en fonction des données de terrain et de **repérer à partir de quelles concentrations elles commencent à s'exercer**, toutes autres conditions, dont les conditions trophiques, étant maintenues constantes par ailleurs. En effet, dans le contexte naturel, les conditions trophiques (nutriments agricoles) et toxiques (pesticides) agissent en même temps, et d'autres conditions particulières (température de l'eau, éclaircissement/ombrage) peuvent influencer aussi sur les réponses des communautés *in situ* lors de comparaisons inter-sites.

Les deux forçages (trophique et toxique) ont souvent un effet antagoniste : jusqu'à un certain point, l'augmentation amont-aval des nutriments augmente la production biologique par forçage trophique, alors que l'augmentation souvent concomitante des concentrations en pesticides conduit à un effet xénobiotique altérant la croissance. Les expérimentations en conditions contrôlées permettent de stabiliser certains facteurs de forçage dont on n'étudie pas l'effet (température, éclairage, niveaux de nutriments) et de pouvoir affecter clairement une variation observée à l'exposition au(x) pesticide(s) imposée dans le cadre du protocole appliqué.

Plusieurs essais successifs d'exposition en conditions artificielles ont donc été conduites dans le hall technologique du Cemagref entre 2006 et 2009, soit en intercomparant l'effet de plusieurs matières actives à doses comparables, soit en faisant intervenir un gradient d'augmentation des concentrations des matières actives herbicides testées et en repérant des valeurs écotoxicologiques caractéristiques (NOEC, LOEC, C.I. 50...).

***c) Analyse des effets de pesticides agricoles sur les assemblages de poissons du bassin Adour-Garonne à 2 niveaux d'organisation biologique des assemblages ichtyologiques (EDB)***

Il était prévu de tirer parti au maximum des données pré-existantes et accessibles sur la zone, ainsi que des données de validation d'effets toxiques in situ acquises lors du programme. Suite aux analyses de données permettant d'effectuer une typologie des principales pollutions rencontrées et de leurs effets sur les compartiments biologiques, les relations entre données environnementales et effets sur un compartiment biologique-clé (le poisson, capable de rendre compte de l'altération des habitats à large échelle et d'effets toxiques pouvant avoir des conséquences pluri-annuelles sur le cycle de vie et le recrutement) ont été modélisées à l'échelle de tout le bassin Adour-Garonne, en utilisant et comparant plusieurs types d'outils dont les réseaux neuronaux. Ces effets ont été analysés d'une part sur la composition en espèces des assemblages, ce qui est une approche assez classique, et d'autre part sur des indicateurs plus fonctionnels des assemblages ichtyologiques, via l'utilisation des traits biologiques ou écologiques des espèces présentes (approche innovante).

### 3 - Principaux résultats obtenus

En pratique, pour des actions visant à collecter, dans un même continuum d'action, des descripteurs d'état des milieux aquatiques, puis à les analyser au service de l'évaluation d'effet des pollutions trophiques et toxiques sur des communautés biologiques, il semblait fastidieux de dissocier la présentation de résultats d'acquisition de données, inclus au titre de la Tâche 2 « **Etat du milieu : paramètres abiotiques et biologiques** », de celle de l'analyse de ces mêmes données au service de la Tâche 4 « **Relations entre caractéristiques chimiques du milieu et les impacts biologiques** ». En effet, les modalités d'acquisition de référentiels tant abiotiques (descripteurs du milieu et de sa qualité des eaux) que biologiques (descripteurs des communautés d'organismes-clés comme les diatomées des biofilms) conditionnent la portée des jeux de données qu'il a été possible de constituer sur une base homogène, puis d'analyser ensemble (il faut avoir acquis les mêmes descripteurs d'une façon comparable, voire standardisée, et sur une matrice de données complète pour pouvoir valablement analyser le jeu de données constitué). Ainsi, lorsque certaines actions comportaient ces deux types d'implications successives en lien (cela a notamment été le cas pour des actions d'acquisition et d'analyse de données abiotiques et hydrobiologiques de terrain, ainsi que pour des actions de réalisation et d'analyse de programmes expérimentaux d'exposition de maillons biologiques -notamment biofilms diatomiques- en conditions contrôlées de laboratoire ou de hall technologique), nous avons préféré les présenter dans un même paragraphe sous une logique chronologique traitant successivement de l'acquisition des données, puis de l'analyse pour mettre en relation descripteurs abiotiques et effets ou impacts biologiques sur des référentiels cohérents.

De ce fait, nous avons organisé la présentation des résultats ci-dessous selon la démarche de **progression scientifique** suivante, basée sur une **logique de causalité** :

- 1) Analyse des **usages, pressions et leur évaluation sur le territoire** (vulnérabilité et risques s'exerçant sur les milieux aquatiques influencés à la fois par des caractéristiques édaphiques, par l'occupation du sol et les usages principalement agricoles de la zone d'étude, puis estimation de la performance environnementale des structures agricoles),
- 2) Etude des **effets abiotiques sur les milieux aquatiques** (influence des pressions sur la physico-chimie et la chimie des eaux et des sédiments),
- 3) Analyse des **effets trophiques et toxiques sur les maillons biologiques**, permettant de révéler et de quantifier les impacts causés par les pressions anthropiques et l'altération des milieux aquatiques.

Lorsque les réalisations ont comporté plusieurs phases différentes et séparées d'acquisition, basées sur des référentiels à portée spatio-temporelle différente, elles ont été présentées par sous-chapitres chronologiques (étapes de réalisation du programme) permettant de retracer la progression du cheminement scientifique en fonction de l'étude des résultats acquis à une date donnée et de l'organisation de la réponse aux nouvelles questions qui se posaient.

### 3.1. Analyse des usages, pressions et leur évaluation sur le territoire

#### 3.1.1- Risques potentiels de contamination des eaux de surface et changement d'échelle spatiale (U.R. ADBX)

La méthode développée permet de comparer des bassins versants entre eux et de les hiérarchiser selon le risque potentiel de pollution des eaux qu'ils représentent. Les cartes acquises par cette méthode aident à la définition de zones prioritaires d'action et au dialogue entre acteurs en leur fournissant une méthode et un document commun. Elles ont été établies pour le risque agroenvironnemental lié aux excès d'azote d'origine minérale, et aux transferts de produits phytosanitaires.

##### \* Niveau de risque lié à la pression nitrates :

La carte avant agrégation (Fig. 3 ci-dessous) est l'expression du niveau du calcul, donc la carte la plus précise relative au risque de contamination par les excès d'azote d'origine minérale. Mais, elle représente une mosaïque de pixels difficilement interprétable visuellement et ne permet pas directement d'établir un diagnostic de zones prioritaires.

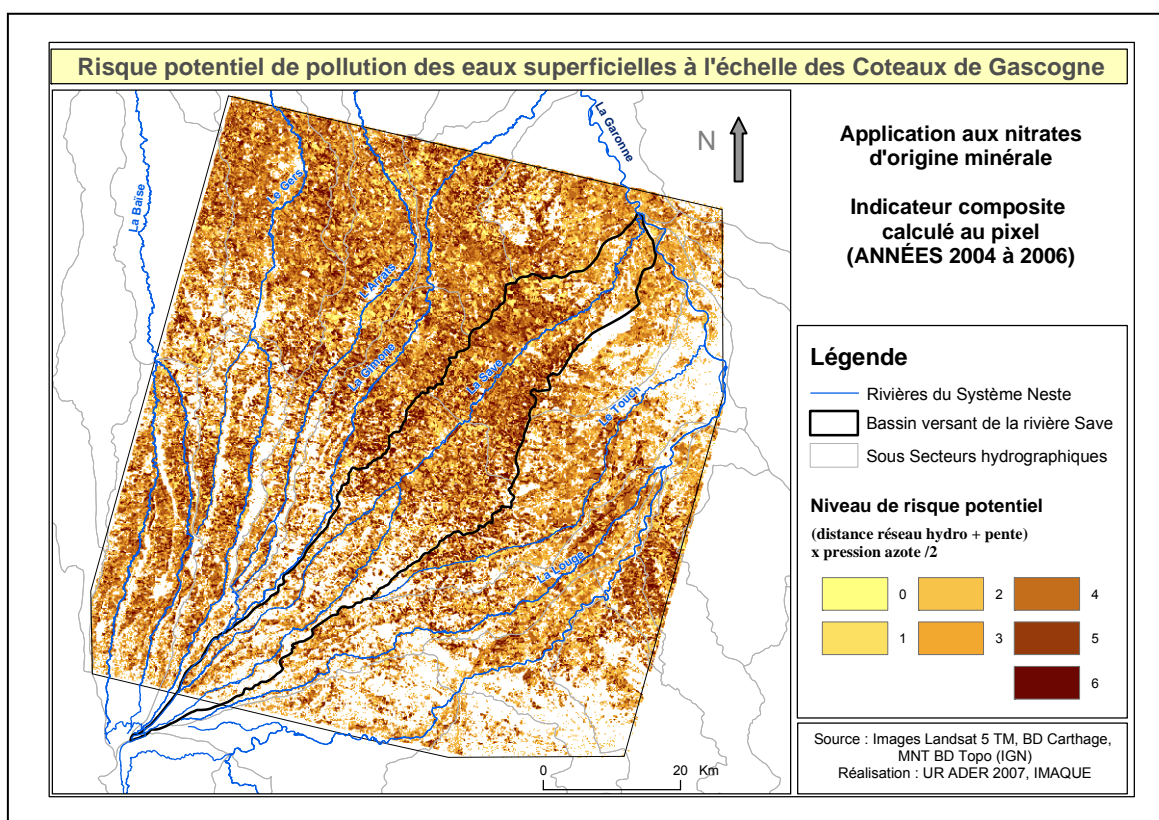
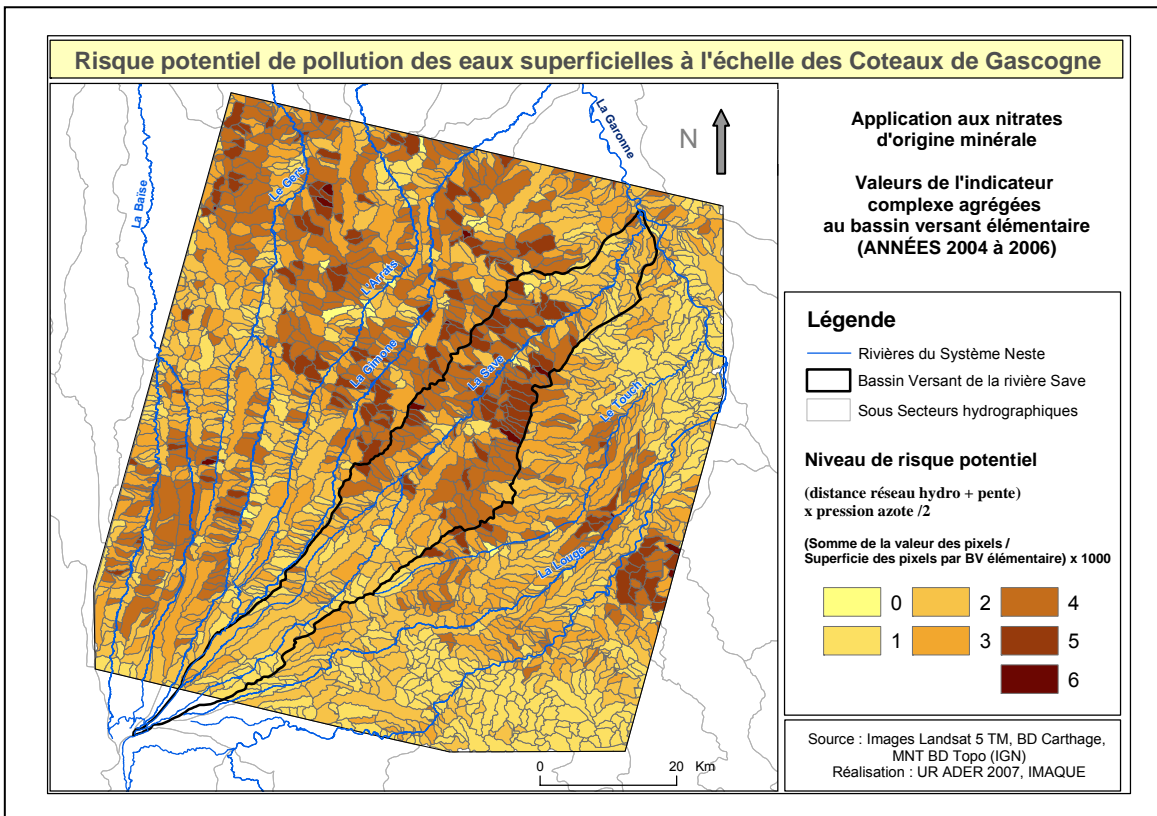
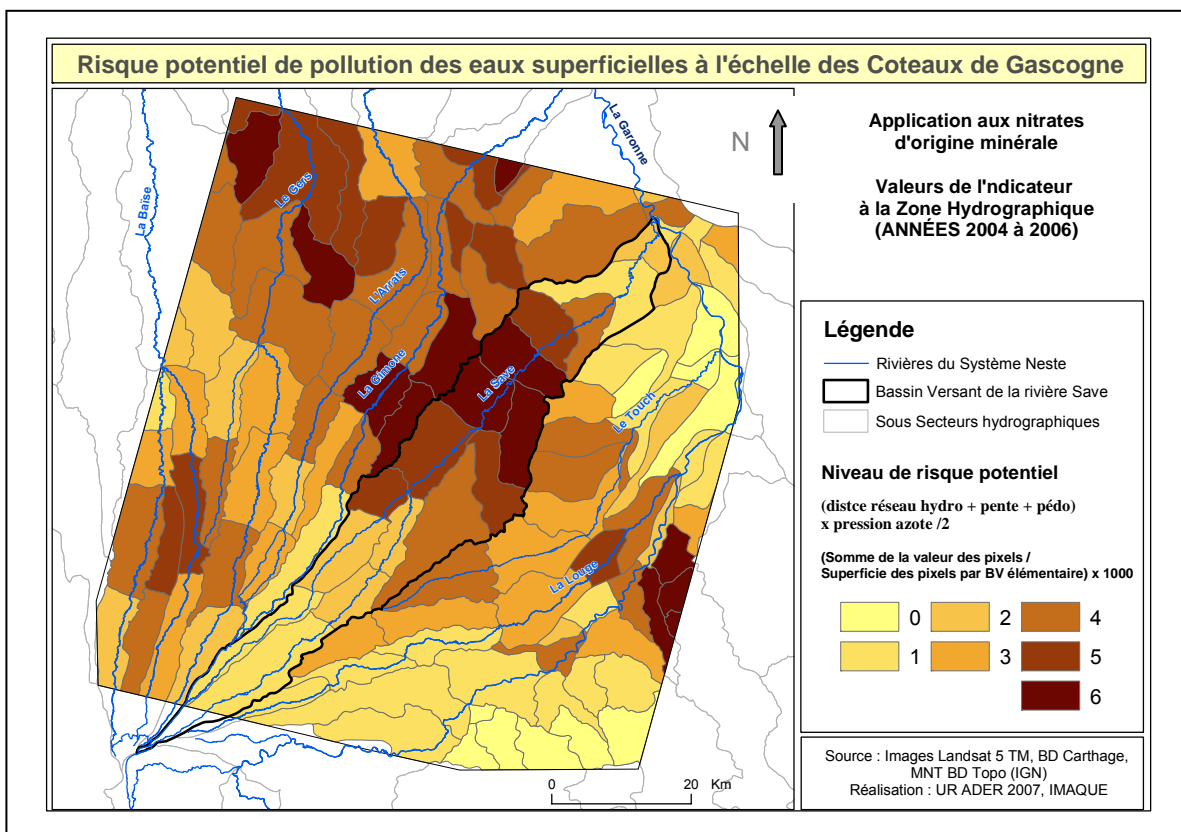


Fig. 3- Estimation du risque des excédents d'azote minéral représenté au pixel

La carte représentant le premier degré d'agrégation à l'échelle des BV élémentaires (Fig. 4 page suivante) offre une plus grande lisibilité pour une discrimination des zones prioritaires d'action à un niveau local en ce qui concerne les excédents d'azote.



**Fig. 4-** Estimation du risque des excédents d'azote minéral calculé au BV élémentaire



**Fig. 5-** Estimation du risque des excédents d'azote minéral calculé par zone hydrographique

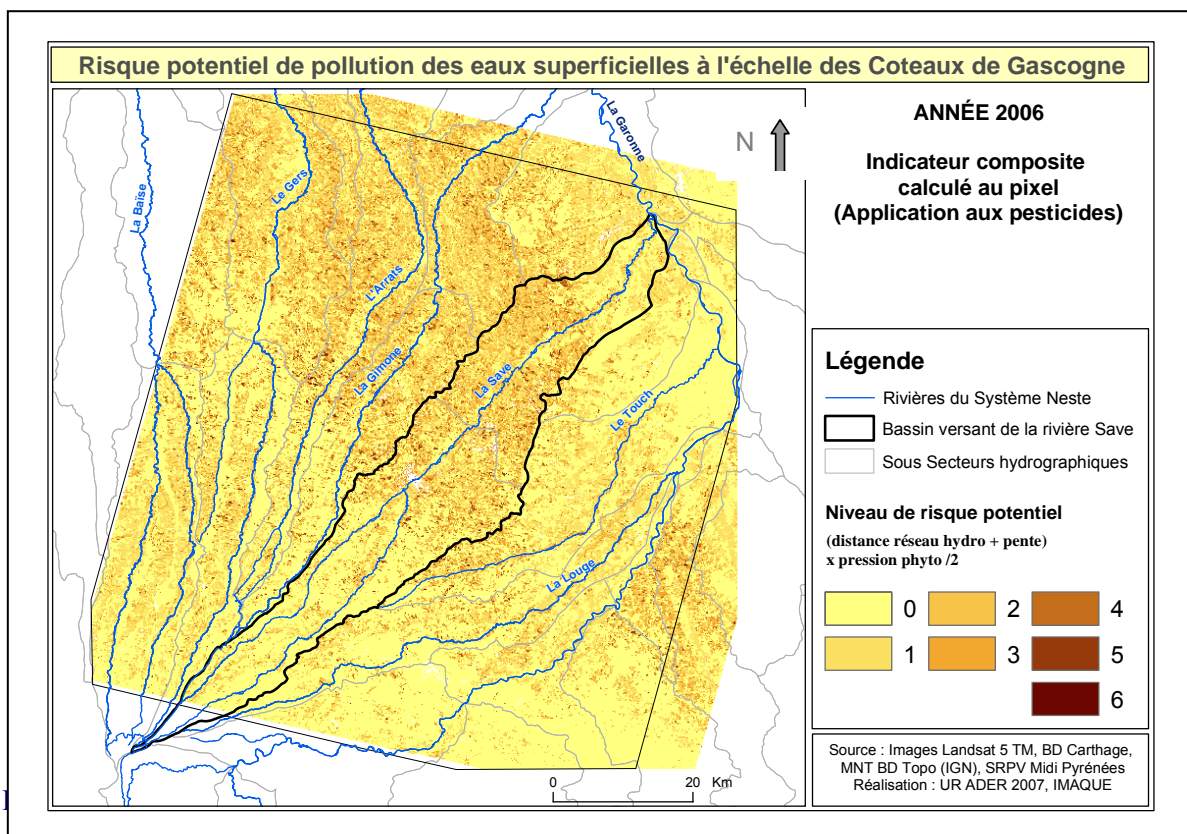


La carte présentée en Fig 5 représente l'agrégation des pixels à l'échelle des Zones Hydrographiques. Elle offre une visualisation intéressante et utile pour des gestionnaires en ce qui concerne les excédents d'azote, la trame territoriale sous-jacente étant pertinente pour la gestion qualitative de la ressource en eau à cette échelle (image moyennée à l'échelle des BV Intermédiaires, unités territoriales d'influence de ces zones hydrographiques).

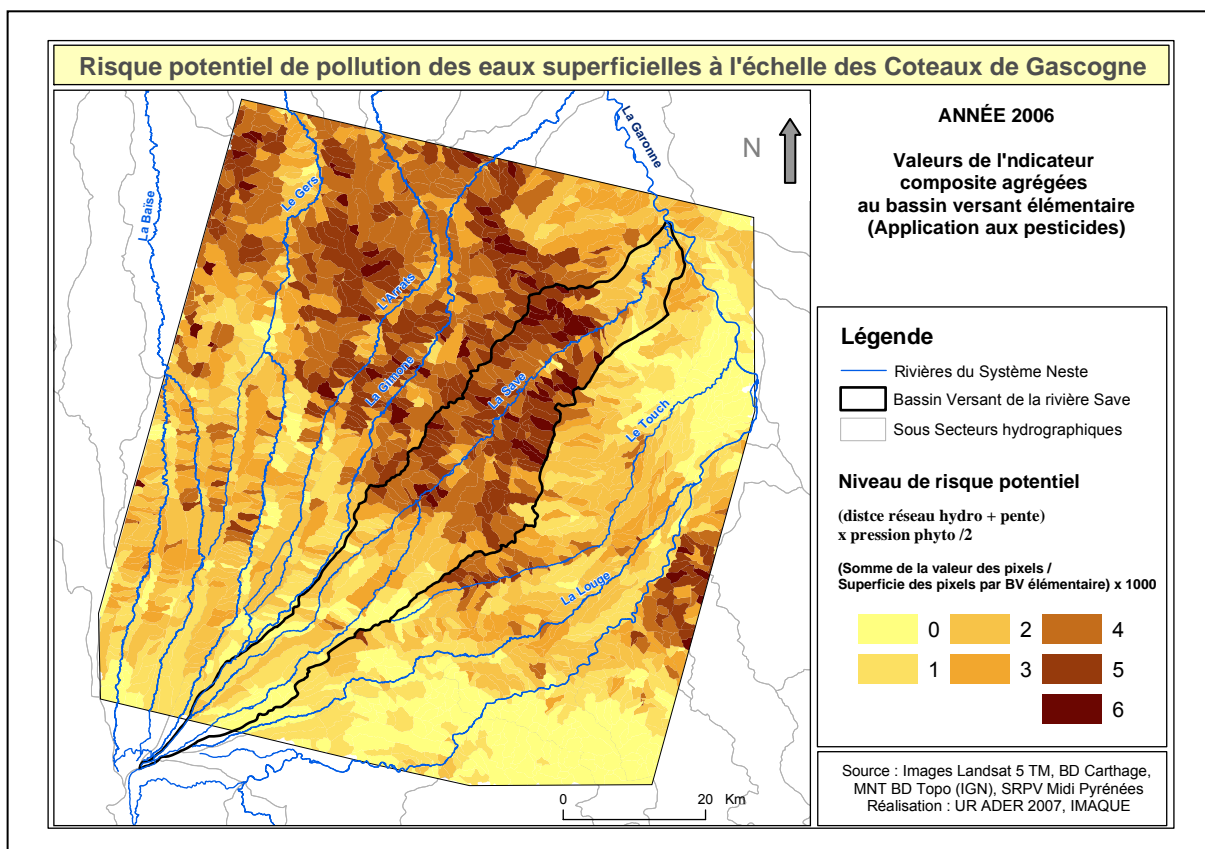
Ces cartes permettent à différents niveaux d'organisation de dégager des zones cibles pouvant faire l'objet d'une étude plus approfondie (mesures hydrologiques, mesures de la qualité de l'eau, suivi particulier des apports en fertilisants, des techniques culturales) ou d'actions prioritaires de lutte contre la pollution

**\* Risque de pression liée aux pesticides :**

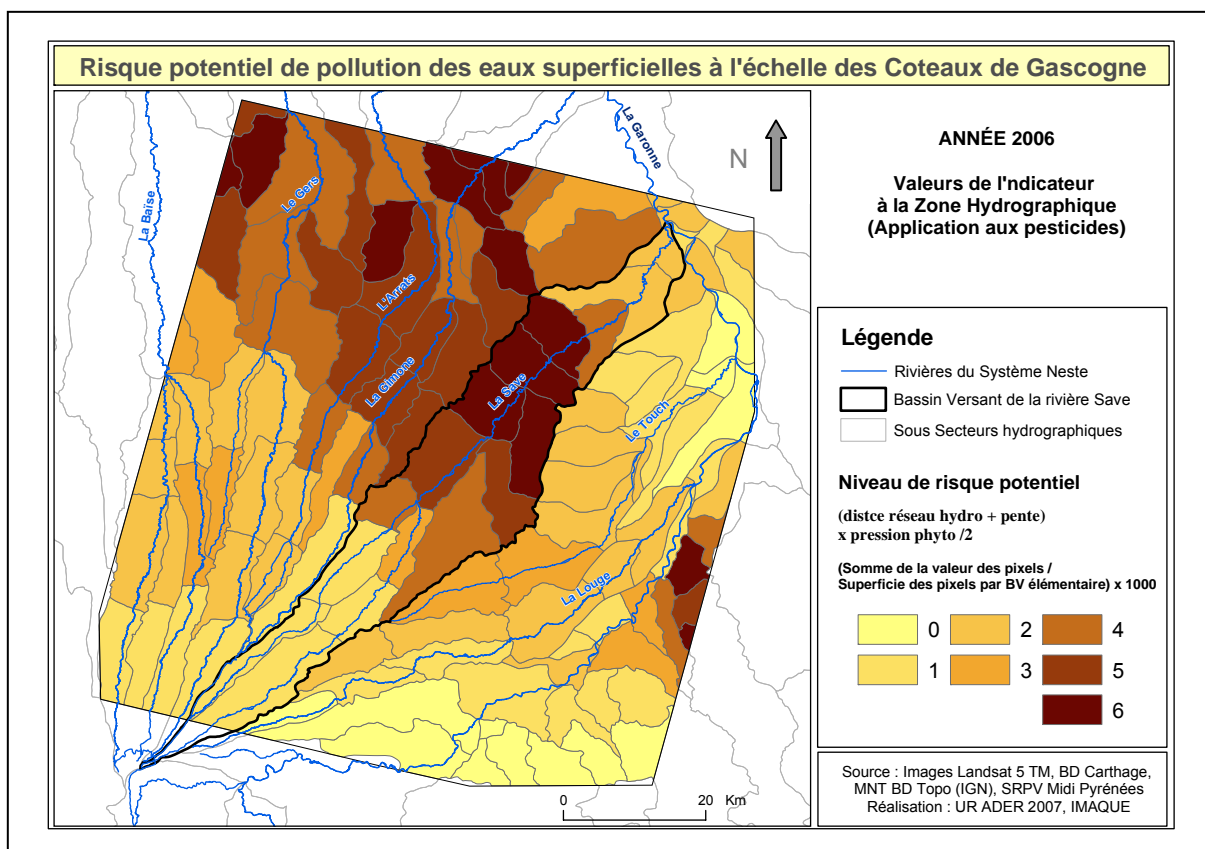
La même série de cartes a été produite à propos des produits phytosanitaires (Fig. 6 ci-dessous, Fig. 7 et Fig. 8 page suivante).



