HAL
open science

# Révélation d'une pollution diffuse par la tolérance induite chez les communautés de microalgues. Application de la méthode PICT (Pollution-Induced Community Tolerance) dans une rivière contaminée par des herbicides

Annette Berard, Ursula Dorigo, Jean Francois Humbert, Xavier Bourrain, Nicolas Cauzzi, Jean-Claude Druart, Christophe Leboulanger

## To cite this version:

Annette Berard, Ursula Dorigo, Jean Francois Humbert, Xavier Bourrain, Nicolas Cauzzi, et al.. Révélation d'une pollution diffuse par la tolérance induite chez les communautés de microalgues. Application de la méthode PICT (Pollution-Induced Community Tolerance) dans une rivière contaminée par des herbicides. 31. Congrès du Groupe Français des Pesticides, May 2001, Lyon, France. hal-02763292

**HAL Id: hal-02763292**

**https://hal.inrae.fr/hal-02763292**

Submitted on 4 Jun 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.

# Révélation d'une pollution diffuse par la tolérance induite chez les communautés de microalgues

## Application de la méthode PICT (Pollution-Induced Community Tolerance) dans une rivière contaminée par des herbicides

## *Detecting pollution from diffuse agriculture sources by the induced tolerance of microalgal communities*

### *Application of the PICT-method (Pollution-Induced Community-Tolerance) in a herbicide contaminated river*

Annette Bérard*, Ursula Dorigo, Jean-François Humbert, Xavier Bourrain, Nicolas Cauzzi, Jean-Claude Druart, Christophe Leboulanger
INRA, av. de Corzent 74203 Thonon cedex
Agence de l'eau Loire-Bretagne, av. de Buffon 45100 Orléans La Source
berard@thonon.inra.fr

**Résumé** : Dans le cadre d'une étude confiée par l'Agence de l'Eau Loire-Bretagne, notre équipe s'est intéressée aux effets de molécules herbicides sur les communautés de microalgues naturelles. Nous avons suivi la contamination en pesticides sur divers sites de la rivière Ozanne (Eure et Loir) et évalué la sensibilité des communautés de microalgues prélevées en ces mêmes sites aux deux contaminant principaux, l'atrazine et l'isoproturon. Associé à ces tests, nous avons estimé la structure de ces peuplements, pour valider les principes de la méthode PICT. Les tendances PICT sur périphyton et phytoplancton confirment les analyses de phytosanitaires : Les sites les moins pollués, présentent les communautés algales les plus sensibles à l'atrazine et à l'isoproturon, alors que les deux stations qui ont connu des concentrations très variables mais élevées en triazines et en urées substituées, sont caractérisées par des tolérances plus élevées ; ceci au cours de 5 campagnes de prélèvements. Ces différents résultats montrent le côté intégrateur des communautés algales qui gardent une tolérance acquise malgré des variations importantes en concentrations d'herbicides dans le milieu. Cette étude a montré que le PICT pouvait être appliqué avec succès sur le terrain dans le cadre de rivières contaminées par des pollutions diffuses.

***Abstract*** *: In the frame of a study, which has been undertaken by the Water Agency Loire-Bretagne, our laboratory was interpellated to evaluate the effects of herbicides on natural communities of microalgae.*
*Existing pesticide contamination on different sites of the river Ozanne (Eure and Loir) was monitored and the sensitivity to the two main pollutants, atrazine and isoproturon, of microalgae communities, collected in these sites, was evaluated. In parallel to these tests, we assessed the structure of these populations, in the aim to validate the principles of the*

*PICT-method. The PICT-trends enlightened on both periphyton and phytoplankton, confirmed the analysis of phytosanitary products: the less polluted the site, the more sensitive the communities with regards to atrazine and isoproturon, even though the two sites, which were submitted to highly variable but important concentrations of atrazine and isoproturon are characterized by higher tolerances; and this during 5 campaigns of sampling. These different results show the "integrative" aspect of algae communities, which keep the acquired tolerance, despite important environmental variations of the herbicide concentrations. This study illustrates that the PICT concept could be successfully applied in field in the case of diffused pollution in rivers.*

