

# Complémentarité d'approches *in situ* et *ex situ* chez deux espèces d'invertébrés aquatiques pour évaluer l'écotoxicité des pesticides

*Léo PERSAT\*, Marc BONNARD\*, Alain GEFFARD, Tristan LOVERGNE, Isabelle BONNARD, Hocine HENINE,  
Cédric CHAUMONT, Jérémie D. LEBRUN*

## Saisonnalité des transferts de pesticides dans un bassin versant agricole

- ❖ **Agriculture** : utilisation massive de pesticides : **69 500** tonnes vendues en 2021 (BNVD, 2023)
- ❖ **Transfert du sol vers les masses d'eau**
- ❖ **Contaminations diffuses menacent la qualité et la biodiversité des eaux douces** (Schäfer et al., 2012)

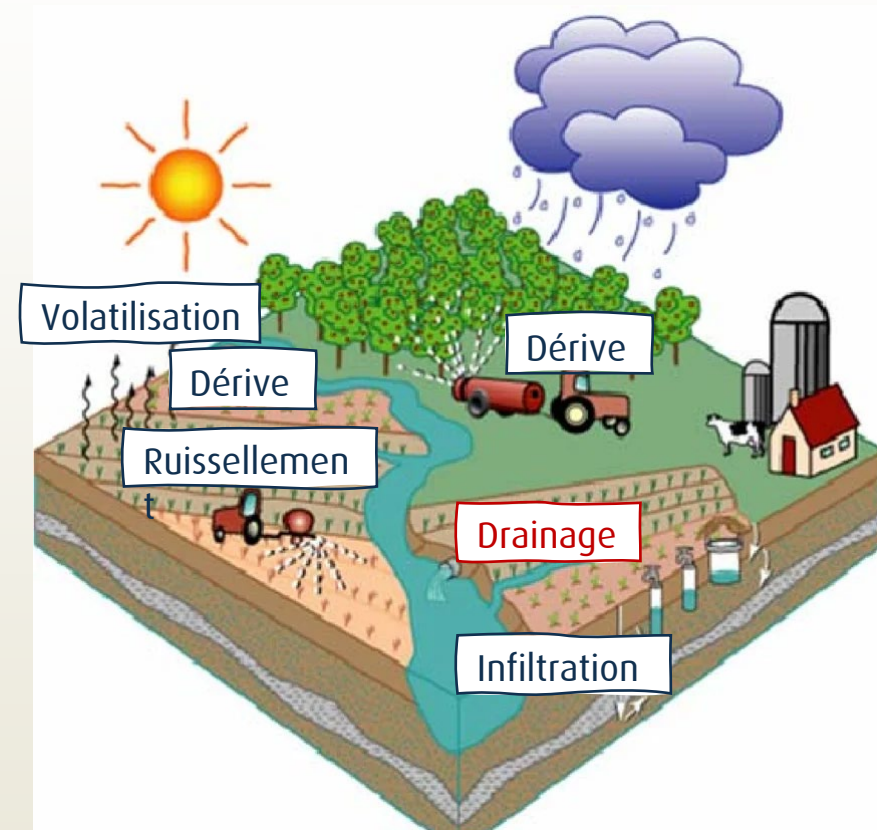


Schéma principale voie de transfert des pesticides dans l'eau  
(Villeneuve 2008)

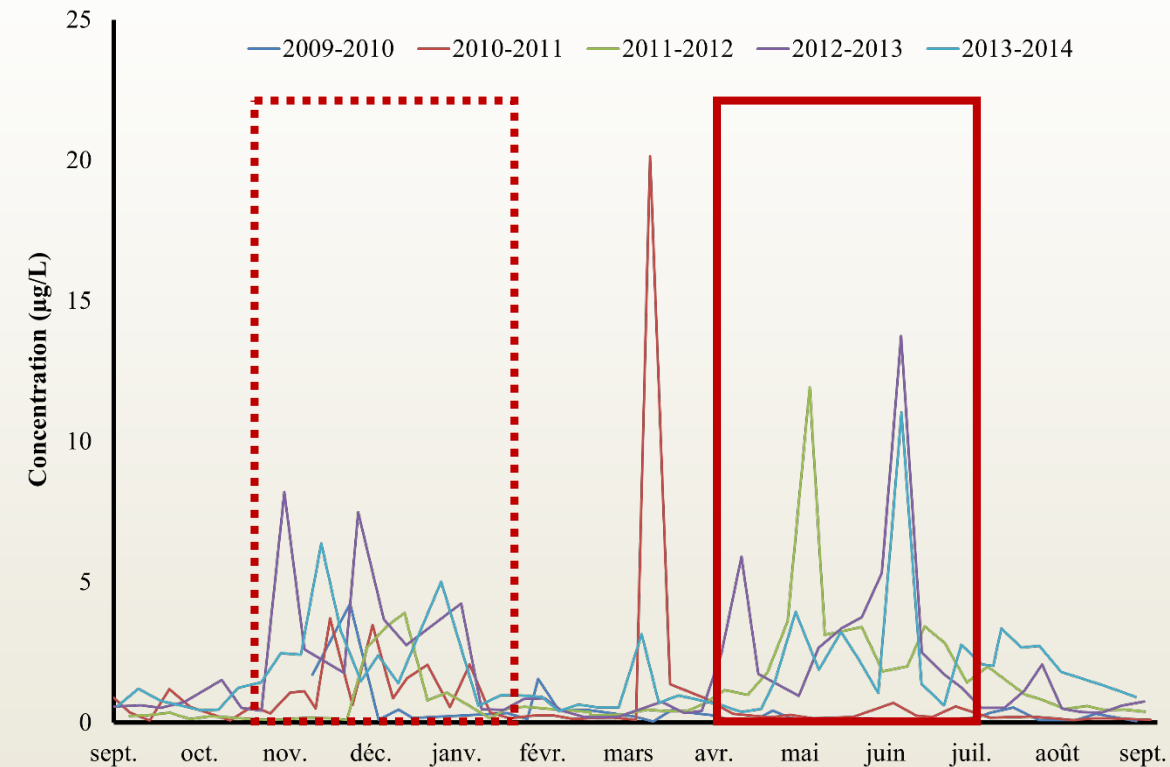
## Saisonnalité des transferts de pesticides dans un bassin versant agricole