**Fig. 6-** Estimation du risque de transferts des phytosanitaires calculé par pixel



**Fig. 7-** Estimation du risque de transfert des phytosanitaires calculé par BE élémentaire



**Fig. 8-** Estimation du risque de transfert des phytosanitaires calculé par zone hydrographique



Les zones de risque potentiel de contamination des eaux de surface par les intrants d'origine agricole (nutriments, cartes des Figures 3 à 5, pesticides agricoles, cartes des Figures 6 à 8) apparaissent nettement dans les secteurs d'agriculture intensive le plus souvent conduite avec des rotations courtes (inférieures ou égales à 3 ans).

La présentation du risque phytosanitaire agrégé à l'échelle des zones hydrographiques permet de déterminer les secteurs prioritaires qui méritent la mise en œuvre spécifiquement ciblée d'actions publiques en terme de protection par exemple des zones de captage des eau, mais aussi de risque de non-atteinte du Bon Etat Ecologique de certains cours d'eau au terme de 2015, comme l'exige la D.C.E.

Ces zonages par sous-unité hydrographique sont les plus opérationnels vis-à-vis des objectif précités (l'Etat Chimique d'un captage d'eau potable doit être préservé par des mesures territoriales de protection sur son champ captant, l'Etat Chimique et l'Etat Ecologique selon la DCE doivent être atteints et seront évalués par Masse d'Eau) et peuvent ainsi concrètement aider à la mise en oeuvre des Programmes d'Action Territoriaux dont l'aire d'influence est celle du bassin versant rattaché à l'hydrosystème à enjeu sociétal et/ou DCE : c'est le cas du PAT de la Boulouze sur la rivière Save qui a été agréé en 2008 et dont la délimitation a été établie à partir du zonage précédent de risques de contamination des zones par les produits phytosanitaires.

Le niveau de risque établi à l'échelle des bassins versants élémentaires permet de mieux territorialiser et donc prioriser les mesures agroenvironnementales proposées aux agriculteurs dans l'objectif de la protection des eaux.

### **3.1.2- Performance environnementale de l'agriculture, et notamment des différentes exploitations agricoles (U.R. ADBX)**

Cette approche est traitée dans le cadre de la thèse de Younès DARRADI au sein de l'UR ADBX, dont l'exploitation des résultats est en cours, et qui sera soutenue courant 2010.

**Titre : Optimisation de la performance environnementale des activités agricoles à l'échelle d'un espace à enjeux : Le cas du bassin versant de la Boulouze.**

#### **Résumé :**

La performance environnementale d'activités agricoles décrites dans un espace peut être définie comme la distance entre l'état environnemental des écosystèmes à un moment donné ou sur une période spécifique et un état environnemental à atteindre pour ces écosystèmes, dit « de haute performance environnementale ». Elle est ici approchée par trois critères liés à la ressource naturelle en eau : les concentrations en nitrates, les matières en suspension, et les débits.

La performance environnementale est optimisée en minimisant de manière simultanée les distances entre les valeurs obtenues pour ces trois critères à l'exutoire du bassin versant et des valeurs-seuils. Pour cela, nous nous basons sur une réaffectation des systèmes de culture sur le bassin versant, le résultat escompté étant une nouvelle occupation des sols.

La méthode développée se base sur un couplage entre un modèle agro-hydrologique et un modèle d'optimisation multicritère sous contraintes, le Goal Programming. Le premier nous permet de définir la situation initiale du bassin et de générer les données en entrées pour l'optimisation.

La zone d'étude qui a été choisie comme site-test d'ancrage des mises au point méthodologiques et de leur testage est le bassin versant de la Boulouze, affluent de la Save.

### Références bibliographiques

BAILLARIN F., LEMONIER H., WEINZAEPFLER E., LETEINTURIER B., OGER R., Methodology guidelines for producing satellite inputs for the geo-indicators implemented in the GTIS-CAP project demonstration, 2005, Deliverable 4.2. , GTIS-CAP project. 125 p.

BLÖSCHL G. and SIVAPALAN M. Scale issues in hydrological modelling : a review. Workshop on scale issues in hydrological/environmental modelling, Robertson, NSW, Australia, 30 nov-2 dec 1993, John Wiley & sons, Chichester, GBR, 1995. 489 p.

CARLUER N. et al.. Définition et intégration à l'échelle d'un territoire de scénarios d'action pour lutter contre les pollutions diffuses en milieu rural. Ingénieries Eau-Agriculture-Territoires, *Cemagref*, Editions, spécial Agriculture et environnement, 2000. pp. 13-33

CNRS. Changements d'échelle dans les modèles de l'environnement et de la télédétection. Deuxième réunion sur les changements d'échelle dans les modèles de l'environnement et de la télédétection. Groupement Scientifique de Télédétection Spatiale, Strasbourg, 1993.167p.

COLIN F., 2000. Approche spatiale de la pollution chronique des eaux de surface par les produits phytosanitaires. Cas de l'atrazine dans le bassin versant du Sousson (Gers, France). Thèse ENGREF. 152 p.

CORPEN (Ed.). Des indicateurs pour des actions locales de maîtrise des pollutions de l'eau d'origine agricole : éléments méthodologiques - application aux produits phytosanitaires. Corpen, Paris, juin 2003. 136 p.

CORPEN (Ed.). Diagnostic régional de la contamination des eaux liée à l'usage des produits phytosanitaires : éléments méthodologiques, mars 2003. 65p.

DEVILLIERS J., et al. Indicateurs pour évaluer les risques liés à l'utilisation des pesticides. Lavoisier, Paris, 2005. 278p.

GOUY V. et al. Transfert des produits phytosanitaires : expérimentation en milieu naturel, BRGM, Hydrogéologie, n°1, 2000. p.57-66

GRIL. J.J.,LACAS, J.G., 2004, Intérêt des zones tampons enherbées et boisées pour limiter le transfert diffus des produits phytosanitaires vers les milieux aquatiques. De l'état des connaissances aux recommandations pratiques, étude Cemagref Lyon, 37p.

LEMONNIER H. and BAILLARIN F., Remote sensing data policy procurement document. 2005, Deliverable 4.4., GTIS-CAP project. 141 p.

MACARY F., LAVIE E., LUCAS G., RIGLOS O. Réflexions méthodologiques pour une modélisation spatialisée adaptée au changement d'échelle, destinée à apprécier le potentiel de contamination des eaux de surface par l'agriculture. Ingénieries-EAT, *Cemagref* Bordeaux, juin 2006. 19 p.

MACARY F., Vernier F. et al. Indicateurs environnementaux pour le zonage de risque potentiel de transferts de pesticides à l'échelle de Bassin Versant : méthodologies pour un changement d'échelle. Groupe Français des Pesticides, mai 2005. 8p.

MAISON, Philippe. Un modèle hydrologique de suivi de la pollution diffuse en bassin versant. Approche mécaniste simplifiée de la zone non saturée. Toulouse, Institut national polytechnique, Thèse en sciences de la terre et environnement, 2000. 249p. + annexes.

MAURIZI, B. et VERREL J.-L., 2002, "Des indicateurs pour des actions de maîtrise des pollutions d'origine agricole." Ingénieries - EAT 30: 3-14, Juin

PAEGELOW, Martin. Système d'information géographique et gestion de l'environnement. Application à l'étude des sols et de la pollution par les nitrates d'origine agricole en bassin-versant expérimental. Toulouse, Université Toulouse-Mirail, UFR Géographie et aménagement. Thèse. 1991. Tomes I et II. 155 et 170 p.

PUECH C., Utilisation de la télédétection et des modèles numériques de terrain pour la connaissance du fonctionnement des hydrosystèmes. Mémoire de recherches. INPG Grenoble, Cemagref ENGREF, Montpellier, 2000.83 p.

PUECH, C., D. DARTUS, et al. "Hydrologie distribuée, télédétection et problèmes d'échelle." Société française de photogramétrie et télédétection, n° 172, 2003. p.11 - 21.

RIBEYREIX-CLARET, Catherine. Agriculture et environnement. Erosion du sol et pollution diffuse par le phosphore. Le cas du bassin versant d'Auradé (Gers). Toulouse, Université Toulouse-mirail, UFR géographie et aménagement. Thèse. 2001. Tomes I et II. 444p.

TORIEL, C., 1998, Approche par télédétection de la circulation de l'eau sur un bassin versant agricole en vue de la construction d'un indicateur de pollution agricole : application au bassin versant du Sousson (Gers). Ecole Nationale Du Génie De L'eau Et De L'environnement Strasbourg; Cemagref

TURPIN, N.BIOTEAU, T., Pollutions diffuses sur des bassins de l'Ouest de la France : quelles données recueillir pour le diagnostic ? Ingénieries - E A T, n° 30, 2002. p. 15 - 25.

VOLTZ M., LOUCHARD X.. Les facteurs-clés de transfert des produits phytosanitaires vers les eaux de surface. Ingénieries Eau-Agriculture-Territoires, Cemagref Editions, n°spécial Phytosanitaires, 2001. p. 45-54

VOLTZ et al. Expertise scientifique collective "Pesticides, agriculture et environnement ». Chapitre 3 Devenir et transfert des pesticides dans l'environnement et impacts biologiques. INRA, Cemagref, 2005. 219p.

## **3.2. Etat du milieu: paramètres abiotiques et biologiques**

### **3.2.1. Impact des fertilisants azotés sur la qualité des eaux et la consommation de CO<sub>2</sub> atmosphérique (EcoLab/ex AEE-ENSAT-AEE)**

#### *\* Modification de la composition chimique des ruisseaux en zone agricole*

A l'aide de référentiels acquis sur différents types de bassins versants des Coteaux de Gascogne à occupation du sol bien différenciée (bassins versants agricoles, dont 2 bassins versants expérimentaux instrumentés -Montoussé et Hay-, bassins versants forestiers), nous avons pu montrer que le rapport molaire  $R=(Ca+Mg)/HCO_3$  dans les eaux de surface des BV gascons est significativement plus élevé en zone agricole qu'en zone forestière (Fig.1).

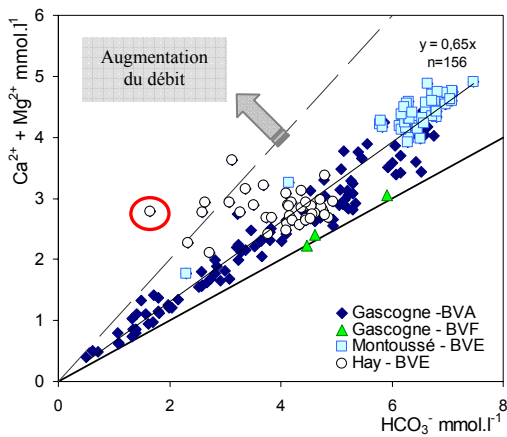


Fig. 9 Relation entre  $(Ca^{2+}+Mg^{2+})$  et  $HCO_3^-$  dans les eaux des ruisseaux gascons. Le rond entouré correspond à un événement de crue sur le Hay le 13/10/05 (débit 23 fois supérieur à la médiane).

Dans les bassins versants forestiers (BVF), seule l'altération naturelle des minéraux carbonatés en présence de  $CO_2$  atmosphérique se produit et R est de 0,5:



Dans les bassins versants agricoles (BVA), les processus d'altération subissent la présence de protons produits lors de la nitrification de fertilisants azotés et R devient égal à 1 :



L'augmentation de R a également été notée en comparant les BV naturels français (R=0.53) et les BV naturels de la Seine (R=0.52) avec les BV agricoles (BVA) de la Seine (R=0.62) et de la Swale (R=0.71).

Cette augmentation de R correspond en fait à une perte relative d'alcalinité ( $\Delta HCO_3^-$ ) des eaux qui est significativement corrélée aux teneurs en  $NO_3^-$  mesurées dans les BVA (Fig.10).

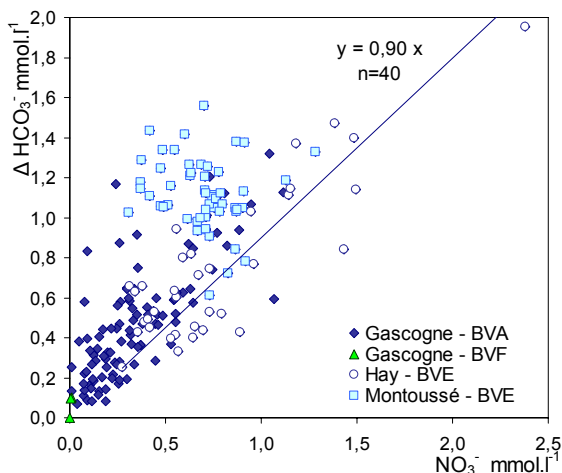


Fig. 10. Relation entre la perte d'alcalinité ( $\Delta HCO_3^-$ ) et les teneurs en nitrate dans les eaux des ruisseaux gascons.

\* Influence sur la consommation de  $CO_2$  atmosphérique/biosphérique

La consommation de CO<sub>2</sub> atmosphérique et biosphérique par l'altération chimique des minéraux carbonatés des roches et des sols a été estimée grâce au modèle géochimique MEGA (Amiotte-Suchet and Probst, 1996). La contribution du CO<sub>2</sub> à l'alcalinité totale des rivières ne peut excéder 50% dans un bassin carbonaté selon les coefficients stoechiométriques de la réaction de dissolution naturelle des carbonates (Eq.1). Cependant cette contribution est fortement diminuée dans les BVA (Fig. 11) (BV Gascons et bassins de la Seine et de la Swale) montrant que l'altération est modifiée par les apports de protons liés aux épandages de fertilisants (Eq.2).

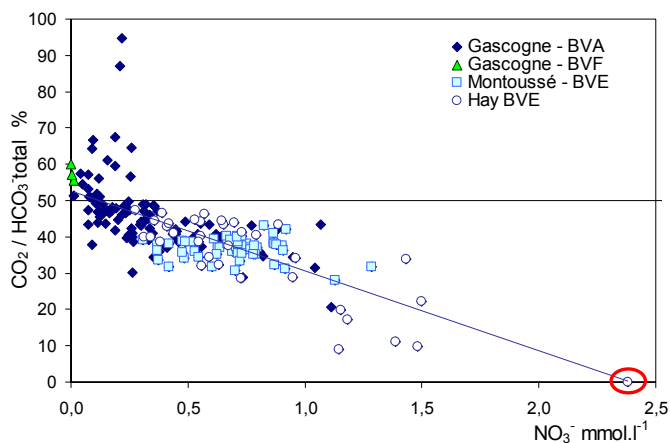


Fig. 11. Relation entre la contribution (%) du CO<sub>2</sub> à l'alcalinité totale des cours d'eau et les teneurs en NO<sub>3</sub><sup>-</sup> dans les eaux des ruisseaux (Perrin et al., 2008). Le rond entouré correspond à un événement de crue sur le Hay le 13/10/05 (débit 23 fois supérieur à la médiane).

Cette étude montre que dans les BV carbonatés agricoles, l'alcalinité totale des eaux de surface diminue par rapport à la teneur en Ca+Mg.

Cette baisse est essentiellement due à une diminution de la contribution du CO<sub>2</sub> atmosphérique/biosphérique et elle étroitement associée à une augmentation des teneurs en nitrates dans les eaux (Fig. 11), montrant ainsi qu'en zone cultivée, la fertilisation azotée agit par apport de protons sur les processus d'altération chimique. L'évolution sur 30 ans des teneurs en nitrates (augmentation), alcalinité (diminution) et calcium plus magnésium (augmentation) sur la Save confirment les résultats obtenus sur les petits bassins versants. Ces processus méritent aujourd'hui d'être pris en compte à l'échelle globale.

*Ces résultats ont fait l'objet de la thèse d'Anne-Sophie PERRIN soutenue fin 2008 et d'une publication dans GCA (PERRIN et al. 2008).*

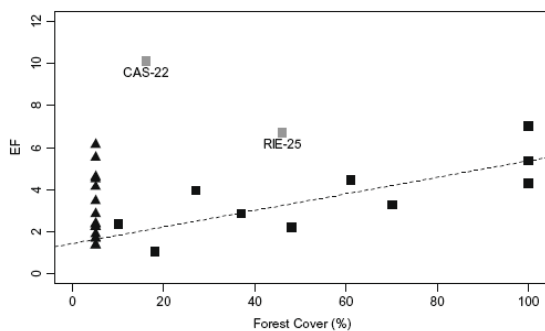
#### 4.2.2. Polluants inorganiques dans les bassins versants gascons (EcoLab/ex AEE-ENSAT-AEE)

Les principaux objectifs sont d'estimer la contribution de l'altération des roches et des sols et des activités anthropiques aux teneurs en métaux dans les sols et les rivières (eaux et sédiments) et à leur dynamique au sein des hydrosystèmes. Il s'agit aussi de déterminer le rôle des différents facteurs de contrôle : teneurs en carbone organique et oxydes de fer, teneur en argiles, pH, potentiel redox, ligands inorganiques, spéciation physique et chimique.

Ces recherches sont développées sur des petits bassins versants expérimentaux (Montoussé et Hay) aussi bien que sur des grands bassins versants comme la Save, le Gers ou le Touch.

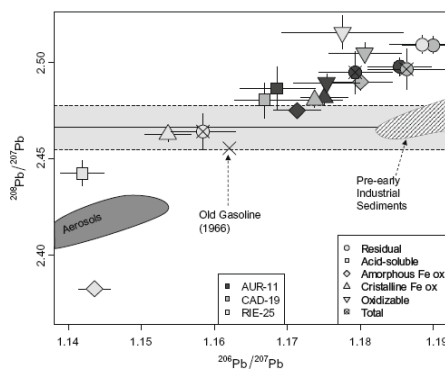
*\* Distribution et origine du Pb dans les bassins versants agricoles gascons*

Nous avons déterminé l'origine (naturelle ou anthropique) du Pb dans les bassins versants agricoles gascons en analysant les concentrations et les compositions isotopiques du Pb dans les sédiments de fond d'une trentaine de petits ruisseaux gascons (Bur et al., 2009). Nous avons montré tout d'abord que la contamination en Pb de ces milieux était faible mais significative. Cette contamination affecte davantage les surfaces forestières que les surfaces cultivées (Fig. 12) montrant le rôle efficace des forêts dans le captage des polluants d'origine atmosphérique (Pb des essences). Ce Pb est ensuite lessivé vers les sols et piégé par la matière organique. Sur les sols des surfaces cultivées, le Pb est au contraire préférentiellement associé aux oxydes de fer.



*Fig.12 Relation entre le facteur d'enrichissement (EF) en Pb dans les sédiments des ruisseaux gascons et le pourcentage de forêts sur les bassins versants drainés par ces ruisseaux (Bur et al., 2009). CAS-22 et RIE-25 sont des sites contaminés par la proximité d'une route à grande circulation automobile. Les triangles représentent les bassins dont les surfaces sont entièrement cultivées*

La contribution anthropique du Pb a été estimée pour la première fois en combinant une approche géochimique basée sur les facteurs d'enrichissement et une approche isotopique basée sur les diagrammes de mélange. Les résultats obtenus vont dans le même sens mais l'approche géochimique (60%) donne une contribution anthropique du Pb supérieure à l'approche isotopique (40%). Nous avons couplé pour la première fois l'approche isotopique avec une extraction chimique séquentielle développée par Leleyter et Probst en 1999 pour déterminer la composition isotopique du Pb dans les différentes phases. Cette approche nous a permis de montrer que le Pb d'origine anthropique avait une forte affinité pour les carbonates et les oxydes de fer dans les bassins versants cultivés (Fig. 13).



*Fig. 13- Diagramme  $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  vs.  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  dans les échantillons de sédiments de fonds de 3 ruisseaux gascons et dans les différentes fractions extraites par extraction chimique séquentielle (Bur et al., 2009). La composition des différentes fractions (carrés, triangles et losanges) s'étend le long d'une droite de mélange entre le pôle anthropique moyen (en grisé) et les phases résiduelles (ronds).*



**\* Origine des éléments traces dans les sédiments de fond des rivières gasconnes**

Pour déterminer l'impact des activités agricoles sur la dynamique des éléments traces métalliques dans les bassins versants gascons, nous avons analysé la composition chimique en éléments majeurs, métaux lourds et terres rares dans les eaux et les sédiments (<63µm) de 3 principaux cours d'eau gascons (Gers, Save et Touch) et de leurs affluents. Les facteurs d'enrichissement (Fig. 14) des métaux sont généralement faibles et inférieurs à 2,5, montrant que les métaux sont principalement issus de l'altération de la molasse, à l'exception de Cd, Pb et Co dont la contribution anthropique peut représenter jusqu'à 34% de la concentration.

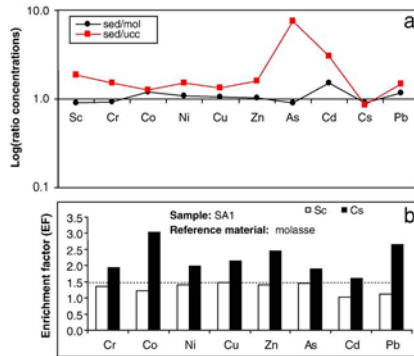


Fig.14- Concentrations en éléments traces normalisées par rapport à l'UCC et à la molasse (8 a) et facteurs d'enrichissement normalisés par rapport à la molasse en utilisant Sc et Cs comme élément de référence (8 b), dans les sédiments fluviaux des rivières gasconnes (N'Guessan et al., 2009).

Des enrichissements pour Cu, Pb, Zn, Co, As, Ni and Cr sont principalement observés sur les bassins forestiers (Fig. 15) et sont associés aux retombées atmosphériques des émissions industrielles régionales et globales. Les enrichissements en Cd sont uniquement observés sur les bassins agricoles (Fig. 15) et sont associés aux teneurs en Ca et P, montrant que Cd est principalement apporté par les fertilisants et qu'il est contrôlé par les teneurs en carbonates.

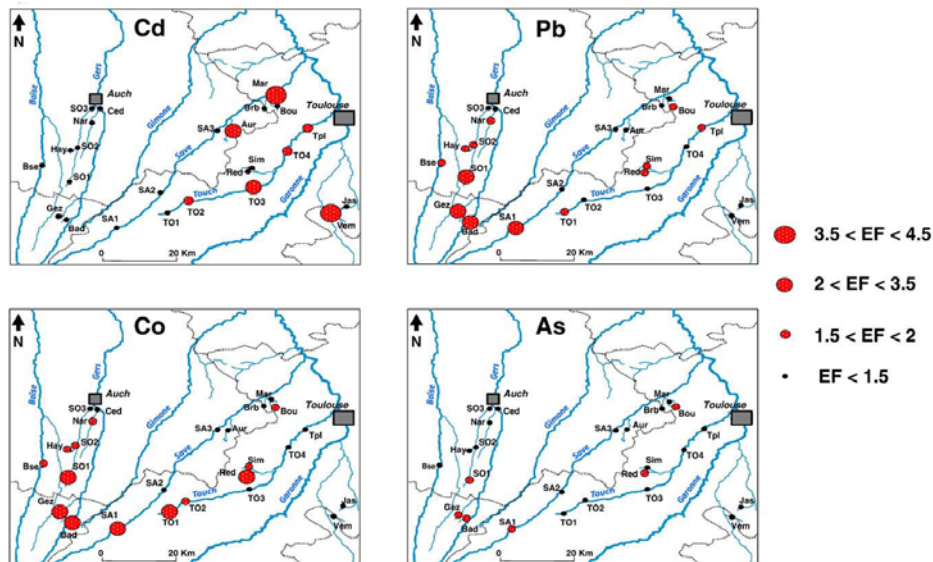


Figure 15- Distribution spatiale des facteurs d'enrichissement en Cd, Pb, Co et As dans les sédiments fluviaux des rivières de Gascogne (N'Guessan et al., 2009).