**Mots-clés** : communautés algales, rivière, tolérance, bioévaluation

***Keywords** : algae communities, river, tolerance, bioevaluation*

# Introduction

Nous avons réalisé une étude sur cinq campagnes couvrant trois saisons de l'année 2000. Cette étude a abordé les effets de molécules herbicides sur les communautés de microalgues naturelles. Le système étudié, la rivière Ozanne, a été choisi en fonction d'une connaissance déjà acquise concernant les modalités de contamination par des herbicides, liées principalement aux calendriers de pratiques agricoles (FREDEC, DRAF, SRPV, 1999). L'étude a consisté d'une part en un suivi de la contamination elle-même sur divers sites de la rivière, et en l'évaluation de la sensibilité des microalgues prélevées en ces mêmes sites aux deux contaminants principaux, l'atrazine et l'isoproturon. Enfin, une estimation de la richesse (diversité) des peuplements a été réalisée, afin de mettre à l'épreuve les principes de la méthode PICT (Pollution-Induced Community Tolerance, Blanck *et al.* 1988). Cette méthode postule qu'un toxique peut déstructurer une communauté algale en sélectionnant certaines espèces tolérantes au dépens des plus sensibles: il en résulte à la fois des changements dans la biodiversité, et dans la tolérance apparente (lors de tests écotoxicologiques à court terme) des communautés sélectionnées aux mêmes polluants. La réponse des communautés algales au toxique est non seulement variable selon la nature de celui-ci mais aussi selon les paramètres du milieu et les interactions interspécifiques associés aux saisons et aux successions. Les conséquences écologiques potentielles des phénomènes de déstructuration sont importantes, car les microalgues constituent souvent la base du fonctionnement trophique de ces écosystèmes. Enfin, la saisonnalité des réponses des communautés algales au polluant est à confronter au " calendrier " des arrivées des toxiques dans les milieux aquatiques (cas des pesticides associés aux pratiques agricoles et aux évènements pluviaux). Le présent rapport s'attachera à démontrer la pertinence de l'approche PICT, couplée à des points finaux de mesure adéquats, lors d'une tentative d'évaluation a posteriori des effets d'une pollution sur une communauté biologique naturelle.

# 1. Matériel et méthodes

Nous avons échantillonné le phytoplancton et le périphyton d'une rivière de l'Eure-et-loir et son affluent contaminés par des herbicides d'origine agricole (triazines et urées substituées). Quatre à cinq campagnes de prélèvements et d'analyses ont été effectuées entre mai 2000 et janvier 2001, en fonction des applications saisonnières des différents pesticides dans la région agricole (FREDEC, DRAF, SRPV, 1999). Cinq sites ont été échantillonnés en fonction de leur position par rapport aux zones de pollution diffuse suspectées, et selon le cours lentique (phytoplancton) ou lotique (périphyton) de la rivière.

Des analyses de pesticides des eaux superficielles (GREPPPES 2000) ont été réalisées ponctuellement sur certains des 5 sites. Nous avons utilisé la méthode PICT (Pollution-Induced Community Tolerance, Bérard *et al.* 1998, Bérard et Benninghoff 2001) appliquée au phytoplancton et au périphyton colonisé (2 à 4 semaines selon la saison) sur substrats artificiels (pastilles de verre fritté, Nyström 1997), pour évaluer l'impact écotoxicologique de ces herbicides sur les communautés algales. Les analyses de la structure des communautés ont été réalisées au microscope inversé sur les diatomées pour le périphyton, ainsi qu'à l'aide d'outils de biologie moléculaire (ADNr 18S, PCR, clonage, séquençage, Dorigo 2001) pour le périphyton. Les tests physiologiques à court terme de dose réponse ont été réalisés avec l'atrazine et l'isoproturon, considérées dans cette étude comme molécules modèle et dominantes en concentrations des triazines et des urées substituées (FREDEC, DRAF, SRPV, 1999). Le paramètre physiologique étudié sur les communautés algales était la fluorescence *in vivo* induite (mesures au PAM et CE 50 pour le périphyton, Dorigo et Leboulanger 2001, et au fluorimètre Turner et CE 125 pour le phytoplancton, Nyström *et al.* 2001).