### ❖ Contamination des masses d'eau rythmée par :

- ❖ Météorologie du bassin
- ❖ Fonctionnement hydrologique du drainage
- ❖ Pratiques agricoles

*Herbicides en automne*

*Fongicides au printemps*



Concentration de 40 molécules pesticides mesurées durant plusieurs années dans l'eau à l'exutoire d'un bassin versant agricole drainé (Bassin versant de l'Orgeval, France, Seine-et-Marne)

## Saisonnalité des transferts de pesticides dans un bassin versant agricole

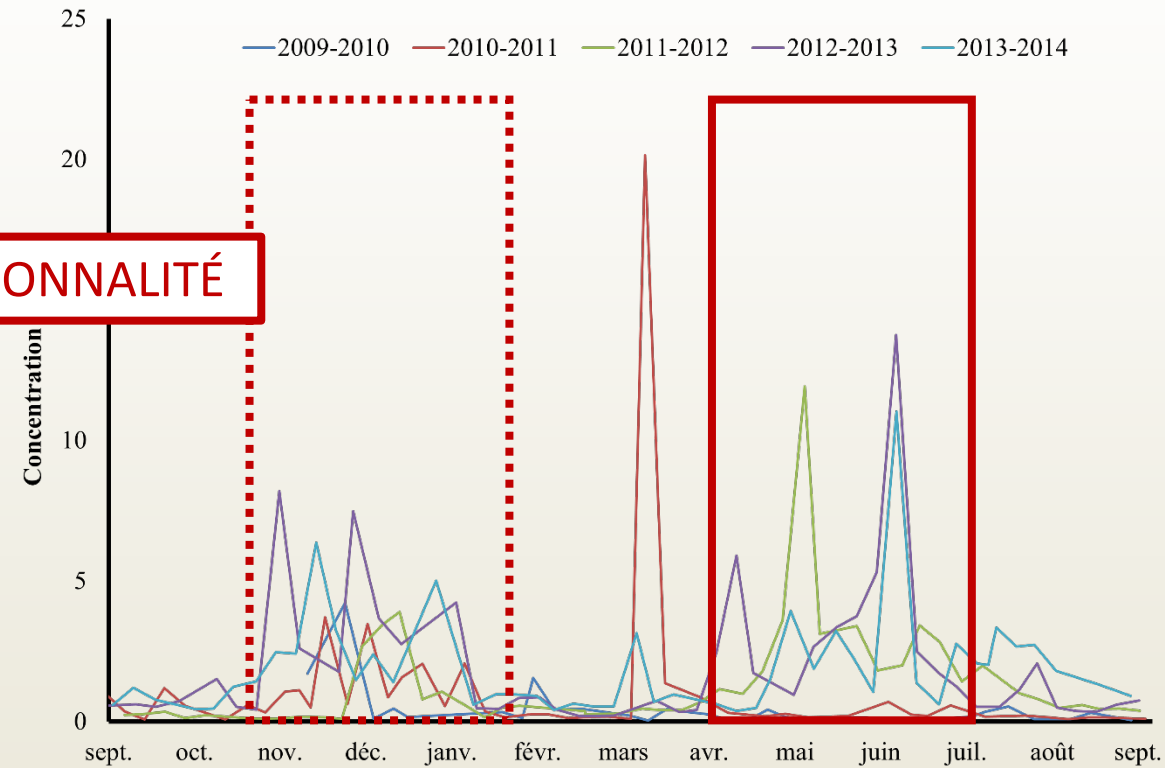
### ❖ Contamination des masses d'eau rythmée par :

- ❖ Météorologie du bassin
- ❖ Fonctionnement hydrologique du drainage
- ❖ Pratiques agricoles

*Herbicides en automne*

*Fongicides au printemps*

SAISONNALITÉ



Concentration de 40 molécules pesticides mesurées durant plusieurs années dans l'eau à l'exutoire d'un bassin versant agricole drainé (Bassin versant de l'Orgeval, France, Seine-et-Marne)

## Saisonnalité des transferts de pesticides dans un bassin versant agricole

### ❖ Contamination des masses d'eau rythmée par :

- ❖ Météorologie du bassin
- ❖ Fonctionnement hydrologique du drainage
- ❖ Pratiques agricoles