Ces résultats ont fait l'objet de 2 thèses de doctorat (Bur, 2008 et N'Guessan, 2009) et 2 publications dans des revues internationales (Bur et al., 2009 ; N'guessan et al., 2009 ).



### 3.2.3. Polluants organiques dans les bassins versants gascons (EcoLab/ex AEE-ENSAT-AEE)

Les périodes de crue jouent un rôle majeur dans le transfert des pesticides sur les bassins versants agricoles. C'est pourquoi pour établir des bilans précis des flux de pesticides et mieux comprendre les mécanismes de transfert de ces molécules durant ces périodes clefs (thèse Taghavi, 2010 ; Taghavi et al. 2009 et 2010), nous avons entrepris dès 2007 des suivis à pas de temps réduits des concentrations en pesticides dans les eaux, les MES et les sédiments de fond sur le bassin versant expérimental du Montoussé (320 ha), sous affluent de la Save, et sur le bassin de la Save (1150 km<sup>2</sup>), affluent rive gauche de la Garonne. Les concentrations en pesticides mesurées durant les crues dans les différentes fractions dépassent largement les normes tolérées et les valeurs mesurées par les réseaux de surveillance institutionnels. La contribution des phases particulières représente 40 à 90% du total des molécules exportées suivant la solubilité des molécules. Les concentrations augmentent en général avec le débit mais on peut observer un décalage entre le pic de crue et le maximum de concentration qui se traduit sur la relation entre les teneurs et les débits par des phénomènes d'hystérésis senestre (sens inverse de rotation des aiguilles d'une montre, Fig. 16 gauche) ou dextre (sens de rotation, Fig. 16 droite). Ces hystérésis peuvent être attribuées pour les senestres à une contribution plus importante du ruissellement hypodermique (plus concentré en pesticides plus solubles comme le métolachlore) durant la descente de crue, et pour les dextres à une contribution plus importante du ruissellement de surface (plus concentré en pesticides peu solubles comme l'aclonifène) en montée de crue.

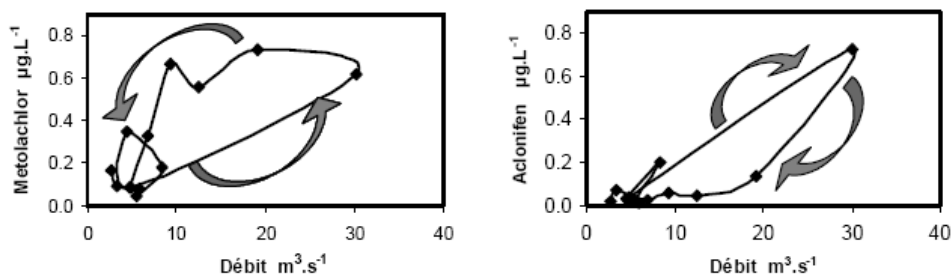


Fig. 16- Relations concentrations-débits lors de la crue d'avril 2008 sur la Save à la station de Larra, montrant une hystérésis senestre pour le métolachlore à gauche et dextre pour l'aclonifène à droite (Taghavi et al., 2009).

Nous avons pu montrer que les principaux facteurs de contrôle des teneurs en pesticides et de leur distribution entre les phases dissoutes et particulières ( $K_d$ ) étaient les teneurs en carbone organique dissous et en matières en suspension. Nous avons pu aussi, pour la première fois, mettre en évidence pour quelques molécules (simazine, isoproturon, chlorotoluron, DEA, terbuthylazine et tébuconazole) une très bonne relation (Fig. 17) entre le  $K_d$  (estimé à partir des teneurs mesurées dans les différentes fractions) et le  $K_{ow}$  (valeurs issues des bases de données sur les pesticides).

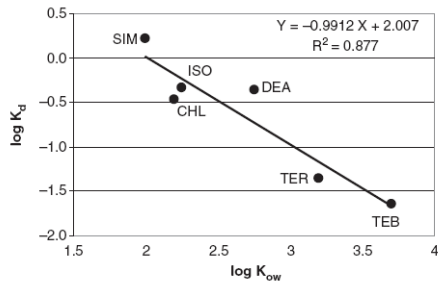


Fig.17 – Relation entre  $K_d$  et  $K_{ow}$  pour 8 molécules pesticides durant la crue de mars 2006 sur le bassin versant versant expérimental agricole du Montoussé à Auradé, Gers (Taghavi et al., 2010).

Ces résultats ont fait l'objet d'une thèse de doctorat (Taghavi, 2010) et d'une publication dans une revue internationale (Taghavi et al. 2010).

#### 4.3. Relations entre pression anthropique et caractéristiques chimiques du milieu (EcoLab / ex LEH)

Ce travail a eu comme objectif de comprendre et quantifier les transferts d'azote agricoles dans les rivières des bassins versants Gascons (Fig. 18), afin d'évaluer l'efficacité de scénarii agricoles sur la teneur en azote nitrique des rivières.

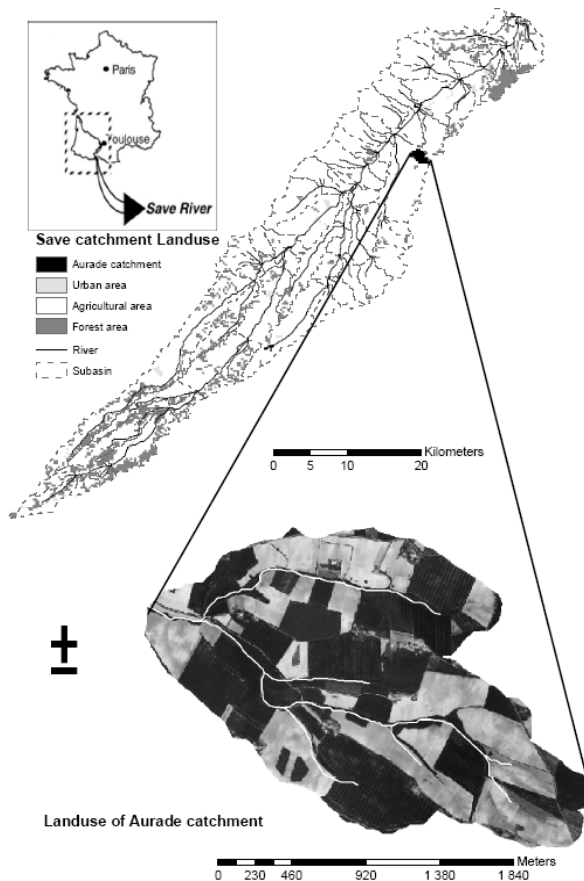


Fig. 18- Localisation du bassin versant d'Auradé dans le bassin versant de la Save. L'occupation du sol sur la Save est dérivée de Corine Land Cover 2000. Le linéaire du Montoussé est ajouté sur une photo aérienne représentant le parcellaire d'Auradé (cartoexplorer ; IGN). Les parcelles blanches correspondent à du sol nu (blé récolté), les autres sont recouvertes de tournesol.

Un protocole de mesure en continue dans le petit bassin versant agricole d'Auradé (Gers, Sud-Ouest de la France) de 3.3km<sup>2</sup> a été mis en place pour mesurer la variabilité de la teneur en nitrate (Fig. 19). Les variations infra-journalières des concentrations lors d'évènements de crue sont fortes, les flux correspondant sont importants à l'échelle annuelle.

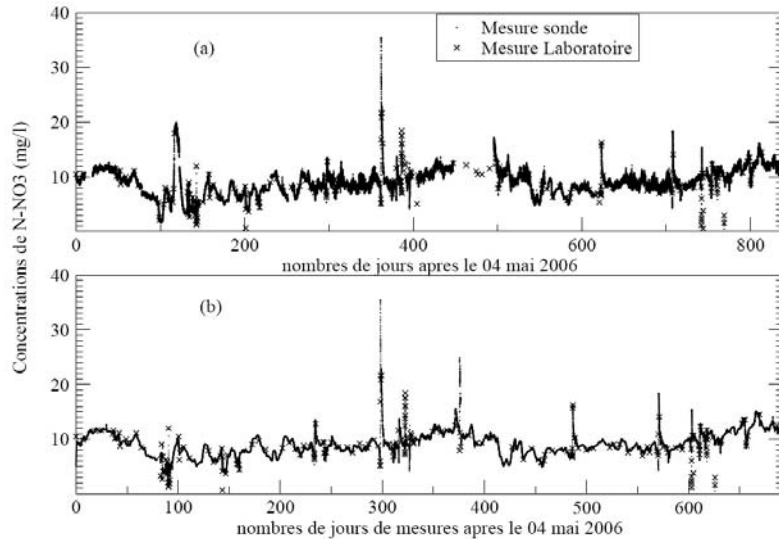


Fig. 19- Chroniques de concentrations de N-NO<sub>3</sub> à l'exutoire d'Auradé. (a) données brutes recalées par rapport aux analyses en laboratoires. Les trous correspondent à des périodes de non fonctionnement de la sonde. (b) données recalées par rapport aux analyses en laboratoire et convoluées pour les périodes d'étiages. Les périodes sans données sondes sont enlevées du signal.

L'approche de modélisation à base physique du bassin versant d'auradé a ensuite été utilisée pour calculer les bilans hydriques et agronomiques de ce type de bassin. Deux modèles de bassin versant ont été choisis : TNT2, entièrement distribué, adapté aux petits bassins versants à nappe superficielle, SWAT, semi distribué, développé pour de plus larges bassins versants. Leur utilisation a permis de simuler l'intensité journalière des flux d'azote nitrique observée dans la rivière, notamment en période de crue, mais l'approche SWAT montre qu'elle est mieux adaptée pour simuler les transferts rapides (Fig. 20).

Les simulations des bilans d'eau et d'azote sont proches pour les deux modèles même si les processus simulés sont opposés. Ces simulations ont montré l'importance des processus de dénitrification et de minéralisation pour déterminer la capacité des modèles à reproduire la réalité.

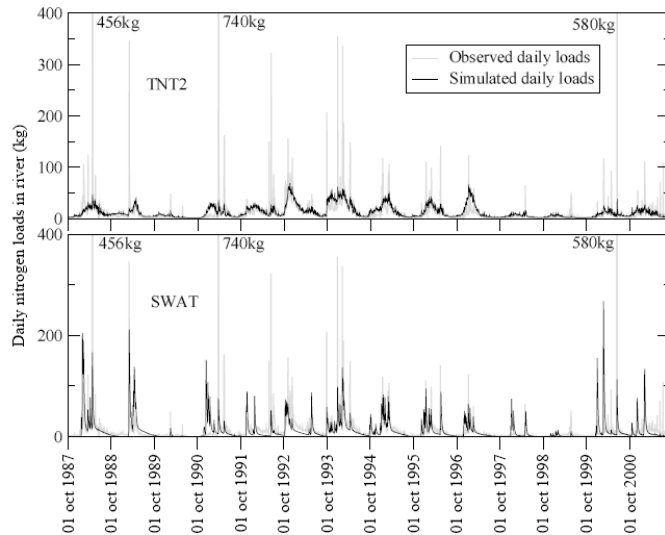


Fig.20 – Flux journaliers de nitrates ( $\text{kg}\cdot\text{jour}^{-1}$ ) observés (courbe grise) et simulés (courbe noire) avec le modèle semi-distribué SWAT et le modèle entièrement distribué TNT2 à l'exutoire du bassin versant expérimental d'Auradé. Le coefficient NRMSE est respectivement de 3.8% et 4.3% pour les simulations avec TNT2 et SWAT

TNT2 a été jugé plus adapté pour simuler des scénarios agricoles imaginés ou déjà implantés sur le bassin versant d'Auradé. Les résultats de simulation montrent que les mesures agro-environnementales implantées auraient eu une efficacité de 16% de diminution des flux d'azote nitrique annuels à l'exutoire, à laquelle s'ajouterait encore 18% de diminution en cas d'implantation de Culture Intermédiaire de Piège à Nitrate (Fig. 13).

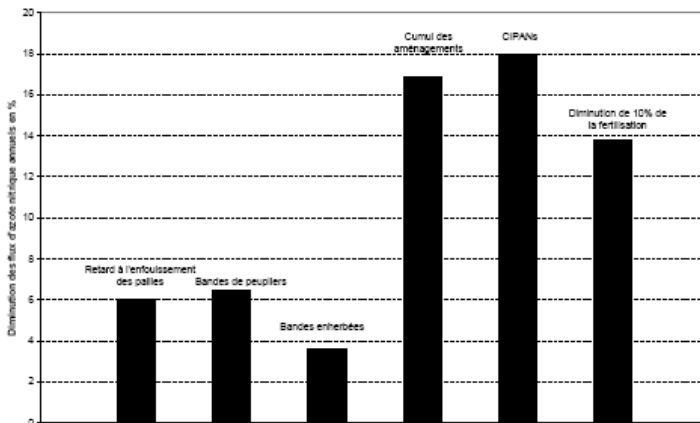


Fig.21 – Pourcentage annuel de réduction des flux de nitrates à l'exutoire du bassin versant d'Auradé en fonction des différents scénarios d'itinéraires techniques et de mesures agri-environnementales testées à l'aide du modèle TNT2.

Le paramétrage global de SWAT sur la Save (Fig.22), bassin versant de  $1110 \text{ km}^2$  contenant le bassin d'Auradé, a ensuite été modifié pour le contexte agro-pédologique d'Auradé, représentant 25% de la surface du bassin de la Save. Les paramètres hydrologiques majeurs calibrés sur le bassin d'Auradé sont transposés sur cette surface. L'amélioration des prédictions à l'exutoire de la Save est significative, et montre la contribution importante de ces zones aux débits à l'exutoire de la Save lors de certains événements pluvieux. Une meilleure prise en compte de l'occupation du sol est à envisager pour améliorer ces prédictions.

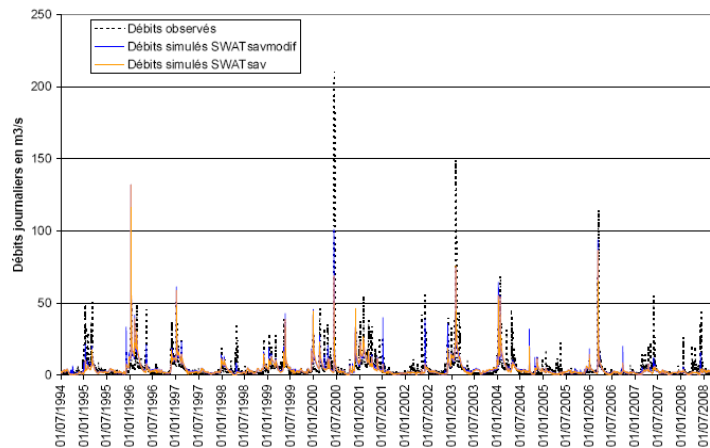


Fig.22 – Débits moyens journaliers observés (pointillés) et simulés (bleu et orange) à l'exutoire du bassin versant de la Save. Les simulations de SWAT sont faites avec l'option « dominant landuse ». Le calage SWAT modifié ((en orange) intègre les paramètres du calage réalisé sur le bassin versant versant élémentaire d'Auradé, améliorant la simulation.

*Ces travaux ont fait l'objet de la thèse de doctorat de Sylvain Ferrant (2009) et ont été présentés à l'European Union of Geosciences en 2009. Ils ont été soumis pour publication début 2010 dans Hydrological Processes et dans Journal of Hydrology.*

### 3.4 Relations entre caractéristiques chimiques du milieu et les impacts biologiques (U.R. REBX - EDB / ex LADYBIO)

#### 3.4.1. Modèle biologique : biofilms périphytiques (UR REBX - Cemagref)

Durant les dernières décennies, l'utilisation d'herbicides agricoles est devenue la méthode prédominante de lutte contre les mauvaises herbes des cultures mais l'introduction des herbicides dans les environnements aquatiques par lessivage est susceptible d'avoir des conséquences environnementales pour des organismes non-cibles, en particulier les algues d'eau douce qui sont à la base des réseaux trophiques aquatiques. Par conséquent, les effets des pesticides sur la structure et les fonctions de ces communautés peuvent affecter d'autres composantes de l'écosystème.

Jusqu'ici, les recherches sur les effets de pollutions agricoles (engrais et pesticides) sur les communautés d'algues periphytic sont rares (Guasch et al, 1997, 1998 ; Hatakeyama et al, 1994 ; Navarro et al, 2002) et généralement éloignées de la complexité du terrain.

La majorité de ces travaux concerne l'étude de cultures pures de diatomées, soumises à des contaminations par des composés simples. Or ces substances sont rarement rencontrées seules dans le milieu, en raison de la variété d'autres contaminants, mais aussi des nombreuses formulations commerciales et produits de dégradation.

Les herbicides peuvent affecter la croissance et la physiologie des algues, ainsi que la structure de la communauté ; cependant les réponses des diatomées à la contamination par les pesticides peuvent varier considérablement selon des composés (Eullaffroy et Vernet, 2003; Källqvist et Romstad, 1994; Nyström et al, 1999; Pipe et Cullimore, 1984) et leurs combinaisons (Hatakeyama et al, 1994 ; Hoagland et al, 1996) et concentrations (Abdel-Hamid et al, 1996; Romstad et Källqvist, 1994), les espèces considérées (Kasai et al, 1993 ; Lockert et al, 2006;

Nyström et al, 1999 ; Pérès et al, 1996) voire même les souches (Kasai et al, 1993; Millie et Hersh, 1987) et ou les conditions expérimentales (Tlili et al, 2008). De nombreux essais biologiques au laboratoire ont montré que les effets toxiques des pesticides sur les diatomées d'eau douce peuvent se produire à des concentrations réalistes au niveau environnemental (c.-à-d. e.<1µg/L) (Guanzon et Nakahara, 2002; Källqvist et Romstad, 1994; Nyström et al., 2002) Cependant, les effets sur les populations multispécifiques naturelles, décrits par les indices biologiques, ne permet pas de relier significativement ces indicateurs et concentrations totales en pesticides (Dorigo et al, 2004 ; Liess et al, 2005). En effet les causes de modification des communautés de diatomées peuvent être dues non seulement aux pesticides, mais également à des modifications de la trophie, notamment dans des contextes agricoles où l'utilisation d'engrais peut être importante.

Dans ce contexte, de nouvelles méthodes d'évaluation de l'effet des pesticides sur les écosystèmes aquatiques sont nécessaires. Les objectifs de cette étude sont doubles :

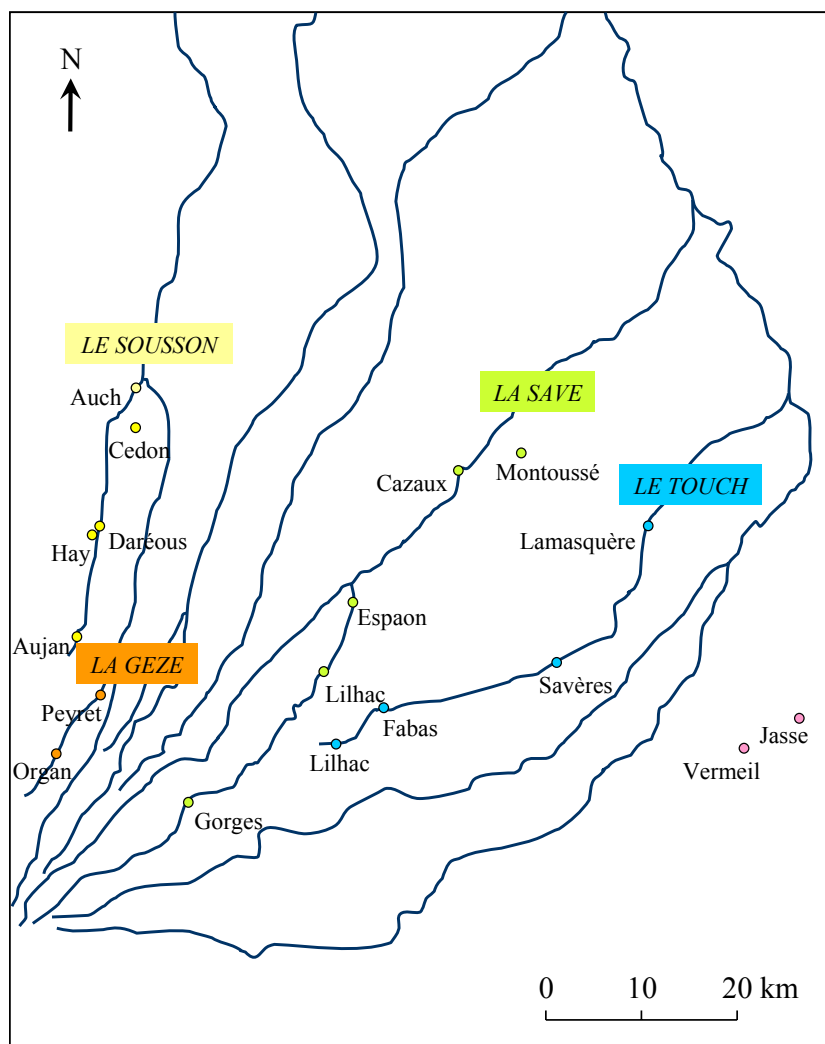
- 1) étudier les relations entre réponses des communautés de diatomées et différents estimateurs de la pollution de l'eau *in situ* dans le réseau de cours d'eau des Coteaux de Gascogne (Chap. 4.4.1.1, 4.4.1.2 et 4.4.1.3),
- 2) valider l'intérêt de ces indicateurs et démontrer en conditions contrôlées de laboratoire les relations exposition-effet suspectées *in situ*.

#### **3.4.1.1 : Campagnes diatomiques de terrain *in situ*, 1<sup>ère</sup> année (2006)**

Le projet au CCRRDT Interrégional a été soumis aux 2 Conseils Régionaux Aquitaine et Midi-Pyrénées le 15 Janvier 2006. Sur le plan de la réalisation pratique, le programme de terrain de 1<sup>ère</sup> année prévu par l'U.R. REBX a été démarré dans le printemps qui suivait immédiatement la date de dépôt de dossier, sous peine d'être retardé d'une année complète (époque principale des flux de pesticides en rivières : mars à Juin-Juillet selon hydrométrie de l'année). Ce travail a été réalisé avec la contribution de Timothée DEBENEST (thésard en dernière année d'acquisition de données) et le stage de Master 2 Pro 2006 d'Adeline CHARIER

##### **\* Réseau de stations**

Comme prévu dans le document de projet, il a été mis en place un réseau de 18 stations sur les cours d'eau des Coteaux de Gascogne (voir carte du dispositif en Figure 23), dont le choix a été réfléchi pour permettre divers types de comparaisons et de mise en perspective des résultats. Les stations choisies permettaient d'illustrer un gradient amont-aval sur 4 bassins versants subissant un gradient varié de pressions agricoles (Save, Touch, Gèze et Sousson), auxquelles ont été ajoutés 2 sites complémentaires (sur les rivières Jasse et Vermeil).



*Fig.23 – Localisation des sites de terrain étudiés en 2005 et 2006.*

Ce dispositif de terrain est plus précisément constitué de :

- Deux stations sur des bassins versants fortement agricoles instrumentés en hydrométrie (mesure continue des débits) et équipés pour réaliser des échantillonnages automatiques d'eaux analysées ensuite sur le plan des nutriments et des pesticides : 1) station du Montoussé à Auradé, à proximité de l'aval de la Save, et 2) Hay, petit affluent du Sousson).
- Diverses stations destinées à rendre compte d'un gradient amont-aval d'occupation du sol et d'impacts agricoles au long de continums fluviaux, en allant de situations amont à occupation peu intensive vers des situations aval à forte proportion du bassin versant occupée par de l'agriculture intensive. Ainsi, trois affluents ou sous-affluents de la Garonne ont été plus particulièrement étudiés : le Touch (vignettes bleues), la Save (vignettes vertes), le Sousson (vignettes jaunes).
- quelques stations complémentaires visant à comparer des doublets de stations, les unes initialement supposées de référence (faible altération anthropique) et d'autres ayant une occupation du sol beaucoup plus intensive. A noter que le choix de certaines de ces stations (Gèze à Organ, Jasse) visait leur utilisation à titre de référence pour leur propre doublet comme pour certains continums fluviaux à occupation du sol intensive dès l'amont (ex : le Sousson). Ces analyses de doublets permettent d'établir la démonstration et la quantification de l'impact par écart à la référence, comme recommandé au niveau Européen dans la Directive Cadre Européenne sur l'Eau (DCE, J.O. des C.E. Septembre 2000).