# 2. Résultats discussion

*Fig. n° 1 : résultats d'analyses de triazines et d'urées substituées (µg/l) de l'eau prélevée aux 4 stations correspondant aux sites de colonisation du périphyton.*

Figure 1 a :

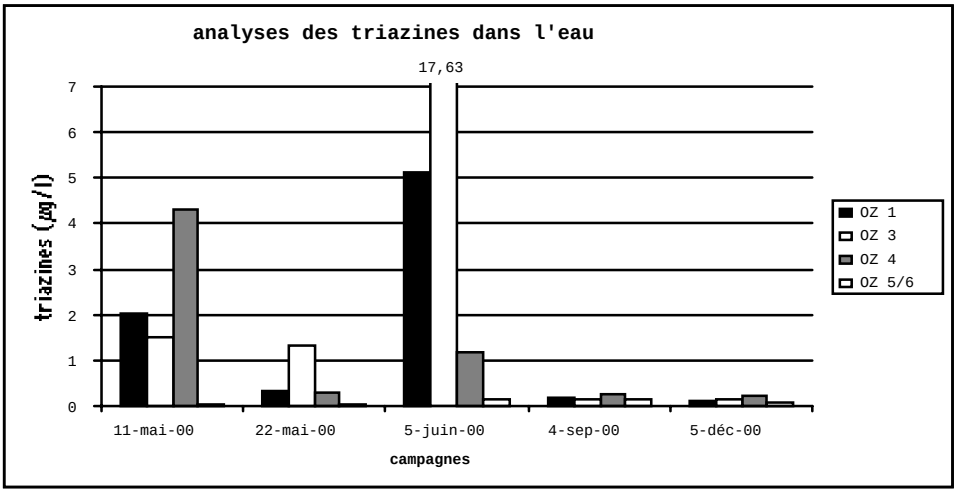
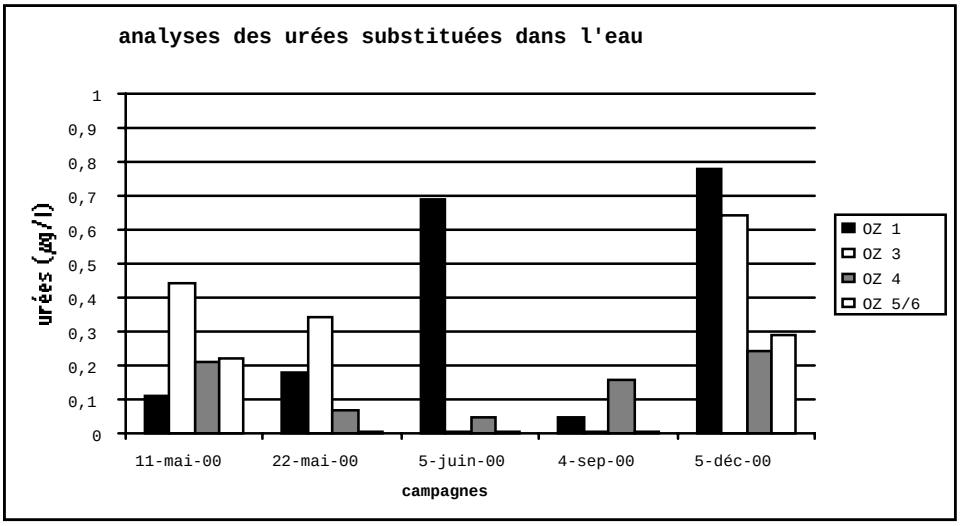



Figure 1 b :



## 2.1 Herbicides

Les analyses de triazines et d'urées substituées montrent une forte variabilité au cours de la période de suivi (fortes pollutions en mai-juin, faibles concentrations en septembre, concentrations plus élevées en urées au mois de décembre, Fig. 1).