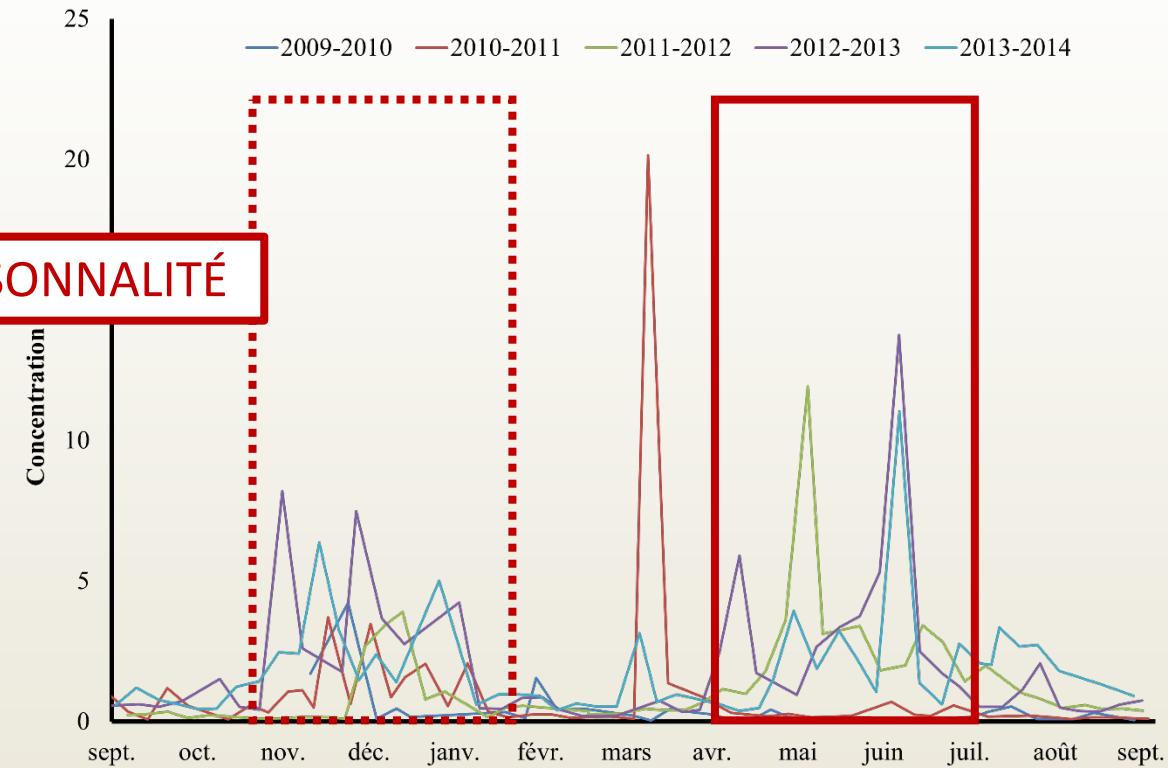
*Herbicides en automne*

*Fongicides au printemps*

Manque de connaissances entre exposition et impact en conditions réelles : PIREN phase VIII et ESCO 2023 :

➔ **Besoin de travaux d'approfondissement**

**SAISONNALITÉ**



Concentration de 40 molécules pesticides mesurées durant plusieurs années dans l'eau à l'exutoire d'un bassin versant agricole drainé (Bassin versant de l'Orgeval, France, Seine-et-Marne)

## Macroinvertébrés benthiques : *Gammarus pulex* et *Dreissena polymorpha*

**Macroinvertébrés benthiques** : Organismes vivants sur ou dans le substrat couvrant une large gamme de niveaux trophiques comme les gammares ou les dreissènes

- ❖ Espèces majoritaires du bassin de la Seine
- ❖ Espèces ingénieurs
- ❖ Indicatrices de la santé des milieux aquatiques

Gammare  
Grande tolérance  
écologique,  
distribution dans  
tout le BV

Dreissène  
Distribution dans  
tout le BV hormis  
les têtes de BV

Plasticité aux stress  
environnementaux  
(Shahid et al. 2018,  
Siddique et al., 2024)