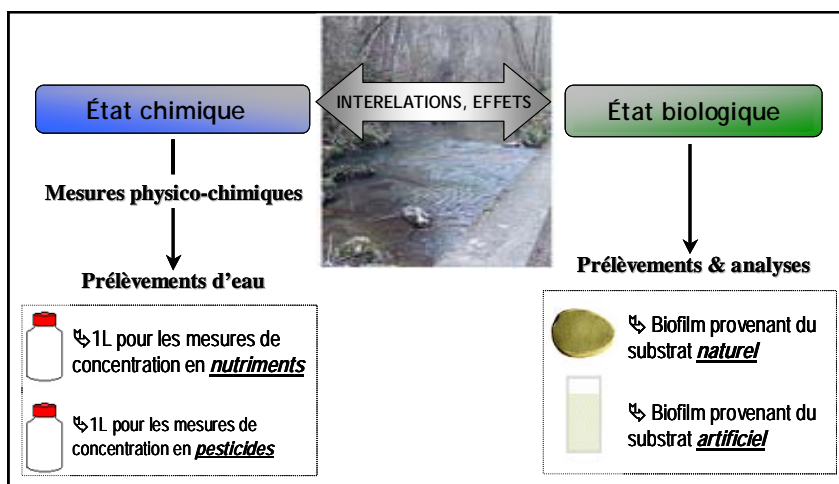
Il est à noter que la Jasse, fortement polluée par des herbicides agricoles malgré son environnement forestier (eaux d'infiltration provenant de plateaux agricoles) a dû être déclassée.

A noter aussi que ce réseau de stations avait déjà été échantillonné en 2005. Seules les campagnes de terrain 2006 ont été effectuées dans le cadre de ce programme (par contre, les données acquises lors des 2 années ont fait l'objet d'une analyse de données groupées présentée au Chap. 4.4.1.2).

Le programme de terrain de 1<sup>ère</sup> année a comporté cinq tournées complètes durant chacune 2 jours, séparées de trois semaines, correspondant au temps de colonisation des substrats artificiels par les diatomées. Les dates des campagnes de colonisation correspondent aux périodes de traitement des cultures et de risque d'entraînement de pesticides dans les rivières :

- 21 mars – 18 avril : Premiers traitements de sortie de l'hiver sur les céréales à pailles et colza et fertilisations
- 18 avril – 10 mai : Premiers traitements sur les pré-semis des cultures de printemps
- 10 mai – 31 mai : Période de traitement des cultures de printemps et d'été
- 31 mai – 21 juin : Lessivage des traitements précédents et période d'étiage

Entre des tournées préalables de reconnaissance terrain, les tournées de pose puis de collecte de substrats artificiels et d'échantillonnage d'eau et de biofilms, il a été effectué une tournée hebdomadaire plus rapide de visite sur place et de surveillance des dispositifs et matériels positionnés *in situ*. Il a donc été réalisé 12 campagnes de terrain 2006 à ce titre, 5 campagnes complètes de durée 2 jours et 7 campagnes de maintenance ayant été réalisées en une seule journée.



**Fig. 24\*** Objectifs et descripteurs utilisés pour caractériser globalement l'ambiance chimique et les impacts agricoles :

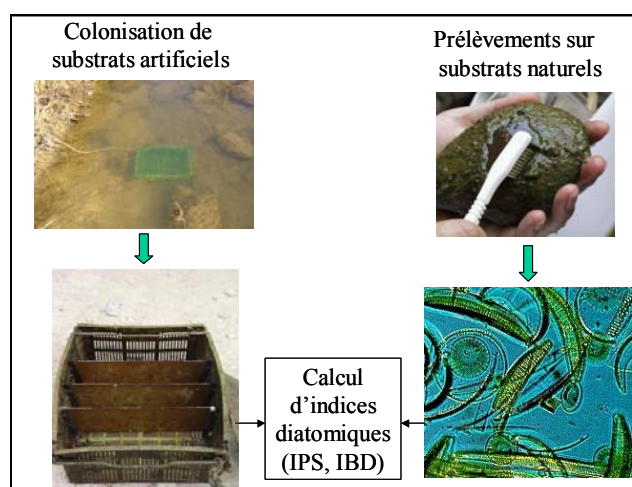
**\* Analyse des nutriments**

Les analyses de caractérisation de l'ambiance trophique (enrichissement) des milieux concernent les dérivés de l'azote et du phosphore présents dans le milieu naturel. Les paramètres mesurés étaient les suivants :

Nutriment	Méthode normalisée	Norme	Date de parution
Nitrate (NO <sub>3</sub> )	Méthode colorimétrique par analyse en flux	NF EN ISO 13395	Octobre 1996
Nitrite (NO <sub>2</sub> )			
Azote ammoniacal	Méthode colorimétrique par analyse en flux	NE EN ISO 11732	Aout 1997
Azote Kjeldhal	Distillation et minéralisation	NF EN 2566 ISO 5663	Janvier 1994
Orthophosphates (PO <sub>x</sub> )	Méthode spectrométrique	NF EN 1189	Janvier 1997
Phosphore total			
Silice	Méthode colorimétrique	NF T 90 – 007	Juin 1950

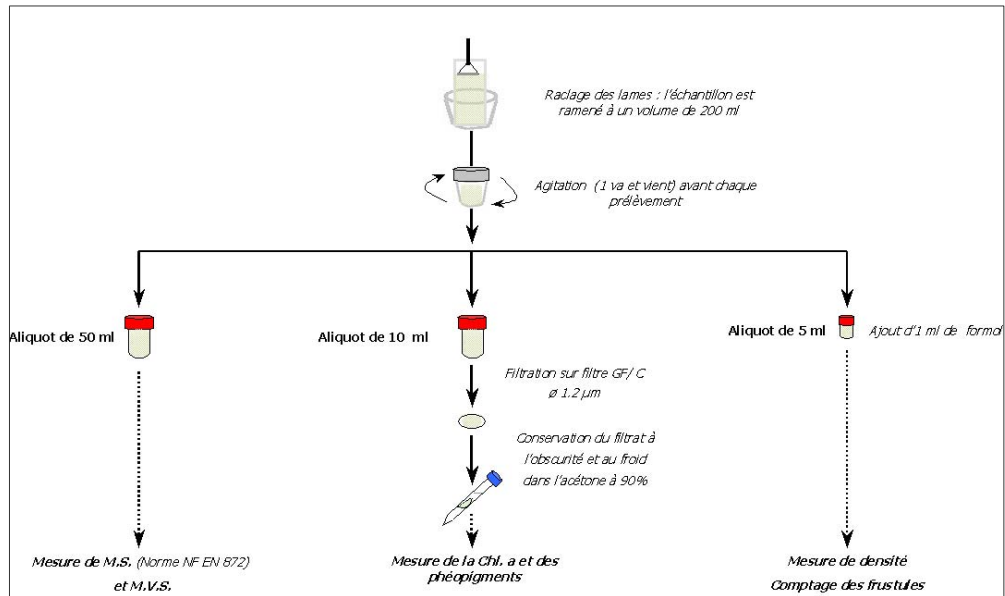
### \* *Les pesticides*

La méthode d'analyse est la chromatographie liquide haute performance (HPLC) associée à un détecteur UV. Les échantillons sont au préalable filtrés, extraits, puis concentrés car ils sont présents à l'état de trace dans le milieu. Les matières actives analysées appartiennent principalement aux familles des triazines, des phénylurées, des chloroacétanilides et diphényléthers. A noter également que la méthode multirésidus mise au point au laboratoire du Cemagref permet le dosage de la plupart des métabolites connus résultant de la dégradation in situ des molécules-mères employées (sauf métabolites très polaires à log Kow < 0,5).



**Fig. 25 : Protocoles d'acquisition du matériel biologique ( biofilms diatomiques)**

Le matériel issu de substrats naturels a été collecté selon un protocole standardisé AFNOR et utilisé pour la mise en œuvre de méthodes classiques de bio-indication diatomique (détermination taxinomique à l'espèce sur 400 individus par échantillon, puis calculs indiciels IPS et IBD), en incluant le dénombrement de formes anormales et leur prise en compte dans le calcul d'indices).



**Fig. 26\* Protocoles d'exploitation des biofilms collectés sur substrats artificiels**

Le biofilm récolté sur substrats artificiels au bout de 3 semaines de croissance est récupéré par raclage (à chaque fois, triplicat de lames traitées séparément), ramené à 200 ml puis divisé en 3 aliquotes. Comme illustré en Fig.26, 2 aliquotes renseignent sur des descripteurs globaux de composition des biofilms (mesure de la matière sèche et de la matière volatile sèche –partie organique de la matière sèche -), le 3<sup>ème</sup> est destiné à obtenir une information plus précise sur la composante diatomique des biofilms (dénombrement du nombre de diatomées par unité de surface, identification taxinomique précise pour le calcul des indices diatomiques).

**\* Quelques résultats illustratifs obtenus**

Les résultats montrés en Fig. 27 page suivante ont été obtenus sur l'un des continums fluviaux (la Save de la station amont à la station la plus aval suivie dans le projet).

Des données analogues existent pour les 4 continums de cours d'eau suivis.

L'épisode de Mai a été marqué par une forte crue ayant abrasé les biofilms (très faible croissance dans toutes les stations. Cet épisode ne permet donc pas d'interprétation sur des effets trophiques et/ou toxiques.

Par rapport à la station de référence (Gorges), la station d'Anan, enrichie en nutriments mais pas en pesticides (figurée en rouge) illustre une bonne croissance, par contre les 2 stations aval aussi riches au niveau trophique subissent visiblement des effets toxiques altérant la croissance à certaines dates (Mars, Avril et un peu Juin).

De plus, et de façon variable selon les stations et les dates, il est remarqué dans les situations les plus impactées par l'activité agricole la présence plus abondante de formes tératologiques de diatomées (déformations du frustule siliceux) : cf figure 28 page suivante.

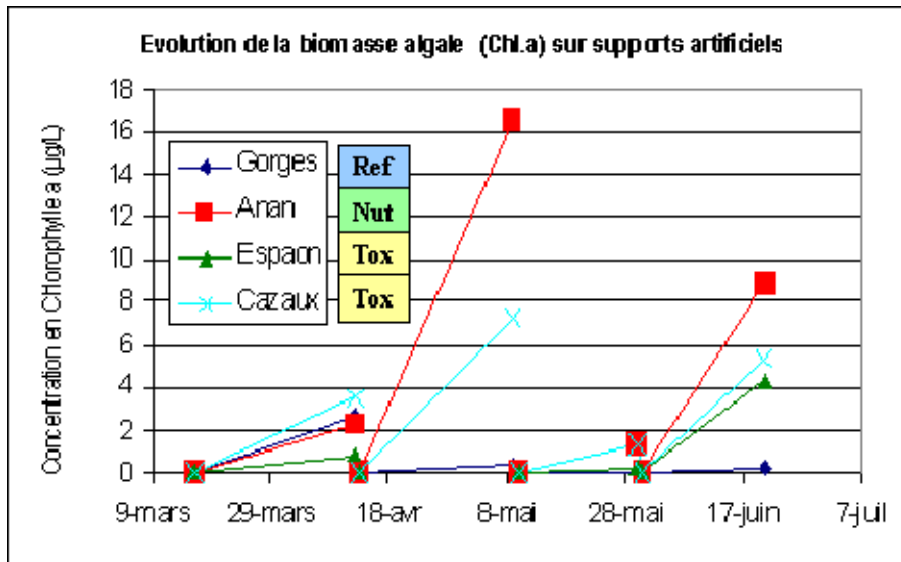


Fig. 27 : Croissance des biofilms de la Save sur substrats artificiels

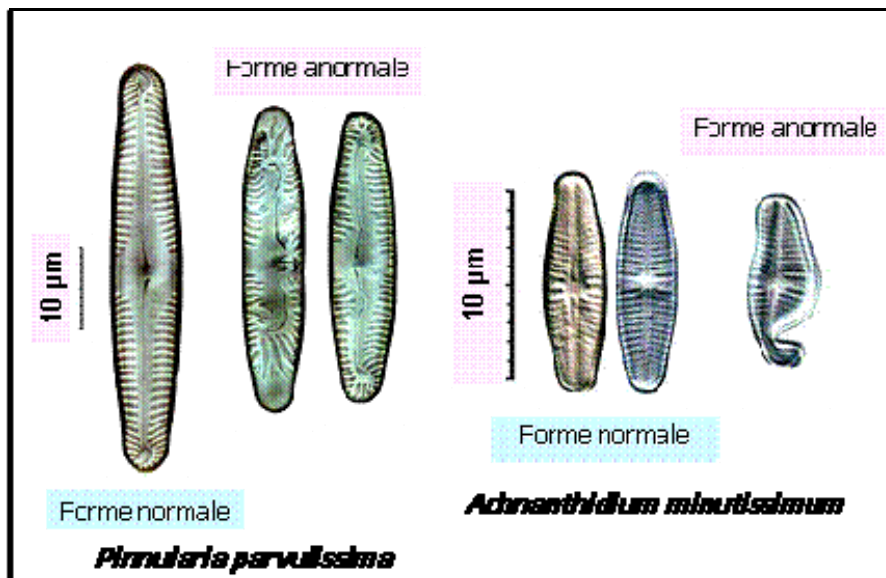
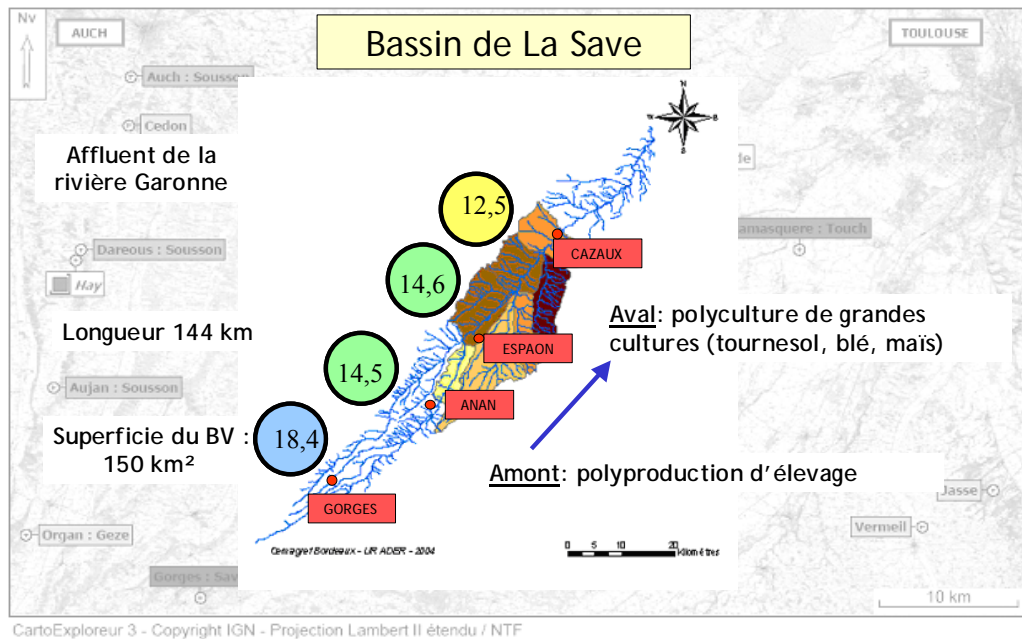


Fig. 28 : Manifestations tératologiques sur stations aval altérées par des pesticides

\* Représentation synthétique annuelle des résultats obtenus sur un continuum fluvial (bassin de la Save)

A titre d'illustration du gradient observé sur les continums fluviaux étudiés à l'aide de la bio-indication diatomique, les résultats des calculs d'indices diatomiques réalisés sur substrats naturels (cf Fig. 29 page suivante) ont été moyennés sur la base des valeurs indicielles IPS (Indice de Polluo-Sensibilité - Coste 1982) obtenues à la même station lors des 5 campagnes 2006 et visualisées selon une représentation en code-couleur de qualité conforme au SEQ Bio (outil de représentation et de visualisation mis au point par les Agences de l'Eau).



**Fig. 29 : Qualité des stations du continuum de la Save en 2006 à l'aide des diatomées prélevées sur substrats naturels (moyenne de 5 campagnes)**

On a pu noter, par la comparaison de telles figurations intégrées, que le message délivré par la bio-indication diatomique sur substrats naturels, intégratrice d'une durée temporelle plus longue (environ 2 mois), diverge un peu de celui délivré à partir des assemblages de substrats artificiels. En utilisant les prélèvements sur substrats naturels, plus intégrateurs de la dimension temporelle, la station la plus aval de Cazaux-Savès est la plus durablement et sévèrement impactée (état médiocre) alors que pour la croissance de biofilms sur supports artificiels, l'effet dépressif pesticide apparaissait plus marqué sur le site d'Espaon qu'à la station aval..

Cet exemple illustre bien que dans le contexte spatio-temporel très variable du terrain, dû à la saisonnalité des usages et à leur conjonction ou non avec des épisodes hydrologiques en liaison avec des pluies, il est délicat d'interpréter des signaux très momentanés et qu'une interprétation judicieuse nécessite une assise suffisante de données au même site.

### **3.4.1.2- Analyse des relations entre descripteurs abiotiques de pression et d'ambiance dans les cours d'eau et la réponse des flores diatomiques sur le regroupement des campagnes 2005 et 2006 (REBX, ADBX)**

A chaque date d'échantillonnage (printemps 2005 et 2006), des prélèvements d'eau ont été réalisés de manière à caractériser de la même façon la physico-chimie locale, les concentrations en nutriments, en matières en suspension, et en herbicides. Simultanément, des échantillons de biofilm ont été prélevés sur substrats naturels et artificiels pour la détermination de la structure des communautés de diatomées. Le détail des méthodes est décrit dans Morin et al. (2009).

En plus des caractéristiques physico-chimiques et chimiques mesurées ou analysées dans l'eau de façon ponctuelle (au début et à la fin de chaque épisode de croissance de biofilm), les niveaux de risque potentiel de contamination par les pesticides décrits dans la partie 4.1.1 (Phytopixal) ont été utilisés pour vérifier l'adéquation entre risque « agricole » et réponses des communautés aquatiques.

## RESULTATS :

### \* *Biotypologie : patrons de distribution des communautés de diatomées*

A partir de la structure des communautés de diatomées aux différents sites et aux différentes dates d'échantillonnage, des patrons de distribution ont été déterminés à l'aide du modèle SOM (voir partie 3.5.1.).

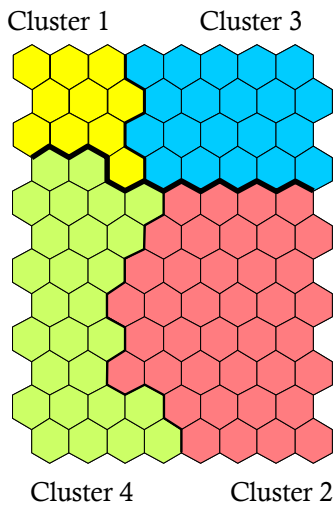


Figure 30 : Biotypologie des communautés de diatomées des Coteaux de Gascogne. Selon les abondances relatives des différentes espèces, le modèle SOM a classifié les communautés en 4 clusters.

### \* *Paramètres environnementaux*

On peut distinguer 4 groupes (clusters) de communautés de diatomées, représentés en Figure 30 par 4 couleurs différentes. Après analyse des caractéristiques physicochimiques des sites auxquels ont été prélevées les diatomées (Figure 31), il est intéressant de noter que les paramètres les plus discriminants sur le plan des caractéristiques environnementales naturelles (i.e. distribution le long de l'axe 1 de l'AFD : clusters 1 et 4 vs. Clusters 2 et 3) sont différents des paramètres influençant le plus les organismes (clusters 1 et 3 vs. Clusters 2 et 4).

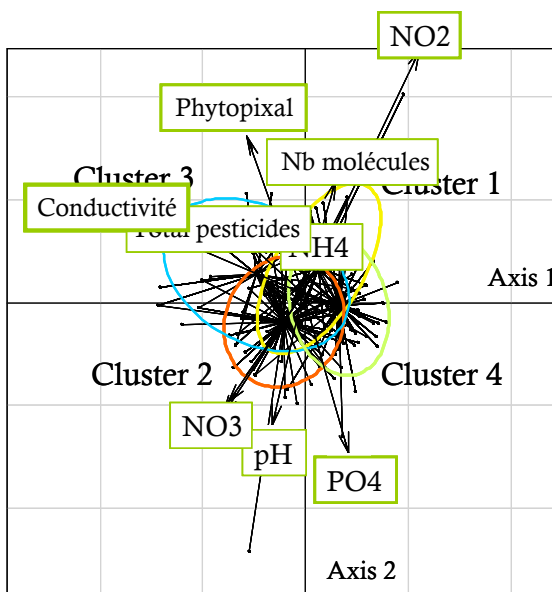


Fig. 31 – Analyse discriminante linéaire (AFD) sur les données environnementales. L'axe 1 discrimine les échantillons selon leur géochimie (conductivité des eaux notamment) ; l'axe 2 traduit l'anthropisation (nitrates, orthophosphates, Phytopixal).

Il est ainsi possible de déterminer les paramètres discriminants majeurs dans la structuration des communautés :

- Le premier niveau de discrimination concerne l'exposition (clusters 1 et 3) ou non (clusters 2 et 4) à des concentrations en pesticides importantes. Ces effets peuvent également s'observer au niveau de la diversité spécifique, qui baisse pour les sites exposés (cf. Figure 32).

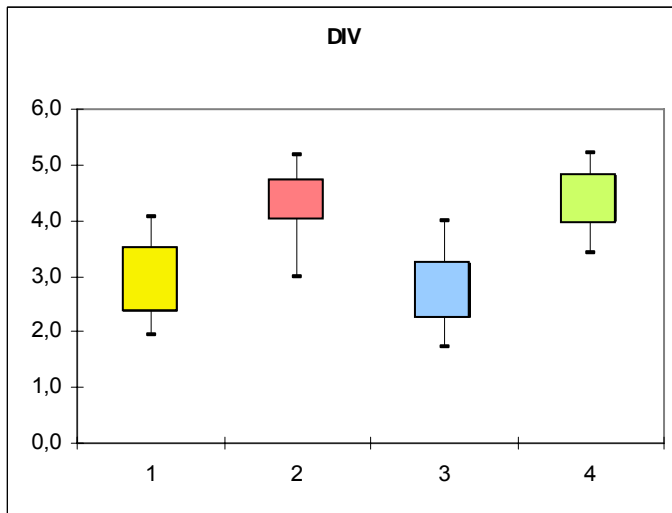


Fig. 32 – Diversité spécifique (Indice de Shannon) dans chacun des clusters. Dans les communautés les plus exposées aux herbicides (clusters 1 et 3) on observe une réduction nette de la diversité.

- Le second niveau de discrimination (cluster 1 et 2 vs. 3 et 4) se fait selon la disponibilité nutritive. Dans les sites les plus eutrophisés, les indices diatomiques classiques (e.g. l'IBD, cf. Figure 33) mettent en évidence des différences importantes.

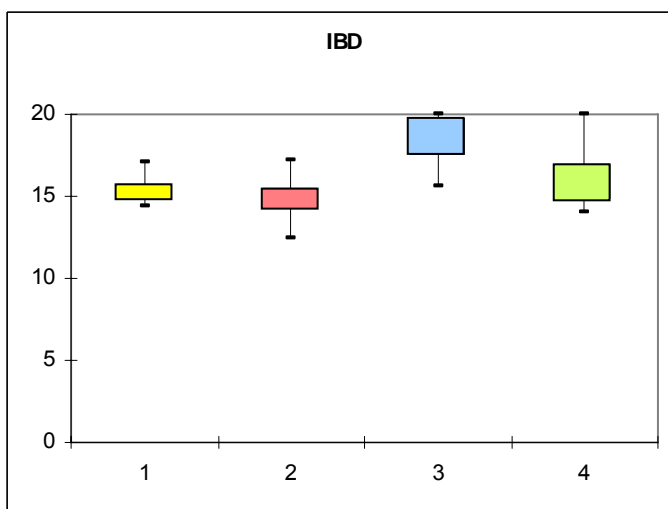


Fig. 33 – Indice Biologique Diatomées (IBD) dans chacun des clusters. Les sites présentant les concentrations en nutriments les plus élevées (clusters 1 et 2) sont ceux où l'IBD est le plus faible.



## Conclusion

La classification basée sur la structure des communautés de diatomées, et leurs relations avec des descripteurs environnementaux, souligne que les apports en pesticides et en nutriments jouent un rôle majeur dans la structuration des communautés des Coteaux de Gascogne. La meilleure estimation de l'exposition aux pesticides disponible dans notre base de données a été restituée avec l'approche Phytopixal, laquelle n'exprime pas nécessairement les concentrations réelles sur le terrain mais fournit une indication spatialisée sur le niveau d'exposition probable. Cet indicateur de risque établi en fonction de l'occupation du sol et des pressions annualisées s'est avéré plus pertinent que les mesures de pesticides réalisées ponctuellement dans le milieu, pour la mise en relation d'une contamination avec les réponses des organismes aquatiques. Il est donc clair qu'en cours d'eau, 2 échantillonnages instantanés d'eau positionnés au début et à la fin de cycles de croissance des biofilms de 3 semaines ne sont pas suffisants pour bien rendre compte de l'ambiance toxique pesticides intégrée sur cet épisode.