*Fig. n° 4 : tolérance du périphyton à l'atrazine et à l'isoproturon, estimée par la CE 50 de la fluorescence induite (juin : les échantillons d'OZ1 et OZ5/6 n'ont pu être analysés).*

Figure 4 a :

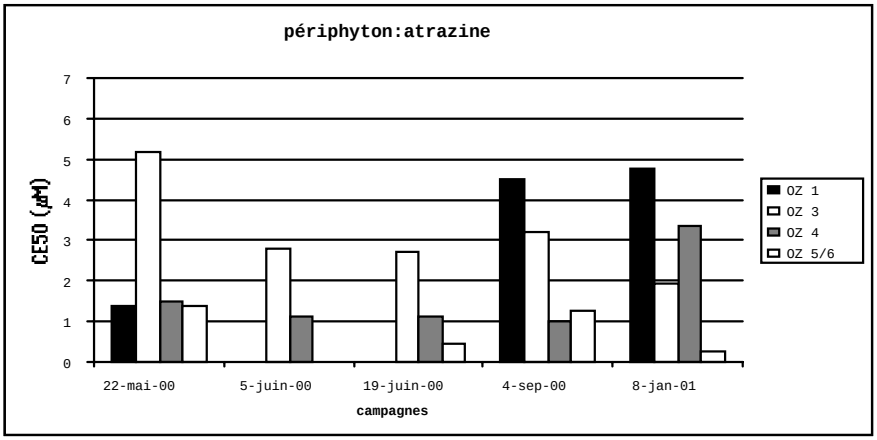
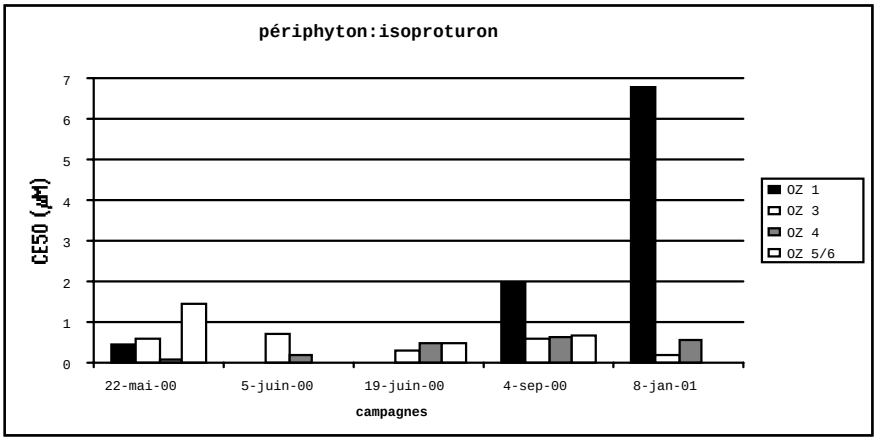



Figure 4 b :




Les stations 5/6 en amont de la rivière, restent les moins contaminées par les herbicides. Ces concentrations mesurées résultent de la saisonnalité des pratiques agricoles, des pluies sur le bassin versant et probablement de certaines pollutions ponctuelles (station 3 en juin 2000 par exemple, FREDEC, DRAF, SRPV, 1999).

## 2.2 Périphyton

Toutes les "stations lotiques" n'ont pu être échantillonnées en raison de pertes de substrats artificiels emportés lors des crues.

**Globalement les tendances PICT sur le périphyton confirment les analyses de phytosanitaires :** Les résultats sur la structure des peuplements de diatomées et les analyses génétiques, présentés sous forme d'analyses multivariées (AFC), montrent une influence saisonnière importante, mais chacune de ces deux analyses isole les stations 5/6 des autres stations (Fig. 2, Fig. 3).