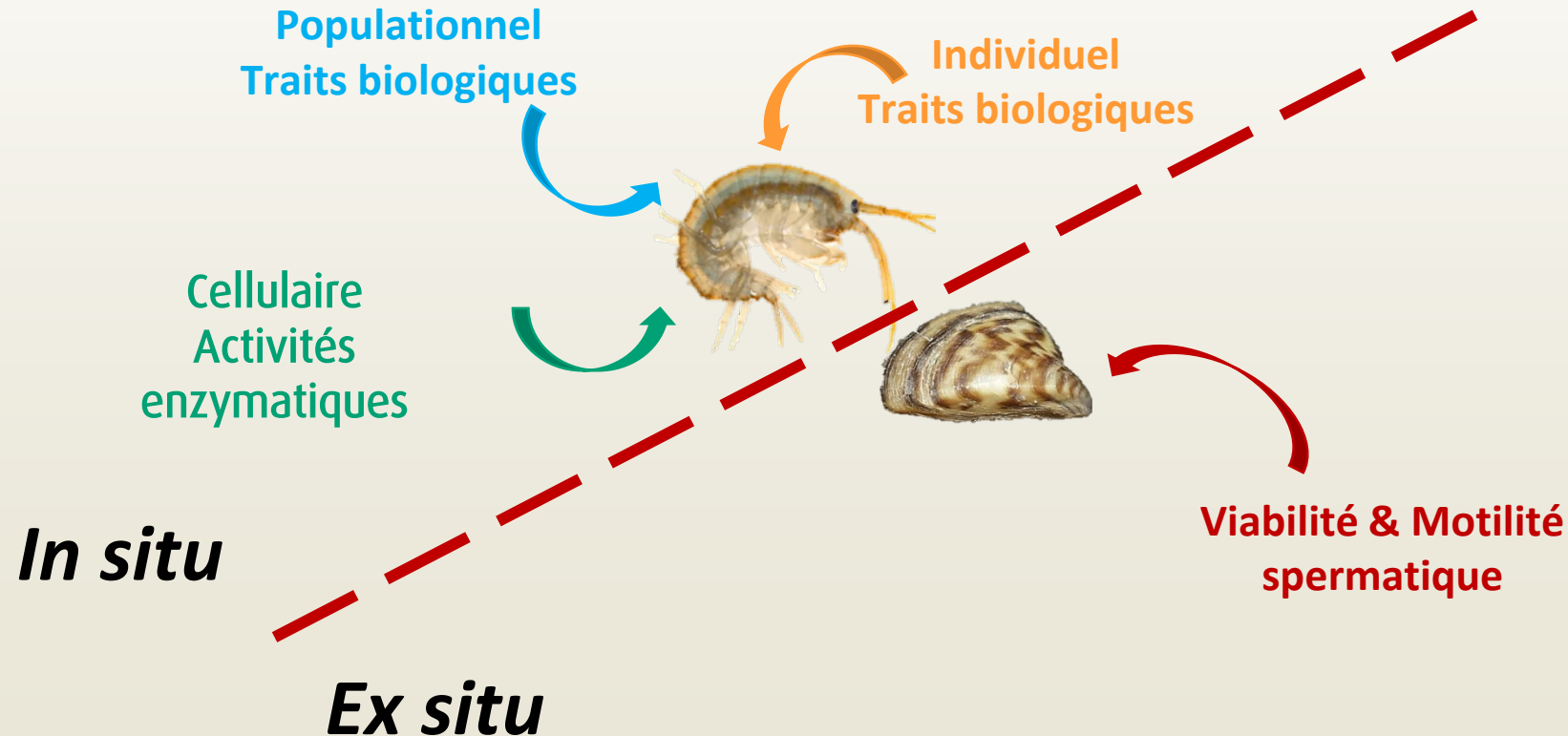


Photographie de *Gammarus pulex* (a) (Mayer et al. 2012)

et *Dreissena polymorpha* (b)

## Biomarqueurs chez les macroinvertébrés benthiques: des outils écotoxicologiques de détection des pesticides

**Biomarqueur multi-niveaux** : Descripteurs biologiques quantitatifs qui révèlent l'exposition d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant (adapté de Lagadic *et al.*, 1997)

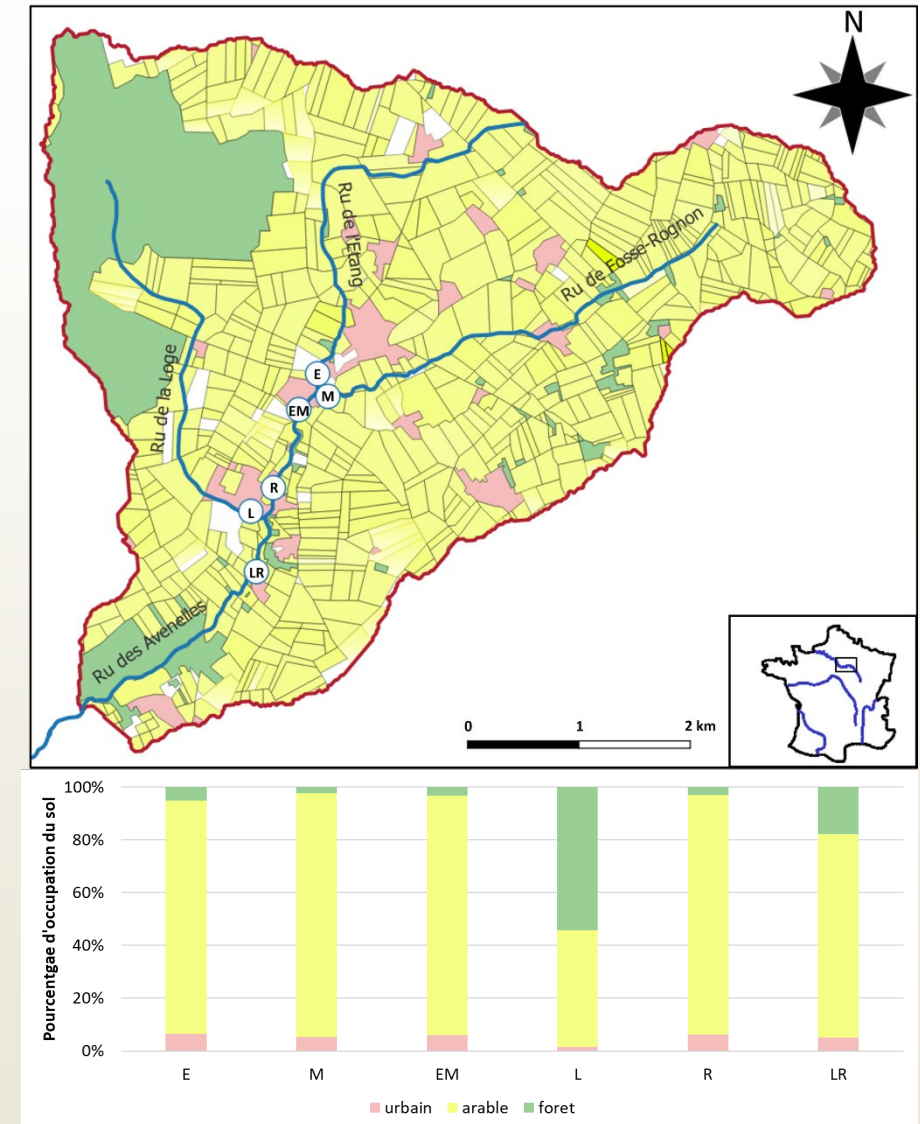


# L'utilisation couplée d'organismes sentinelles permet-elle une meilleure caractérisation de l'écotoxicité des pesticides ?