L'utilisation d'échantillonneurs intégrateurs passifs (type POCIS, voir partie 3.5.2.3) semble une solution porteuse d'avenir pour obtenir des concentrations en pesticides moyennées dans le temps, pendant des périodes d'immersion relativement longues, permettant de simuler l'exposition des organismes aquatiques (Alvarez et al, 2004 ; Huckins et al, 1993 ; Mazzella et al, 2007). Après une nécessaire phase de développement, de mise au point méthodologique et de calibration des POCIS réalisée dans l'équipe REBX (chapitre suivant 4.4.1.3), les phases ultérieures du programme de terrain ont comporté un déploiement expérimental de ce type de capteurs sur des cours d'eau avec un gradient marqué de pollution par les pesticides, afin de tester si les stratégies d'échantillonnage utilisant des capteurs passifs fournissent des informations plus pertinentes et significatives pour l'étude des réponses des communautés périphtiques.

## Références

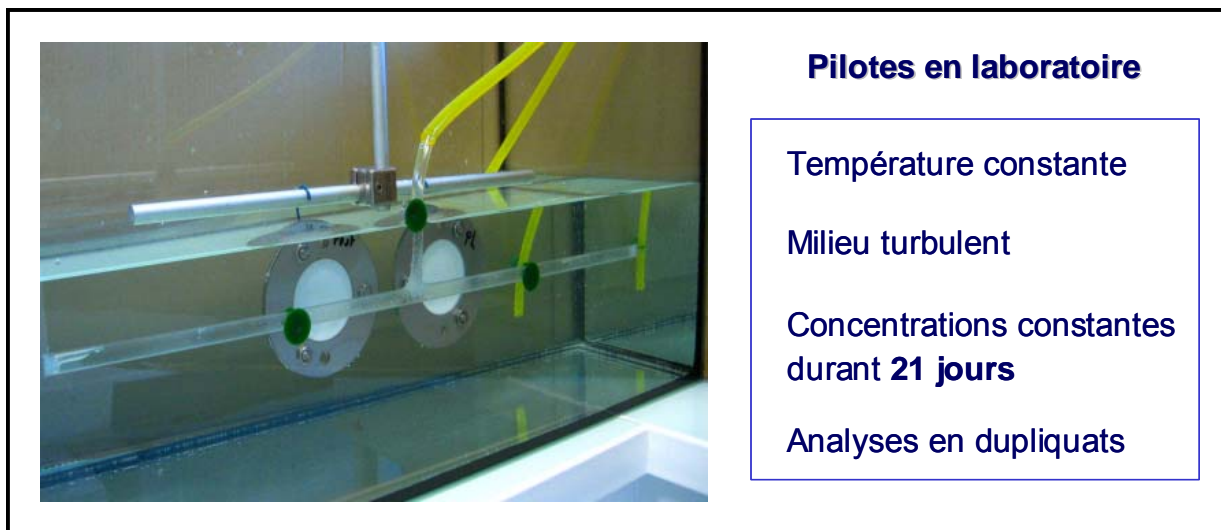
- Abdel-Hamid, M.I., Källqvist, T., Hessen, D.O., Berge, D., 1996. The use of field enclosure experiments to study the effect of pesticides on lake phytoplankton. *Lakes Reserv. Res. Manage.* 2, 199–209.
- Alvarez, D.A., Petty, J.D., Huckins, J.N., Jones-Lepp, T.L., Getting, D.T., Goddard, J.P., Manahan, S.E., 2004. Development of a passive, in situ, integrative sampler for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 1640–1648.
- Dorigo, U., Bourrain, X., Bérard, A., Leboulanger, C., 2004. Seasonal changes in the sensitivity of river microalgae to atrazine and isoproturon along a contamination gradient. *Sci. Tot. Environ.* 318, 101–114.
- Eullaffroy, P., Vernet, G., 2003. The F684/F735 chlorophyll fluorescence ratio: a potential tool for rapid detection and determination of herbicide phytotoxicity in algae. *Water Res.* 37, 1983–1990.
- Guanzon, N.G., Nakahara, H., 2002. Growth and photosynthesis inhibition by agricultural pesticides in three freshwater microalgae. *Fish. Sci.* 68, 144–151.
- Guasch, H., Ivorra, N., Lehmann, V., Paulsson, M., Real, M., Sabater, S., 1998. Community composition and sensitivity of periphyton to atrazine in flowing waters: the role of environmental factors. *J. Appl. Phycol.* 10, 203–213.
- Guasch, H., Muñoz, I., Rosés, N., Sabater, S., 1997. Changes in atrazine toxicity throughout succession of stream periphyton communities. *J. Appl. Phycol.* 9, 137–146.

- Hatakeyama, S., Fukushima, S., Kasai, F., Shiraishi, H., 1994. Assessment of herbicide effects on algal production in the Kokai River (Japan) using a model stream and *Selenastrum bioassay*. *Ecotoxicology* 3, 143–156.
- Hoagland, K.D., Carder, J.P., Spawn, R.L., 1996. Effects of organic toxic substances. In: Stevenson, R.J., Bothwell, M.L., Lowe, R.L. (Eds.), *Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems*. Academic Press Inc., pp. 469–496.
- Huckins, J.N., Manuweera, G.K., Petty, J.D., Mackay, D., Lebo, J.A., 1993. Lipid-containing semipermeable membrane devices for monitoring organic contaminants in water. *Environ. Sci. Technol.* 27, 2489–2496.
- Källqvist, T., Romstad, R., 1994. Effects of agricultural pesticides on planktonic algae and cyanobacteria—examples of interspecies sensitivity variations. *Norweg. J. Agr. Sci. (Suppl. 0)*, 117–131.
- Kasai, F., Takamura, N., Hatakeyama, S., 1993. Effects of simetryne on growth of various freshwater algal taxa. *Environ. Pollut.* 79, 77–83.
- Liess, M., Brown, C., Dohmen, P., Duquesne, S., Hart, A., Heimbach, F., Kreuger, J., Lagadic, L., Reinert, W., Maund, S., Streloke, M., Tarazona, J., 2005. *Effects of Pesticides in the Field*. SETAC Press, Brussels.
- Lockert, C.K., Hoagland, K.D., Siegfried, B.D., 2006. Comparative sensitivity of freshwater algae to atrazine. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 76, 73–79.
- Mazzella, N., Dubernet, J.-F., Delmas, F., 2007. Determination of kinetic and equilibrium regimes in the operation of polar organic chemical integrative samplers: application to the passive sampling of the polar herbicides in aquatic environments. *J. Chromatogr. A* 1154, 42–51.
- Millie, D.F., Hersh, C.M., 1987. Statistical characterizations of the atrazine-induced photosynthetic inhibition of *Cyclotella meneghiniana* (Bacillariophyta). *Aquat. Toxicol.* 10, 239–249.
- Morin, S., Bottin, M., Mazzella, N., Macary, F., Delmas, F., Winterton, P., Coste, M., 2009. Linking diatom community structure to pesticide input as evaluated through a spatial contamination potential (Phytopixal): a case study in the Neste river system (South-West France). *Aquat. Toxicol.* 94, 28–39.
- Navarro, E., Guasch, H., Sabater, S., 2002. Use of microbenthic algal communities in ecotoxicological tests for the assessment of water quality: the Ter river case study. *J. Appl. Phycol.* 14, 41–48.
- Nyström, B., Becker-Van Slooten, K., Bérard, A., Grandjean, D., Druart, J.-C., Leboulanger, C., 2002. Toxic effects of Irgarol 1051 on phytoplankton and macrophytes in Lake Geneva. *Water Res.* 36, 2020–2028.
- Nyström, B., Björnsäter, B., Blanck, H., 1999. Effects of sulfonylurea herbicides on non-target aquatic micro-organisms: growth inhibition of micro-algae and short-term inhibition of adenine and thymidine incorporation in periphyton communities. *Aquat. Toxicol.* 47, 9–22.
- Pérès, F., Florin, D., Grollier, T., Feurtet-Mazel, A., Coste, M., Ribeyre, F., Ricard, M., Boudou, A., 1996. Effects of the phenylurea herbicide isoproturon on periphytic diatom communities in freshwater indoor microcosm. *Environ. Pollut.* 94, 141–152.
- Pipe, A.E., Cullimore, D.R., 1984. Influence of five phenylurea herbicides on the diatom *Hantzschia* in a sandy loam soil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 33, 439–443.
- Tlili, A., Dorigo, U., Montuelle, B., Margoum, C., Carluer, N., Gouy, V., Bouchez, A., Berard, A., 2008. Responses of chronically contaminated biofilms to short pulses of diuron. An experimental study simulating flooding events in a small river. *Aquat. Toxicol.* 87, 252–263.

### 3.4.1.3 - Calibration au laboratoire des capteurs passifs, insertion d'un Etalon interne et validation expérimentale en conditions contrôlées (REBX)

Préalablement au démarrage de ce programme Insolévie, un essai méthodologique a été réalisé au laboratoire REQE pour comparer les performances d'adsorption de 2 types différents de capteurs passifs proposés dans le commerce (POCIS « Pesticides » et POCIS « substances pharmaceutiques ») vis-à-vis d'une gamme de pesticides agricoles soigneusement choisis pour représenter un large gradient de comportements chimiques allant de molécules apolaires lipophiles vers des molécules beaucoup plus hydrosolubles et polaires. Cet essai a été conduit sur une durée assez courte d'exposition (5 jours), de façon à juger de différences de comportement sur les processus d'adsorption rapide (phase linéaire). Les résultats ont été particulièrement nets, à savoir que les POCIS dits « pharmaceutiques » avaient des propriétés d'adsorption plus performantes sur toute la gamme de substances comparées dans l'expérimentation. Ce résultat a permis à notre équipe d'opter définitivement pour l'utilisation de ce type de POCIS.

Au Printemps 2006, il a été mis en place 2 cycles d'expérimentation très importants pour les objectifs du programme de 2<sup>ème</sup> année, visant à calibrer la réponse des POCIS Pharmaceutiques vis-à-vis d'une large gamme de 20 molécules pesticides et métabolites allant de produits franchement apolaires lipophiles au  $\log(Kow) > 5$  (exemple : pendiméthalin) jusqu'à des produits très polaires hydrophiles anioniques à  $\log(Kow)$  négatifs (exemple : nicosulfuron). L'objectif visé à terme est de pouvoir utiliser les POCIS directement dans les rivières des Coteaux et d'y obtenir une réponse proportionnelle à l'ambiance « pesticides » intégrée qui y a séjourné sur la durée de leur immersion. Les réponses biologiques sur les biofilms ayant colonisé des substrats artificiels seront mises en perspective avec ces réponses POCIS acquises en même temps sur les mêmes stations plutôt qu'avec des résultats d'analyses sur des échantillons ponctuels d'eau, dont on connaît le défaut de représentativité.



*Figure 34 : Pilote de laboratoire utilisé pour la calibration des échantillonneurs POCIS*

Le dispositif expérimental était constitué d'aquariums maintenus en agitation permanente à l'aide d'une pompe assurant la recirculation de l'eau. Il a été procédé à la mise en place, puis à l'analyse de dupliquats de POCIS pour quantifier l'incertitude expérimentale. L'ambiance chimique en pesticides a été fixée à un nominal et maintenue la plus constante possible pendant toute la durée de l'expérimentation (21 jours d'exposition).

L'objectif de conditions d'exposition stables a été atteint pour la plupart des pesticides expérimentés. De façon non surprenante, pour 2 produits lipophiles très adsorbables à

$\log(K_{ow}) > 3,5$  (phénomène connu et qui conditionne leur comportement y compris dans les milieux naturels), l'adsorption sur les surfaces des dispositifs expérimentaux a conduit à une diminution inévitable de la concentration dans l'eau malgré des redopages d'ajustement. Il en a été tenu compte pour les calculs de cinétique d'adsorption.

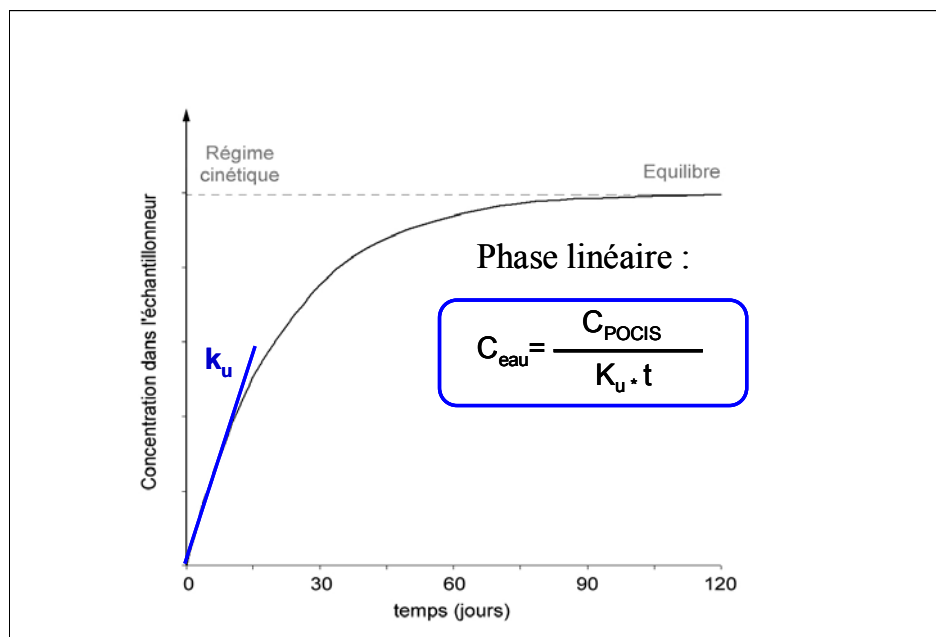


Figure 35 : Principe utilisé pour la calibration des échantillonneurs POCIS

Pour la calibration des dispositifs, 2 paramètres étaient à acquérir :

- la **durée de linéarité du processus d'adsorption par matière active**, afin de préciser les conditions d'applicabilité des POCIS au terrain en termes de durée d'immersion possible. Un essai spécifique a été réalisé pour étudier l'évolution et la dérive du taux d'échantillonnage dans le temps. 4 produits parmi les plus polaires (sulcotrione, mésotrione, DEA, DIA) subissent une baisse assez rapide de l'adsorption plafonnant à 15 jours la durée pratique d'immersion du POCIS. Pour les autres produits, il n'y a pas de contre-indication pour une durée d'immersion de 3 semaines, voire d'un mois (à confirmer par une expérimentation plus longue).
- Le **taux d'échantillonnage** pendant cette phase linéaire ( $R_s$ ), qui permet de déduire à partir du contenu adsorbé dans le POCIS et en fonction de la durée d'immersion, une concentration intégrée de la colonne d'eau du milieu naturel. Un deuxième essai a permis d'établir les taux d'échantillonnage sur 21 jours pour une vingtaine de matières actives et de métabolites.

Les résultats synthétiques de ces 2 cycles d'essais sont récapitulés dans le tableau de la page suivante (Fig.36).

Les résultats en noir sont satisfaisants et montrent que l'on se situe en plein dans le domaine d'applicabilité des dispositifs. Les résultats en beige sont plus moyens, mais les POCIS restent utilisables dans des conditions correctes de précision, surtout en comparaison avec les résultats d'échantillonnages ponctuels. Par contre, concernant des produits à forte hydrosolubilité et sur les descripteurs figurés en rouge, on sort clairement de leur domaine d'applicabilité.

Taux d'échantillonnage et linéarité sur 21 jours					
Log KOW	Herbicides	$k_u$ (L/(g.d <sup>-1</sup> ))	Taux d'échantillonnage $R_s$ (mL.j) pour 100 mg	% RSD	Linéarité (r)
-1,7	nicosulfuron	0.18	17.5	4.3	0.95
	sulcotrione	0.11	10.9	30.9	0.806
	mésotrione	0.07	7.0	10.6	0.753

### **Figure 36 : Calibration du POCIS vis-à-vis d'un assortiment de molécules herbicides**

A l'autre bout de l'échelle, fait connu antérieurement et rapporté par la bibliographie, pour les produits très lipophiles comme le pendiméthalin et la trifluraline, on sort aussi de la gamme d'applicabilité des POCIS (les expérimentations ont de toutes façons été entachées de forts processus d'adsorption) et l'utilisation d'un autre type de capteur passif (le SPMD) est recommandée pour ces types de molécules.

En 2007 et 2008, la gamme de pesticides analysables avec la méthode multirésidus et les taux d'échantillonnage de quelques molécules complémentaires qui peuvent être rencontrées sur ce terrain ont été établis, et il a été expérimenté et adopté un étalon interne (DIA d5) permettant de donner une dimension réellement quantitative à l'échantillonnage POCIS, la désorption de cet étalon étant en rapport avec les conditions hydrodynamiques qui forcent l'échantillonnage.

#### **3.4.1.4 : Nouvelles campagnes de terrain 2008 diatomées-pesticides intégrant le déploiement expérimental des capteurs passifs (REBX)**

Ces travaux ont été réalisés avec l'appui du Post-doc Cemagref/REBX Vincent ROUBEIX

En 2008, une nouvelle campagne expérimentale annuelle de terrain recouvrant 5 campagnes saisonnières a été réalisée sur les cours d'eau des Coteaux de Gascogne, intégrant cette fois 2 campagnes automnales qui n'avaient pas encore fait l'objet de prospections, les principaux flux de pesticides intervenant habituellement au printemps (entre la mi-mars et la mi-Juin selon la nature des cultures en place). Les suivis ont été réalisés sur une base de sites simplifiée (voir Figure 37 page suivante) centrée sur 2 cours d'eau avec gradients de pollution très différents (la Save, le Sousson) et un petit continuum amont-aval incluant un site de référence (la Gèze).

Les protocoles de terrain pour les prélèvements d'eau et les biofilms diatomiques ont été les mêmes que lors de la campagne 2006.

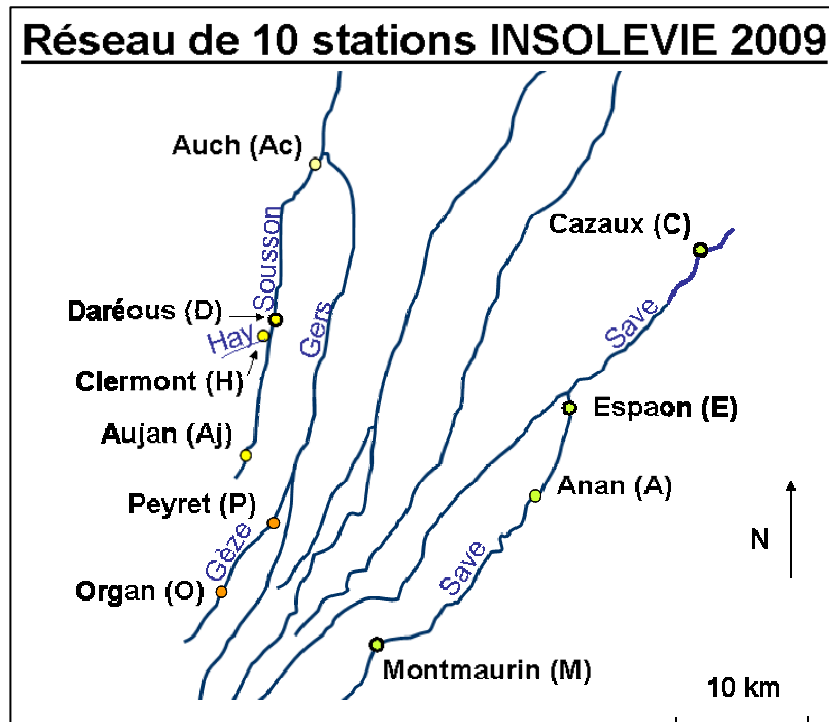


Figure 37 : Réseau de stations de terrain 2008

Il a été mis en application un échantillonnage passif POCIS en comparaison des stratégies d'encadrement de cycles de croissance du biofilm par prélèvements ponctuels, afin d'évaluer l'apport de POCIS (Polar Organic Chemicals Integrative Sampler) sur la description de la contamination de l'eau et de l'exposition des diatomées aux herbicides.

Les POCIS immergés et fixés dans le courant captent les molécules polaires sur un adsorbant pendant une période d'échantillonnage qui peut durer quelques semaines. Ensuite, le dosage des herbicides adsorbés permet de déduire leur concentration moyenne dans l'eau pendant la période d'immersion.

Pour ces campagnes 2008, les POCIS ont été placés à côté des habituels substrats artificiels (lames de verre) colonisés progressivement par des diatomées pendant une période de trois semaines. Une analyse des variations des communautés de diatomées a été faite sur base des concentrations moyennes en herbicides telles que mesurées par les POCIS (Tableau 1).

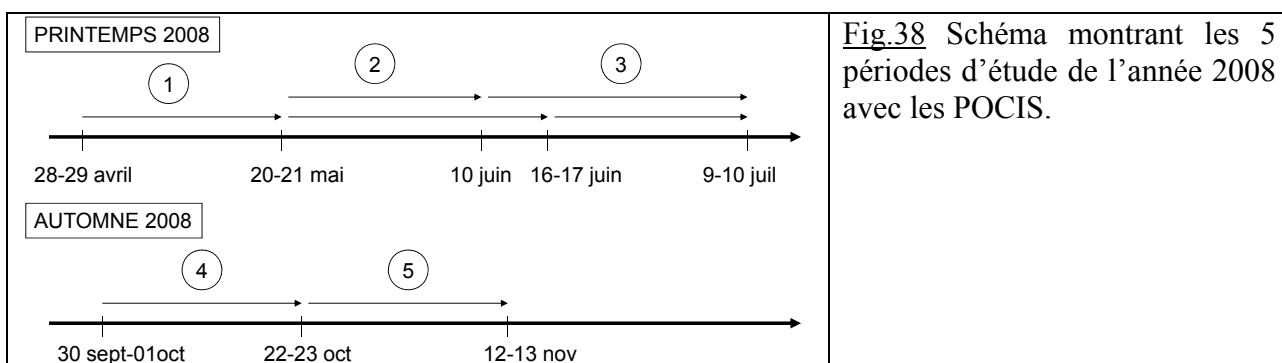


Fig.38 Schéma montrant les 5 périodes d'étude de l'année 2008 avec les POCIS.

Tableau 1. Concentrations moyennes en herbicides mesurées par les POCIS au cours des 5 périodes d'étude de l'année 2008 (nd : non déterminé).

chloroacétanilides ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )		métolachlore					acétochlore					alachlore				
période		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
S I T E S	Auch	<b>1,78</b>	nd	0,75	0,23	nd	0,03	nd	0,12	0	nd	0	nd	0,03	0	nd
	Daréous	nd	nd	1,5	0,95	0,71	nd	nd	0,3	0	0	nd	nd	0,09	0	0
	Hay	0,18	nd	0,44	0,24	0,32	0,1	nd	0	0	0	0	nd	0	0	0
	Aujan	0,27	0,39	0,38	0,03	0,11	0,18	0,04	0,02	0	0	0	0,18	0,09	0	0,04
	Peyret	0,14	nd	0,05	0,11	0,06	0,41	nd	0,06	0,05	0	0,73	nd	0	0	0
	Organ	0,08	0,11	0,04	0	0	0,02	0,09	0,1	0	0	0	0,03	0	0	0
	Cazaux	1,43	nd	nd	0	0,16	0,79	nd	nd	0	0	0,05	nd	nd	0	0
	Espaon	nd	nd	0,03	0	0,03	nd	nd	0,01	0	0	nd	nd	0	0	0
	Anan	<b>1,52</b>	0,31	0,06	0	0	1,24	0,14	0,02	0	0	0,04	0	0	0	0
	Gorges	nd	nd	0,01	0	0	nd	nd	0	0	0	nd	nd	0	0	0
triazines ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )		atrazine					DEA					DIA				
période		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
S I T E S	Auch	0,05	nd	0,39	0,68	nd	0,06	nd	0,15	0,2	nd	0,39	nd	0,03	0	nd
	Daréous	nd	nd	1,16	<b>32,3</b>	<b>2,2</b>	nd	nd	0,41	0,52	0,22	nd	nd	0,12	0,19	0
	Hay	0,03	nd	0,05	0,21	0,07	0,11	nd	0,14	0,57	0	0,6	nd	0	0	0
	Aujan	0	0,08	0,21	0,17	0	0,03	0,06	0,16	0,18	0,09	0,1	0	0,07	0	0
	Peyret	0	nd	0	0	0	0,05	nd	0,01	0	0	0,17	nd	0	0	0
	Organ	0	0,03	0,01	0	0	0	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0
	Cazaux	0	nd	nd	0	0	0,04	nd	nd	0	0	0,17	nd	nd	0	0
	Espaon	nd	nd	0	0	0	nd	nd	0,01	0	0	nd	nd	0	0	0
	Anan	0	0,02	0	0	0	0,03	0,02	0,02	0	0	0,12	0	0	0	0
	Gorges	nd	nd	0	0	0	nd	nd	0	0	0	nd	nd	0	0	0

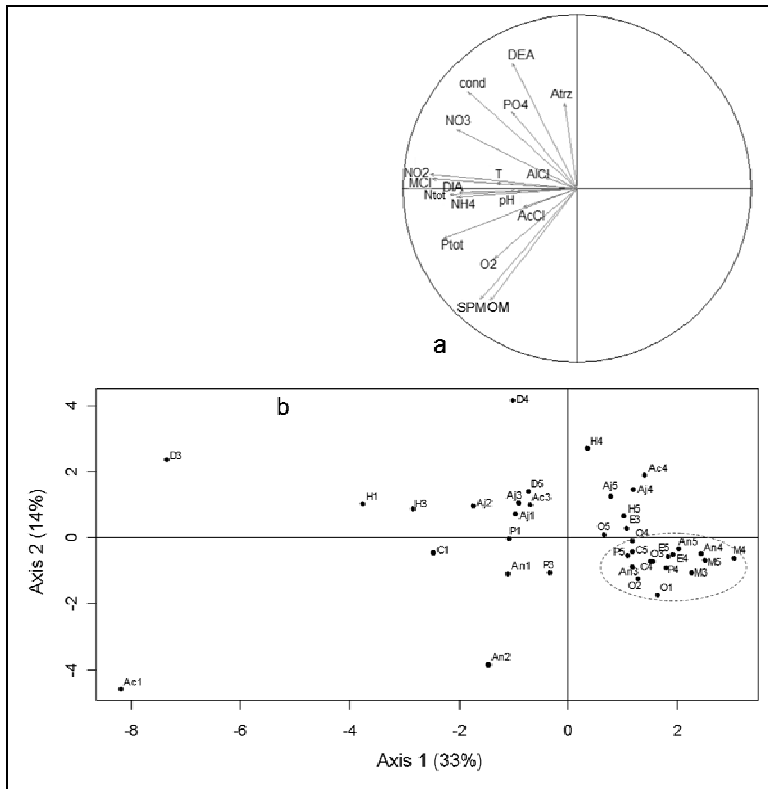
Les deux familles d'herbicides les plus représentées ont été les chloroacétanilides et les triazines. Parmi les chloroacétanilides, le métolachlore a été l'herbicide le plus fréquent et le plus concentré (jusqu'à  $2 \mu\text{g.L}^{-1}$  en moyenne). On a retrouvé ensuite par ordre décroissant de concentration l'acétochlore et l'alachlore qui est interdit en France depuis juin 2008.