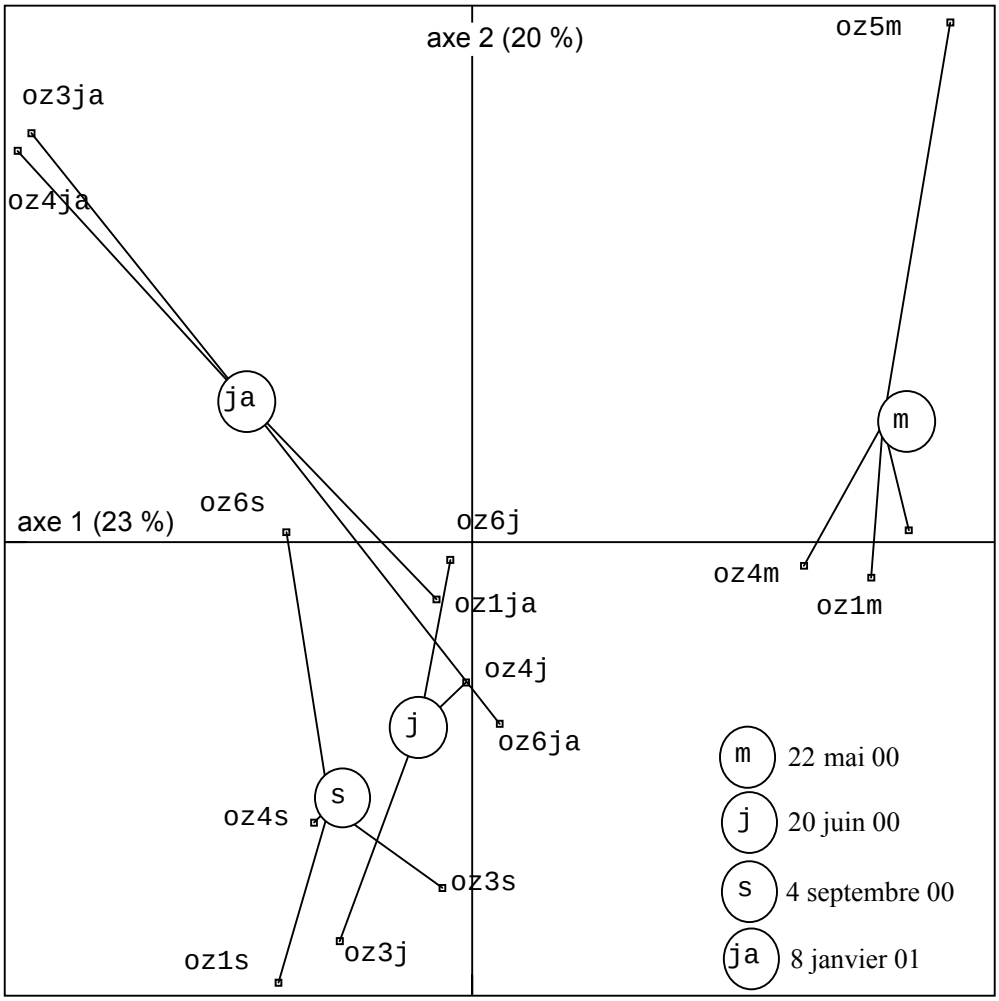



*Fig. n° 2 : Analyse factorielle de correspondance sur les comptages au microscope des diatomées du périphyton : quatre campagnes.*