- 1) Approfondir les connaissances entre dynamique d'exposition et réponses biologiques *in situ* et *ex situ*
- 2) Évaluer la sensibilité des espèces aux pressions

## Site d'étude : bassin versant de l'Orgeval

- ❖ 70 km à l'Est de Paris en Seine-et-Marne
- ❖ Infrastructures de recherche (OZCAR, ZA Seine)
- ❖ Suivi hydrologique depuis **1962**
- ❖ Suivi de la qualité des eaux depuis **1975**
- ❖ Bassin versant drainé à **80%**
  - ➔ Contamination rapide des cours d'eau
- ❖ < 1 % des quantités appliquées sont mesurées à l'exutoire
  - ❖ Représentatif des bassins versants agricoles drainés



Carte de l'occupation du sol du bassin agricole de l'Orgeval et des 6 sites instrumentés (Seine-et-Marne, 77)

## Campagnes de biosurveillance multi-paramètres



Suivis réalisés en continu sur plusieurs années hydrologiques :

### Dynamique d'exposition

#### Hydrologique & Physico-chimique:

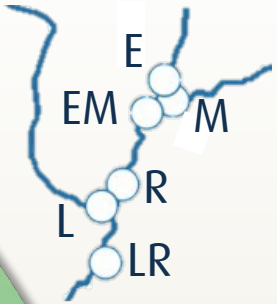
- ❖ Instrumentation de l'observatoire ORACLE

#### Chimiques : Flux de pesticides et contaminants

- ❖ Échantillon d'eau composite
- ❖ Trappes à sédiments



## Campagnes de biosurveillance multi-paramètres



Suivis réalisés en continu sur plusieurs années hydrologiques :

### Dynamique d'exposition

#### Hydrologique & Physico-chimique:

- ❖ Instrumentation de l'observatoire ORACLE
- Chimiques : Flux de pesticides et contaminants
- ❖ Échantillon d'eau composite
- ❖ Trappes à sédiments

### Evaluations de l'impact

#### Ecotoxicologiques :

- ❖ *In situ* : Gammare
- ❖ *Ex situ* : Dreissène



Transplantation *in situ* sur les 6 stations :

Détermination des biomarqueurs chez *Gammarus pulex*



(1) Pêche de gammares issus d'un site de référence faiblement contaminé et calibration en taille



(2) Transplantation de 80 individus de chaque espèce en triplicat avec  $2.5 \text{ g} \pm 0.02$  de feuilles d'aulnes conditionnées



(3) Transplantation pendant 18-19j

Cellulaire Individuel



Populationnel

(4) Détermination des échelles multi-niveaux

## Expérimentation *ex situ* - eaux composites des 6 stations :



### Détermination des biomarqueurs de qualité spermatique chez *Dreissena polymorpha*

#### *Terrain*

- (1) Prélèvement toutes les 3h d'un échantillon d'eau des sites  
(8 ech/jour)

Durée : 19 jours  
(Campagne de biosurveillance)

Reconstitution d'une **eau composite**  
par **campagne**

- (2) Filtration : membrane en polyester pour molécules polaire et apolaire (maille : 0,2  $\mu\text{m}$ )

➔ Conservation à -20°C



# Expérimentation *ex situ* - eaux composites des 6 stations :



## Détermination des biomarqueurs de qualité spermatique chez *Dreissena polymorpha*

### Terrain

- (1) Prélèvement toutes les 3h d'un échantillon d'eau des sites  
(8 ech/jour)

Durée : 19 jours  
(Campagne de biosurveillance)

Reconstitution d'une eau composite  
par campagne

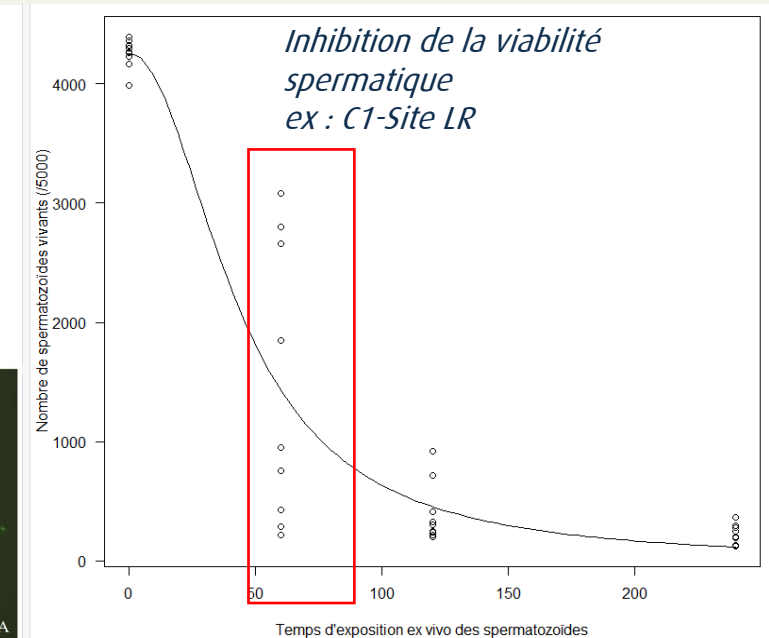
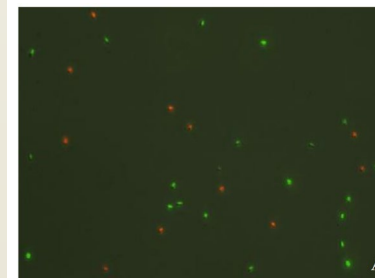
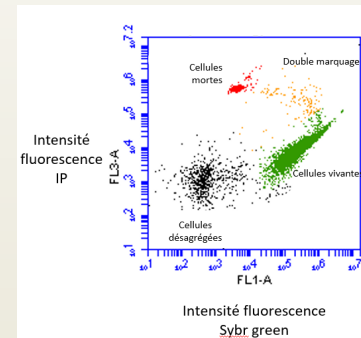
- (2) Filtration : membrane en polyester pour molécules polaire et apolaire (maille : 0,2  $\mu\text{m}$ )  
→ Conservation à -20°C