Les triazines étaient moins fréquentes et le plus souvent sous forme de métabolites (DEA et DIA) ce qui est cohérent avec l'interdiction en France de l'atrazine et de la simazine depuis 2003. Pourtant, une concentration moyenne très élevée d'atrazine ( $> 30 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) a été mesurée dans le Sousson en octobre alors que l'utilisation agricole d'herbicides est normalement réduite à cette saison. L'origine de cette contamination du Sousson qui se prolonge dans une moindre mesure pendant la période 5 est indéterminée.

Ce cas illustre bien l'intérêt des échantillonneurs passifs sans lesquels il n'aurait pas été possible de détecter l'ampleur de la contamination. En effet les échantillons d'eau prélevés au début et à la fin de la période 4 à la station Daréous ont donné des concentrations en atrazine relativement faibles :  $0,09$  et  $0,54 \mu\text{g.L}^{-1}$  respectivement.

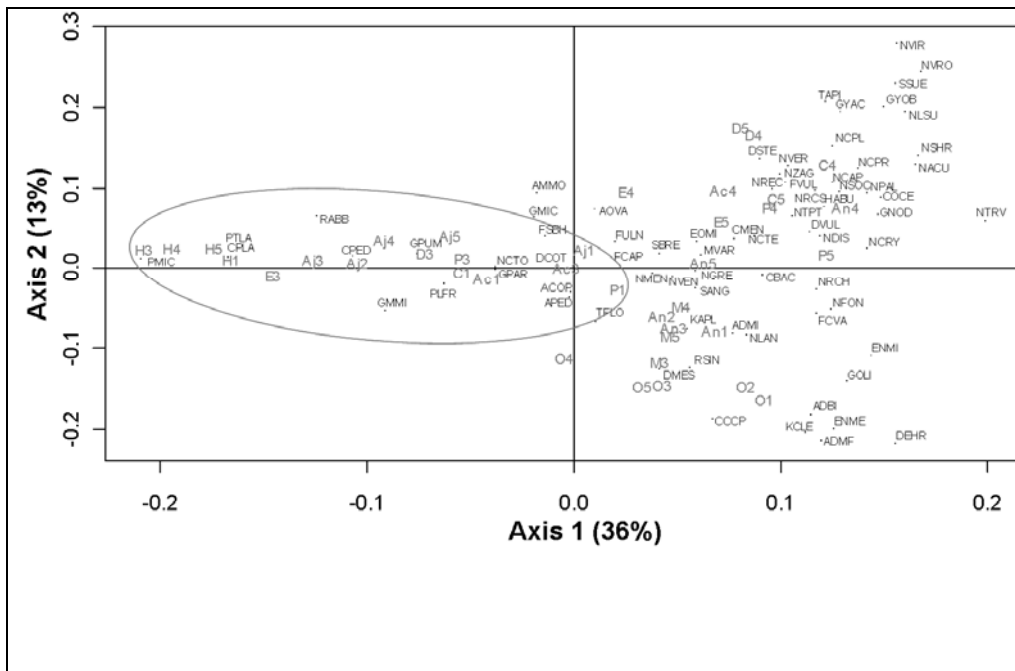
L'analyse en composante principale de l'ensemble des données physico-chimiques a permis de montrer la forte corrélation entre les paramètres trophiques (nutriments, conductivité) et toxiques (herbicides) (Fig 2a) qui agissent en même temps sur les communautés de diatomées. On discerne sur le plan de l'ACP un ensemble de prélèvements présentant des conditions de faibles concentrations en nutriments et herbicides (Fig 39). Les communautés de diatomées correspondantes représentent donc un état peu altéré par la pollution agricole.





**Fig.39** Analyse en composantes principales sur les données physico-chimiques, l'ellipse en pointillés représente les conditions peu altérées par l'agriculture (Atraz=atrazine ; MCl=métolachlore, AlCl=alachlore ; AcCl=acétochlore)

L'analyse factorielle des correspondances sur les communautés de diatomées a permis de révéler un groupe de communautés distinct du groupe peu altéré identifié par l'ACP et caractérisé par de fortes concentrations en nutriments et herbicides (Fig. 40). Il s'agit donc d'un groupe de communautés fortement altérées par la pollution agricole.



**Fig. 40** Analyse factorielle des correspondances sur les communautés de diatomées. L'ellipse représente le groupe fortement altéré.

L'analyse discriminante sur les deux groupes identifiés (peu et fortement altéré) montre que les facteurs discriminant le plus ces deux groupes sont d'abord les nitrates et la conductivité, puis dans une moindre mesure le métolachlore (Fig. 41)

Il semble donc que les facteurs trophiques soient plus déterminants dans l'altération des communautés de diatomées périphtiques que les herbicides. Ces derniers peuvent cependant influencer la composition des communautés mais leur effet est probablement occulté ici par la prépondérance de l'effet de la trophie. Le métolachlore apparait comme l'herbicide le plus influent. Des expériences en conditions contrôlées peuvent permettre d'évaluer l'effet particulier des herbicides.

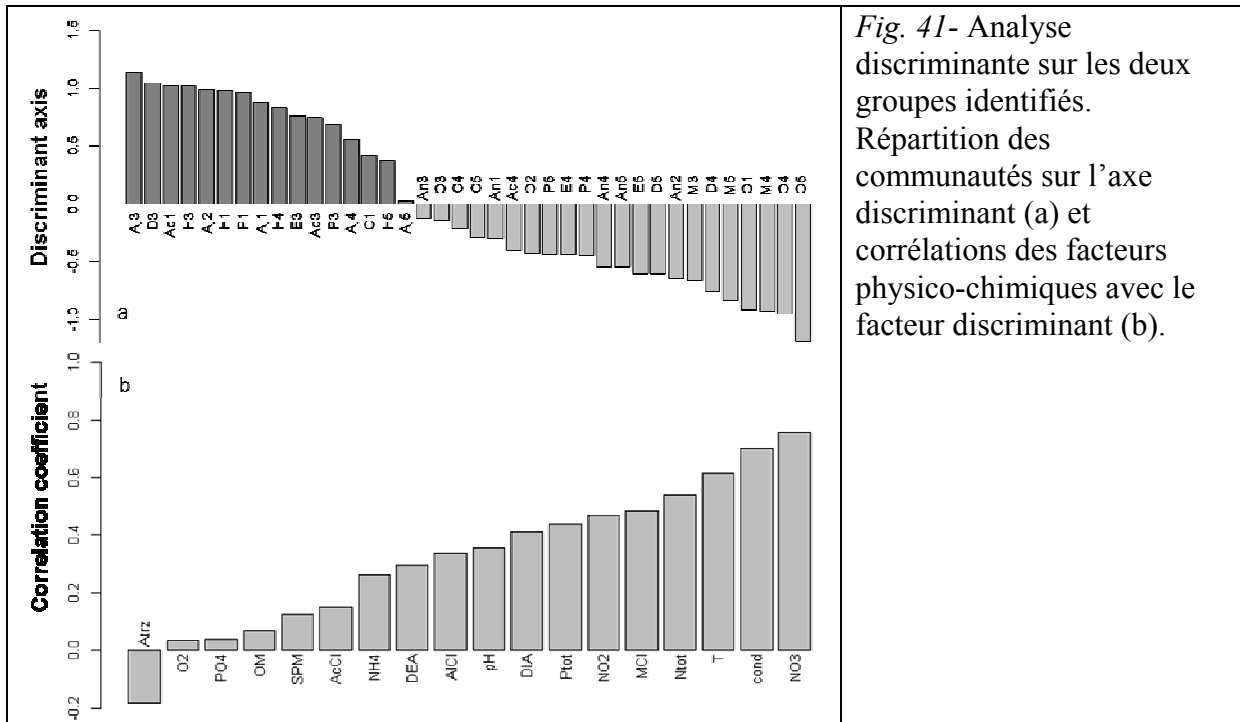


Fig. 41- Analyse discriminante sur les deux groupes identifiés. Répartition des communautés sur l'axe discriminant (a) et corrélations des facteurs physico-chimiques avec le facteur discriminant (b).

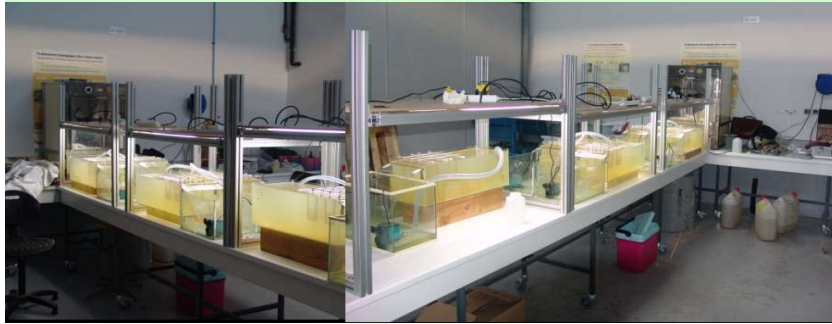
### 3.4.1.5 - Expérimentations d'exposition de biofilms aux pesticides en conditions d'exposition contrôlées : Programme 2006-2007 (REBX)

Plusieurs séries d'expérimentations ont été successivement réalisées à partir de 2006, dans le cadre de la thèse de T. DEBENEST et du Master 2 d'Adeline CHARRIER.

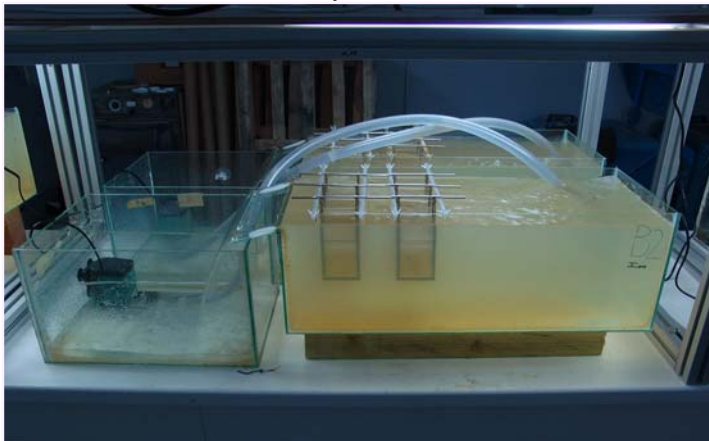
Le but était de reproduire, en expérimentations de laboratoire, des conditions de contamination artificielle en pesticides à des niveaux réalistes rencontrés dans les milieux naturels hors pics de crues, et d'observer les effets éventuels sur différents descripteurs globaux ou plus spécifiques des biofilms

Durant le 2<sup>ème</sup> semestre 2006 et courant 2007, il a été réalisé 4 essais successifs menés en conditions de contamination artificielle de l'eau en canaux dynamiques dans le hall technologique du Cemagref Bordeaux. Les dispositifs expérimentaux sont présentés en figure 42 page suivante.

## Approches en canaux dynamiques de laboratoire



1 unité expérimentale



substrats artificiels



Figure 42 : Dispositif de canaux dynamiques pour l'exposition de biofilms aux herbicides en conditions contrôlées

**Une expérimentation dite « de calage »** menée sur 3 semaines en utilisant 5 canaux dynamiques, visait à la fois à valider le fonctionnement des canaux, leur bonne adéquation avec l'objectif visé (permettre la bonne croissance du biofilm de façon reproductible selon les répliquats) et l'étude conjointe de l'évolution des nutriments (comparable entre tous les canaux), des pesticides (contaminations provoquées à un niveau prévu) et de différents descripteurs des biofilms en croissance sur substrats artificiels.

Cette expérimentation, conduite avec une eau naturelle provenant du terrain, ensuite dopée en pesticides, et avec des biofilms de rivière ayant précolonisé des substrats artificiels (lames de verre) a nécessité plusieurs missions sur les Coteaux de Gascogne avant et au long de son déroulement. Une fois ramenées du terrain, les lames ont subi une période d'acclimatation dans les canaux (eaux naturelles d'une station dotée en nutriments, mais très peu exposée aux pesticides). Puis elles ont été exposées pendant 12 jours aux contaminations en pesticides prévues au protocole. Le dispositif comportait 1 canal témoin (eaux naturelles) et 4 canaux dopés chacun avec un pesticide différent (Acétochlore, Diuron, Isoproturon, Terbuthylazine).

Cette première expérimentation a donné des résultats très encourageants, notamment au niveau des descripteurs globaux du biofilm et des inventaires taxinomiques de diatomées.

## Descripteurs de croissance du biofilm

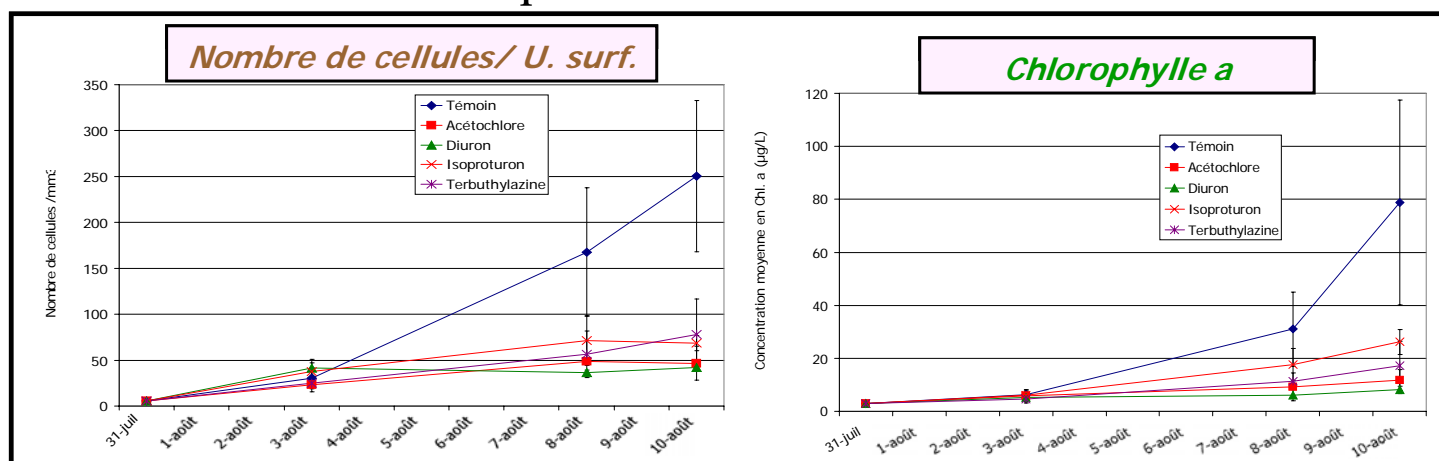


Figure 43 : résultats de croissance des biofilms diatomiques selon 2 descripteurs globaux

Sur les 2 descripteurs dont les résultats sont présentés, il est démontré, analyse statistique à l'appui, que les témoins ont la croissance la plus forte. Toutes les modalités exposées aux pesticides ont une nette dépression de croissance. Le diuron est le produit le plus écotoxique de l'essai, suivi de l'acétochlore.

Donc, dans des conditions d'exposition comparables avec certaines situations rencontrées sur le terrain hors crues et toutes autres conditions expérimentales (dont la trophie) étant égales par ailleurs, les essais en conditions contrôlées permettent de révéler un effet écotoxique incontestable se traduisant sur les descripteurs de croissance des biofilms (résultats présentés) et sur la composition des communautés interspécifiques.

**b) Trois expérimentations successives visant à étudier l'effet de différentes concentrations de produits, d'abord utilisés seuls, puis en mélanges binaires,** selon des combinaisons d'association et de doses relatives trouvées sur le terrain. Ces expérimentations ont été conduites en utilisant non plus 5 canaux dynamiques, mais 8 afin de pouvoir mettre en œuvre de vrais duplicats de chaque modalité expérimentale et analyser les incertitudes sur les résultats. Là aussi, la conduite des essais a nécessité à chaque fois au moins 2, voire 3 tournées de terrain (immersion de supports artificiels dans la Save à ANAN, puis éventuelle tournée de contrôle, puis retour 2 semaines après le début de colonisation pour ramener au laboratoire les substrats artificiels à exposer). Après une classique phase d'acclimatation des biofilms de l'ordre d'une semaine, les phases d'exposition aux pesticides ont été conduites selon les protocoles planifiés.

A noter, sur 2 essais, un problème d'homogénéité de l'éclairage rencontré sur les canaux témoins, rendant plus difficile la démonstration statistique de significativité des effets toxiques au niveau global des biofilms. Ce problème, qui n'était visible et détectable que dans certaines tranches horaires, n'a été perçu qu'au vu d'une anomalie au stade du dépouillement du matériel biologique. Il y a été remédié pour la conduite des essais suivants.

### 3.4.1.6 : Expérimentations d'exposition de biofilms aux pesticides en conditions d'exposition contrôlées : Programme 2008-2009 (REBX)

Ces travaux ont été réalisés avec le concours du Post-Doc Cemagref Vincent ROUBEIX et de la stagiaire Master 2 2009 Stéphanie COUPRIE

De nouvelles expériences en canaux artificiels ont été réalisées pour tester l'effet d'herbicides considérés individuellement sur des communautés de diatomées périphytiques. Du biofilm naturel de rivières prélevé aux stations Daréous, Aujan, Gorges et Organ a été suspendu dans des aquariums contenant des substrats artificiels (lames de verre) et agités par un courant de surface généré par une pompe (Fig. 44). Deux niveaux de contamination en métolachlore de 5 et 30  $\mu\text{g/l}$  ont été considérés. Les biofilms formés ont été extraits des substrats et analysés après 1 et 2 semaines.

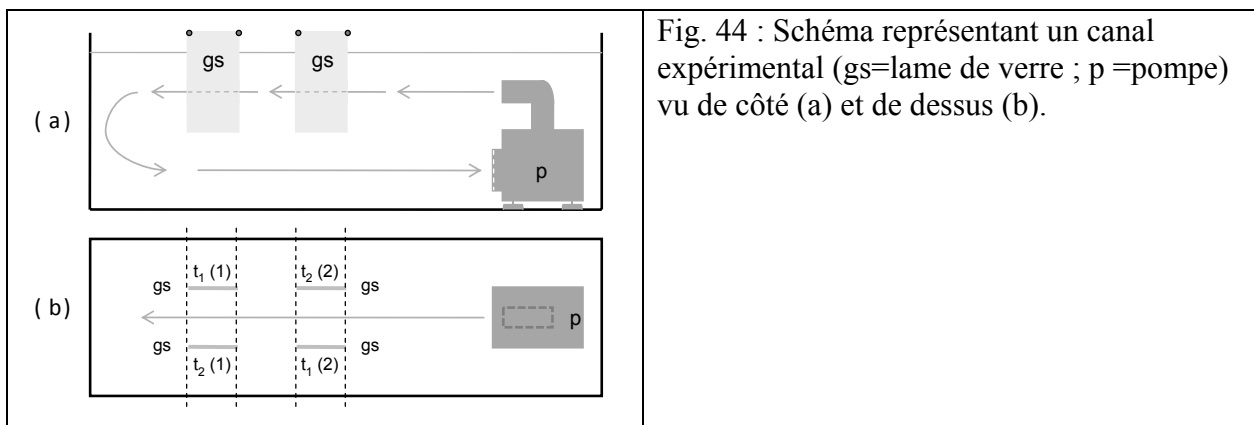


Fig. 44 : Schéma représentant un canal expérimental (gs=lame de verre ; p =pompe) vu de côté (a) et de dessus (b).

Le contrôle des concentrations en nutriments et en métolachlore a permis le maintien de conditions chimiques stables pendant la colonisation des substrats par les diatomées. La biomasse du biofilm n'a pas été significativement affectée par le métolachlore comme l'indiquent le poids sec sans cendre et la teneur en chlorophylle *a* du biofilm après 1 et 2 semaines de colonisation des substrats (Fig. 45).

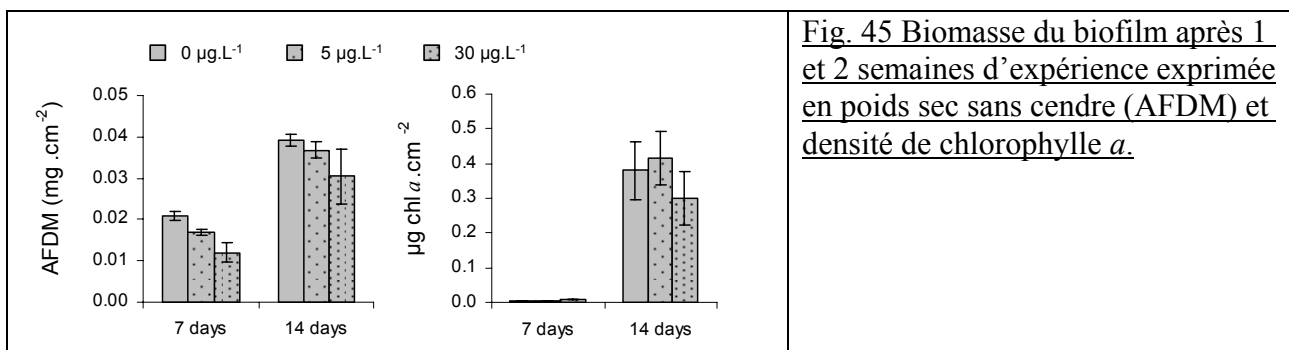


Fig. 45 Biomasse du biofilm après 1 et 2 semaines d'expérience exprimée en poids sec sans cendre (AFDM) et densité de chlorophylle *a*.

En revanche, la composition spécifique des communautés de diatomées a été modifiée par la présence de métolachlore, comme l'indique l'analyse de la variance multivariée et non-paramétrique (NP-MANOVA) appliquée aux échantillons prélevés après 2 semaines. Les communautés provenant de canaux contaminés étaient significativement différentes de celles des canaux témoins mais non significativement distinctes entre elles (Fig. 46 et Tableau 1 en page suivante).