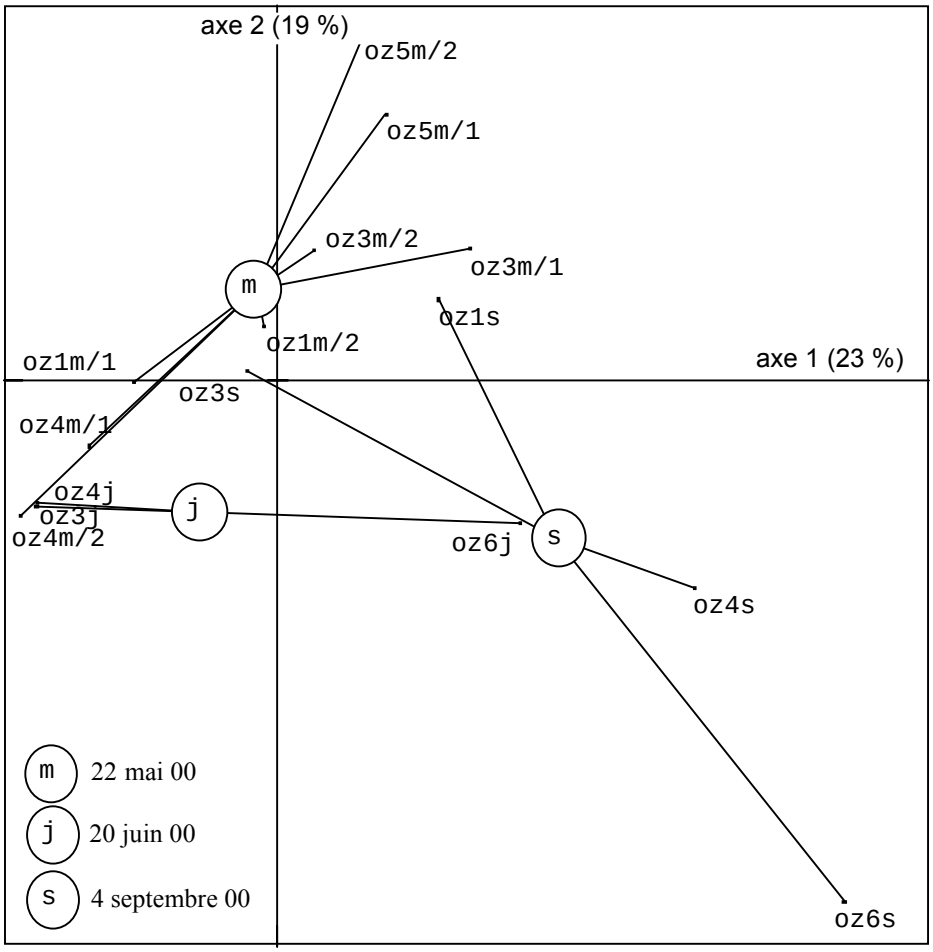



*Fig. n° 3 : Analyse factorielle de correspondance sur les analyses génétiques du périphyton (à partir d'un arbre phylogénétique) : trois campagnes.*

Les sites OZ 5-6 qui sont les moins pollués, présentent les communautés algales les plus sensibles à l'atrazine, alors que OZ3 et OZ1 qui ont connu des concentrations très variables mais élevées en triazines et, dans une moindre mesure, en urées substituées, sont caractérisés par des tolérances plus élevées. La station OZ 4 présente des profils PICT et de pollution intermédiaires (Fig. 4).

Mais les CE 50 sont moins variables dans le temps que les analyses de triazines. En particulier lors de la campagne de septembre, les analyses d'herbicides montrent des concentrations très faibles en triazines et urées, alors que le périphyton reste tolérant à l'atrazine et à l'isoproturon, (station OZ1). En décembre-janvier les concentrations en triazines sont faibles alors qu'elles sont les plus élevées en urées (période d'épandage des herbicides sur céréales d'hiver), on

constate quand même une tolérance accrue des algues à l'atrazine (ainsi qu'à l'isoproturon). Il existe peut-être un phénomène de co-tolérance entre l'atrazine et l'isoproturon qui sont tous deux des inhibiteurs du photosystème II (Molander 1991). Ces différents résultats montrent le côté intégrateur du périphyton qui garde une tolérance acquise malgré des variations importantes en concentrations d'herbicides dans le milieu.

## 2.3 Phytoplancton et triazines

La dernière campagne (janvier 2001) n'est pas représentée, car les résultats obtenus n'étaient pas exploitables : les eaux testées au fluorimètre contenaient beaucoup de particules (période de fortes pluies) qui ont rendu l'analyse difficile et impossible à comparer aux campagnes précédentes. La station OZ2 n'a pas été échantillonnée pour analyses en phytosanitaires, mais compte tenu de sa position dans le réseau et des résultats d'analyses en phytosanitaires obtenus les années précédentes (FREDEC, DRAF, SRPV, 1999, GREPPPES 2000) nous pouvons considérer que c'est une station soumise aux pollutions par les herbicides. **Globalement les tendances PICT sur le phytoplancton confirment aussi les analyses de triazines.** OZ 6-7 qui sont les stations les moins polluées, sont les plus sensibles à l'atrazine. Alors que OZ1 est plus tolérante et présente des concentrations en triazines plus élevées. OZ2 qui est en amont du OZ1, présente généralement un profil PICT intermédiaire (Fig. 5). Mais on peut faire les mêmes remarques que pour le périphyton : les CE 125 sont moins variables dans le temps que les analyses de triazines. En particulier lors de la campagne de septembre où là encore, les communautés algales présentent un gradient de tolérance, malgré des résultats d'analyses présentant de faibles concentrations en herbicides. Bien que non fixé, le phytoplancton montre qu'il est capable de conserver plusieurs semaines une tolérance induite par un cocktail d'herbicides.