© Wangermez

### Laboratoire

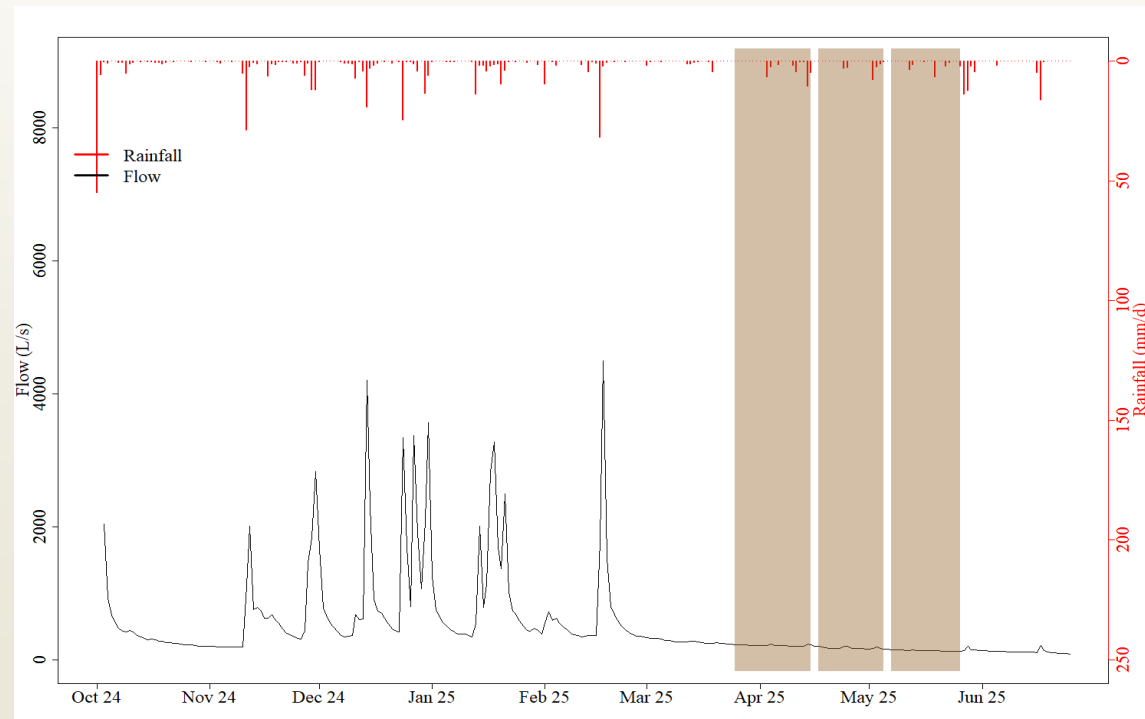
- (3) Exposition de spermatozoïdes contrôles (*ex vivo* - 1h à 4h)
- (4) Mesure de différents biomarqueurs :
  - Viabilité spermatique (cytométrie de flux)
  - Motilité (*en cours*)



## Campagnes de biosurveillance multi-paramètres



Suivis réalisés en continu sur l'année hydrologique 2024-2025 : 3 campagnes



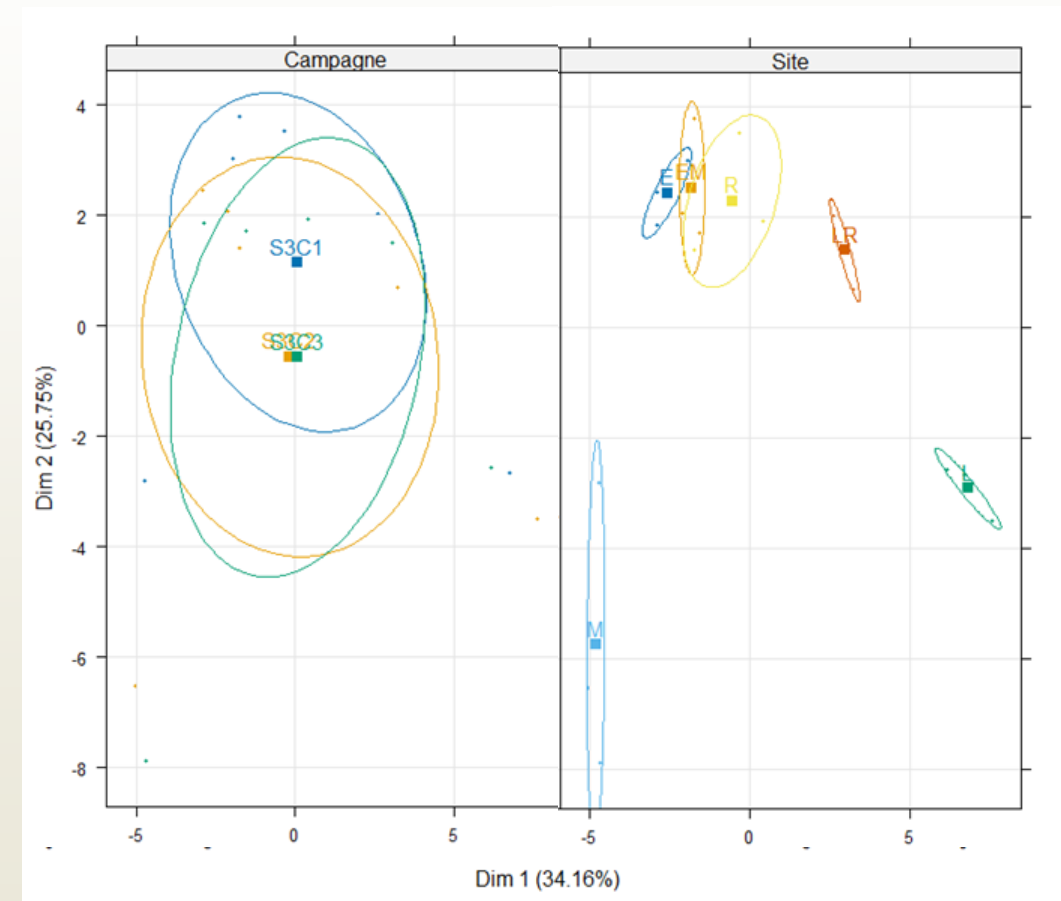
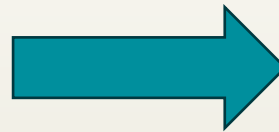
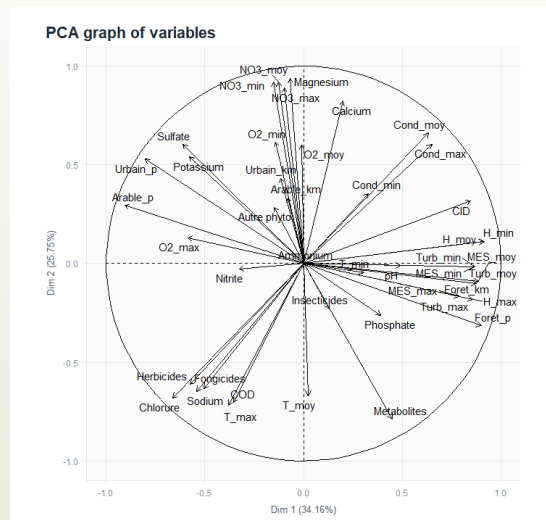
Période hydrologique **sèche** :