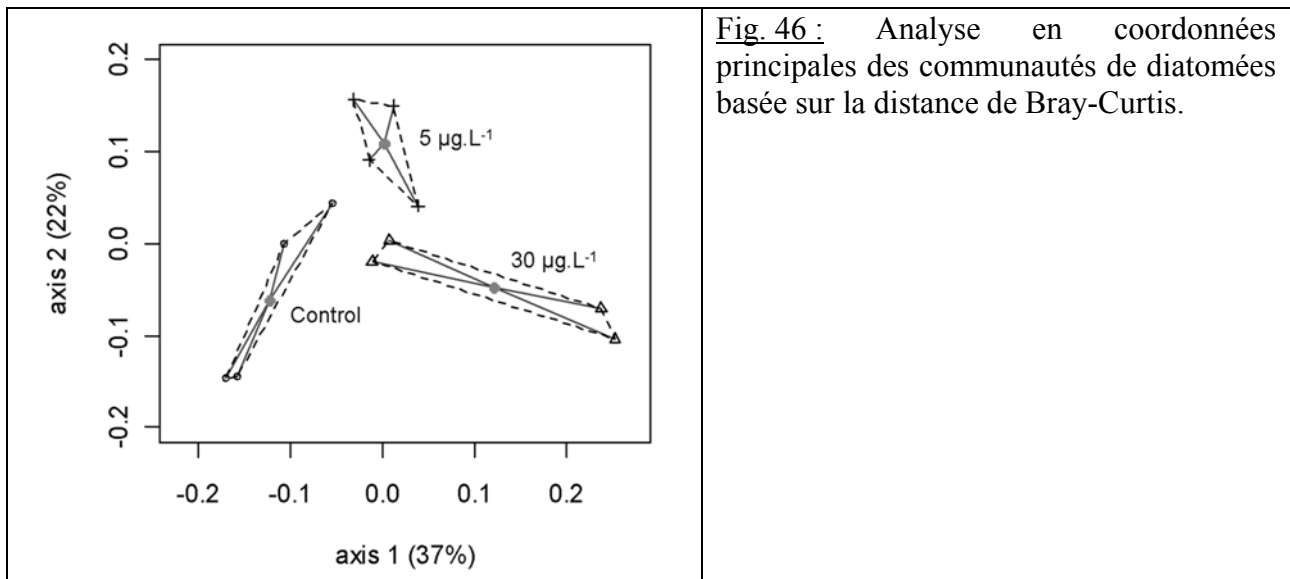


Fig. 46 : Analyse en coordonnées principales des communautés de diatomées basée sur la distance de Bray-Curtis.

Tableau 1. Résultats de l'analyse de la variance entre les communautés de diatomées à 14 jours.

NP MANOVA ( $10^5$ perm.)	df	MS	p
métolachlore	2	0.106129	$4 \times 10^{-4}$ *
residus	9	0.034419	
Comparaisons entre traitements			
Témoin vs $5 \mu\text{g.L}^{-1}$	1	0.098363	$1 \times 10^{-5}$ *
residus	6	0.031472	
Témoins vs $30 \mu\text{g.L}^{-1}$	1	0.131271	$1 \times 10^{-5}$ *
residus	6	0.038357	
$5 \mu\text{g.L}^{-1}$ vs $30 \mu\text{g.L}^{-1}$	1	0.088753	0.028
residus	6	0.033429	

\* resultat significatif ( $\alpha=0.05$ )

Certaines espèces de diatomées comme *Planothidium lanceolatum* et *P. frequentissimum*, qui étaient plus abondantes dans les canaux contaminés, étaient déjà apparues comme indicatrices de pollution sur le terrain. Leur tolérance aux herbicides agricoles semble donc se confirmer.

Enfin, une augmentation de l'abondance de formes anormales de diatomées a été constatée avec l'augmentation de la concentration en métolachlore. Le phénomène était très clair chez l'espèce *Surirella angusta* (Fig. 47). La détermination de l'abondance relative de formes anormales dans les communautés pourrait donc servir d'indicateur complémentaire de pollution toxique.

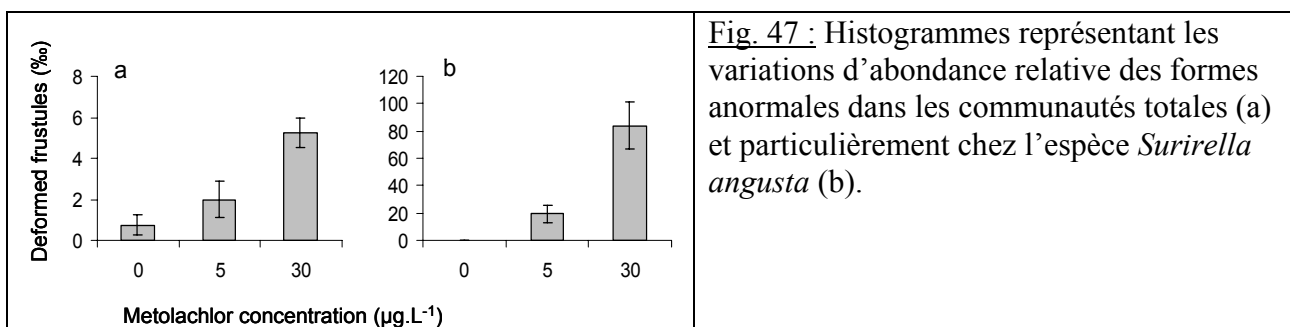


Fig. 47 : Histogrammes représentant les variations d'abondance relative des formes anormales dans les communautés totales (a) et particulièrement chez l'espèce *Surirella angusta* (b).

Les expériences en canaux ont montré que le métolachlore seul pouvait altérer les communautés de diatomées périphtyques des rivières dès une concentration de quelques microgrammes par litre. Des espèces particulièrement tolérantes aux herbicides ainsi que les déformations des frustules de diatomées peuvent servir de bioindicateurs des contaminations.

### 3.4.2 Modèle biologique : poissons (EDB / ex LADYBIO)

#### \* Introduction

A l'échelle mondiale, le déclin constaté de la biodiversité est interprété, notamment par l'UICN (Union internationale pour la conservation de la nature), comme le résultat de trois causes principales : l'effet de serre, la destruction des habitats, la concurrence des espèces invasives. Sans nier l'importance de ces facteurs, des hypothèses alternatives, du point de vue de leurs importances respectives, peuvent être formulées. C'est le cas notamment dans les pays fortement industrialisés où la transformation des habitats est déjà ancienne et alors même que les espèces des milieux bâtis se maintiennent, les populations d'espèces des milieux agricoles sont en chute spectaculaire (Aubertot et al. 2005). L'hypothèse retenue ici est que dans les pays industrialisés, l'emploi des pesticides, qui s'exprime en une centaine de milliers de tonnes de matières actives annuellement, notamment en France troisième utilisateur mondial en quantité (75 000T en 2005) , contribue pour une très grande part à expliquer la chute récente et particulièrement brutale des effectifs des espèces tant d'oiseaux que d'amphibiens, d'insectes ou de poissons.

Durant cette dernière décennie l'augmentation du niveau des contaminants industriels et agricoles dans l'environnement aquatique et les effets possibles de telle pollution sur la santé humaine et le bien-être de populations animales deviennent très inquiétants. La contamination chimique des eaux douces a été émergée comme un problème écologique sérieux et est considérée d'être actuellement un des facteurs principaux de détérioration d'écosystèmes aquatiques (Brunberg & Blomqvist, 2001). Donc, la compréhension de la relation entre la toxicité et les communautés aquatiques est essentielle, notamment la capacité d'évaluation des impacts de la toxicité sur la diversité et la santé des organismes aquatiques.

Cette connaissance aidera à atteindre les objectifs de la Directive de Cadre de l'Eau qui cherche à atteindre le bon état écologique des eaux européennes par 2015 (Parlement européen, 2000). Mais de nos jours, aucun lien n'a été établi entre la contamination et la réponse de communautés dans les ruisseaux en raison des difficultés liées à des effets observés, à la toxicité (Schulz & Liess, 1999). En effet, les écosystèmes aquatiques sont continuellement exposés aux multiples forces physiques, à la dynamique chimique et aux processus écologiques qui peuvent avoir des effets négatifs sur les communautés. Les effets confondants des facteurs rendent difficile l'évaluation des effets de polluants (Nedeau et al., 2002). De plus, les communautés exposent une forte variabilité temporelle (Mikra et al., 2008) et spatiale (Sandin, 2003) et une grande variété de tolérance aux produits nocifs (Fleeger et al., 2003), ce qui complique la caractérisation d'influence toxique. Le signe évident de pollution brute, le poisson mort, a été longtemps reconnu, mais récemment la preuve que la pollution de faible niveau peut diminuer la fécondité de populations de poisson, entraîner le déclin à long terme et à l'extinction finale de ressources naturelles importantes a été évoquée (Kime DE, 1995).

Les objectifs de notre étude ont donc été (i) de modéliser le patron de la toxicité des pesticides à l'échelle du bassin d'Adour-Garonne, (ii) de modéliser les effets de la toxicité des pesticides sur les traits biologiques des poissons, (iii) d'illustrer les effets globaux de toxicité sur la reproduction de poisson et (iv) d'étudier la sensibilité de la croissance des poissons par rapport à la toxicité de l'environnement.



**\* Modélisation le patron de la toxicité des pesticides à l'échelle du bassin d'Adour-Garonne**

Nous avons utilisé les données phytosanitaires obtenues via l'Agence de l'eau d'Adour-Garonne. Les analyses ont été effectuées en 2006 sur 131 sites de prélèvement (Fig. 48). Chaque site a été prélevé 5 fois et 120 composés ont été analysés : 54 herbicides, 32 insecticides, 23 fongicides, 1 molluscide et 1 nématocide.

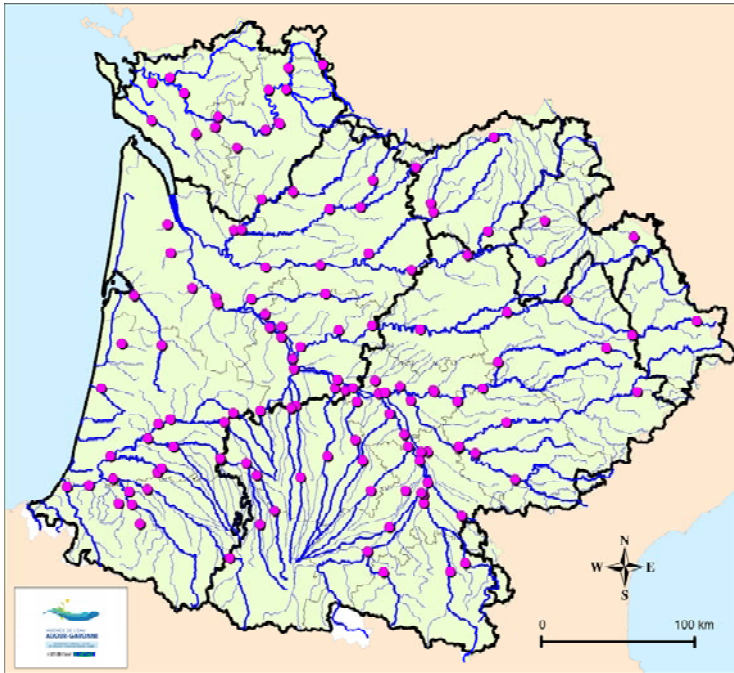


Fig.48 - Répartition des 131 sites d'échantillonnage d'eau pour une étude phytosanitaire dans le bassin d'Adour-Garonne.

**Modélisation des effets de la toxicité des pesticides sur les traits biologiques des poissons**

A partir de l'étude précédente (Fig. 48), 3 groupes de stations avec différents degrés de toxicité ont été sélectionnés (Fig. 49). Pour chaque site, la pêche électrique a été utilisée pour capturer deux espèces de poisson : le chevesne (*Squalius cephalus*) et le gougeon (*Gobio gobio*). Une vingtaine d'individus ont été capturés pour chaque site afin de réaliser une étude morphométrique. Chaque individu photographié en haute résolution avec une caméra digital (type Nikon) a été analysé avec le logiciel Visiolog pour obtenir les traits morphologiques.

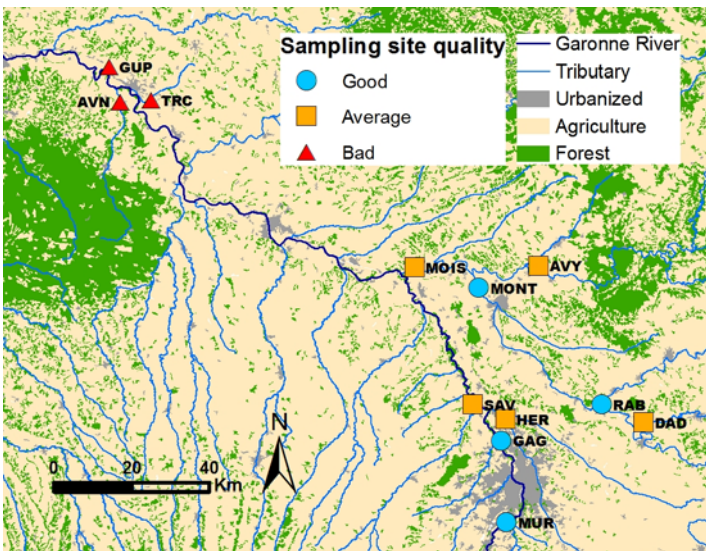


Fig. 49 : Location des sites d'échantillonnage, selon le gradient de toxicité, allant de bonne à mauvaise qualité, au point de vue toxicité par les produits phyto-sanitaires.

### ***\*Effets de la toxicité sur la reproduction et l'état hépatique des poissons***

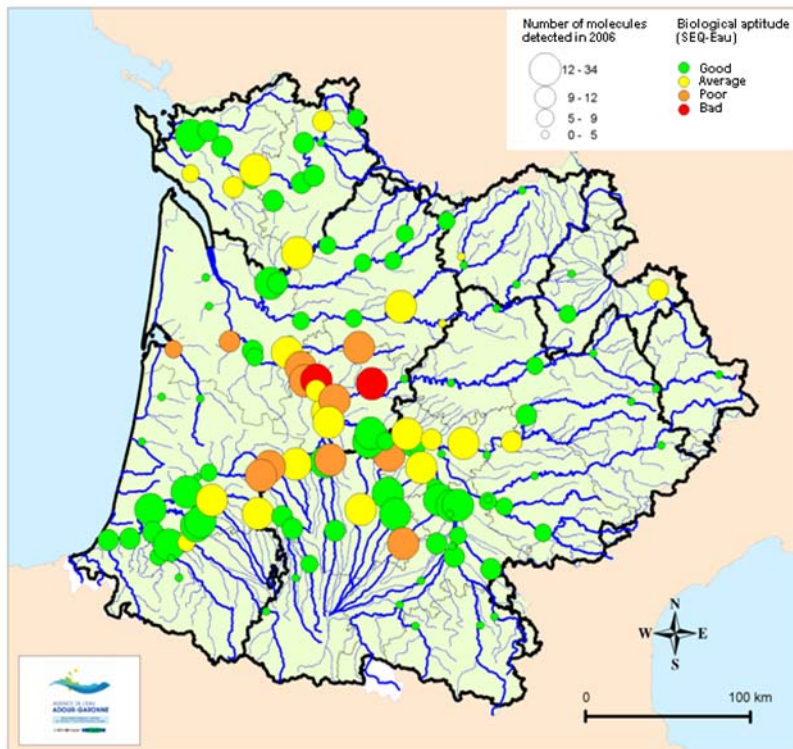
Chaque poisson précédemment étudié (traits morphométriques) a été disséqué afin de comparer les rapports gonado-somatiques qui reflètent la capacité reproductive des poissons. Nous avons mesuré également le rapport hépato-somatique et le facteur k des poissons pour déterminer leur état de santé.

### ***\* Effets de la toxicité sur la croissance de poisson***

Un dispositif expérimental en microcosme a été mis en place pour mesurer l'impact de la toxicité des produits phytosanitaires sur la croissance des poissons. Des pesticides et leur mixture ont été utilisés pour étudier l'impact sur la croissance de la truite. Ce travail est encore en cours de réalisation.

### ***\* Modélisation du patron de la toxicité des pesticides à l'échelle du bassin d'Adour-Garonne***

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'état général du bassin d'Adour Garonne en ce qui concerne la contamination de pesticide utilisant une procédure d'évaluation de risque et de détecter des groupes dans les mélanges toxiques par une carte auto-organisatrice (SOM) afin de hiérarchiser les emplacements à risque. L'évaluation d'exposition, l'évaluation de risque avec la distribution de sensibilité d'espèce, et les règles de toxicité de mélange ont été utilisées pour calculer six tests de prédiction de risque relatif pour les Modes d'Action des Toxiques: la fraction d'espèce potentiellement affectée par une multi-substance dépend du mode d'action de composés toxiques trouvés dans le mélange (msPAF). Par le modèle SOM, quatre groupes de sites présentant des concentrations toxiques similaires ont été obtenus dans cette étude. Dans le groupe 1, 83% des sites d'échantillonnage sont concernés, le risque causé par la contamination de mélange de pesticides était faible (la valeur de msPAF moyen pour ces sites <0.0036%), alors que dans le groupe 4 le risque était significatif (la valeur de msPAF moyen pour ces sites <1.09%). Le test de prédiction représenté par un insecticide (carbofuran) est apparu avoir une contribution importante pour la classification des sites et a affiché ainsi un risque toxique important dans le bassin pour le bien-être des espèces aquatiques. Cette contribution importante pourrait être expliquée par la forte toxicité de ce composé et par sa distribution spatiale spécifique. Utilisant le SIG, la carte a souligné un patron spatial de distribution des sites pour chaque groupe (Fig. 49), avec un risque significatif et extrêmement localisé (causé par le mélange toxique) dans le département du «Lot et Garonne». Ainsi l'usage combiné du modèle SOM, du mélange de toxicité et une présentation géo-référencée claire des résultats révèlent non seulement l'état général du bassin d'Adour-Garonne en ce qui concerne la contamination par les pesticides mais aussi nous permet d'analyser le modèle spatial de mélange toxique pour hiérarchiser les emplacements à risque et détecter le composé ou le groupe de composés causant le risque majeur. Un article est accepté pour publication dans *Science of the Total Environment* (Faggiano et al., 2010) dans le cadre de la thèse de L. Faggiano.



*Figure 49 : Distribution géographique des sites dans le bassin Adour-Garonne. Selon les concentrations en composés phytosanitaires, le modèle SOM a classifié la qualité des sites en 4 clusters, allant de « bon » à « mauvais », symbolisés par différentes couleurs sur la figure.*

***\* Modélisation des effets de la toxicité des pesticides sur les traits biologiques des poissons***

Utilisant les 17 mesures des caractéristiques morphométriques des gougeons capturés dans nos sites d'étude et d'après l'analyse factorielle des correspondances (AFD), on voit clairement des différences entre les 3 groupes de stations (Fig. 50) selon le degré croissant de toxicité par les pesticides. Ainsi, on voit que les poissons dans les sites de mauvaise qualité sont généralement de petite taille et ont des fortes valeurs de hauteur du corps et de distance entre le museau et la nageoire anale. Ce travail fait partie de la thèse de Candida Shinn. Un article est en cours de rédaction.

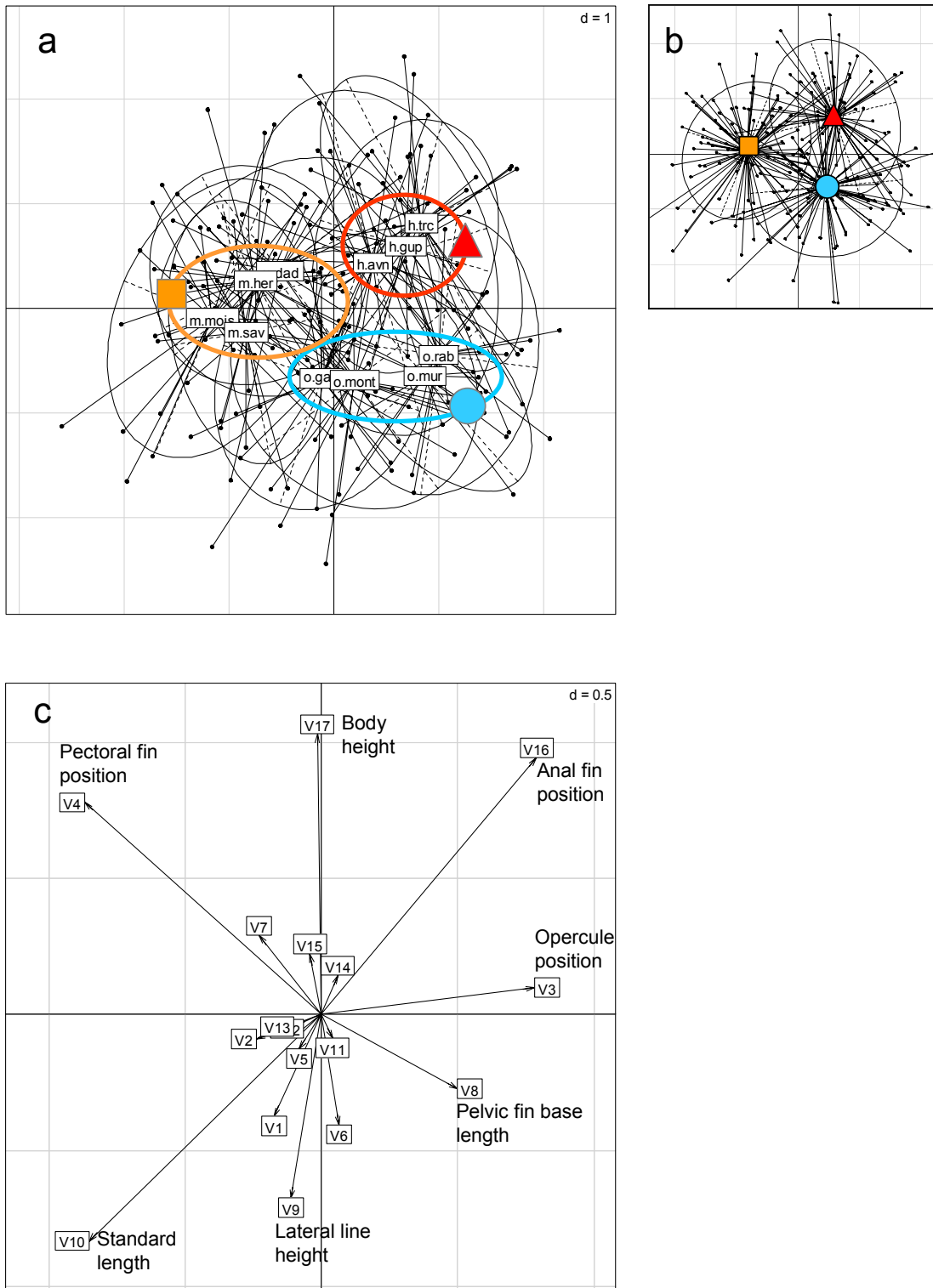
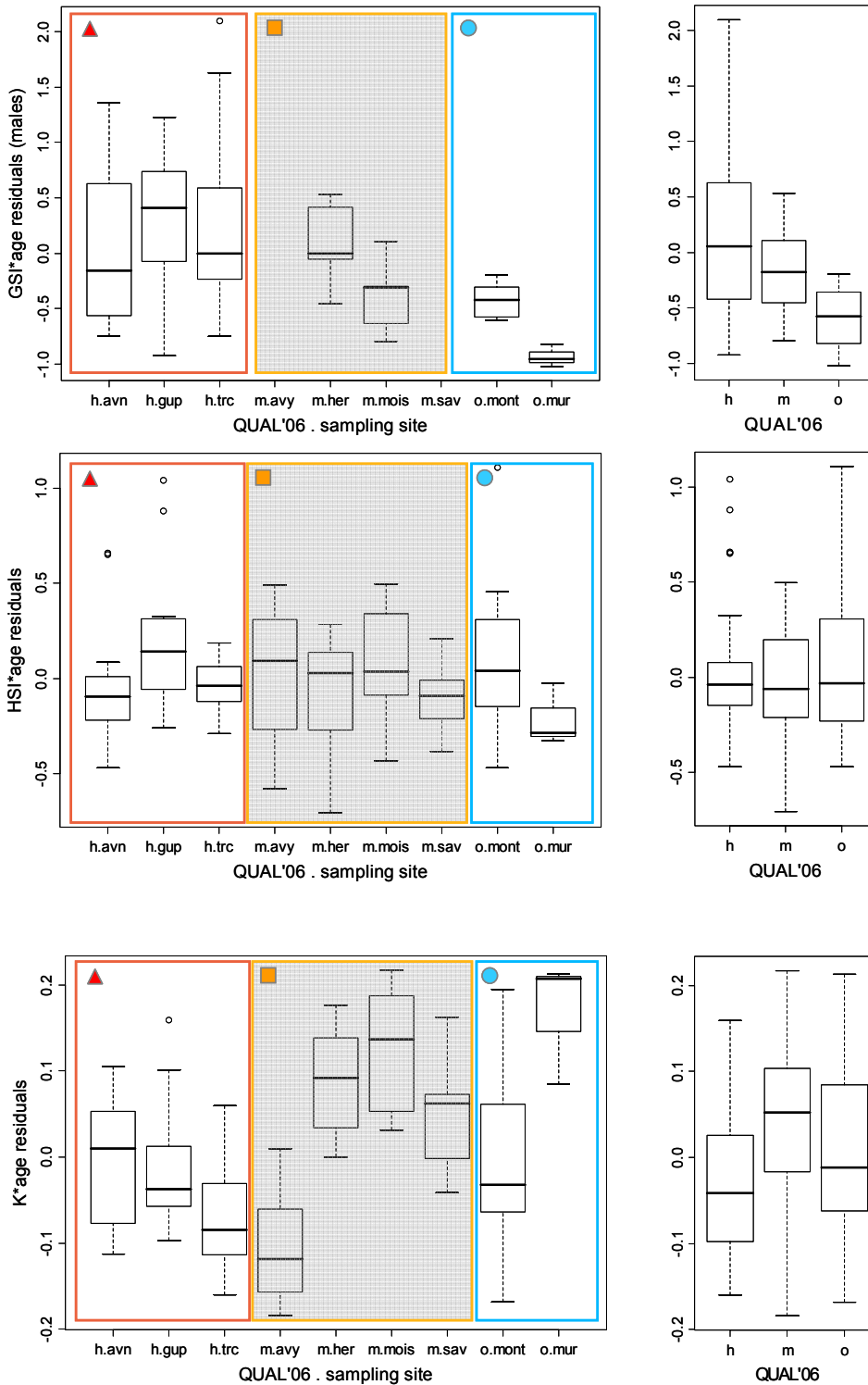


Fig. 50 - Analyse discriminante linéaire (AFD) sur les données de traits morphométriques du gougeon du bassin de la Garonne. (a) Carte des individus groupés par site d'échantillonnage et selon les 3 groupes de qualité toxicologique. (b) QUAI'06 indice de qualité de l'eau. (c) carte des variables morphométriques dans le plan 1-2 de l'AFD.