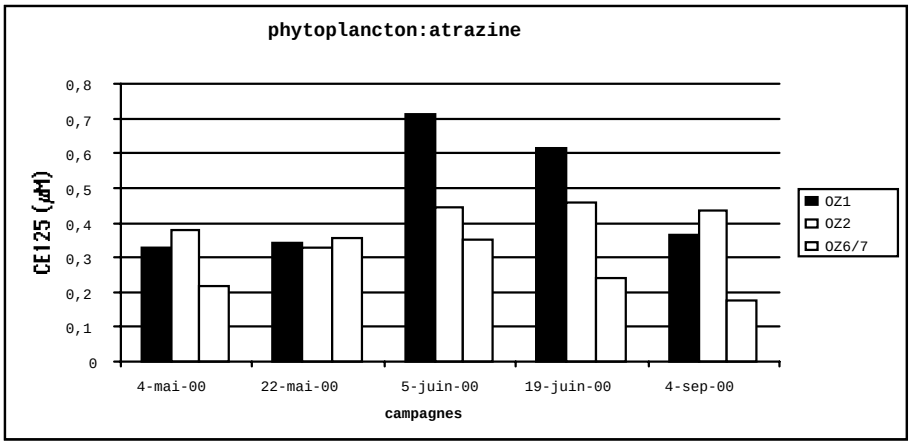



*Fig. n° 5 : tolérance du phytoplancton à l'atrazine estimée par la CE 125 de la fluorescence induite*

## Conclusion

Cette étude a montré que le PICT pouvait être appliqué avec succès sur le terrain dans le cadre de rivières contaminées par des pollutions diffuses. Elle montre l'intérêt d'utiliser des communautés naturelles pour mettre en évidence un impact écotoxicologique durable de contaminations chroniques. Nous avons de plus, comparé deux types de communautés algales, le phytoplancton prélevé ponctuellement et non fixé et le périphyton prélevé après une période de colonisation et fixé ; ces deux types de communautés répondent positivement à la méthode PICT et sont donc susceptibles d'être utilisés en rivière selon le cours (lentique ou lotique) de celle-ci.

## Références bibliographiques


Bérard A. et Benninghoff C., 2001. Pollution-Induced Community Tolerance (PICT) and seasonal variations in the sensitivity of phytoplankton to atrazine in nanocosms. Chemosphere, sous presse.

Bérard A., Pelte T., Menthon E., Druart J.C.. & Bourrain X, 1998. Caractérisation du phytoplancton de deux systèmes limniques vis-à-vis d'un herbicide inhibiteur de la photosynthèse : la méthode PICT, application et signification. *Annls. Limnol*. 34 (3) : 269-282.

Blanck H., Wängberg S.-A. et Molander S. 1988.– Pollution-Induced Community Tolerance - A New Ecotoxicological Tool. *In* Functional Testing of Aquatic Biota for Estimating Hazards of Chemicals. ASTM STP 1988. J. Cairns Jr. & J.R. Pratt. (eds). American Society for Testing and Materials, Philadelphia : 219-230.

Dorigo, U. et Leboulanger C., 2001. A PAM fluorescence-based method for assessing the effects of photosystem II herbicides on freshwater periphyton. Journal of Applied Phycology, sous presse.

Dorigo U., 2001. Methodologies to assess the effects of pesticides on freshwater microphytobenthos. Tesi di Laurea. Université de Padoue : 112 pp. + annexes.

FREDEC, DRAF, SRPV, 1999. Diagnostics de pollution des eaux par les produits phytosanitaires sur le bassin versant de l'Ozanne. Année 1997, rapport technique : 25 pp + annexes.

GREPPPES, 2000. Poursuite du diagnostic de pollution des eaux superficielles par les produits phytosanitaires sur le bassin versant de l'Ozanne (Eure et Loir). Résultats 1999-2000, rapport technique : 37pp.

Molander, 1991.– Detection, validity and specificity of pollution-induced community tolerance (PICT). Thèse de Doctorat, Université de Göteborg, Suède, 30p. + 4 publications.

Nyström B., Becker-van Slooten K., Bérard A., Grandjean D., Druart J.C., et Leboulanger C., ****. Toxic effects of Irgarol 1051 on phytoplankton communities and macrophytes in Lake Geneva. Water Research, en révision.

Nyström, B.A., 1997. Metabolic indicators of ecotoxicolgical effects in freshwater periphyton communities. Thèse de Doctorat, Université de Göteborg, Suède, 26 p. + 5 publications.