Pluie : 1,1 mm/j

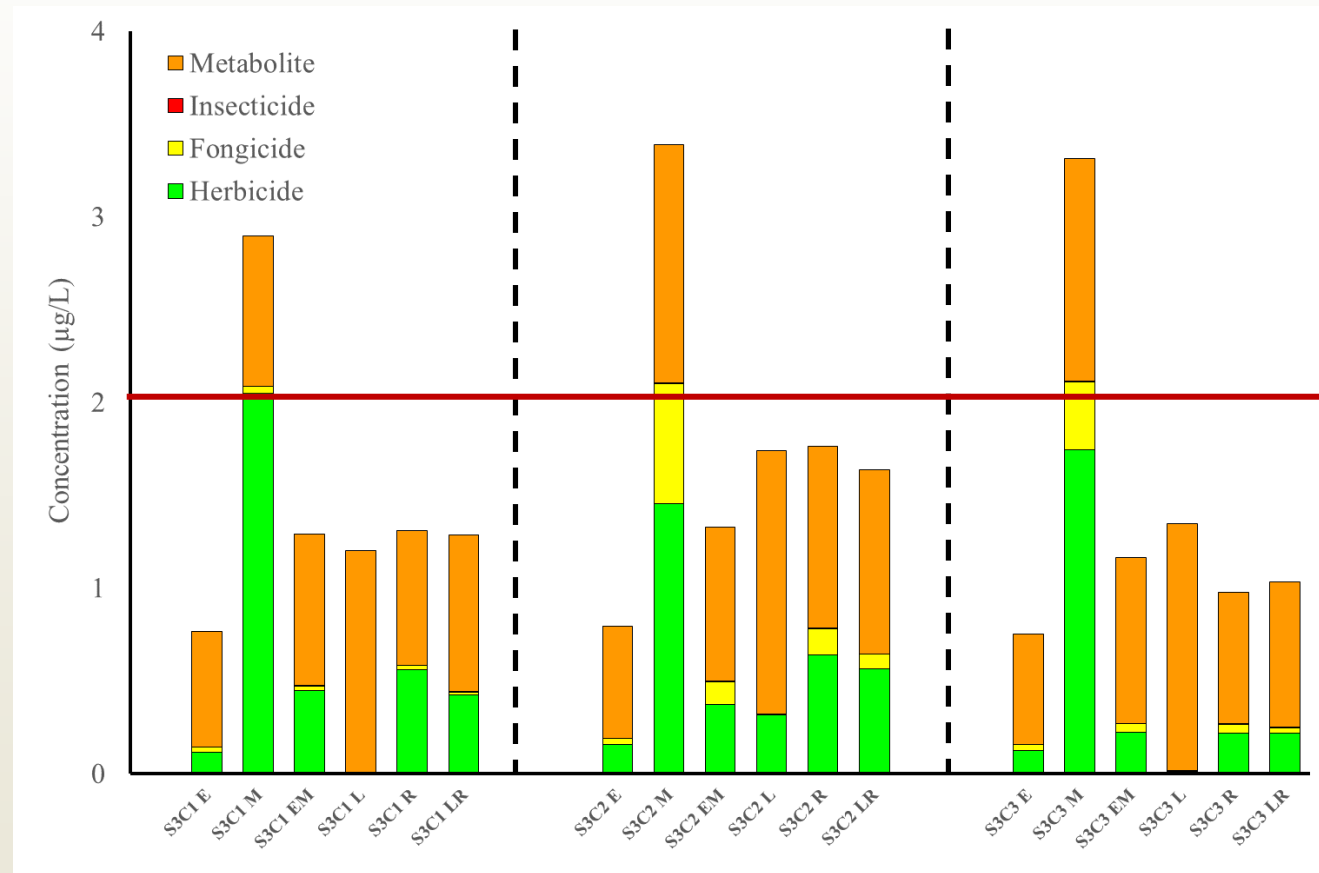
Lame d'eau : 0,37 mm/j

# Discrimination spatio-temporelle des paramètres physico-chimiques

## Analyse en composantes principales (ACP)



## Variabilité spatio-temporelle de la dynamique chimique



Concentrations des familles de pesticides par site (6 sites étudiés) et par campagne

- 575 molécules analysées
- Site E moins contaminé
- Site M plus contaminé
- C2 et C3 exposition aux fongicides
- **AESN** : 61 % des stations concentration moyenne annuelle en pesticides inférieure à **1,9** µg/L