**\* Effets de la toxicité sur la reproduction et l'état de santé des poissons**

Les résultats de la Fig. 50 montrent que le GSI augmente significativement avec la toxicité due aux pesticides ( $p < 0.05$ ), avec une plus forte variabilité. Ceci peut être expliqué par un effort supplémentaire dans la reproduction lorsque la perturbation augmente. Cependant, le HSI ne montre pas de différence selon la toxicité des pesticides (Fig. 51). Le facteur condition k est significativement inférieur pour les sites pollués par les pesticides, témoignant ainsi l'altération des conditions corporelles liée à la toxicité. Les résultats de cette étude sont en cours de rédaction pour publication dans des journaux internationaux (Shin et al).





*Fig. 51 : Boîtes à moustache représentant des résidus des régressions entre l'âge et le rapport GSI (gonado-somatique), HSI (hépatosomatique) et K (facteur de condition) de chaque site et chaque niveau de toxicité.*

## **Conclusion**

Conformément aux résultats de nos recherches dans le cadre du programme inter région Midi-Pyrénées et Aquitaine sur l'impact de la toxicité, nous avons modélisé le patron de toxicité liée aux produits phytosanitaires à l'échelle du bassin d'Adour-Garonne. Nous avons pu ainsi mettre en évidence des groupes de sites de mauvaise qualité fortement pollués par des produits phytosanitaires. Ces sites sont notamment localisés dans les zones fortement agricoles du Lot & Garonne.

Nous avons pu mettre également en évidence l'impact des polluants métalliques et agricoles sur les modifications des traits d'histoire de vie des poissons. Ainsi les milieux fortement pollués par les pesticides voient leurs traits morphologiques changés. La pollution entraîne également une augmentation de l'effort reproductif (augmentation du GSI) et altère les conditions corporelles (facteur k faible). Cependant les conditions hépatiques (HSI) ne semblent pas subir de modifications selon le degré croissant de pollution.

## **Références**

- Aubertot J.N., J.M. Barbier, A. Carpentier, J.J. Gril, L. Guichard, P. Lucas, S. Savary, I. Savini, M. Voltz (éditeurs), (2005). Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Expertise scientifique collective, synthèse du rapport, INRA et Cemagref (France).
- Brunberg, A.K., Blomqvist, P. 2001. Quantification of anthropogenic threats to lakes in a lowland county of central Sweden. *Ambio*, 30: 127–134.
- Faggiano L., de Zwart D., García-Berthou E., Lek S. and Gevrey M. 2010. Patterning ecological risk for pesticide contamination at the basin scale. *Sc. Total Environment* (in press).
- Fleeger, J.W., Carman, K.R., Nisbet, R.M. 2003. Indirect effects of contaminants in aquatic ecosystems. *Science of the Total Environment* 317:207–233
- Kime D.E. 1995. The effects of pollution on reproduction in fish. Review in *Fish Biology and Fisheries*, 5:52-96.
- Nedeau, E., Merritt, W., Kaufman, M. 2003. The effect of an industrial effluent on an urban stream benthic community: water quality vs. habitat quality. *Environmental Pollution* 123: 1-13.
- Parlement Européen. 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for Community action in the field of water policy. O.J.L327
- Sandin, L. 2003. Benthic macroinvertebrates in Swedish streams: community structure, taxon richness, and environmental relations. *Ecography* 26: 269-282.
- Schulz, R., Liess, M. 1999. A field study of the effects of agriculturally derived insecticide input on stream macroinvertebrate dynamics. *Aquatic Toxicology* 46 (364): 155-176.
- Shinn C., F. Dauba, G. Grenouillet, G. Guenard and S. Lek 2009. Temporal variation of heavy metal contamination in fish of the river lot in southern France. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72: 1957-1965.

## 4- Production scientifique

### Publications

- DEBENEST T, SILVESTRE J, COSTE M and PINELLI E 2010. Effects of pesticides on freshwater diatoms. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 203: 87-103.
- FAGGIANO L., DE ZWART D., GARCÍA-BERTHOU E., LEK S. AND GEVREY M. 2010. Patterning ecological risk for pesticide contamination at the basin scale. *Sc. Total Environment* (in press).
- BEAUCHARD O, CHOI KH, LEE SH, JI CW, LEK S, CHON TS 2009- Quantitative characterization of response behaviors and individual variation in *Chironomus riparius* after treatments of diazinon. ECOSYSTEMS AND SUSTAINABLE DEVELOPMENT VII *Book Series: WIT Transactions on Ecology and the Environment* 122: 127-138.
- BUR T., PROBST J.L., N'GUESSAN M. and PROBST A. 2009 – Distribution and origin of lead in stream sediments from small agricultural catchments draining Miocene molassic deposits (SW France). *Applied Geochemistry*, 24, 1324-1338.
- DEBENEST T, PINELLI E, COSTE M, SILVESTRE J, MAZZELLA N, MADIGOU C and DELMAS F 2009. Sensitivity of freshwater periphytic diatoms to agricultural herbicides. *Aquatic Toxicology* 93: 11-17.
- FERRANT S., LAPLANCHE C, DURBE, G.JUSTES E.; PROBST A., DUGAST P., DURAND P., SANCHEZ-PEREZ J.M. and PROBST J.L. 2009 – High temporal resolution of nitrate concentrations in stream: interest for assessing flushing of nitrate from a small agricultural catchment. Submitted to *Hydrological Processes*.
- FERRANT S., OEHLER F., DURAND P., RUIZ L., SALMON-MONVIOLA J.; JUSTES E.; DUGAST P., PROBST A., PROBST J.L. and SANCHEZ-PEREZ J.M., 2009 Understanding nitrogen transfer dynamics in a small agricultural catchment: comparison of a distributed (TNT2) and a semi distributed (SWAT) modelling approaches. Submitted to *Journal of Hydrology*.
- DEVAULT D.A., MERLINA G., LIM P., PROBST J.L. and PINELLI E. 2007 - Multi-residues analysis of pre-emergence herbicides in fluvial sediments: application to the mid-Garonne River. *Journal of Environmental Monitoring*, 9, 1009-1017.
- MACARY, F., LAVIE, E., LUCAS, G., RIGLOS, O., 2006. Méthode de changement d'échelle pour l'estimation du potentiel de contamination des eaux de surface par l'azote. *Ingénieries - E A T*, n° 46, p. 35 – 49.
- MACARY F., VERNIER, F., 2007. Zonage de risque potentiel de transferts de pesticides à l'échelle de bassins versants : quelles méthodes pour un transfert d'échelles spatiales ? *Pesticides : impacts environnementaux, gestion et traitements*, in *Presses de l'école nationale des Ponts et chaussées*, p245 -259.
- MORIN, S., BOTTIN, M., MAZZELLA, N., MACARY, F., DELMAS, F., WINTERTON, P., COSTE, M., 2009. Linking diatom community structure to pesticide input as evaluated through a spatial contamination potential (Phytopixal): a case study in the Neste river system (South-West France), *Aquatic Toxicology*, 94: 28-39.
- N'GUESSAN M., PROBST J.L., BUR T., and PROBST A. 2009 – Trace elements in stream bed sediments from agricultural catchments (Gascogne region, S-W France): where do they come from? *The Science of The Total Environment*, 407, 2939-2952.



- PERRIN A.S., PROBST A. and PROBST J.L. 2006- Impact of nitrogen fertilizers on natural weathering processes : evident role of CO<sub>2</sub> consumption. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 70, 18, A483
- PERRIN A.S., PROBST A. and PROBST J.L. 2008 – Impact of nitrogen fertilizers on carbonate dissolution in small agricultural catchments: Implications for weathering CO<sub>2</sub> uptake at regional and global scales. *Geochimica Cosmochimica Acta*, 72, 3105-3123.
- SHINN C., F. DAUBA, G. GRENOUILLET, G. GUENARD AND S. LEK 2009. Temporal variation of heavy metal contamination in fish of the river lot in southern France. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72: 1957-1965.
- SONG MY, LEPRIEUR F, THOMAS A, LEK-ANG S, CHON TS, LEK SOVAN, 2009 - Impact of agricultural land use on aquatic insect assemblages in the Garonne river catchment (SW France). *Aquatic Ecology* 43: 999-1009.
- TAGHAVI L., MERLINA G., MARCHAND A.L., DURBE G. and PROBST A. 2010- Flood event impact on pesticide transfer in a small agricultural catchment (Montousse at Aurade, South West of France). *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 90, 388-403.
- TUDESQUE L., M. GEVREY, G. GRENOUILLET, S. LEK 2008- Long-term changes in water physicochemistry in the Adour-Garonne hydrographic network during the last three decades. *Water Research* 42: 732-742.

### **Communications (orales, posters) en colloques et symposiums scientifiques**

- FAGGIANO L., DEZWART D., DYER S., MULDER C., LEK S., and GEVREY M., 2010. Improving data sampling for better ecosystem diagnostic *Keybioeffects conference, Emerging and priority pollutants: Bringing science into river management plans*, Mars 2010 (Oral and Poster).
- SHINN C., GRENOUILLET G., LEK S. 2010. Pesticide gradients in rivers: fish-based investigative field monitoring. *Keybioeffects workshop - Emerging and Priority Pollutants: bringing science into River Management Plans. Girona, Spain* (poster).
- SHINN C, SLOOTWEG T, MOELLER A, AGBO, S. 2010. Aquatic organisms as bio-indicator on multiple levels. *Keybioeffects workshop - Emerging and Priority Pollutants: bringing science into River Management Plans. Girona, Spain* (oral).
- FAGGIANO L., LEK S., DE ZWART D. AND GEVREY M., 2009. Testing links between predicted risk of toxicant mixture and fish assemblages using predictive models. *SEFS6: symposium for European Freshwater Sciences, Sinaia, Romania, August* (Oral).
- FERRANT S., OEHLER F., DURAND P., JUSTES E., PROBST J.L. and SANCHEZ-PEREZ J.M. – 2009- Long term nitrogen budget modelling in a small agricultural watershed : hydrological control assessment of nitrogen losses with semi-distributed (SWAT) and distributed (TNT2) models. *Geophysical research Abstracts*, vol. 11, EGU2009-5755-1, EGU General Assembly 2009.
- FERRANT S., OEURNING C., SAUVAGE S., DURAND P., PROBST J.L. and SANCHEZ-PEREZ J.M. – 2009- Dynamic of nitrogen loads in surface water of an agricultural watershed by modelling approach, the Save, Southwest France. *Geophysical research Abstracts*, vol. 11, EGU2009-7203-3, EGU General Assembly 2009.

- GUÉNARD G., DE ZWART D., VON DER OHE P., LEK S., 2009. Predicting sensitivity to pollutants using molecular characters. *14th International Symposium on Toxicity Assessment, Université P Paul-Verlaine, Metz, France, 30 October - 3 September 2009* (oral)
- GUÉNARD G, PETER , VON DER OHE C, SOVAN LEK S, 2009. Spatial correspondence of chemical status and macro-invertebrates diversity. *SETAC North America 29th meeting, New-Orleans, USA, 18-24 November 2009* (oral)
- GUILLAUME GUÉNARD G., C. VON DER OHE P., and LEK S., 2009 A spatially-explicit assessment of pollutants impact and macro-invertebrates diversity and community structure. *Final MODELKEY conference, Helmholtz Centre for Environmental Research UFZ, Leipzig, Germany, 30 November - 2 December 2009* (Poster)
- ROUBEIX, V., MAZZELLA, N., DELMAS, F. & COSTE, M. - 2009. Evaluation in situ de l'effet des herbicides agricoles sur les communautés de diatomées épilithiques des cours d'eau. 28ème colloque de l'ADLaF, Banyuls, 7-10 septembre 2009.
- SHINN C., GRENOUILLET G., LEK S. 2009. Variation of fish traits and health status along a gradient of pesticide pollution in a French river basin. *14<sup>th</sup> ISTA, Metz, France* (oral).
- SHINN C., GRENOUILLET G., LEK S. 2009. What can freshwater fish tell us about pesticide gradients in their environment? *30<sup>th</sup> SETAC North-America, New Orleans, USA* (oral).
- SHINN C., GRENOUILLET G., GUÉNARD G., FAGGIANO L., LEK S., 2009. Trends in fish traits and health along a pesticide gradient. *MODELKEY final conference - How to assess the impact of key pollutants in aquatic ecosystems, Leipzig, Germany* (oral).
- TAGHAVI L., MERLINA G., DURBE G., PROBST A. PINELLI E. and PROBST J.L. 2009 - Dynamique de transfert des pesticides en périodes de crue sur le bassin versant de la Save (Sud-Ouest de la France). Proc. XXXIXème congrès du Groupe Français des Pesticides - 13-15 mai 2009, Toulouse.
- FAGGIANO L., LEK S., GAEKLER M., GARCIA-BERTHOU E., GEVREY M., 2008. Spatial pattern of chemical status in Garonne river basin. *SETAC Europe Annual Meeting in Warsaw, Poland, May 2008* (Poster).
- MACARY, F., BORDENAVE P., De VILLE D'AVRAY N., 2008. Estimation d'un risque agroenvironnemental : la contamination des eaux de surface par les intrants agricoles. Application sur les coteaux de Gascogne. Colloque interdisciplinaire : « vulnérabilités sociales, risques et environnement : comprendre et évaluer », Université Toulouse le Mirail, 14-15-16/06, 15p.
- MORIN S., BOTTIN M., MAZZELLA N., DEBENEST T., MACARY F., COSTE M., DELMAS F., 2008. Impact des pollutions agricoles sur les communautés de diatomées du système Neste (SO France). Colloque du Groupe Français des Pesticides, Brest, 21-23-23/05.
- MORIN S., BOTTIN M., MAZZELLA N., MACARY F., COSTE M., DELMAS F. 2008. Linking diatom community structure to pesticide input as evaluated through a spatial contamination potential (Phytopixal): a case study in the Neste system (South West France). 20<sup>th</sup> International Diatom Symposium, Dubrovnik Croatia 7-13 september 2008.
- ROUBEIX, V., DELMAS, F., COSTE, M., MAZZELLA, N. - 2008. Etude préliminaire de l'effet des pesticides agricoles sur les communautés de diatomées épilithiques des cours d'eau . 27ème Congrès de l'ADLaF, Dijon, 1-4 septembre 2008.
- SHINN C., LEK S., DAUBA F., GRENOUILLET G. 2008. Temporal variation of heavy metal contamination in fish of a tributary in southern France. *18<sup>th</sup> SETAC Europe, Warsaw, Poland* (poster).

- SHINN C, GRENOUILLET G., LEK S. 2008. Impact of pesticides on stream fish life history traits. *Keybioeffects Workshop - Water Framework directive in relation to Priority and Emerging Pollutants. Koblenz, Germany* (poster).
- TAGHAVI L., MARCHAND A.L., MERLINA G., DURBE G., PROBST A. and PROBST J.L. 2008 - Pesticide transfers in a small agricultural catchment during flood flows: partitioning into dissolved and particulate fractions. Proc. 5<sup>th</sup> European Conference on Pesticides and Related Organic Micropollutants in the Environment, 22-25 October, Marseille, France, 439-444..
- DEBENEST, T., SILVESTRE, J., COSTE, M., DELMAS, F. & PINELLI, E. -2007. Etude de l'effet d'un herbicide sur des diatomées benthiques: de la communauté à la cellule. 50<sup>ème</sup> Congrès de l'A.F.L., Toulouse, 13 au 15 novembre 2007.
- MACARY, F., BALESTRAT, M., CUINET, J., 2007. Estimation d'un risque potentiel spatialisé de la contamination des eaux de surface par les pesticides à différentes échelles sur les coteaux de Gascogne. Colloque FREDEC, Toulouse, 2-3 octobre, 14 p.
- MACARY, F., BALESTRAT, M., PUECH, C., SAUDUBRAY, F., 2007. Méthode d'estimation d'un risque potentiel spatialisé de la contamination des eaux de surface par les intrants agricoles à différentes échelles spatiales. Application sur les coteaux de Gascogne. Colloque international de Géomatique et Analyse Spatiale, Clermont Ferrand, 18-19-20 juin 2007. 19 p.
- MAZZELLA, N., DEBENEST, T., GRANGE, J., MADIGOU, C., DELMAS, F. - 2007. Dissipation of polar xenobiotics from pharmaceutical POCIS and suggestion of a performance reference compound. 7th Passive Sampling Workshop and Symposium, Reston, USA, 24-26 avril 2007. 21 p.
- MAZZELLA, N., MECHIN, B., DELEST, B., MADIGOU, C., DEBENEST, T., OBEIDY, C., DELMAS, F. -2007. Intérêt des capteurs passifs POCIS pour la surveillance de la contamination des eaux de surface par les pesticides. 37<sup>ème</sup> Congrès du GFP, Bordeaux, 21 au 23-05-2007.
- BUR T., CREDOZ A., PROBST A., GUIRESSE M. et PROBST J.L. 2006 - Dynamique des éléments traces métalliques au sein des sols agricoles carbonatés en région Midi-Pyrénées. Proceedings 21<sup>ème</sup> Réunion des Sciences de la terre, 4-9 décembre 2006, Dijon, p. 156.
- BUR T., PROBST J.L., PROBST A., N'GUESSAN M. et GUIRESSE M. 2006 – Origine du plomb dans les sédiments fluviaux de petits bassins versants sous cultures et sous forêts en gascogne : approche géochimique et isotopique. Proceedings 21<sup>ème</sup> Réunion des Sciences de la terre, 4-9 décembre 2006, Dijon, p. 156.
- DEBENEST, T., COSTE, M., DELMAS, F., PINELLI, E. 2006. River pollution caused by agricultural herbicides and benthic diatom communities : study of relationships, setting-up of specific descriptors usable for bio-indication. In : Acs, E, Kiss, K.T., Padizak, J. et Szabo, K. E. (eds) Use of algae for monitoring rivers VI, Hungarian Algological Society, Göd, Hungary, p 40. (Poster Session)
- DEBENEST, T., DELMAS, F., CHARIER, A., COSTE, M., MAZZELLA, N., GRANGE, J. 2006. Impacts hydrobiologiques des pollutions agricoles sur les cours d'eau des Coteaux de Gascogne : Etude expérimentale en canaux artificiels de l'impact du diuron, de l'isoproturon, de l'acétochlore et de la terbuthylazine sur les communautés de diatomées benthiques. 25<sup>ème</sup> Colloque de l'ADLaF, Caen, 25-28 Septembre 2006. In : L. Ector, F. Rimet & A. Georges (Eds) p 60. (Poster Session.)

- MAZZELLA, N., DUBERNET, J-F., DELMAS, F. 2006. Comparison between pharmaceutical and pesticide POCIS for sampling different polar herbicide classes in aquatic environments. *2nd International Passive Sampling Workshop and Symposium, Bratislava, Slovakia, 3-6 May 2006.*
- MAZZELLA, N., DUBERNET, J. F., DELMAS, F. - 2006. Analyse multirésidus du glyphosate, des tricétones et de plusieurs herbicides acides par HPLC-ESI-MS/MS. *23èmes Journées Françaises de Spectrométrie de Masse, Nantes, 11-14 Septembre 2006. 1p.*
- N'GUESSAN M., PROBST J.L., PROBST A., BUR T. et DURBE G. 2006- Distribution des teneurs en éléments traces dans les sédiments fluviaux de petits bassins versants agricoles : cas de la Gascogne. *Proceedings 21<sup>ème</sup> Réunion des Sciences de la terre, 4-9 décembre 2006, Dijon, p. 170.*
- PERRIN A.S., PROBST A. et PROBST J.L. 2006 - Do nitrogen fertilizers change anything on natural weathering processes and CO<sub>2</sub> consumption? *Proceedings 21<sup>ème</sup> Réunion des Sciences de la terre, 4-9 décembre 2006, Dijon, p. 172.*
- PERRIN A.S., PROBST A. et PROBST J.L. 2006 - Impact of nitrogen fertilizers on natural weathering processes: evident role on CO<sub>2</sub> consumption. *Proceedings 16th Annual Goldschmidt Conference, 27th August -1st September 2006, Melbourne.*

### **Réunions de recherche et de transfert à vocation régionale**

- DELMAS, F., 2006. Enjeux liés à la qualité des eaux : réseaux de suivi et bio-indicateurs. Séminaire "Evaluation et Prospective Eau en Aquitaine", 2<sup>ème</sup> journée « La parole aux chercheurs », Conseil Régional Aquitaine, Bordeaux, 23-11-2006 (Oral Comm., 20 slides)
- DELMAS, F., COSTE, M., TISON, J., MORIN, S., DEBENEST, T. (2006). Les diatomées, un modèle biologique intégrateur de la qualité des cours d'eau. Journée de Restitution R2 du Groupement Scientifique ECOBAG « Outils de suivi et de connaissance de l'eau, des milieux aquatiques et des territoires associés », Toulouse, 30 Mai 2006 (Oral Comm. 32 slides)
- DEBENEST, T., CHARIER, A., MAZZELLA, N., COSTE, M., DELMAS, F. (2006). Impact des pollutions agricoles sur les diatomées & Méthodes d'analyse et de suivi des pesticides. Journée de Restitution R4 du Groupement Scientifique ECOBAG « Agriculture et Qualité des Eaux », Toulouse, 17 Octobre 2006 (Oral Comm., 26 slides)

### **Thèses de doctorat**

- DARRADI Y. 2010 - Optimisation de la performance environnementale des activités agricoles à l'échelle d'un espace à enjeux: Le cas du bassin versant de la Boulouze. Thèse de doctorat Université Bordeaux I, encadrement Cemagref-UR ADBX, soutenance prévue en 2010.
- TAGHAVI L. 2010 - Dynamique de transfert des pesticides en périodes de crues sur les bassins versants agricoles gascons. INP Toulouse, soutenance prévue en 2010.
- FERRANT S. 2009 - Modélisation des transferts de nitrates à l'échelle des bassins versants gascons: impacts des changements d'occupation des sols et des changements climatiques. PhD thesis, Toulouse University Paul Sabatier, soutenue le 15 décembre 2009.
- BUR T. 2008 - Impacts des activités agricoles sur la dynamique des éléments traces métalliques dans les sols du piémont pyrénéen. Thèse de doctorat INP Toulouse, soutenue en décembre 2008.

- N'GUESSAN M. 2008 – Dynamique des éléments traces métalliques dans les eaux de surface des bassins versants de Gascogne. Thèse de doctorat INP Toulouse, 213 p et annexes.
- PERRIN A.S. 2008- Rôle des fertilisants azotés dans l'érosion chimique des bassins versants carbonatés : implication dans la consommation de CO<sub>2</sub> et la composition chimique des eaux de surface. PhD Toulouse University Paul Sabatier, soutenue le 24 octobre 2008.
- DEBENEST T. 2007- Caractérisation des pollutions agricoles sur les diatomées benthiques. Thèse de l'Université de Bordeaux, 237p.

### **Mémoires de Master 2 et Ingénieurs.**

- CANAL J. ,2009,- Transfert du cuivre par les particules en suspension lors d'une crue éclair : couplage entre extraction séquentielle et composition isotopique. Master II Hydrologie, Hydrochimie, Sol et environnement, UPS Toulouse et INPT, 32 p.
- ZHANG H. (2007)- Suivi isotopique et hydrochimique de la Garonne et ses affluents, des Pyrénées à la confluence avec le Lot. Master 2 Hydrologie-Hydrochimie-Sol et Environnement, UPS et INP Toulouse, 29 pp.
- BALESTRAT M., 2006. Usage de la télédétection et du SIG pour construire une méthode d'évaluation du risque potentiel de pollution diffuse des eaux de surface par les produits phytosanitaires : adaptation au transfert d'échelle spatiale sur les Coteaux de Gascogne (Gers) . Master 2 professionnel géomatique, SIGMA, ENSAT. 145 p.
- MARCHAND A.L. 2006 ,Transferts de produits phytosanitaires sur le bassin versant agricole d'Auradé en période de crue. Master 2 Sciences de l'Univers-Ecologie-Environnement, UPMC et Ecole Nationale du génie rural des eaux et Forêts, 26 p. et annexes.
-