➔ Dynamique spatio-temporelle de l'exposition aux pesticides



## Réponse biologique *in situ* à l'échelle individuelle chez *G. pulex*

Tableau des indices IBR-T à l'échelle individuelle chez *G. pulex* (GP)  
durant les 3 campagnes de biosurveillance et sur les 6 sites d'étude

| Individuel <i>G. pulex</i> |      |      |      |
|----------------------------|------|------|------|
|                            | C1   | C2   | C3   |
| Site E                     | 0.00 | 0.00 | 0.62 |
| Site M                     | 0.20 | 0.00 | 1.30 |
| Site EM                    | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Site L                     | 0.00 | 0.00 | 0.64 |
| Site R                     | 0.00 | 0.00 | 0.24 |
| Site LR                    | 0.11 | 0.00 | 0.76 |

- ❖ Discrimination de la campagne **C3**
- ❖ Discrimination du site **M**
- ❖ Liés aux diverses pressions abiotiques
  - ❖ Comment relier à l'impact des pesticides ?



## Réponse biologique *in situ* à l'échelle populationnelle chez *G. pulex*

Tableau des indices IBR-T à l'échelle populationnelle chez *G. pulex* (GP) durant les 3 campagnes de biosurveillance et sur les 6 sites d'étude

| Populationnel <i>G. pulex</i> |      |      |      |
|-------------------------------|------|------|------|
|                               | C1   | C2   | C3   |
| Site E                        | 0.33 | 0.63 | 1.99 |
| Site M                        | 1.66 | 1.73 | 3.17 |
| Site EM                       | 0.17 | 1.12 | 0.97 |
| Site L                        | 0.28 | 0.56 | 2.06 |
| Site R                        | 0.54 | 0.34 | 1.10 |
| Site LR                       | 1.01 | 0.49 | 0.84 |

- ❖ Discrimination de la campagne **C3**
- ❖ Discrimination du site **M**
- ❖ Liés aux diverses pressions abiotiques
  - ❖ Comment relier à l'impact des pesticides ?



## Réponse biologique *ex situ* à l'échelle cellulaire chez *D. polymorpha*

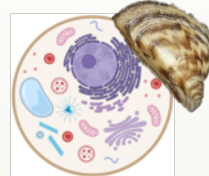
Tableau : Inhibition de la viabilité spermatique (par rapport au témoin correspondant) après 1h d'exposition aux échantillons d'eau composite

| Viabilité spermatique <i>D. polymorpha</i> |     |     |     |
|--------------------------------------------|-----|-----|-----|
|                                            | C1  | C2  | C3  |
| Site E                                     | -15 | -14 | -94 |
| Site M                                     | -67 | -25 | -82 |
| Site EM                                    | -72 | -11 | -89 |
| Site L                                     | -99 | -45 | -98 |
| Site R                                     | -26 | -11 | -89 |
| Site LR                                    | -64 | -97 | -62 |

- ❖ Résultats contrastés fonction sites/campagnes
- ❖ Discrimination de la campagne **C3**
- ❖ Liés aux diverses pressions abiotiques
  - ❖ Comment relier à l'impact des pesticides ?

## Conclusion : comparaison inter-niveaux : *G. pulex* et *D. polymorpha*

Cellulaire



Individuelle



Populationnelle



| Viabilité spermatique <i>D. polymorpha</i> |     |     |     |
|--------------------------------------------|-----|-----|-----|
|                                            | C1  | C2  | C3  |
| Site E                                     | -15 | -14 | -94 |
| Site M                                     | -67 | -25 | -82 |
| Site EM                                    | -72 | -11 | -89 |
| Site L                                     | -99 | -45 | -98 |
| Site R                                     | -26 | -11 | -89 |
| Site LR                                    | -64 | -97 | -62 |

| Individuel <i>G. pulex</i> |      |      |      |
|----------------------------|------|------|------|
|                            | C1   | C2   | C3   |
| Site E                     | 0.00 | 0.00 | 0.62 |
| Site M                     | 0.20 | 0.00 | 1.30 |
| Site EM                    | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Site L                     | 0.00 | 0.00 | 0.64 |
| Site R                     | 0.00 | 0.00 | 0.24 |
| Site LR                    | 0.11 | 0.00 | 0.76 |

| Populationnel <i>G. pulex</i> |      |      |      |
|-------------------------------|------|------|------|
|                               | C1   | C2   | C3   |
| Site E                        | 0.33 | 0.63 | 1.99 |
| Site M                        | 1.66 | 1.73 | 3.17 |
| Site EM                       | 0.17 | 1.12 | 0.97 |
| Site L                        | 0.28 | 0.56 | 2.06 |
| Site R                        | 0.54 | 0.34 | 1.10 |
| Site LR                       | 1.01 | 0.49 | 0.84 |

- ❖ Approche multi-taxons et multi-échelles : **complémentarité**
  - ❖ Discrimination **temporelle**
  - ❖ Sensibilité **spatiale** biologique différente



- ❖ Changement spatial à l'exutoire des 2 sous-bassins
- ❖ Intégrer des périodes de forts transferts (élargissement temporel)
- ❖ Elargissement échelle biologique
  - ❖ Gammaré : cellulaire → comparaison intra-niveau entre espèces
  - ❖ Dreissène : cellulaire → comparaison des réponses biologiques (intégrité -> fonctionnalité)
  - ❖ Précocité des réponses : répercussions communautés et fonctions (EAU'listic)

A photograph of a forest stream with large tree roots and fallen branches. Overlaid on the image are several illustrations of aquatic life: three brown and white striped oysters and four yellowish-orange amphipods. The text "Merci pour votre attention" is centered in white.

Merci pour votre attention